الجمهوريّة العربيّة السّوريّة
جـــامـــعـة حـمـــــــاة
كليّة الطّـــــــــب البيطري
قسم الصحة العامة والطب الوقائي

استخدام الـ L _ كارنيتين في الحد من الأثر السمي للفورم ألدهيد المضاف لحليب الأغنام

رسالة أعدّت لنيل درجة الدكتوراه في العلوم الطبية البيطرية

اختصاص صحة ألبان وتقاناتها

إعداد طالبة الدراسات العليا

ريما أنور الودع

المشرف العلمي
أ.د. دارم طباع

أستاذ الصحة العامة والطب الوقائي

قسم الصحة العامة والطب الوقائي

المشرف المشارك
د. عبد الناصر العمر

مدير بحوث في الهيئة العامة

للبحوث العلمية الزراعية

1445هـ - 2024م

فهرس المحتويات

الفصل	قائمة المحتويات	الصفحة
	فهرس المحتويات	I
	قائمة الجداول	V
	قائمة المخططات	VII
	قائمة الأشكال	VIII
	قائمة الاختصارات	IX
	ملخص البحث باللغة العربية	X
	ملخص البحث بالغة الانكليزية	XII
الفصل الأول	المقدمة وأهداف البحث	
1-1	المقدمة	1
2-1	مبررات الدراسة	3
3-1	أهداف الدراسة	4
الفصل الثاني	الراسة المرجعية (Literature Review)	
1-2	حليب الأغنام	5
2-2	تركيب حليب الأغنام	5
1-2-2	الخصائص الفيزيائية والكيميائية للحليب	6
1-1-2-2	درجة الحموضة (pH)	6
2-1-2-2	الماء	6
3-1-2-2	الدهون	6
4-1-2-2	البروتين	7
5-1-2-2	سكر اللاكتوز	7

6-1-2-2	المواد الصلبة اللادهنية	7
2-2-2	تخثر الحليب	8
1-2-2-2	أنواع التخثر	8
3-2-2	غش الحليب	9
4-2-2	التعداد العام للجراثيم الحية في الحليب	10
3-2	ما هو الفورم ألدهيد	11
1-3-2	الخصائص الفيزيائية والكيميائية للفورم ألدهيد	11
2-3-2	التأثير الصحي للفورم ألدهيد	12
3-3-2	مصادر واستخدامات الفورم ألدهيد	14
4-2	الدور الوقائي لمركبL . كارنيتين من الأثر الضار للفورم ألدهيد	17
1-4-2	ما هو مركبL . كارنيتين	17
2-4-2	تواجد مركبL . كارنيتين في الجسم	17
3-4-2	دور الـ L– كارنيتين في جسم الإنسان	18
4-4-2	نقص الكارنيتين	18
5-2	المعايير الكيمياحيوية	21
1-5-2	الكبد	21
1-1-5-2	أهمية الكبد	21
2-5-2	الكلية	22
1-2-5-2	مؤشرات السمية الكلوية	23
1-1-2-5-2	البولة	23
2-1-2-5-2	الكرياتينين	24
3-5-2	الأمعاء	24
4-5-2	الدم	25
الفصل الثالث	**المواد وطرائق العمل (Materials and Methods)**	

(1-3)	مواد البحث	28
1-1-3	حيوانات التجربة	28
2-1-3	المواد اللازمة لتحليل التركيب الكيميائي للحليب	28
3-1-3	المواد اللازمة لاختبارات تخثر الحليب	28
4-1-3	المواد اللازمة للزرع الجرثومي للحليب	29
5-1-3	المواد اللازمة للفحص النسيجي	29
6-1-3	المواد اللازمة لاختبارات الدم	30
2-3	طرائق البحث	30
1-2-3	مكان تنفيذ التجربة	30
2-2-3	تصميم التجربة	31
3-2-3	اختبارات الحليب	31
1-3-2-3	تحليل التركيب الكيميائي للحليب	31
2-3-2-3	اختبار التخثر الحامضي للحليب بواسطة البادئ	32
3-3-2-3	اختبار التخثر الإنزيمي للحليب باستخدام أنزيم المنفحة	32
4-3-2-3	اختبار التخثر الحامضي للحليب باستخدام حمض كلور الماء	33
5-3-2-3	الزرع الجرثومي للحليب	33
4-2-3	الاختبارات الدموية	34
1-4-2-3	اختبارات نشاط إنزيمات (ALT،AST)	34
2-4-2-3	اختبارات وظائف الكلى (CREA, BUN)	34
3-4-2-3	اختبار تحليل صورة الدم الكاملة	35
5-2-3	قياس الوزن الحي والتشريح المرضي للأرانب	35
1-5-2-3	مراحل تحضير المقاطع النسيجية	35
6-2-3	التحليل الإحصائي	37
الفصل الرابع	**النتائج و المناقشة (Results and Discussion)**	

1-4	اختبارات الحليب	37
1-1-4	تحليل التركيب الكيميائي للحليب	37
2-1-4	اختبار التخثر الحامضي للحليب	41
3-1-4	اختبار التخثر الإنزيمي للحليب	42
4-1-4	اختبار الزرع الجرثومي للحليب	46
2-4	الاختبارات الدموية التي أجريت على حيوانات التجربة	48
1-2-4	اختبارات نشاط إنزيمات (ALT،AST)	48
2-2-4	اختبارات وظائف الكلى (BUN،CREA)	52
3-2-4	اختبار الصورة الدموية	56
1-3-2-4	تعداد كريات الدم الحمراء والبيضاء	56
2-3-2-4	تعداد كريات الدم البيضاء اللمفاوية والمحببة	59
3-3-2-4	تركيز خضاب الدم	62
4-3-2-4	تعداد الصفائح الدموية ونسبة الهيماتوكريت في الدم	63
3-4	نتائج قياس الوزن الحي والتشريح المرضي لأرانب التجربة	67
1-3-4	قياس الوزن الحي	67
2-3-4	التشريح المرضي لحيوانات التجربة	72
1-2-3-4	نتائج الدراسة النسيجية للكبد	72
2-2-3-4	نتائج الدراسة النسيجية للكلى	75
3-2-3-4	نتائج الدراسة النسيجية للأمعاء	77
الفصل الخامس	**الاستنتاجات والتوصيات (Conclusions and Recommendations)**	
1-5	الاستنتاجات	79
2-5	التوصيات	80
الفصل السادس	**المراجع (References)**	

1-6	المراجع العربية	81
2-6	المراجع الأجنبية	82

قائمـــة الجداول List of Tables

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
الفصل الرابع		
1	نتائج المتوسطات والانحراف المعياري لتحليل التركيب الكيميائي للحليب	39
2	المقارنات المتعددة لمتوسطات فروقات قيم تركيب الحليب للمجموعات التجريبية مقارنة مع الشاهد	40
3	متوسط زمن التخثر الحامضي للحليب ولون ومواصفات الخثرة	42
4	متوسط زمن التخثر الإنزيمي للحليب ولون ومواصفات الخثرة والمصل لعينة الحليب (5كغ)	43
5	المقارنات المتعددة لمتوسطات زمن التخثر(دقيقة) بمقارنة المعاملة مع الشاهد	44
6	نتائج التعداد العام للجراثيم الحية في عينات الحليب مقدرة بـ مل1CFU/	47
7	متوسطات قيم نشاط إنزيم (ALT) مع الانحراف المعياري المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً	49
8	متوسطات قيم نشاط إنزيم (AST) مع الانحراف المعياري المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً	50
9	متوسط الفروقات لقيم نشاط إنزيمي (AST, ALT) ودلالتها المعنوية عند مستوى(5%) مقارنة مع الشاهد	50
10	متوسطات قيم الكرياتينين (CREA) مع الانحراف المعياري في مصل دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً	54
11	متوسطات قيم البولة (BUN) مع الانحراف المعياري في مصل دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً	54

12	متوسط الفروقات لقيم الكرياتينين والبولة (BUN, CREA) ودلالتها المعنوية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد	54
13	متوسطات تعداد كريات الدم الحمراء (RBC) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً.	57
14	متوسطات تعداد كريات الدم البيضاء (WBC) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً	58
15	متوسطات نسبة خلايا الدم البيضاء اللمفاوية (LYM) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً.	60
16	متوسطات نسبة خلايا الدم البيضاء المحببة (GRA) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً	61
17	متوسطات تركيز الهيموغلوبين (HGB) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً.	62
18	متوسطات تعداد الصفائح الدموية (PLT) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً	64
19	متوسطات نسبة الهيماتوكريت (HCT) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً	65
20	متوسط الفروقات لقيم اختبارات الصورة الدموية ودلالتها المعنوية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد	66
21	متوسطات أوزان حيوانات التجربة (غرام) وانحرافاتها المعيارية كل (15) يوماً	67
22	متوسط فروقات أوزان حيوانات التجربة (غرام) ودلالتها المعنوية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد	68
23	متوسط تغير وزن حيوانات مجموعات التجربة غ/يوم كل /15/يوماً من التجربة	69
24	متوسط تغير الوزن الإجمالي غ/ يوم لحيوانات التجربة	69
25	متوسط فروقات تغير الوزن الإجمالي اليومي غ/يوم لحيوانات التجربة ودلالتها المعنوية	70

قائمـــة المخططات List of Diagrams

رقم المخطط	عنوان المخطط	الصفحة
1	المتوسطات والانحراف المعياري لنتائج تحليل التركيب الكيميائي للحليب	40
2	المتوسطات والانحراف المعياري لـ زمن التخثر الحامضي للحليب باستخدام البادئ.	44
3	المتوسطات والانحراف المعياري لـ زمن التخثر الحامضي للحليب باستخدام حمض كلور الماء.	45
4	المتوسطات والانحراف المعياري لـ زمن التخثر الإنزيمي للحليب باستخدام المنفحة	45
5	متوسطات قيم نشاط إنزيم (ALT) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل(15) يوماً خلال فترة التجربة.	51
6	متوسطات قيم نشاط إنزيم (AST) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة	51
7	متوسطات قيم كرياتينين الكلى (CREA) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة	55
8	متوسطات قيم البولة (BUN) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة	55
9	متوسطات تعداد كريات الدم الحمراء (RBC) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة	57
10	متوسطات تعداد كريات الدم البيضاء (WBC) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة	58
11	متوسطات نسبة خلايا الدم البيضاء اللمفاوية (LYM) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة	60
12	متوسطات نسبة خلايا الدم البيضاء المحببة (GRA) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة	61
13	متوسطات تركيز الخضاب (HGB) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.	63

14	متوسطات تعداد الصفائح الدموية (PLT) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة	64
15	متوسطات نسبة الهيماتوكريت (HCT) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة	65
16	تغير متوسطات أوزان حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.	68
17	يوضح متوسط تغير الوزن الإجمالي اليومي غ / يوم لحيوانات التجربة	70

قائمـــة الأشكال List of Forms

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
1	التغيرات النسيجية للكبد في مجموعة الشاهد ومجموعة L-كارنيتين	72
2	التغيرات النسيجية للكبد في مجموعة الفورم ألدهيد	73
3	التغيرات النسيجية للكبد في مجموعة الفورم ألدهيد + L- كارنيتين	74
4	التغيرات النسيجية لأنسجة الكلى في مجموعة الشاهد ومجموعة L-كارنيتين	75
5	التغيرات النسيجية لأنسجة الكلى في مجموعة L- كارنيتين والفورم ألدهيد	76
6	التغيرات النسيجية لأنسجة الكلى في مجموعة الفورم ألدهيد	76
7	التغيرات النسيجية لأنسجة الأمعاء	78

جدول المصطلحات والمختصرات

المُختصرات Abbreviation	المصطلح باللغة الأجنبية	المصطلح باللغة العربية
TVBC	Total Viable Bacterial Count	التعداد العام للجراثيم الحية في الحليب
FA	Form Aldehyde	الفورم ألدهيد
LC	L – Carnitine	مركب L - كارنيتين
ALT	Alanine Aminotransminase	إنزيم ناقلة أمين الألانين
AST	Aspartate Aminotransferase	إنزيم ناقلة أمين الأسبارتات
BUN	Blood Urea Nitrogen	البولة
CREA	Creatinine	الكرياتينين
CBC	Complete Blood Count	تحليل صورة الدم الكاملة

الملخص العربي

نُفِذَ البحث في مركز بحوث حماة التابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية بهدف دراسة تأثير إضافة الفورم ألدهيد كمادة حافظة لحليب الأغنام العواس ومركب L- كارنيتين إلى جانب الفورم ألدهيد في كل من التركيب الكيميائي للحليب والتخثر الأنزيمي بأنزيم المنفحة، والحامضي باستخدام بادئ جراثيم اللاكتيك. بينت النتائج انخفاض نسب كل من الدهن والبروتين والسكر والمواد الصلبة اللادهنية في عينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد، وانخفاض نسبة الدهن وارتفاع نسب البروتين والسكر والمواد الصلبة اللادهنية في عينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد والكارنيتين معاً بالمقارنة مع الشاهد، وباستخدام التحليل الخطي للتباين بين المعاملات لوحظ أنه لا يوجد فروق ذات دلالة معنوية بينهما عند مستوى دلالة ($P<0.05$) لكل من الدهن والبروتين والسكر والمواد الصلبة اللادهنية. أوضحت نتائج المقارنات البعدية (Multiple Comparison) لمتوسطات زمن التخثر (الحامضي والأنزيمي) باستخدام قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D) واختبار (Dunnett) أنه يوجد دلالة معنوية عالية للفروق بين متوسطات الأزمنة للحليب المعامل بالفورم ألدهيد مقارنة مع الشاهد عند مستوى ($p<0.05$)، وكانت هناك فروق واضحة بصلابة الخثرة ومواصفاتها بين عينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد والشاهد. يستنتج التأثير السلبي للفورم ألدهيد في تركيب الحليب ومواصفات الخثرة وضرورة المراقبة الصحية للحد من استخدامه وتأثيراته السلبية.

كما تمت دراسة تأثير مركب L- كارنيتين ضد سمية الكبد والكلى الناتجة عن استخدام الفورم ألدهيد في ذكور الأرانب، استخدم فيها 24 من ذكور الأرانب تم تقسيمها بالتساوي إلى أربع مجموعات على النحو التالي: مجموعة الشاهد قدِّم لها الغذاء والماء فقط، تم إعطاء مركب L-كارنيتين للمجموعة الثانية بمعدل 250ملغ/كغ من وزن الجسم. تم تجريع المجموعة الثالثة مركب L-كارنيتين والفورم ألدهيد معاً مع الحليب بشكل يومي عن طريق الفم بنفس النسب المذكورة في المجموعة الثانية والرابعة، حيث تم تجريع المجموعة الرابعة بالفورم ألدهيد مع الحليب بمعدل 0.1 ملغ/ كغ من وزن الحيوان يومياً عن طريق الفم. استمرت التجربة لمدة 90 يوماً، تم خلالها سحب الدم من حيوانات التجربة بشكل دوري كل (15) يوماً وقياس كل من أنزيمي الكبد (ALT ناقلة أمين الألانين، AST ناقلة أمين الاسبارتات) ومؤشرات الكلى (الكرياتينين -CREA، البولة- BUN) وتعداد كريات الدم الحمراء والبيضاء. أظهرت النتائج أن إعطاء الفورم ألدهيد أدى إلى زيادة

معنوية عالية عند مستوى ($p<0.05$) في مؤشرات كل من الكبد والكلى وتعداد كريات الدم في مصل دم ذكور الأرانب مقارنة مع الشاهد، بينما عند إعطاء الحيوانات مركب L–كارنيتين والفورم ألدهيد معاً لوحظ أن مركب L–كارنيتين حافظ على قيم مؤشرات الكبد والكلى وتعداد كريات الدم البيضاء والحمراء ضمن الحدود الطبيعية مقارنة مع القيم الناتجة في مجموعة الفورم ألدهيد وأصبحت أقرب للمعدل الطبيعي. يستنتج من ذلك أن استخدام مركب L–كارنيتين بشكل يومي لذكور أرانب التجربة يلعب دوراً مهماً ضد السمية الكبدية والكلوية الناتجة عن الفورم ألدهيد حيث استطاع بسبب خصائصه المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب الذي يعمل كمضاد لتصنيع الوسائط الالتهابية بالجسم مما يخفف وبشكل واضح منها، وهذا ما يؤدي بدوره لتحسين وظائف الكبد بخفض مستوى أنزيماته ويقلل من التأثير الضار على أنسجة الكلى.

كما تم وزن الحيوانات بشكل دوري كل /15/ يوم خلال فترة التجربة، ليتم تشريحها في نهاية التجربة وفحص التغيرات النسيجية في الكبد والكلى والأمعاء. أظهرت النتائج أن قيمة متوسط تغير الوزن اليومي الإجمالي غ/يوم لذكور الأرانب خلال فترة التجربة كانت الأعلى في مجموعةL–كارنيتين بمعدل 12.48±2.92 مقارنة بباقي المجموعات بما فيها الشاهد 11.61 ±5.29.أظهر الفحص النسيجي للكبد تسبب الفورم ألدهيد بتنكس شديد للخلايا الكبدية مع غياب انتظامها الشعاعي وفقدان أنويتها مع ارتشاح شديد للخلايا اللمفاوية، وكذلك الأمر بالنسبة للكلية حيث لوحظ التنكس في قشرة الكلية وعدم الظهور الواضح للنبيبات القاصية، على حين تواجدت أذية واضحة في النبيبات الجامعة ضمن لب الكلية مع غزارة وتوسع بالشعيرات الدموية، وعند إعطاء مركب الكارنيتين مع الفورم ألدهيد معاً لم تظهر معظم التغيرات النسيجية المرضية وكان كل من الكبد والكلية ببنية أقرب للسليمة وبالتالي استطاع L–كارنيتين لعب الدور الوقائي ضد سمية الفورم ألدهيد وتطور الحالة المرضية والتغيرات الخلوية والنسيجية عند ذكور الأرانب.

English Abstract

The research was carried out at Hama Research Center of the General Authority for Scientific Agricultural Research with the aim of studying the effect of adding formaldehyde as a preservative to the milk of Awassi sheep and the compound L-carnitine in addition to formaldehyde on both the chemical composition of the milk and enzymatic coagulation with the rennet enzyme, and acidification using lactic bacteria starter. The results showed a decrease in the percentages of fat, protein, sugar, and non-fat solids in the milk sample treated with formaldehyde, and a decrease in the percentage of fat and an increase in the percentages of protein, sugar, and non-fat solids in the milk sample treated with formaldehyde and carnitine together compared to the control. Using linear analysis of variance between the treatments, it was observed that no There are significant differences between them at a significance level ($P<0.05$) for fat, protein, sugar, and non-fat solids. The results of multiple comparisons of the average coagulation times (acid and enzymatic) using the value of the least significant difference (L.S.D) and the Dunnett test showed that there is a high significance for the differences between the average times of milk treated with formaldehyde compared with the control at the level ($p<0.05$). There were clear differences in clot hardness and characteristics between the milk sample treated with formaldehyde and the control. It is concluded that the negative effect of formaldehyde on milk composition and coagulation characteristics and the necessity of health monitoring to limit its use and its negative effects.

The effect of the L-carnitine compound against liver and kidney toxicity resulting from the use of formaldehyde was also studied in male rabbits, 24 male rabbits were used and divided equally into four groups as follows: The control group was provided with food and water only, the L-carnitine compound was given. Carnitine for the second group at a rate of 250 mg/kg of body weight. The third group was dosed with L-carnitine and formaldehyde together with milk on a daily basis orally in the same proportions mentioned in the second and fourth groups, while the fourth group was dosed with formaldehyde with milk at a rate of 0.1 mg/kg of animal weight daily orally. The experiment continued for 90 days, during which blood was drawn from the experimental animals periodically every (15) days, and liver enzymes (ALT, alanine aminotransferase, AST, aspartate aminotransferase),

kidney indicators (creatinine, CREA-, urea, BUN-), and red and white blood cell counts were measured. The results showed that giving formaldehyde led to a highly significant increase at the level ($p<0.05$) in indicators of the liver and kidneys and blood cell counts in the blood serum of male rabbits compared with the control, while when animals were given L-carnitine and formaldehyde together, it was observed that the compound L-Carnitine significantly reduced the values of liver and kidney indicators and the white and red blood cell counts compared to the values obtained in the formaldehyde group and became closer to the normal range. It is concluded that the use of L-carnitine on a daily basis for male experimental rabbits plays an important role against liver and kidney toxicity resulting from formaldehyde, as it has been able to do so due to its antioxidant and anti-inflammatory properties, which acts as an antidote to the production of inflammatory mediators in the body, which clearly reduces them, and this in turn leads to... To improve liver function by reducing the level of its enzymes and reduce the harmful effect on kidney tissue.

The animals were also weighed periodically, every 15 days during the experiment, to be dissected at the end of the experiment and to examine histological changes in the liver, kidneys, and intestines. The results showed that the average value of total daily weight change in g/day for male rabbits during the experimental period was the highest in the L-carnitine group at a rate of 12.48±2.92 compared to the rest of the groups, including the control at 11.61±5.29. Histological examination of the liver showed that formaldehyde caused severe degeneration of liver cells with the absence of Its radial regularity and loss of its nuclei with severe infiltration of lymphocytes. The same applies to the kidney, where degeneration was observed in the kidney cortex and the apparent absence of the distal tubules, while there was clear damage to the collecting tubules within the kidney medulla with abundance and dilatation of blood capillaries, and when the carnitine compound was given with formaldehyde. Together, most of the pathological tissue changes disappeared, and both the liver and kidney appeared with a healthier structure. Thus, L-carnitine was able to play a protective role against formaldehyde toxicity, the development of the disease, and cellular and tissue changes in male rabbits.

الفصل الأول

المقدمة، المبررات والأهداف

Introduction, Justifications and Objectives

1-المقدمة
Introduction

ازداد اهتمام الباحثين والمختصين في السنوات الأخيرة بالملوثات نظراً لما يشهده العالم من تطوُّر في الكثير من المجالات ولاسيما تكنولوجيا صناعة الأغذية، وبسبب زيادة المصادر المؤدية للتلوث التي قد تكون سبباً رئيساً لذلك، مما دفع إلى إنشاء العديد من الهيئات والمنظمات الحكوميَّة والأهليَّة لسنّ القوانين التي تضمن مراقبة صحة وسلامة الغذاء وتحليل الملوثات الغذائية وتحديد كمياتها، إذ يُعَد الغذاء السَّليم الخالي من التلوُّث بشتى صوره من المواد الكيميائية والأحياء الدقيقة والسموم من الأهداف المهمة للحفاظ على صحة الإنسان وسلامته (Fung *et al*., 2018).

إن مسؤولية توفير غذاء آمن وصحي تقع على عاتق جميع أصحاب الشأن بدءاً من الحكومة وصولاً للمستهلك نفسه وفي جميع المراحل، وبالرغم من التقدم العلمي والتقني الكبير الذي تم إحرازه إلى الآن والتطور في النظم الغذائية عامة إلا أن مشكلة المسببات المرضية التي يمكن أن تحملها الأغذية والتي يمكن أن تسبب الكثير من الأمراض التي لا تزال مصدر قلق حقيقي للعاملين في مجال الصحة العامة (Ehuwa *et al*., 2021).

يعد الحليب ومشتقاته من الأغذية المهمة الأساسية والتي يعتمد عليها في النظام الغذائي في جميع بلدان العالم لما يحتويه من عناصر غذائية ضرورية مثل الدهون والبروتين والكالسيوم (Alves *et al*.,2018). ويمكن الحفاظ على جودة الحليب من خلال تأمين نقائه ونظافته (Kanwal *et al*., 2004)، ولكن لسوء الحظ يعتبر غش الحليب في البلدان النامية أحد المشاكل الرئيسة التي يواجهها قطاع الألبان، والذي لا يتسبب فقط في خسائر اقتصادية كبيرة لهذه الصناعة ولكنه يمثل تهديدًا صحيًا للمستهلكين (Barham, 2014)، وتعد إضافة المواد الحافظة للحليب كمضاد للجراثيم أحد أساليب الغش الأساسية لزيادة العمر الافتراضي للحليب حيث يتم نقله لمسافات طويلة دون تبريد، وبالتالي توفير كبير في التكلفة المادية لدى التجار والعاملين في هذا المجال، ومن أهم هذه المواد وأخطرها على الإطلاق مركبات الفورم ألدهيد التي صنفت كمادة مسرطنة من قبل الوكالة الدولية لبحوث السرطان (Cogliano, 2006; Monakhova *et al*., 2012) ، ومن أجل تقييم السمية المحتملة والمخاطر الناجمة عن تعرض الإنسان لمركبات الفورم

ألدهيد ســـواء عن طريق الجهاز التنفســـي أو الهضـــمي أو عن طريق الجلد، أجريت تجارب عديدة على الحيوانات بهدف تقييم عملية التمثيل الغذائي وفرضـية خطر السـمية (Galli *et al.*, 2005)، اسـتخدم فيها العديد من المواد المضـــادة لســـمية الفورم ألدهيد مثل مركب L- كارنيتين الذي لعب دوراً وقائياً ناجحاً ضـــد سمية الفورم ألدهيد من خلال تأثيره المضاد للأكسدة والالتهاب في خلايا الجسم.

مبررات الدراسة
Justifications of the study

الهدف من هذا العمل تعزيز دور الطب الوقائي في الحد قدر الإمكان من الأضرار الصحية الناتجة عن التعرض للفورم ألدهيد بسبب تنامي غش الحليب بإضافته كمادة حافظة بهدف إطالة عمر الحليب أثناء النقل والتخزين أو كمادة معقمة في مخابر التشخيص المخبري والتشريح المرضي أو لحفظ الجثث المستخدمة في العملية التدريسية ضمن أقسام التشريح لكليات الطب بشكل عام والطب البيطري بشكل خاص، مما استدعى تسليط الضوء على هذا الموضوع وإيجاد الحلول المناسبة لتفادي آثاره السلبية وذلك من خلال التعريف بالدور الوقائي لمادة الـ L- كارنيتين بتطبيق تجربة مخبرية على حيوانات التجارب (الأرانب) يتم فيها دراسة الأثر السام للفورم ألدهيد المضاف لحليب الأغنام العواس بالجرعة تحت المزمنة وتقييم دور مادة الـ L- كارنيتين في الحد من آثاره الضارة من خلال عمليات الأكسدة الناتجة عن الاستقلاب في الجسم.

أهداف الدراسة

Objectives of the study

تتلخص الأهداف الرئيسة للدراسة بالنقاط الآتية:

١) تأثير إضافة الفورم ألدهيد والفورم ألدهيد مع الـــ L- كارنيتين على الخصائص الكيميائية ومكونات حليب الأغنام.

٢) تأثير إضـــافة الفورم ألدهيد للحليب في التعداد الكلي للمحتوى الجرثومي للحليب الخام وفي تختر الحليب الناتج عنه.

٣) التأثير الســمي لإضــافة الفورم ألدهيد على الوزن والصــيغة الدموية واختبارات وظائف الكبد والكلى والتغيرات النسيجية لكل من الكبد والكلى والأمعاء لحيوانات التجربة وهي الأرانب.

٤) دور مادة الـــ L- كارنيتين في الحد من الأثر الضار للفورم ألدهيد على أنسجة الأعضاء الداخلية المدروسة عند الأرانب.

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

LITERATURE REVIEW

الدراسة المرجعية

Literature Review

(2-1) الحليب:

يعرف الحليب على أنه هو الإفراز الطبيعي للغدد اللبنية لإناث الحيوانات الثدية، والناتج عن الحلب الكامل لحيوان ثدي واحد أو أكثر من نفس النوع والممزوج مزجاً جيداً دون إضافة أو نزع أي مكون من مكوناته، وبعد انتهاء فترة السرسوب، ومن الناحية الميكروبيولوجية يعرف على أنه بيئة صالحة لنمو معظم الكائنات الحية الدقيقة وذلك لأن الحموضة فيه قريبة من التعادل (pH = 6.60). أما من الناحية الكيميائية: فهو عبارة عن محلول حقيقي من السكر والأملاح ومعلق غروي من البروتينات ومستحلب من الدهن (Wendorff, 2003).

(2-2) تركيب حليب الأغنام:

إن تركيب حليب الاغنام يختلف عن حليب الحيوانات اللبونة الأخرى، إذ يتصف بأنه غني بالدهن واللاكتوز والمواد الصلبة والمعادن والفيتامينات على الرغم من قلة كمية الحليب المنتجة لكل أنثى (Alichanidis and Polychroniadou., 1996)، وهو مهم في صناعة الأجبان كون دهن حليب الأغنام يتكون من حوامض دهنية قصيرة السلسلة (Posati and Orr., 1976) والتي تسهم في إعطاء نكهة الجبن المميزة، كما أن المحتوى العالي من المواد الصلبة في الحليب ينجم عنها زيادة في كمية الجبن المنتج. تتأثر منحنيات انتاج الحليب ومكونات الحليب خلال أي موسم بعدة عوامل رئيسة ألا وهي السلالة ومرحلة الانتاج والتغذية ونظام الحلابة (Bocquier and Caja., 1993).

يعتبر الدم المصـــدر الأســـاســـي للمواد الأولية المكونة للحليب، حيث ينتقل بعض هذه المواد من الدم إلى الحليب دون أي تعديل أو تغيير في تركيبه والبعض الآخر تحدث له بعض التحويرات داخل أنسـجة الضـرع بواســـطة عمليات تمثيلية خاصـــة ينتج عنها مركبات جديدة مثل الكازئين واللاكتوز (Barillet and Boichard., 1987; Fuertes *et al*., 1998).

(1-2-2) الخصائص الفيزيائية والكيميائية للحليب:

(1-1-2-2) درجة الحموضة (pH):

تتميز درجة حموضة حليب الأغنام بقيم تتراوح من 6.51 إلى 6.65 مختلفاً بذلك عن متوسط درجة الحموضـــة لحليب الأبقار وحليب الماعز وهي من 6.65 إلى 6.71، ومن 6.50 إلى 6.80 على التوالي (Haenlein and Wendorff., 2006).

(2-1-2-2) الماء:

ينتقل الماء من الدم الى الحليب مباشـــرة ويعمل الماء كحامل لمواد الحليب الأســـاســـية التي يكون بعضها ذائب فيه، بينما البعض الأخر يكون في صورة معلقة، ويرجع لون الحليب الأبيض وعدم شفافيته إلى تعليق بعض تلك المواد، وتكون نسبة الماء في الحليب 83 % أي حوالي تسعة أعشار مكوناته (Vignola *et al*., 2002).

(3-1-2-2) الدهون:

هي المكون الرئيس الأكثر تكلفة في الحليب، حيث تتواجد الدهون في الحليب على شـــكل كريات دهنية مسـتحلبة في مصـل الحليب متوسـط قطرها (3.5 ميكرون)، ويتغير حجم الكريات باختلاف السـلالة والوراثة وفترة الإرضـاع (Clapointe., 2002)، كما تسـاهم الدهون في النكهة والبنية المجهرية للجبن، فكلما انخفضت الدهون كلما كانت بنية الجبن أكثر صلابة (St-Gelais *et al*., 1999).

تتفاوت كمية دهن الحليب والعناصـــر الرئيســـة فيه حســـب ظروف التربية، وبالتالي فإن حليب الأغنام أغنى بالدهن من حليب الأبقار والماعز (Wolff and Fabien., 1998). وقد يتجاوز محتوى الحليب من الدهن

في بعض الحالات 10غ لكل 100غ حليب وتعود هذه الاختلافات إلى نوع و سلالة الأغنام، فصل السنة، التغذية والحالة الصحية للحيوان (Anifantakis, 1987; Maurer *et al*., 2013).

(2-2-1-4) البروتين:

تبلغ نسبة البروتين وسطياً في حليب الأغنام 5.8 % وهي أعلى من حليب الماعز 4.6 % أو حليب الأبقار 3.3 %. إلا أن مستويات البروتين تتغير إلى حد كبير بتغير الأنواع الحيوانية وتتأثر بالسلالة، ومرحلة الإرضاع، والنظام الغذائي، والمناخ، والموسم الإنتاجي (Haenlein and Wendorff., 2006).

ـ يقسم بروتين الحليب حسب التركيب الكيميائي والخصائص الفيزيائية إلى نوعين:

***النوع الأول** يسمى عائلة الكازئين ويشكل 80% من البروتين الكلي، ويحتوي على الفوسفور وهو بروتين التخثر في الحليب، حيث يتخثر حليب الماعز والأغنام بشكل أسرع ويعطي التجمعات الأكثر ثباتاً من حليب الأبقار، وهذا هو السبب في استخدامها على نطاق واسع في صناعة الجبن(Badis *et al*., 2004).

***النوع الثاني** من بروتين الحليب فهو بروتين المصل الذي يتكون من 50% بيتا لاكتوغلوبيولين و 20% ألفا لاكتوألبومين وألبومين مصل الدم وعدد آخر من البروتينات والأنزيمات (نيوف، 2019)، ويتميز حليب الأغنام بمحتواه العالي أساساً من بيتالاكتوغلوبولين والغلوبولين المناعي (Daviau *et al*., 2000).

(2-2-1-5) سكر اللاكتوز:

يسمى بسكر الحليب و تبلغ نسبته في حليب الأغنام 4.9% وهي أعلى مما هو عليه في حليب الماعز والبالغ 4.4% وحليب الأبقار البالغ 4.8%، وهو من السكريات الثنائية التي تتكون في غدة الضرع من الغلوكوز المستمد من الدم، ويتفكك بفعل جراثيم حمض اللبن (جراثيم اللاكتيك) إلى غلوكوز وغالاكتوز اللذان يتحولان تحت تأثير أنزيمات أخرى وبوساطة تفاعلات معقدة إلى حمض اللبن (نيوف، 2019).

(2-2-1-6) المواد الصلبة اللادهنية:

***المواد المعدنية:**

يحتوي الحليب على جميع العناصر المعدنية الأساسية في الجسم (Brule *et al*., 1987) بتركيز أقل من (1%) (نيوف، 2019)، حيث إن حليب النعاج غني بشكل كبير بالكالسيوم والفوسفور اللذان ينتقلان من الدم إلى الحليب مباشرة في صورة غير عضوية والجزء الأكبر منها يرتبط مع البروتينات المصنعة في غدة الضرع، علماً أن المعادن لا تتواجد على شكل أملاح قابلة للذوبان فقط (جزيئات وأيونات) (Gueguen *et al*., 1995) وإنما قد تتواجد مرتبطة بالمادة العضوية أيضاً (نيوف، 2019). يتغير تكوين المعادن حسب التغذية والسلالة وتوقيت الرضاعة والعوامل الوراثية (Brule *et al*., 1987).

***الفيتامينات:**

الفيتامينات الذائبة في حليب المجترات أصلها نباتي، ولظروف تربية الأغنام وطبيعة تغذيتها على نباتات المراعي تأثير على محتوى الحليب من الفيتامينات، حيث يعد الحليب ومشتقاته مصادر بارزة لفيتامين A،B12، B2 وبشكل أقل فيتامين B1، B6 ومن ناحية أخرى فهي تحتوي على نسبة قليلة من فيتامين E وحمض الفوليك والبيوتين (FAO., 2017).

(2-2-2) تخثر الحليب:

هو مجموعة التغيرات الفيزيائية والكيميائية التي تحدث على مستوى جسيمات الكازئين (NH2R COOH)6) مما يؤدي إلى تحول الحليب لخثرة يختلف قوامها باختلاف نوع التخثر(محيو و كيالي ,.1990).

(2-2-2-1) أنواع التخثر:

١. **التخثر الحامضي** : يحدث بإضافة حموض غذائية (حمض اللاكتيك، حمض الفوسفوريك ،حمض الستريك) وهو ما نسميه بالتحميض المباشر أو بإضافة سلالات من جراثيم اللاكتيك (العصيات اللبنية) التي تقوم بتحليل سكر اللاكتوز وتشكيل حمض اللاكتيك الذي يعمل على خفض (PH) الحليب مما يسبب خفض وتراجع الوظائف الحامضية للكازئين حتى الوصول إلى نقطة التعادل الكهربائي للكازئين (PH = 4.6) الأمر الذي يؤدي إلى تعادل الشحنة الكهربائية

السالبة لجزيئات الكازئين فيصبح مجموع شحناته يساوي الصفر و بالتالي انفصاله من الطور المائي و ترسبه نتيجة لهذه التغيرات التي تحدث في بنية الجسيمة الكازئينية.

٢. **التخثر الأنزيمي** : يحدث بإضافة أنزيم المنفحة الذي يعمل على تحلل بروتين الكابا كازئين إلى نوعين من البروتينات أحدهما يسمى بارا كابا كازئين والذي عند اشباعه بأيونات الكالسيوم يفقد الحالة الغروية و يترسب مشكلاً الخثرة، و بروتينات أخرى صغيرة تسمى ماكروببتيد تمر خارجة مع مصل الحليب (نيوف، 2019) وفق طورين:

* الطور الإنزيمي: ويتم فيه شطر كابا كازئين إلى بارا كابا كازئين الذي يبقى في الخثرة و كازئينو ماكروببتيد الذي يمر مع المصل

* طور التخثر: يؤدي تحرر الكازئينو ماكروببتيد ومروره مع المصل بشكل كبير إلى التقليل من شحنة جزيئات الكازئين ودرجة تثبيت الماء وبالتالي زوال العاملين الأساسيين في ثبات جزيئات الكازئين، مما يؤدي لنشوء روابط بينها وتشكل جسم جيلاتيني يحبس داخله بقية المكونات (Alais, 1974 ; Veisseyre, 1975).

(3-2-2) غش الحليب:

هو نزع أي مادة من مكونات الحليب أو إضافة أي مادة غير مكونات الحليب الطبيعية، إذ أن حالات الغش المنوه عنها تمثل تهديدًا صحيًا للمستهلكين وأحد المشاكل الرئيسة التي يواجهها قطاع إنتاج الحليب ولاسيما في البلدان النامية والفقيرة مسبباً خسائر اقتصادية كبيرة لهذه الصناعة (Barham, GS *et al*., 2014).

غش الحليب له نوعين :

١. **الغش الطبيعي** : يتم من خلال تغيير أحد خواص الحليب الطبيعية مثل إضافة ماء للحليب ، نزع كمية من الدهن أو إضافة ماء و حليب فرز أو إضافة حليب فرز (Ali, A *et al*., 2011).

٢. **الغش الكيميائي** : يستخدم إما لزيادة لزوجة الحليب بإضافة كل من النشاء و الغراء أو الدقيق أو يستخدم لمعادلة الحموضة في الحليب مثل إضافة مادة الأمونيا وكربونات أو بيكربونات الصوديوم و هيدروكسيد الصوديوم، بينما يستخدم الفورم ألدهيد والبيروكسيد وحمض الساليسيليك

والمضـــادات الحيوية بهدف إطالة مدة حفظ الحليب و منتجاته (Zhang, L *et al*., 2009; Kandpal, SD *et al* ., 2012; Awan A *et al*., 2014; Singuluri, H and Sukumaran, MK., 2014) أخطر هذه المواد والتي تســـتخدم بكميات كبيرة وعلى نطاق واسع هي مادة الفورم ألدهيد.

(4-2-2) التعداد العام للجراثيم الحية في الحليب: Total Viable Bacterial Count(TVBC)

يقصد به عدد الجراثيم الحية التي تنمو على سطح الآغار المغذي بدرجة حرارة 37 م بعد 24 ساعة من التحضـــين، ويعود الســـبب الرئيســـي لارتفاع العدد البكتيري في الحليب الخام ومنتجاته لافتقاره لشـــروط النظافة أثناء الحلابة أو يكون الضـــــرع غير نظيف أو بيئة حفظ الحليب كذلك التأخير في تبريد الحليب، وتؤدي البسترة الصحيحة للحليب إلى اختزال هذا العدد بدرجة كبيرة في الجبن الناتج عنه. علماً أن هذا العدد يدل على مدى إتباع الشروط الصحية أثناء الإنتاج والتداول (Rolim *et al*.,2020).

(3-2) ما هو الفورم ألدهيد: Form Aldehyde (FA)

صنع الفورم ألدهيد لأول مرة من قبل ألكسندر بوتليروف سنة 1855 م، ولكن تم التعرف عليه رسمياً من قبل العالم الألماني آوغست فيلهلم فون هوفمان سنة 1867 م، وذلك من خلال إجراء أول عملية تحضير تقنية بواسطة نزع الهيدروجين للميثانول (Walker., 1964).

(1-3-2) الخصائص الفيزيائية والكيميائية للفورم ألدهيد:

تسـميته: الفورم ألدهيد (FA) أو الفورمول أو ألدهيد النمل، صـيغته الكيميائية (HCHO) يدعى الميثانال (Methanal) من عائلة الألدهيدات وهو واحد من أبسط الجزيئات العضوية.

الـ FA هو غاز عديم اللون في درجة الحرارة العادية له رائحة نفاذة قابل للاشتعال (Smith 1992; Franklin *et al*., 2000; Songur *et al*., 2003; Yamato *et al*., 2005) ونادراً ما يتواجد بحالته الأصلية فهو ذو عمر قصير في الهواء ، يتحلل في الضوء ليشكل مادة سامة ، قابل للذوبان بدرجة عالية في الماء ومحلول الماء الناتج عنه بنسبة 37% من الفورم ألدهيد يعرف بالفورمالين (الذي تصل درجة غليانه إلى −21 مْ)، كما أنه قابل للذوبان في معظم المذيبات العضوية ، وهو جزيء شديد التفاعل و من الممكن أن يكون مهيجاً للأنسجة من خلال الاتصال المباشر بالإضافة لذلك يسبب الفورم ألدهيد السمية الخلوية من خلال تكوين روابط متقاطعة قوية مع الحمض النووي DNA و الحمض النووي الريبي RNA والبروتينات و الأحماض الأمينية. (Cheng *et al*., 2003; Metz *et al*., 2004; Gurel *et al*., 2005).

يمتص الفورم ألدهيد بسهولة من خلال الجهاز التنفسي و الهضمي، كما يتم استقلابه إلى حمض الفورميك (فورمات) في الغشاء المخاطي للأنف والكبد وكريات الدم الحمراء في الكائنات الحية، ليفرز فيما بعد في البول والبراز أو يتم تحويله إلى بولة وثاني أوكسيد الكربون ليخرج مع هواء الزفير، وهناك ما لا يقل عن سبعة أنزيمات تحفز أكسدة الفورم ألدهيد في الأنسجة الحية تدعى ألدهيد ديهايدروجيناز(aldehyde dehydrogenase)، أوكسيديز الزانثين (xanthine oxidase)، الكاتالاز بيروكسيديز(catalase peroxidase)، ألدهيد أوكسيديز(aldehyde oxidas)، غليسيرالدهيد−3−فوسفات ديهيدروجيناز(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) وإنزيم نازعة هيدروجين الفورم ألدهيد (specific

NAD -dependent formaldehyde dehydrogenase (FDH) (Cooper and Kini 1962; Solomons and Cochrane 1984; Gurel *et al*., 2005).

(2-3-2) التأثير الصحي للفورم ألدهيد:

تم اجراء العديد من الدراسات حول الآثار السلبية للفورم ألدهيد على صحة الإنسان وأفادت إلى تصنيف هذه الآثار في عنوانين رئيسيين وهما مهيج (حاد ومزمن) ومادة مسرطنة (Bolt., 1987)، حيث يؤثر استنشاق الفورم ألدهيد وبشكل أساسي على الاستقلاب في الكبد، لذلك من الممكن تواجده بشكل طبيعي وبدرجات مختلفة في الخلايا نتيجة لعمليات الاستقلاب، ومع ذلك لا يمكن أن يتم تخزينه في الخلايا (Barber and Donohue 1998; Sogut *et al*., 2004).

كما أن التعرض للفورم ألدهيد له تأثيرات سامة على الجهاز التنفسي، الجهاز الهضمي، الأنسجة المكونة للدم، العين، الجلد، الخصيتين، والجهاز العصبي (Ozen *et al*., 2005)، كما يسبب الفورم ألدهيد ضعف شديد في الجهاز البولي ومع ذلك هناك القليل من الدراسات حول الكيمياء النسيجية والتغيرات النسيجية المرضية لأنسجة الكلى الناجمة عن سمية الفورم ألدهيد(Boj *et al*., 2003; Zararsiz *et al*., 2006).

هناك العديد من الدراسات التي أشارت إلى الأثر السمي للفورم ألدهيد عند الانسان والحيوان سواء من حيث انتشاره في الهواء أو عن طريق تناوله عن طريق الفم بشكل مباشر للحيوانات ودراسة تأثيره حسب ما وصف في (Addendum To The Toxicological Profile For Formaldehyde, 2010)، حيث بدأت دراسة تأثيره على الإنسان بدءاً من نسبة انتشاره في الهواء بتركيز/ 6 ppm / وحتى أكبر من /50 ppm / بحيث ظهرت الأعراض التالية: تهيج في الأنف والعين، أكزيما جلدية وتحسس، تغير في وظائف الرئة وزيادة خطر الإصابة بالربو، صعوبة في التنفس وسعال لتتطور هذه الأعراض مع زيادة التركيز وتظهر أعراض الضعف في الذاكرة مع صداع وغثيان وتطور للأكزيما الجلدية.

بينما عند الحيوانات إضافة لما ذكر من الأعراض السابقة لوحظ تغير في تركيب الدم وكثافة البول وزيادة حجمه، مع انخفاض معدل البقاء على قيد الحياة والتأثير على التركيب النسيجي للكبد والكلى والخصية (Addendum To The Toxicological Profile For Formaldehyde, 2010).

وقد أثر الفورم ألدهيد بشكل كبير خلال دراسة تم اجراؤها على وزن الأطفال حديثي الولادة لأمهات قد تعرضن للفورم ألدهيد قبل الولادة مقارنة بمجموعات الأخرى حيث لاحظوا أن التعرض لملوثات الفورم ألدهيد كان ذو تأثيراً سلبياً على وزن الولادة (Grazuleviciene *et al*., 1998).

كما تم إجراء دراسات عديدة على حيوانات مختلفة كالقرود والهامستر الذهبي والسوري حول التأثير الضار لهذه المادة الكيميائية من خلال عملية الاستنشاق أو التعرض الجلدي، حيث أظهرت النتائج تهيج في العينين والأنف والحنجرة والصداع، تحسس الجلد، التهاب الجلد، بحة في الصوت، احتقان، وتراجع في الخلايا الحرشفية الأنفية (Rusch *et al*.,1983; Mamun *et al*., 2014)، إلا أن البيانات النسيجية عن آثار الفورم ألدهيد على الكبد والأنسجة الكلوية من خلال تناوله عن طريق الفم لم تكن واضحة بما فيه الكفاية، وربما يكون السبب في ذلك هو أن الحيوانات قد أعطيت الفورم ألدهيد عن طريق الفم مع الطعام الطبيعي لمدة شهر واحد، وأظهرت الشريحة المجهرية من أعضاء مختارة التغيرات النسيجية بارزة في أنسجة الكبد والكلى، اذ استخدم الفورم ألدهيد عن طريق الفم كجرعة مخففة عشرة أضعاف من وزن الجسم لمجموعة العلاج وعشر مرات التخفيف للمجموعتين الباقيتين على التوالي، ولم يلاحظ أي اضطراب ملحوظ في الحيوانات التجريبية خلال فترة التعرض دون تناول كميات صغيرة من الطعام وأظهر نسيج الكلى في الحيوانات المعالجة تدهور وانكماش النسيج الكلوي مع تشوه وتمزق الكبيبات الكلوية، بينما أظهر نسيج الكبد من عينات فئران التجربة تغيرات نسيجية شديدة (Restni and Galli., 1991).

أظهر تناول الفورم ألدهيد عن طريق مياه الشرب والمواد الغذائية تأثيرًا ضئيلًا على المعدة والأنسجة الأخرى من الفئران والكلاب ماعدا التخرش البلعومي والمعدي المعتدل والزيادة الكبيرة في سماكة ظهارة بطانة المعدة (Shehab and Mahdy., 2011) وتهيج الغشاء المخاطي، ولكن تم تخفيف هذا التأثير الضار عن طريق تخفيض تركيز الفورم ألدهيد قبل تناوله (Johanson *et al*., 1986).

بينما كما كان الاكتئاب والبلادة وفقدان الشهية واضحاً في طيور السمان التي غذيت بمعدل 20 مل من الفورم ألدهيد/كيلوغرام من العلف مما سبب انخفاض تناول الطعام ووزن الجسم وإنتاج البيض ووزن البيض معاً اضافة لانخفاض وزن الأعضاء (khan *et al*., 2005).

فيما تم تسجيل انخفاض كبير في استهلاك الغذاء ووزن الجسم ومعدل البقاء على قيد الحياة في الفئران المعرضة للفورم ألدهيد وهذه النتائج قد تعزى إلى انخفاض مستويات الدهون الثلاثية والوزن المطلق للكبد بالإضافة إلى انخفاض استهلاك الغذاء(kamata *et al.*, 1997).

أما بالنسبة لتأثير التعرض للفورم ألدهيد على وزن الجسم لدى البشر فلم يتم ربطهما معاً وإنما تم وصف علاقة التعرض والاستجابة من خلال الدراسات التي تم إجراؤها على حيوانات التجارب، حيث لوحظ انخفاض في وزن الجسم بنسبة ≤10% لدى الحيوانات المعرضة للفورم ألدهيد مقارنة مع الشاهد في تلك الدراسات التي تم ذكرها في (Addendum To The Toxicological Profile For Formaldehyde, 2010).

(2-3-3) مصادر واستخدامات الفورم ألدهيد:

تم العثور على الفورم ألدهيد في الطبيعة من عدة مصادر منها الطلاء والمواد العازلة والألواح الخشبية والأقمشة والأثاث والورق ودخان السجائر وفي الجو الملوث نتيجة للاحتراق غير الكامل للمواد العضوية والضباب الدخاني الكيميائي الحاوي على مركبات الفورم ألدهيد (Aslan, H *et al.*, 2006)، بينما تم العثور على الفورم ألدهيد على نطاق واسع في أماكن العمل نتيجة التعرض المهني للفورم ألدهيد أساساً في البيئة الصناعية من وجودها في الراتنجات الأمينية والفينولية واليوريا المستخدمة في العديد من المنتجات مثل البلاستيك والورنيش والمواد اللاصقة والأسمدة النيتروجينية والنسيج والجلود والمطاط والاسمنت (Iarc., 2006)، بالإضافة لوجوده كعامل مضاد للجراثيم في العديد من منتجات مستحضرات التجميل والشعر ومزيلات التعرق والمكياج وغسول الفم ومنتجات الأظافر (Iarc., 1995).

يستخدم الفورم ألدهيد ضمن البيئة الطبية كعنصر أساسي في تعقيم المنتجات ومادة مطهرة وحافظة، وأحد مركبات التثبيت النسيجي وسوائل التحنيط ومادة وسيطة في بعض التفاعلات الكيميائية (LaMontagne *et al.*, 2002)، وعليه فإن الأشخاص العاملين ضمن هذه البيئات هم الأكثر عرضة لمستويات عالية من الفورم ألدهيد وعلى وجه الخصوص: علماء التشريح وعلماء الأمراض وطلاب الطب عند وجودهم ضمن محاضرات التشريح أو الجلسات العملية في المختبرات (Cohen *et al.*, 1998; Sarnak *et al.*, 1999).

كما يضاف الفورم ألدهيد للغذاء بسبب خصائصه المطهرة وكمادة حافظة ولتحسين مظهر المنتج و إبقائه طازجاً (Xu *et al*., 2011)، فهو يقلل عدد الجراثيم عند إضـــافته للحليب وبالتالي تزيد فترة بقاء الحليب طازجاً(Souza *et al*., 2011; Abernethy and Higgs., 2013).

وقد تم رصـــد العديد من حالات غش الحليب باســـتخدام الفورم ألدهيد (Nascimento *et al*., 2015)، علماً أن حدود عتبة اســتخدام الفورم ألدهيد في الحليب لم يتم تحديدها من قبل الوكالات التنظيمية، لكن منظمة الصــحة العالمية تقول بأنه يمكن أن يتراوح تركيز الفورم ألدهيد في الغذاء من3 إلى 27 ملغ/كغ (Nascimento *et al*., 2015).

ومن الآثار الجانبية للفورم ألدهيد المضاف على شكل فورمالين لإطالة عمر الحليب هو منعه لتخثر الحليب لمدة 10 أيام عند اضــافته بتركيز 0.1 % كما يزيد قوة حفظ الحليب لمدة 48 ســاعة، كما يســبب تناقص أعداد الجراثيم الموجودة في الحليب على حين تختفي جراثيم مجموعة الكوليفورم تماماً بعد عدة ساعات من إضافته للحليب، وكلما ازداد تركيز الفورم ألدهيد المضاف للحليب أدى الى زيادة التأثير وتحول من تأثير مثبط إلى قاتل أو مبيد لعصـــيات جراثيم اللاكتيك، وهذا يعود لتأثيره في تكوين الجدار الخلوي والغشـــاء الســـيتوبلاســـمي والمواد النووية مما يؤدي لموت الخلايا أو قتلها(Dehlink *et al*., 2007; François., 2002).

كما تمت دراسة تأثير إضافة الفورم ألدهيد على شكل فورمالين في بعض أنواع جراثيم حمض اللبن في الحليب الخام فأظهرت النتائج أن إضـــافة الفورم ألدهيد إلى الحليب كان له تأثير واضـــح على جراثيم حمض اللبن وهذا يعتمد على قوة الجراثيم حيث كان التأثير إما مثبطاً أو مبيداً لها، وقد أعزى الباحثون (Dehlink *et al*., 2007; François ., 2002) التأثير المثبط أو المبيد للفورمالين إلى أن ميكانيكية التأثير تمر بمرحلتين الأولى تكون في البداية مثبطة في حين المرحلة الثانية تكون مبيدة أو قاتلة، إذ أن الفورمالين يؤثر في تكوين الجدار الخلوي والغشاء السيتوبلازمي والمواد النووية ويؤدي إلى موت الخلايا أو قتلها، ولكن لوحظ أيضـــاً أنه في بعض الحالات قد تتمكن بعض الخلايا من إنتاج بعض الأنزيمات التي لها القدرة على تحليل الفورم ألدهيد وتحويله إلى غاز ثنائي اوكسيد الكربون وبالتالي تسترجع الخلية قدرتها على النمو بشكل طبيعي، وبهذا يمكن استخدام مثل هذه الأنزيمات في تعطيل مفعول الفورم ألدهيد أو إبطاله وهذا

مفيد في حالة الرغبة في تحليل الفورم ألدهيد قبل وصـــول الحليب أو أحد منتجاته إلى المســـتهلك أو قبل التصنيع مباشرة(Miroslav, 2009).

في دراســة للباحث (توفيق., 2005) تضـمنت تأثير الفورم ألدهيد على خصـائص ومكونات الحليب والجبن من الناحية الميكروبيولوجية، فقد أدت إضـــافة الفورم ألدهيد للحليب أو تســـخينه بعد إضـــافة المادة الحافظة بهدف الحصـــول على جبن إلى أن العدد الكلي للجراثيم الحية كانت ذات قيم منخفضـــة في الخثرة الناتجة بينما تجربة الشـاهد التي صـنعت من حليب خال من أي مادة حافظة كانت تحتوي وهي طازجة على جراثيم الكوليفورم إضافة لوجود الخمائر والفطريات.

كما لوحظ ضعف قابلية الحليب للتخثر مع انخفاض صلابة الخثرة بإضافة الفورم ألدهيد واتضح ذلك من ازدياد وقت التخثر بالمنفحة وذلك بزيادة نسبة إضـافة المواد الحافظة، بينما كان هناك علاقة عكسية بين سرعة معدل طرد المصل من الخثرة ونسبة إضافة المواد الحافظة (توفيق, 2005).

(4-2) الدور الوقائي لمركب L ـ كارنيتين من الأثر الضار للفورم ألدهيد:

(1-4-2) ما هو مركب L ـ كارنيتين: L – Carnitine (LC)

الكارنيتين: هو المصطلح العام لعدد من المركبات المشابهة للأحماض الأمينية والتي تصنع في الجسم بكميات صغيرة من الأحماض الدهنية بالإضافة للفيتامينات مثل فيتامين B, C والتي تشمل L– كارنيتين (LC)، أسيتيل– L– كارنيتين (ALC)، وبروبيونيل– كارنيتين (PLC).

كيميائياً: الكارنيتين (C7H15NO3) هو مركب رباعي من الأمونيوم على شكل مسحوق أبيض شديد الذوبان في الماء ذو ثبات حراري جيد حتى (200 درجة مئوية) اسمه مشتق من حقيقة أنه تم عزله لأول مرة من اللحوم (كارنوس) في عام 1905، يشارك في عملية التمثيل الغذائي في معظم الثدييات والنباتات وبعض الجراثيم لدعم استقلاب الطاقة.

(2-4-2) تواجد مركب L ـ كارنيتين في الجسم:

L– كارنيتين هو الشكل الأساسي الموجود في الجسم، تتكون هذه المادة بشكل طبيعي في معظم خلايا الجسم، وخاصة في الدماغ والأنسجة العصبية والعضلات والقلب، كما يتم التصنيع الحيوي للكارنيتين بشكل أساسي في الكبد والكلى من اثنين من الأحماض الأمينية وهما الليسين والميثيونين (Jogl *et al.*, 2004).

يتراوح التخليق الحيوي للكارنيتين في البشر من 0.16 إلى 0.48 ملغ / كغ من وزن الجسم / يوم (Seim, 2001). وبالتالي فإن الشخص الذي يبلغ وزنه 70 كغ سوف يصنع يومياً ما بين 11 و34 ملغ من الكارنيتين، إلا أنه يجب أن تترافق نسبة تصنيع الكارنيتين السابقة مع كفاءة تصنيعه في الكلى بمعدل 95% لمنع نقصه في الأشخاص الأصحاء عموماً والنباتيون بشكل خاص (Shike *et al.*, 1999).

ذلك لأنه متاح وعلى نطاق واسع في الأغذية الحيوانية وخاصة في اللحوم الحمراء (Rebouche *et al.*, 2014)، كما توفر الدواجن والأسماك ومنتجات الألبان أيضًا بعض الكارنيتين (Rebouche *et al.*, 2014, Durazzo *et al.*, 2020)، بحيث يتم امتصاص حوالي 54٪ إلى 86٪ من الكارنيتين

الغذائي في الأمعاء الدقيقة ومن ثم يدخل إلى الدم، في حين أن الأغذية النباتية كالخضـــراوات والفواكه والحبوب توفر كميات ضئيلة منه.

يحتاج الجســم إلى حوالي 15 ملغ / يوم من الكارنيتين من مزيج من المصـــادر الغذائية و عمليات الاســتقلاب الداخلية (Pekala *et al*., 2011)، حيث يتركز في الأنســجة التي يتم فيها أكســدة الأحماض الدهنية (Rebouche *et al*., 2014; Borum *et al*., 2020) بحيث يتم تخزين 95% من إجمالي الكارنيتين في عضـــلات القلب والهيكل العظمي بينما يتم تخزين الباقي في الكبد والكلى (Gnoni *et al*., 2020).

(2-4-3) دور الـ L- كارنيتين في جسم الإنسان:

يلعب كل من L– كارنيتين (LC) والأسيتيل كارنيتين (ALC) عدة أدوار مهمة في جسم الإنسان ، أهمها اسـتقلاب الطاقة الذي لا يمكن أن يتم دون وجود الكارنيتين الذي يعد عامل مسـاعد أسـاسـي يعمل على نقل الأحماض الدهنية طويلة السـلسـلة إلى المتقدرات بحيث يمكن أكسـدتها لإنتاج الطاقة على شـكل أدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP) (Belay *et al*., 2006)، مما يحسن البروتين الكلي وبالتالي تخليق إنزيم مضاد للأكسدة في الخلايا بحيث توفر هذه العملية الطاقة العضلية عن طريق حرق الدهون ، كما تمنع تراكم الدهون حول الأعضـــاء الحيوية، إضـــافة لذلك يزيل الكارنتين التراكمات الســـامة للأحماض الدهنية من المتقدرات مما يحافظ على صحة هذه الأعضاء لتعمل في أفضل حالاتها (Mayes., 2003).

(2-4-4) نقص الكارنيتين:

وجد نوعان من حالات نقص الكارنيتين:

*<u>نقص الكارنيتين الأولي:</u> هو اضـطراب وراثي في نظام نقل الكارنيتين الخلوي والذي يسـبب نقصـاً في الكارنيتين داخل الخلايا، يظهر نقص الكارنيتين الأولي عادةً أثناء الرضـــاعة أو الطفولة المبكرة والذي يمكن أن يؤدي إلى الصـرع واعتلال الدماغ عند الرضـع بينما يسـبب النوبات وعدم انتظام ضـربات القلب ومشاكل التنفس لدى المراهقين والشباب، والاعتلال العضلي، واعتلال عضلة القلب، أو الموت المفاجئ عند كبار الســـن. على الرغم من أن بعض الأفراد الذين يعانون من نقص الكارنيتين الأولي ليس لديهم أعراض،

فإن جميع الأشـــخاص المصـــابين لديهم خطر متزايد للإصـــابة بفشـــل القلب والاضـــطرابات الكبدية والغيبوبة (Genetics Home Reference., 2014).

*نقص الكارنيتين الثانوي: ينتج عن اضـطرابات معينة (مثل الفشـل الكلوي المزمن) التي تقلل تخليق الكارنيتين الداخلي أو تزيد من إفرازه، أو من الاســتخدام المزمن للمضــادات الحيوية وســوء التغذية وســوء الامتصاص بعد الهضم (Stanley, 2004; Rebouche *et al*., 2014) ومن أهم أعراضه:

_ اعتلال دماغي ناتج عن فرط أمونيا الدم مما يسبب توعك ونوبات صرع ونقص الوعي.

_ نقص السـكر في الدم ونقص بوتاسـيوم الدم (انخفاض مسـتوى الكيتونات في الدم) وحمض ثنائي الكربوكسيل (زيادة تركيز أحماض ثنائي الكربوكسيل في البول).

_ فرط حمض يوريك الدم (حمض البول الزائد في الدم)، ضـعف العضـلات، بيلة الميوغلوبين (زيادة الميوغلوبين في البول)، اعتلال عضلة القلب، والموت المفاجئ (Calvani, 2004).

العلاج :

يمكن علاج نقص كل من الكارنيتين الأولي والثانوي بجرعات عالية (200–20 ملغم / كغم / يوم) من الكارنيتين التكميلي (Eknoyan *et al*., 2003; Longo *et al*., 2016; Ferreira *et al*., 2019; Borum *et al*., 2020).

كشفت دراسة أجراها (George *et al*., 2017) عن الآثار المرضية للفورمالدهيد الذي يضاف إلى الحليب كمادة حافظة على الكبد والكلى والخصـــيتين والدور الوقائي المحتمل للكارنيتين عند الأرانب، اتضح من خلال النتائج أن الفورم ألدهيد قد تسبب في تسمم كبدي في صـــورة التهاب الوريد البابي وغزو الخلايا الالتهابية لخلايا الكبد وقد تسـبب أيضاً في تسمم كلوي اتضح في تمدد أنابيب الكلى واضمحلال في الخلايا الطلائية علي الخصية فكان في صـــورة ضمور لبعض أنابيب الخصية وظهور بعض الخلايا في تجويف الخصية مع قلة عدد الحيوانات المنوية، وعندما أعطيت الحيوانات الكارنيتين لم تحدث التغيرات التي حدثت في الكبد والكلية والخصية، مما يشير إلى الدور الوقائي لاستخدام الكارنيتين للحد من التأثيرات الضارة للفورم ألدهيد.

وفي دراسة للباحث(Hussein, HA *et al*., 2012) لوحظ زيادة انخفاض وزن الجسم عند ذكور الأرانب مع زيادة تركيز الفورم ألدهيد على الرغم من أنه لم يتغير استهلاك الطعام وقد فسر انخفاض وزن الجسم نتيجة لضعف عمليات التمثيل الغذائي (Chowdhury *et al*., 1992)، بينما كان وزن حيوانات التجربة (الأرانب) أثقل في المجموعة التي تمت معاملتها بـ L- كارنيتين مقارنة بباقي المجموعات.

كما أوضحت نتائج الدراسة التي أجراها الباحث (Seleem *et al*., 2006) أن قيم كل من الزيادة اليومية فى وزن الجسم و كفاءة الغذاء للأرانب النيوزيلندية البيضاء النامية كانت أعلى معنوياً (عند مستوى 5%)، وكذلك قيم صورة الدم متمثلة فى كل من (عدد كريات الدم الحمراء و البيضاء، وتركيز الهيموجلوبين، و نسبة الهيماتوكريت)، كما سجلت مستويات إنزيمي الـ ALT و AST الدالين على نشاط الكبد زيادة معنوية (عند مستوى 5%) كنتيجة لإضافة مستحضر الكارنيتين لماء شرب الأرانب النيوزيلندى البيضاء مقارنة بغيرها التى قدم إليها ماء شرب خال من مستحضر الكارنيتين (مجموعة الشاهد).

في حين أظهرت الدراسة التي أجراها الباحثان (Mohamed and Hamad., 2011) أن مركب L- كارنيتين ذو نشاط واسع كمضاد للميكروبات ويثبط معظم الجراثيم إيجابية وسلبية الغرام، إلا أنه يحسن عمل بعض الجراثيم المفيدة الإيجابية الغرام مثل جراثيم اللاكتيك الحمضية وبالتالي يمكن استخدامها في انتاج اللبن الرائب (الزبادي) الغني بالكارنيتين مما يفيد ويزيد من العمر الافتراضي للبن الناتج.

(2-5) المعايير الكيمياحيوية:

(2-5-1) الكبد:

هو من الاعضاء المهمة في الجسم يقع أسفل الحجاب الحاجز وينقسم الى أربعة فصوص متميزة ويعد الفص الأيمن أكبر الفصوص، الفصيص الكبدي هو الوحدة الأساسية التركيبية للكبد، سداسي الشكل يحتوي على حبال كبدية متصلة هذه الحبال مكونة من خلايا كبدية كبيرة متعددة الأضلاع تحوي نواة مركزية واحدة أو نواتين تتشعع حول الوريد المركزي (Yao *et al*., 2019). كذلك يحوي على الجيبانات الكبدية التي تقع بين الحبال الكبدية والمبطنة من الداخل بالخلايا الطلائية والألياف الشبكية والخلايا الدفاعية للكبد (خلايا كوبفر البلعمية)، فيما بين أركان الفصيصات الكبدية المتجاورة مناطق تعرف بالمسافات البابية تحوي على فرع من الوريد البابي والشريان الكبدي وقناة الصفراء(Siwicki *et al*., 2021).

(2-5-1-1) أهمية الكبد:

يلعب الكبد دوراً مهماً في العمليات الفيزيولوجية مثل توازن السكر في الدم، صناعة البروتين والدهون، كما له دوراً مهماً في تصنيع وافراز الأحماض الصفراوية والفيتامينات وتخزين سكر الغليكوجين والأملاح والتخلص من السموم(Eftekhari *et al*., 2020).

وأيضا يلعب الكبد دورًا مهمًا في التمثيل الغذائي والتحول الحيوي للمركبات السامة، لذلك فإن أي نوع من الإصابة أو ضعف في وظائفه ينتج عنه تسمم كبدي ويسبب مضاعفات صحية(Hodgson, 2004)، حيث أظهرت الدراسات أن الإنزيمات الحيوية للكبد (AST,ALT) ارتبطت بشكل شائع بخلل وتلف الكبد. فإنزيم ناقلة أمين الألانين (ALT-Alanine Transminase) هو إنزيم موجود في الكبد يساعد على تحويل البروتينات إلى طاقة تستخدمها خلايا الكبد وعند تضرر الكبد يُفرز إنزيم ALT في مجرى الدم وترتفع مستوياته، وارتفاعه يعبر عن الضرر السطحي الذي يصيب الخلية في مستوى الغشاء فقط، وخاصة في حالات التهاب الكبد الحاد حيث يزداد مستواه في مصل الدم من (20إلى40) ضعف(Hayes *et al*., 1989).

أما إنزيم ناقلة أمين الأسبارتات (AST-Aspartate Aminotransferase) هو إنزيم يساعد الجسم على تكسير الأحماض الأمينية، يوجد إنزيم AST عادةً في الدم بمستويات منخفضة. وزيادة مستواه يمثل حالة الضرر العميق في الخلايا الذي يصل إلى المتقدرات، مما يسبب موت الخلايا لأن المتقدرة هي موقع توليد الطاقة كما في حالات احتشاء العضلة القلبية أو الرئة أو أمراض الكبد المزمنة(Hayes *et al.*, 1989)، وبالتالي أحد أهم مؤشرات تلف الكبد ووظيفته هو زيادة أنشطة AST و ALT في المصل.

(2-5-2) الكلية:

هي تركيب بيضوي يشبه حبة الفاصوليا تقع على الجدار الخلفي للجهة البطنية على جانبي العمود الفقري و تتكون من قشرة و لب كلوي محاطة بمحفظة من نسيج ضام، تحتوي القشرة على الكبب الكلوية (كبب مالبيكي) المكونة من شبكة من الشعيرات الدموية تسمى الكبيبة، تحيط بها محفظة باومان. أما لب الكلية يبدو شاحباً ومخططاً لاحتوائه على النبيبات والأوعية المستقيمة، ويتألف من اهرامات لبية يختلف عددها باختلاف نوع الحيوان، تمتد رؤوس هذه الأهرامات إلى الحوض الكلوي مكونة الحليمات(Hu *et al.*, 2000).

بالمشاهدة المجهرية للنسيج الكلوي فهو يتكون من عدد كبير من الوحدات الكلوية التي تدعى الكليون أو النيفرون ونبيبيب ملتف قريب متصل بالكبة الكلوية عند قطبها البولي يليه عروة هانلي ومن ثم النبيبيب الملتف البعيد الذي يتواصل إلى النبيبات الجامعة التي تتجمع لتكون أنابيب جامعة كبيرة تدعى بقنوات بلليني داخل الحليمات الكلوية (Hall, 2016).

تؤدي الكلية دورًا مهم في تنظيم مكونات وحجم السائل خارج خلوي وبذلك تحافظ على توازن البيئة الداخلية للجسم من خلال طرح بعض المواد في البول بكميات تلائم حالة الجسم(Hall, 2016). وهذه المواد لا تقتصر على نواتج الفضلات والمركبات الغريبة وإنّما تشمل العديد من المواد المفيدة للجسم المتواجدة بشكل مفرط؛ نتيجة الأكل والشرب أو الاستقلاب (Wu *et al.*, 2017).

وتنجز الكلى العديد من الوظائف الحيوية للجسم (Abbiss *et al.*, 2019) من أهمّها:

١. تنظيم الضغط الأسموزي للسوائل الجسمية يتم الكشف عنه بواسطة مستقبلات أسموزية، فيتم تنظيم الضغط عن طريق الطرح الاسموزي أو تركيز البول للمحافظة على الاتزان الداخلي للمحتوى المائي للكائن الحي.

٢. تنظيم تركيز عدد من الأيونات في بلازما الدم من ضمنها Na^+ ، K^+، Ca^{--}، Mg^-، Cl^-.

٣. تعمل على تنظيم حجم السائل خارج خلوي عن طريق السيطرة على طرح+Na وH_2O.

٤. تساعد على تنظيم الضغط الدمويّ الشريانيّ بوساطة تنظيم طرح Na^+ وإنتاج أنزيم الرينين Renin الذي يتحكم بمستوى ضغط الدم.

٥. تقوم الكلى بطرح منتجات الاستقلاب من ضمنها اليوريا Urea التي تحوي على النتروجين الناتج عن استقلاب البروتينات، وحمض البول Uric acid الناتج النهائي لاستقلاب البيورين، والكرياتينين الناتج النهائي للاستقلاب في العضلات.

(1-2-5-2) مؤشرات السمية الكلوية:

(1-1-2-5-2) البولة BUN -Blood Urea Nitrogen:

يشير **(BUN)** إلى كمية النتروجين التي تظهر في الدم على شكل يوريا بسبب منتجات الاستقلاب، ويتم استعماله لمعرفة إذا كان هناك فضلات نتروجينية فائضة في مجرى الدم والتي من المفترض أن يتم ترشيحها في الكلى. وأن فشل الكلى في ترشيح اليوريا الفائضة من أهم أعراض مشاكل الكلى، إذ أنّ زيادة المركبات النتروجينية في الدم تؤدي إلى ما يسمى بتبولن الدم **uremia** (Andreucci *et al*., 2017).

أسباب ارتفاع مستويات البولة في مصل الدم (Heung and Chawla., 2012; Bao *et al*., 2018):

- نقصان الجريان الدموي إلى الكلى.
- الجفاف .
- السميّة الكيميائية ومن ضمنها الأدوية كالمضادات الحيوية ومضادات الإلتهاب غير الستيروئيدية.

•الصـــبغات داخل وريدية التي يتم حقنها في مجرى الدم خلال إجراء فحوصـــات إشـــعاعية لإظهار الصورة الشعاعية بوضوح مثل الرنين المغناطيسي أو أشعة X حيث تؤدي هذه الصبغات إلى الفشل الكلوي إذا أعطيت بالتزامن مع أدوية تؤثر على الكلى.

•أمراض القلب كفشل عضلة القلب أو الذبحة الصدرية.

•تناول غذاء ذو محتوى بروتيني عالي.

•داء السكر والذي يسبب أمراض النفرون السكرية.

(2-5-2-1-2) الكرياتينين CREA-Creatinine:

يظهر الكرياتينين في مصـــل الدم نتيجة تحطم الكرياتين من قبل الجســـم لإنتاج الطاقة اللازمة للعضـــلات، والكلى عادة لها القدرة على ترشـــيح الجزيئات الكبيرة من الكرياتينين يومياً لكن في حالة حدوث اضـطرابات صـحية في الكلى فإنّ مسـتوى الكرياتينين في مصـل الدم سـوف يزداد مشـيراً إلى حدوث ضرر في الكلى (Wasung *et al*., 2015).

(2-5-3) الأمعاء:

تمتد الأمعاء الدقيقة من النهاية البوابية للمعدة وحتى منطقة اتصال الأمعاء الدقيقة بالقولون والأعور، تلتف وتشكل سلسلة من العروات المعوية التي تتوضع داخل تجويف البطن، وتقسم الى ثلاث أجزاء الاثني عشـــر والمعي الدقيق الداني(الصـــائم) والمعي الدقيق القاصـــي (اللفائفي) (Cunningham and Klein., 2007).

إن التركيب النســـيجي متماثل على طول امتداد الأمعاء ، فالقناة المعوية تبدو بالتشـــريح المجهري كأنبوب مبطن بطبقة تدعى المخاطية تتكون من ظهارة شـــديدة التمايز يحيط بها و يدعمها نســـيج ضام رخو، تليها الطبقة تحت المخاطية المكونة من نسيج ضام كثيف غير منتظم ثم الطبقة العضلية المكونة من العضـلات الملساء التي تنتظم في طبقتين خارجية طولانية وداخلية دائرية يتخللهما أوعية دموية ولمفاوية وضـفائر عصـبية ذاتية، ومن الخارج توجد الطبقة المصـلية و هي عبارة عن نسـيج ضـام رخو يغطى بظهارة حرشـفية بسـيطة تدعى الظهارة المتوسـطية(Gadelha-Alves *et al*., 2008)، تنتظم ظهارة الـــأمعاء الدقيقة في طبقة واحدة من خلايا عمودية (اسطوانية) امتصـاصـية تدعى الخلايا الامتصـــاصـــية المعوية يتخللها خلايا متخصـــصـــة بإفراز المخاط تدعى الخلايا

الكأسية(Mohamed *et al*., 2019)، تتموضع الظهارة ضمن طيات تدعى الزغابات المعوية وقد وصفها(Kadadi, 2012) بأنها عبارة عن انطواءات اصبعية الشكل تعمل على زيادة سطح امتصاص الغذاء وافراز الأنزيمات، وتتصف أنها عديمة النفاذية للجراثيم والجزيئات الكبيرة، فالخلايا المعوية ترتص بشدة معاً عبر موصلات سادة تربط أغشيتها الجانبية بإحكام، كما توجد بين الزغابات فتحات صغيرة من الغدد الأنبوبية البسيطة تسمى الغدد المعوية (خبايا ليبركون)، حيث ذكر (Al-Shamary *et al*., 2017) أن خبايا ليبركون عبارة عن غدد أنبوبية بسيطة تسمى الغدد المعوية تمتد من الغشاء المخاطي العضلي حتى قواعد الزغابات، وتكون مبطنة بظهارة عمودية بسيطة. توجد داخل الزغابة وتحت الخلايا الظهارية الصفيحة الخاصة المكونة من نسيج ضام رخو، تحوي شعيرات دموية وألياف عضلية ملساء وألياف عصبية، تقوم الشعيرات الدموية بإيصال تيار الدم لقاعدة الخلايا الظهارية التي تشكل طبقة تفصل لمعة الأمعاء عن تيار الدم (Al- Baghdady et al., 2012). يعتمد التمييز بين أجزاء الأمعاء الدقيقة على وجود غدد مخاطية في الطبقة تحت المخاطية للاثني عشر تدعى غدد برونر، ووجود عقيدات لمفاوية كبيرة في الطبقة تحت المخاطية والصفيحة الأساسية في اللفائفي تدعى لطخات باير (Calamar *et al*., 2014).

(2-5-4) الدم :

هو نسيج متخصص يتألف من خلايا وصفيحات وسائل يسمى البلازما، يدور في الجسم ضمن جهاز مغلق الأوعية ناقلاً الغذاء والفضلات والهرمونات والغلوبيولينات المناعية والشوارد الكهربائية وكثير من المواد (Ganong., 2003).

خلايا الدم نوعين: كريات الدم الحمراء وخلايا الدم البيضاء والصفائح الدموية.

- **كريات الدم الحمراء:** هي أقراص دائرية الشكل مقعرة الوجهين غير منواة، لونها أحمر لوجود مادة الهيموغلوبين المكون من بروتين وحديد والذي يقوم بالتقاط الأوكسجين من الرئة متحداً معه مكوناً أوكسي هيموغلوبين ليوزعه على أنسجة الجسم المختلفة، واستبداله بغاز ثاني أوكسيد الكربون الذي يتحد معه مكوناً كاربوكسي هيموغلوبين(Hall *et al*., 1996; Garg., 2005) ويشار إلى نسبة

خلايا الدم الحمراء في الدم باسم **الهيماتوكريت** أو حجم الخلايا المكدسة، وعادة ما تكون 45% من الحجم الكلي للدم(Michael *et al*., 2006).

- **الخلايا البيضاء**: عددها أقل من الكريات الحمراء، وتشكل جزءاً من جهاز المناعة في الجسم فهي التي تقوم بتوفير الحماية للجسم من الأمراض بإنتاج الأضداد ومهاجمة المواد الغريبة وتدمير وإزالة الخلايا القديمة أو الشاذة والحطام الخلوي. (Ganong., 2003) وتقسم إلى مجموعتين حسب مظهر السيتوبلازما وشكل النواة (LaFleur-Brooks, 2008):

1-الخلايا المحببة: وتشمل الخلايا الحبيبية(العدلات) والخلايا الحمضة(الحمضيات) والخلايا الأسسة(القاعدية). تعد العدلات أكثر الخلايا الحبيبية عدداً وهي خلايا كروية نواتها مفصصة، وهي خلايا بلعمية شرهة حيث تخرج من الدم عند الحاجة لتدخل في النسيج الضام مكونة خط الدفاع الأول في حالات الالتهاب الحاد. أما الحمضات نواتها ثنائية الفصوص وتحتوي حبيباتها على خمائر حالة تقوم بإبطال مفعول الطفيليات وقتلها، في حين القاعدية هي الأقل عدداً تفرز الهيستامين والهيبارين ولها قدرة بلعمية محدودة وبالتالي تلعب دوراً في الاستجابة المناعية غير النوعية ضد مسببات الأمراض (Guyton and Hall., 1996).

2-الخلايا غير المحببة: فهي الخلايا اللمفية والخلايا وحيدة النواة (Budde *et al*., 1996)

خلايا الدم اللمفاوية: هي خلايا كروية صغيرة ذات نواة لامركزية (بائية B هي التي تتمايز إلى خلايا مصورية تفرز الأجسام المضادة و بالتالي تلعب دوراً في الاستجابة المناعية الخلطية، في حين التائيةT هي المسؤولة عن المناعة المتوسطة بالخلايا ولها دور في التعرف على بعض مسببات الأمراض وقتلهم)، أما الخلايا وحيدة النواة فهي كريات الدم البيضاء التي يتمثل دورها في تنظيف الخلايا الميتة في الجسم .

- **الصفيحات الدموية:**

هي قطع خلوية كروية أو بيضوية الشكل توجد في الدم ويتم انتاجها في نخاع العظم (Italiano *et al*., 2014) لها منطقة مركزية كثيفة لتواجد حبيبات تحتوي على الفيبرينوجين والثرمبوبلاستين، أما حافتها فتكون شاحبة. تتكسر الصفيحات عند ملامستها للهواء بحيث تسبب تجلط الدم عند

النزيف، لهذا دورها الرئيسي هو تحويل المادة البروتينية السائلة الموجودة في الدم وهي الفيبرينوجين إلى مادة صلبة تسمى الفيبرين وخيوط متصلبة تتجمع حول السطح الجلدي لتمنع خروج الدم من الجلد (Andrews *et al*., 2005).

الفصل الثالث

المواد والطرائق

MATERIAL & METHODS

(1-3) مواد البحث:

(1-1-3) حيوانات التجربة:

استخدم في التجربة أربع وعشرون ذكراً من الأرانب البالغة / المتقاربة من حيث العمر والوزن / تم الحصول عليها من مركز بيع للحيوانات الأليفة في مدينة حماه وتتبع السلالات المحلية تم تقسيمهم إلى أربع مجموعات في كل مجموعة ستة أرانب تم وضعها ضمن أقفاص فردية مزودة بمصدر للماء والعلف الموجودان بشكل دائم وحر، وفيما يلي مستلزمات التجربة الخاصة بالأرانب:

ـ ميزان حساس.

ـ حليب أغنام خام كامل الدسم.

ـ علف مركب (جاهز حلوب): وهو من انتاج المؤسسة العامة للأعلاف (بروتين 16% _ طاقة 60% _ رطوبة 13% _ أملاح 12%).

ـ الفورم ألدهيد. وهو من انتاج (Oman Formaldehyde chemical Co., Llc- Oman)

ـ مركب L– كارنيتين: وهو من انتاج (Sino-Strong (Xiamine) CO., Ltc- China)

ـ محاقن بلاستيكية سعة 5 مل.

ـ بيشر زجاجي عدد /2/ سعة 50 مل.

ـ جهاز ميكروبيبيت.

(2-1-3) المواد اللازمة لتحليل التركيب الكيميائي للحليب:

ـ عبوات بلاستيكية معقمة مجهزة بسدادات بلاستيكية محكمة سعة /25/ مل لزوم جمع عينات حليب الأغنام العواس.

ـ جهاز تحليل الحليب الحقلي (Lactoscan) وهو من انتاج (Milkotronic Ltd- Bulgaria)

(3-1-3) المواد اللازمة لاختبارات تخثر الحليب:

ـ أنزيم المنفحة (Hawzer Rennet Tablet) منفحة نباتية على شكل بودرة لصناعة الجبن بقوة 100000/1) لزوم التخثر الإنزيمي للحليب وهي من انتاج (شركة الصعيدي، سوريا، دمشق).

_ بادئ بكتريا اللاكتيك (Latic Culture) وتعرف باسم مزارع الزبادي كونها مخصصة بصنع اللبن الرائب، وهي من صنع شركة (My Starter Culture) لزوم التخثر الحامضي للحليب.

ـ حمض كلور الماء لزوم التخثر الحامضي.

ـ جهاز مقياس درجة الحموضة (Ph meter).

(4-1-3) المواد اللازمة للزرع الجرثومي للحليب:

ـ عبوات بلاستيكية معقمة مجهزة بسدادات بلاستيكية محكمة سعة /25/ مل لزوم جمع عينات حليب الأغنام العواس .

ـ أطباق بتري بلاستيكية معقمة بقطر 9سم.

ـ منبت الآجار المغذي (Nutrient Agar– من شركة Hi Media)

ـ جهاز ميكروبيبيت.

ـ خلاط مغناطيسي.

ـ جهاز الموصدة (الأوتوغلاف).

ـ حاضنة جرثومية.

ـ ماء مقطر (DW).

(5-1-3) المواد اللازمة للفحص النسيجي:

ـ كحول مطلق / 100% / خاص بالزرع النسيجي.

ـ شمع البارافين.

ـ صبغة الهيماتوكسيلين.

ـ صبغة الأيوزين.

ـ محلول الزايلول.

ـ حمض البيكريك.

ـ الفورمالين المركز.

– محلول الفورمالين 10%.

ـ جهاز المشراح (microtome).

ـ مجهر ضوئي.

ـ شرائح وسواتر زجاجية.

(3-1-6) المواد اللازمة لاختبارات الدم:

ـ محاقن بلاستيكية سعة /3/ مل.

ـ أنابيب اختبار سعة /5/مل خالية من الهيبارين.

ـ أنابيب اختبار سعة /5/مل مزودة بمانع تخثر(EDTA).

ـ عتيدة خاصة بإنزيمات الكبد (AST – ALT).

ـ عتيدة خاصة باختبارات وظائف الكلى (الكرياتينين – البولة).

ـ جهاز التعداد الآلي (Hematology Analyzer) وهو من صنع (Diagon Ltd, D- Cell 60, Hungary).

ـ جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) وهو من صنع (Biolabo Diagnostics, France)

ـ جهاز كيمياء الدم وهو من صنع (RA-50 Chemistry Analyzer, Technicon, England).

ـ جهاز الطرد المركزي (مثفلة).

(3-2) طرائق البحث:

(3-2-1) مكان تنفيذ التجربة:

تم تنفيذ التجربة في مركز بحوث حماه حيث تم تأمين أربع وعشـــرون ذكراً بالغاً من الأرانب من مركز لبيع الحيوانات الأليفة من السلالات المحلية في مدينة حماه، تتراوح أعمارها بين 6–7 شهور بأوزان تقدر بـــشكل وسطي(2.15± 0.25 كيلوغرام)، تم وضـع حيوانات التجربة في أقفاص فردية أبعادها(60*50*40 سم) مزودة بمصـدر للماء والعلف المركز المتوفران بشـكل حر، بقيت الحيوانات لمدة 10 أيام للتأقلم مع الظروف المناخية الطبيعية ضـمن غرفة التجربة، خلالها تم ترقيم الأقفاص من رقم 1–24 حيث أن أرانب التجربة من 1–12 لم تعطى أي جرعة من حليب الأغنام العواس، بينما أعطيت الأرانب من رقم 13–24 جرعات متزايدة

من حليب الأغنام العواس ليتم تعويدها على نكهته والوصـــول الى الجرعة اليومية منه كما هو محدد في مخطط التجربة لتستمر التجربة فيما بعد لمدة 3 أشهر.

(3-2-2) تصميم التجربة:

وزعت حيوانات التجربة (الأرانب) إلى أربع مجموعات متساوية كل مجموعة ستة أرانب (n=6) كما يلي:

المجموعة الأولى (1): وهي مجموعة الشـــاهد (CG) وأعطيت الأرقام من 1-6 وقدم لها العلف المركز والماء فقط.

المجموعة الثانية (2): وهي مجموعة الكارنيتين (CA) وأعطيت الأرقام من 7-12 حيث قدمت لها مادة الـــ L- كارنيتين بمعدل 250 ملغ/كغ من وزن حيوانات التجربة (Stvolinsky and Dobrota, 2000) وذلك بعد وزن المادة بالميزان الحساس وتعبئتها ضمن كبسولات دوائية ليتم تجريعها عن طريق الفم.

المجموعة الثالثة (3): وهي مجموعة الفورم ألدهيد + L - كارنيتين (FA+CA) حيث تم إعطاء الأرقام من 13—18 لحيوانات التجربة التي أعطيت الحليب المضـــاف له الفورم ألدهيد بتركيز أعلى من 0.026 ملغ /كغ من وزن الحيوان (Material Safety Data Sheet) وحددت بـ 0.1 ملغ/ كغ من وزن حيوان التجربة مع مادة الـ L- كارنيتين بمعدل 250 ملغ / كغ من وزن الحيوان (Stvolinsky and Dobrota, 2000).

المجموعة الرابعة (4): وهي مجموعة الفورم ألدهيد (FA) حيث تم إعطاء حيوانات التجربة ذوات الأرقام من 19-24 الحليب المضـــاف لـه الفورم ألـدهيد بتركيز أعلى من 0.026 ملغ /كغ من وزن الحيوان (Material Safety Data Sheet) وحددت بـــ 0.1 ملغ/ كغ من وزن الحيوان بحيث قدرت الجرعة اليومية بـ /10مل/ حليب يومياً وزعت على جرعتين (5 مل صباحاً و5 مل مساءً) وذلك بهدف احداث تسمم تحت مزمن بالفورم ألدهيد (Makowski *et al*., 2009).

(3-2-3) اختبارات الحليب:

(3-2-3-1) تحليل التركيب الكيميائي للحليب:

تم تأمين حليب الأغنام اللازم للتجربة من مركز البحوث العلمية الزراعية في حماه وتحضـــير /3/ معاملات من حليب الأغنام العواس بمعدل /5/ مكررات لكل معاملة (بحجم20 مل) كما يلي:

أ- معاملة حليب أغنام عواس خام خالٍ من أي إضافات.

ب- معاملة حليب أغنام عواس مضاف إليه الفورم ألدهيد بنسبة1 .0 ملغ/كغ.

ت- معاملة حليب أغنام عواس مضاف إليه الفورم ألدهيد بنسبة1 .0 ملغ/كغ + L- كارنيتين بنسبة 250 ملغ / كغ.

تم التحليل الكيميائي لتركيب الحليب للمعاملات الثلاث باستخدام جهاز تحليل الحليب (LactoScan) وذلك بأخذ عينة من الحليب تقدر بـــ (8مل) توضع ضمن عبوة خاصة بالجهاز بعد أن يتم تشغيل الجهاز وضبط نوع الحيوان المراد قياس التركيب الكيميائي للحليب المنتج منه، يسحب الجهاز جزء من العينة وننتظر أقل من دقيقة لتظهر القراءات لهذه المكونات على شاشة الجهاز ويتم تكرار العملية 3 مرات ومن ثم يتم أخذ المتوسط للقراءات الثلاث لكل عينة وتسجيل النتائج أصولاً.

(3-2-3-2) اختبار التخثر الحامضي للحليب بواسطة البادئ:

تم إجراء هذا الاختبار لتحديد زمن التخثر بدءاً من إضافة البادئ (Lactic Culture) ومن ثم تحديد لون ومواصفات الخثرة الناتجة في كل من المعاملات المذكورة سابقاً كما يلي:

- تم تحضير /5/ مكررات من كل معاملة وبحجم 100 مل لكل مكرر من الحليب الذي تم تحضيره سابقاً مع قياس درجة (pH) الحليب لكل عينة ثم بسترة العينات على حرارة 72 مْ لمدة 15 ثانية.
- تبريد العينات السابقة إلى حرارة 40 مْ.
- إضافة البادئ بنسبة 3% لكافة العينات.
- تحضين العينات السابقة على حرارة 40 مْ.
- مراقبة العينات وتسجيل الملاحظات الخاصة بتحديد زمن التخثر باستخدام الجس بمحرك زجاجي ومتابعة اكتمال تشكل الخثرة ليتم تحديد لونها ومواصفاتها.

(3-2-3-3) اختبار التخثر الإنزيمي للحليب باستخدام أنزيم المنفحة:

تم إجراء هذا الاختبار لتحديد زمن التخثر بدءاً من إضافة المنفحة ومن ثم تحديد لون ومواصفات الخثرة الناتجة في كل من معاملات حليب الأغنام العواس المذكورة سابقاً مع قياس درجة (pH) الحليب لكل معاملة كما يلي:

- تم تحضـــير /5/ مكررات من كل معاملة من المعاملات وبوزن /5/ كغ لكل مكرر مع قياس درجة (pH) الحليب لكل معاملة ثم أضيف أنزيم المنفحة بنسبة 0.2غ/5كغ حليب حسب توصيات الشركة المصنعة.
- تم تحضين العينات بدرجة حرارة 37 مْ ومراقبة كل عينة حتى يتم التخثر.
- تم تقطيع الخثرة وكبســها ومراقبة خروج المصـــل حتى اكتمال تشـــكل الخثرة لإمكانية تحديد لونها ومواصفاتها.

(3-2-3-4) اختبار التخثر الحامضي للحليب باستخدام حمض كلور الماء:

تم تحضـــير /5/ مكررات من كل معاملة وبحجم 10 مل لكل مكرر من الحليب الذي تم تحضـــيره سـابقاً وإضـافة حمض كلور الماء حتى الوصـول لدرجة pH = 5.2 ومن ثم التسـخين ضـمن حمام مائي ومراقبة العينات لتحديد زمن التخثر باستخدام الجس بمحرك زجاجي وتم تسجيل النتائج أصولاً.

(3-2-3-5) الزرع الجرثومي للحليب:

تم تقدير الحمولة الجرثومية في مخبر خاص بمدينة حماه بهدف حساب متوسط التعداد العام للجراثيم في معاملتي الحليب (حليب أغنام خام، حليب أغنام مضاف له الفورم ألدهيد بنسبة1 .0 ملغ/كغ) وذلك بالزرع على منبت الآجار المغذي بشكل مباشر وبعد 24 و48 ساعة من تحضير المعاملات من خلال اجراء التخفيفات العشرية المتسلسلة (10/1) في أنابيب اختبار تحوي /9/مل ماء الببتون و/1/ مل عينة في الأنبوب الأول ثم ينقل 1مل من الأول إلى الأنبوب الثاني وهكذا حتى الوصول إلى التخفيف المطلوب وأهمل1مل الأخير منه (ISO, 2017)، يوزع /1/ مل من كل تخفيف على طبق بتري ويتم التحضين لمدة 24 ساعة على الدرجة 37مْ، واختبرت الأطباق التي يتراوح عدد مستعمراتها بين 30-300 مستعمرة وتم حساب عدد المستعمرات النامية وتم حساب العدد الكلي للجراثيم الملوثة للعينات من عدد المستعمرات في كل طبق مضروباً بمقلوب التخفيف ويقاس بواحدة CFU (وحدة مشكلة للمستعمرة الجرثومية Colony- forming unit) (Ranjan, 2007).

(3-2-4) الاختبارات الدموية:

تم أخذ عينات الدم من حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً خلال فترة التجربة التي استمرت (90) يوماً باستخدام محقن /3 ملم/ من الوريدان / الأذني أو الفخذي/ ويتعلق ذلك حسب ظهور أو انعدام الوريد ليتم مايلي:

(3-2-4-1) اختبارات نشاط إنزيمات (ALT،AST):

- تم جمع عينة الدم باستخدام أنبوب خالٍ من مانع تخثر.
- تم تثفيل العينات لمدة 20 دقيقة، بسرعة 3000 دورة / دقيقة للحصول على مصل دم يتم سحبه باستخدام جهاز الميكروبايبيت ويوضع ضمن أنبوب ابندورف ليصبح جاهز للاختبار.
- تم تحضير محلول التمديد والعينة حسب طريقة العمل للشركة المصنعة للمادة (Human,Germany) ومن ثم تم استخدام ماصة ميكروية لسحب 450 ميكروليتر من الماء المقطر أو محلول فيزلوجي ووضع ضمن أنبوب مدرج ثم أضيف إليه 50 ميكروليتر من الكاشف لتصبح نسبة التمديد 10/1، تترك لمدة 15 دقيقة بدرجة حرارة المخبر يضاف له العينة كما تم تحضيرها سابقاً.
- تم ضبط الزمن والحرارة (37 ْم) على جهاز المطياف الضوئي ثم تم ضغط زر القراءة (Read) بحيث تستمر القراءة لمدة /4/ دقائق والنتيجة التي يتم الحصول عليها يتم ضربها بـ 10 حسب نسبة التمديد للحصول على النتيجة الصحيحة.

(3-2-4-2) اختبارات وظائف الكلى (CREA, BUN):

- تم جمع عينة الدم باستخدام أنبوب خالٍ من مانع تخثر وتثفيلها لمدة 5 دقائق، بسرعة 1000 دورة / دقيقة للحصول على مصل دم يتم سحبه باستخدام ماصة ميكروية ويوضع ضمن أنبوب ابندورف ليصبح جاهز للاختبار.
- تم تحضير مزيج اختبار البولة ومزيج اختبار الكرياتينين حسب طريقة العمل للشركة المصنعة للمادة (BioSystems, Spain). تم غسيل الجهاز بالماء المقطر قبل اجراء الاختبار ثم تقوم الماصة الخاصة بالجهاز بسحب الكمية المطلوبة للاختبار ومن ثم الانتظار لحين ظهور النتيجة وقراءتها على شاشة الجهاز (Chemistry Analyzer RA-50).

(3-2-4-3) اختبار تحليل صورة الدم الكاملة: Complete Blood Count (CBC)

ـ تم أخذ عينة الدم في أنبوب اختبار حاوي على مانع تخثر EDTA وتم رج الأنبوب بشكل جيد ليمتزج الدم بشكل كامل مع مانع التخثر.

ـ نجعل ماصة الجهاز تصل إلى قاعدة الأنبوب بحيث تمتص الدم بشكل صحيح مع الضغط على الزر الموجود خلف الماصة حتى نسمع صوت الجهاز الذي يعلمنا باكتمال عملية سحب الدم في الماصة ثم نخرج الأنبوب مباشرة.

ـ يقوم الجهاز لحساب مكونات الدم الخلوية لكل عينة ويستغرق دقيقة تقريباً ومن بعدها ننتظر حتى اكتمال القراءة وطباعة النتيجة.

(3-2-5): قياس الوزن الحي والتشريح المرضي للأرانب:

ـ تم قياس الوزن الحي لأرانب التجربة في بداية التجربة قبل تجريع الحيوانات أي مادة دوائية ومن ثم تم الوزن بشكل دوري كل /15/ يوماً خلال ثلاثة أشهر (مدة التجربة).

ـ في نهاية فترة التجربة تم تشريح أرانب التجربة في المجموعات الأربع وأخذ منها عينات من الأعضاء الداخلية (الكبد، الكلى، الأمعاء) بعد غسل الأعضاء بمحلول ملحي فيزيولوجي ليتم حفظها في محلول الفورمالين الدارئ /10 %/ (Buffered formalin) من أجل تحضير المقاطع النسيجية ودراسة التغيرات الطارئة على الأنسجة.

(3-2-5-1) مراحل تحضير المقاطع النسيجية:

ـ **التثبيت:** أخذت قطع نسيجية (عينات) من الأمعاء الدقيقة والكبد والكلى وحفظت بمحلول الفورمالين الدارئ ١٠% لمدة ٧٢ ساعة ثم تم غسلها بالماء الجاري لمدة ساعتين ثم وضعت في جهاز الإدماج حيث خضعت للعمليات التالية:

١-التجفيف: بتمرير العينات النسيجية عبر محاليل ذات تراكيز تصاعدية من الكحول بهدف سحب الماء من النسيج كما يلي:

1. كحول 60 % لمدة ساعتين.
2. كحول 70 % لمدة ساعتين.

3. كحول 80 %لمدة ساعتين.
4. كحول 90%لمدة ساعتين.
5. كحول 95%لمدة ساعتين.
6. كحول 95%لمدة ساعتين.
7. كحول 100%لمدة ساعتين.

٢-التروبق: غمرت العينات في محلول الترويق وهو الزايلين Xylene لمدة ساعتين وذلك لإزالة محاليل التجفيف.

٣-التشـريب: تم بواسـطة هذه العملية إحلال شـمع البرافين المنصـهر مكان محلول الترويق وذلك بوضـع العينات في خليط من شـمع البرافين المنصـهر مع محلول الترويق لمدة سـاعتين، ثم نقلت العينات ووضعت في شمع البرافين المنصهر لمدة ساعتين.

4-تحضـير قوالب البرافين: تم صـب قليل من البرافين المنصـهر في قالب معدني (سـتانلس سـتيل) عمقه 0.5 سم ثم وضعت العينات فيه بشكل عمودي (لضمان الحصول على كامل طبقات العضو عند القطع) وتثبت العينة بالملقط لفترة قصـيرة على وضـعها العمودي لحين تصـلب الشـمع ثم أُطبق على القالب المعدني بقالب بلاسـتيكي، ليملأ كامل القالب البلاسـتيكي من الأعلى بشـمع البرافين المنصهر، ثم تركت القوالب حتى تتصلب لتنزع بعدها القوالب البلاستيكية الحاوية على العينة بسهولة من القوالب المعدنية.

5-التقطيع: تم تقطيع العينات باستخدام المشراح اليدوي microtome حيث تم تثبيت القالب الحاوي على العينة في المشراح وضبطت سماكة المقطع لتكون ٤ميكرون، فحصلنا على شريط متسلسل (فيلم) من المقاطع النسيجية بسماكة ٤ميكرون، وضعت في ماء دافئ (٥٦مْ) حتى تستوي المقاطع بشكل جيد ثم تم تحميلها على شرائح زجاجية لتصبغ فيما بعد بالهيماتوكسيلين والأيوزين (H&E) كمايلي: يزال البارافين بوساطة الزايلين لمدة (2دقيقة)، ثم يزال الزايلين بالكحول المطلق(2دقيقة)، ثم تغطى الشريحة بكحول90% (1دقيقة)، وكحول70%(1دقيقة)، ثم تغسل بالماء المقطر لتغمس فيما بعد بمحلول الهيماتوكسيلين (10-5دقائق). يتم غسل الشريحة بالماء العادي(5-10دقائق)، ومن ثم

بالماء المقطر لتغمس الشـــريحة بالأيوزين(1دقيقة)، ثم توضـــع في كحول70%، وتجفف في كحول90% (1دقيقة)، وكحول مطلق (2دقيقة) وتروق في الزايلين(2دقيقة). أخيراً يتم وضـــع قطرة من بلسم كندا وتغطى الشريحة بساترة لتصبح جاهزة للفحص بالمجهر الضوئي.

(6-2-3) التحليل الإحصائي:

تمت جدولة البيانات التي تم تسجيلها باستخدام كل من البرامج التالية (Spss, V 27- Minitab, V21- Excel, Office 21) لحساب النسب المئوية، المتوسط الحسابي والانحراف المعياري حيث تم تحليل بيانات التجربة بطريقة تحليل التباين أحادي الاتجاه (One way – Anova) لبيان الفروقات المعنوية بين المعاملات وتحليل التباين للقياسات المتكررة (Data Analysis Repeated Measures).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

RESULTS

and

DISCUSSION

النتائج والمناقشة

Results And Discussion

(4-1) اختبارات الحليب:

(4-1-1) تحليل التركيب الكيميائي للحليب:

أظهرت النتائج المشار إليها في الجدول /1/ عند التحليل الكيميائي لمكونات الحليب انخفاضاً طفيفاً وسريعاً في نسبة دهن الحليب عند إضافة الفورم ألدهيد بنسبة 0.1 ملغ/كغ مقارنة مع الشاهد، وهذا يتوافق مع (Marquering *et al*., 1972)، بينما أفاد الباحث (Neelam *et al*., 1992) بعدم وجود أي تغير في نسبة دهن الحليب المقاس بجهاز ميلكو سكان (MilkoScan)، وقد أشار الباحثان Bajaj and Rai., (1992) بوجود تباين في تقدير قيم الدهون عند إضافة الفورم ألدهيد كمادة حافظة للحليب، وأيضاً لدى استخدام طريقة جربر لتقدير قيمة الدهن في الحليب لاحظ بعض الباحثين (Ranvir *et al*., 2015) وجود قيم منخفضة للدهن في عينات الحليب المعالجة بالفورم ألدهيد، بينما أفاد (Karmakar and Ghatak., 1995; Karmakar and Ghatak.,1997) بعدم وجود أي تغيير بتلك القيم.

كذلك الأمر عند إضافة مركب L – كارنيتين للحليب بوجود أو عدم وجود الفورم ألدهيد لوحظ انخفاض في نسبة الدهن (6.75،6.61) مقارنة مع الشاهد (7.11) إلا أنه عند مشاركة الفورم ألدهيد لمركب الـ L – كارنيتين كانت نسبة الدهن في الحليب (6.75) أقرب للشاهد، وهذا ما توافق مع نتائج الباحثين (Meyer *et al*, 2020) الذين لاحظوا انخفاض دهن الحليب عند أبقار التجربة نتيجة تغذيتها على مركب L – كارنيتين، وكذلك توافقت هذه النتيجة مع (Ramanau *et al*., 2004, Birkenfeld, 2006, Ringseis *et al*., 2018) الذين قاموا بدراسة تأثير إضافة مركب L – كارنيتين للعليقة خلال فترة الحمل على تركيب حليب الخنازير مما سبب انخفاض نسبة الدهن في السرسوب (اللبأ) خلال فترة الرضاعة الأولى مقارنة مع مجموعة الشاهد (الضابطة) التي لم تغذى على الكارنيتين.

أما فيما يتعلق بالبروتين فقد وجد انخفاض بسيط في قيمة بروتين عينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد مقارنة مع الشاهد وهذا يتوافق مع (Bajaj and Rai, 1993)، حيث أفاد بأن الفورم ألدهيد أثر سلباً على محتوى الحليب من البروتين الذي تم قياسه بطريقة لاوري (Lowry) بسبب تفاعل الفورم ألدهيد مع التيروزين، بينما أبلغ كل من (Bansal., 1989; Neelam *et al*., 2014) بعدم وجود تغير في البروتين المقدر بطريقة كلداهل عند إضافة الفورم ألدهيد كمادة حافظة للحليب.

لوحظ عند إضافة مركب L – كارنيتين للحليب ارتفاع نسبة البروتين في الحليب(4.69) وهذا ما اتفق مع نتائج الباحثين (Ramanau *et al*., 2004, Birkenfeld., 2006, Ringseis *et al*., 2018) الذين قاموا بدراسة تأثير إضافة مركب L – كارنيتين للعليقة خلال فترة الحمل على تركيب حليب الخنازير مما سبب ارتفاع بروتين الحليب وخاصة في الفترة الأولى بعد الولادة، بينما اختلفت نتائج هذه الدراسة مع نتائج (Meyer *et al*, 2020) الذي أوضح أن الأبقار التي تتغذى على نظام غذائي يحتوي على مكملات الكارنيتين كان إنتاج بروتين الحليب يميل لأن يكون أخفض وربما كان ذلك انعكاساً لارتفاع إنتاج الحليب عند هذه الحيوانات، وأظهرت إضافة مركب L – كارنيتين للحليب بالمشاركة مع الفورم ألدهيد في هذه الدراسة ارتفاعاً أكبر في نسبة البروتين (5.05) مقارنة مع الشاهد(4.44) ولم نجد أي مرجع يدعم هذه النتيجة.

بينت نتائج هذه الدراسة وجود انخفاض بسيط في سكر اللاكتوز لعينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد (4.05) مقارنة مع الشاهد (4.23) وهذا يتفق مع (Bajaj and Rai, 1993) اللذين أفادا بوجود انخفاض أولي بسكر اللاكتوز بوجود الفورم ألدهيد عند تقديره بطريقة حمض البيكريك، بينما أبلغ العديد من الباحثين (Sandhu *et al*., 1984; Bansal., 1989; Mitul *et al*., 2020) عن عدم وجود أي تغير في قيم سكر اللاكتوز بطريقة(Lane- Eynon) ، ولوحظ عند إضافة مركب L – كارنيتين للحليب ارتفاع نسبة سكر اللاكتوز (4.41)، وهذا ما اتفق مع نتائج (Meyer *et al*., 2020) اللذين لاحظوا ارتفاع لاكتوز الحليب عند أبقار التجربة نتيجة تغذيتها على مركب L – كارنيتين، وقد توافقت هذه النتيجة مع نتائج (Ramanau *et al*., 2004; Birkenfeld., 2006; Ringseis *et al*., 2018) اللذين قاموا بدراسة تأثير إضافة مركب L – كارنيتين خلال فترة الحمل على تركيب حليب الخنازير مما سبب ارتفاع لاكتوز اللبأ في فترة الرضاعة الأولى، بينما عند إضافة L – كارنيتين بالمشاركة مع الفورم ألدهيد في هذه الدراسة كان الارتفاع أكبر في نسبة سكر اللاكتوز(4.78) مقارنة مع الشاهد (4.23).

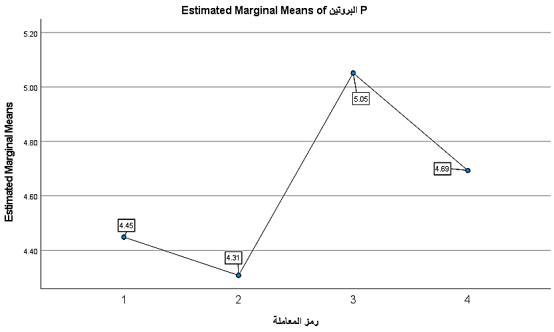
لوحظ وجود انخفاض طفيف جداً في قيمة المواد الصلبة اللادهنية ضمن عينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد (9.11) مقارنة مع الشـــاهد (9.41)، في حين كشـــف الباحثين (Bajaj and Rai., 1992; Ranvir *et al*., 2015) عدم وجود تأثير على قيم إجمالي المواد الصـــــلبة اللادهنية في عينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد. عند إضـــافة مركب L – كارنيتين للحليب لوحظ ارتفاع نســـبة المواد الصـــلبة اللادهنية في الحليب (9.92)، واتفق ذلك مع نتائج (Meyer *et al*., 2020)، بينما عند إضافته بالمشاركة مع الفورم ألدهيد كان الارتفاع أكبر في نسبة المواد الصلبة اللادهنية (10.60) مقارنة مع الشاهد(9.41).

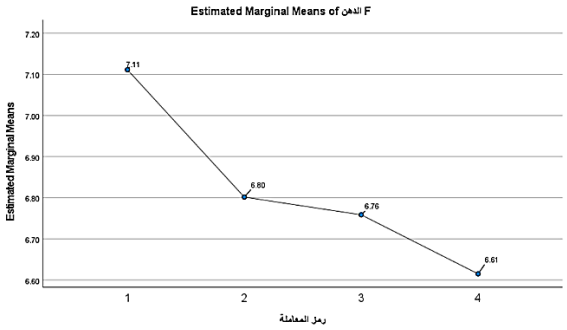
ومن خلال متابعة النتائج لم نجد أبحاث تدعم إضافة الفورم ألدهيد ومركب L – كارنيتين معاً للحليب لمقارنة نتائج هذه الدراسة معها.

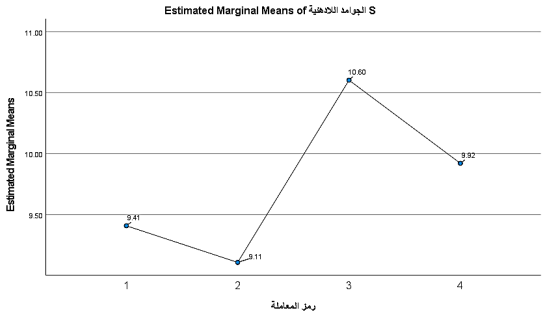
وباســـــتخدام التحليل الخطي للتباين بين المعاملات تبين عدم وجود فروق ذات دلالة معنوية بين المعاملات عند مســـتوى **($p<0.05$)** لكل من الدهن والبروتين وســـكر الحليب والمواد الصـــلبة اللادهنية وذلك في كافة مجموعات التجربة بالمقارنة مع الشـــــاهد كما هو مبين بالمخطط (1)، حيث بلغت قيمة **p-value** لكل العناصر المنوه عنها آنفاً (0.757، 0.102، 0.101، 0.120) على التوالي كما في الجدول (1).

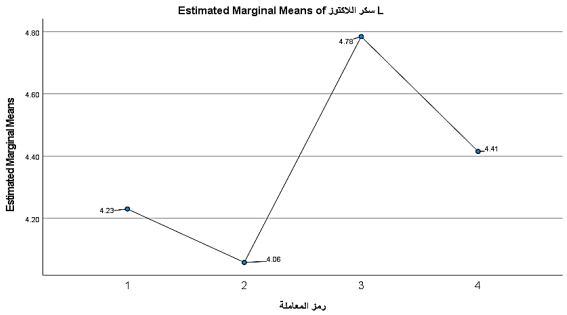
جدول (1). نتائج المتوسطات والانحراف المعياري لتحليل التركيب الكيميائي للحليب.

المجموعة	الدهن ± s.d /F/	بروتين ± s.d / P/	سكر اللاكتوز ± s.d /L/	المواد اللادهنية ± s.d /S/
شاهد (حليب أغنام خام)	7.11±0.624	4.44±0.564	4.23±0.531	9.41±1.186
حليب أغنام + FA	6.80±1.516	4.30±0.293	4.05±0.312	9.11±0.621
حليب أغنام + CA	6.61±0.663	4.69±0.451	4.41±0.418	9.92±0.946
حليب أغنام + CA +FA	6.75±0.638	5.05±0.662	4.78±0.620	10.60±1.379
قيمة P. value	0.757	0.102	0.101	0.120









رموز المعاملات 1. شاهد (حليب أغنام خام) **2.** حليب أغنام + FA **3.** حليب أغنام + CA +FA **4.** حليب أغنام + CA.

المخطط (1). يوضح المتوسطات والانحراف المعياري لنتائج تحليل التركيب الكيميائي للحليب.

وباستخدام المقارنة المتعددة (البعدية) مع الشاهد بإجراء اختبار (Dunnett_ t) تبين عدم وجود فروق معنوية في قيم تركيب الحليب عند مستوى (5%) في كافة المجموعات التجريبية بالمقارنة مع الشاهد كما في الجدول رقم /2/.

جدول (2). المقارنات المتعددة لمتوسطات فروقات قيم تركيب الحليب للمجموعات التجريبية مقارنة مع الشاهد.

اختبار	تركيب الحليب	المجموعة التجريبية	مجموعة البيان	متوسط الفروقات Mean Difference	الدلالة المعنوية Sig للفروقات
Dunnett- t	الدهن	حليب أغنام +FA	الشاهد (حليب أغنام خام)	-0.309	0.870
	سكر اللاكتوز			-0.171	0.866
	المواد الصلبة اللادهنية			-0.300	0.926
	البروتين			-0.140	0.930
	الدهن	حليب أغنام +CA		-0.496	0.635
	سكر اللاكتوز			0.185	0.839

	المواد الصلبة اللادهنية			0.511	0.735
	البروتين			0.244	0.734
	الدهن	حليب أغنام +FA CA		-0.352	0.804
	سكر اللاكتوز			0.554	0.106
	المواد الصلبة اللادهنية			1.192	0.119
	البروتين			0.602	0.093

(4-1-2) اختبار التخثر الحامضي للحليب:

لدى دراسة عملية تخثر الحليب المضاف له الفورم ألدهيد باستخدام بادئ اللاكتيك (اللبن الرائب) لوحظ في الجدول (3) وجود زيادة طفيفة وسريعة في حموضة عينة الحليب(PH)، وهذا ما كشف عنه الباحث (Karmakar and Ghatak., 1997) وتعود هذه الزيادة إلى تفاعلات الفورم ألدهيد مع المجموعات الأمينية [الأدينين(Adenine) والسيتوزين(Cytosine) والجوانين(Guanine)] وارتفاع نشاط التحلل البروتيني بما يتناسب مع كمية الفورم ألدهيد المضافة، مما يؤدي إلى تغيير طبيعة تركيب الحمض النووي ويسبب تثبيط نمو الكائنات الحية الدقيقة مع نسبة تحطيم للجراثيم المنتجة لحمض اللاكتيك (Bector and Narayanan, 1973; El-Shabrawy and El-Fadaly, 2006; Neelam *et al*., 2014) ، الأمر الذي يسبب إطالة في زمن بدء تكون خثرة الحليب في حالات التخثر الحامضي (Fahmi et al., 1982; Bansal and Singhal., 1991).

يبين الجدول (3) أن متوسط زمن التخثر الحامضي باستخدام بادئ اللاكتيك بلغ (119) دقيقة لعينة الشاهد بالمقارنة مع (179) دقيقة للحليب المعامل بالفورم ألدهيد، وعند إضافة مركب L – كارنيتين للحليب بالمشاركة مع الفورم ألدهيد خفضت زمن التخثر الحامضي إلى (100) دقيقة بالمقارنة مع زمن تخثر الشاهد (119) دقيقة، ويفسر ذلك الباحثان (Mohamed and Hamad., 2011) أن مركب L – كارنيتين هو مركب رباعي من الأمونيوم يثبط معظم الجراثيم الإيجابية والسلبية الغرام إلا أنه يحسن نمو بعض أنواع الجراثيم المفيدة إيجابية الغرام مثل جراثيم الملبنات، مما يعد بإنتاج اللبن الرائب (الزبادي) الغني بالكارنيتين الذي يحسن العمر الافتراضي للبن الرائب، ولدى دراسة مواصفات الخثرة الناتجة عن التخثر الحامضي وجد أن لون الخثرة أقل بياضاً وأضعف تماسكاً وانتظاماً في عينات الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد مقارنة مع خثرة

الشاهد التي كانت بلون أبيض وقوام متماسك ومنتظم، وأما عينات الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد والكارنيتين فقد كان لونها أبيض كريمي وقوامها أقرب للشاهد.

أما زمن التخثر الحامضي باستخدام حمض كلور الماء كان الأخفض في عينة الشاهد (11) دقيقة يليها عينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد والكارنيتين (13) دقيقة ومن ثم عينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد (20) دقيقة.

جدول (3). متوسط زمن التخثر الحامضي للحليب ولون ومواصفات الخثرة.

عينة الحليب	متوسط زمن التخثر/دقيقة باستخدام بادئ اللاكتيك	متوسط زمن التخثر/دقيقة باستخدام حمض كلور الماء	لون الخثرة	مواصفات الخثرة المتكونة
حليب أغنام (شاهد) PH= 6.7	119	11	أبيض	متماسكة ومنتظمة
حليب أغنام مع فورم ألدهيد PH= 6.5	179	20	أقل بياضاً	القوام أقل تماسك وانتظام
حليب أغنام مع فورم ألدهيد + L – كارنيتين PH= 6.5	100	13	أبيض كريمي	القوام متماسك أقرب لعينة الشاهد

(3-1-4) اختبار التخثر الإنزيمي للحليب:

بلغ متوسط زمن التخثر الإنزيمي للجبن الناتج عن حليب الأغنام العواس الخالي من أي مادة مضافة (31) دقيقة (الشاهد) مقارنة بـــ (42) دقيقة لحليب التجربة المعامل بالفورم ألدهيد كما هو في الجدول (4)، وقد يفسر ذلك بأن كازئين الحليب عند ملامسته للفورم ألدهيد يتغير سريعاً وينخفض تكوين الكازئين القابل للذوبان لوجود روابط متقاطعة بواسطة الفورم ألدهيد على طول مركب الكازئين، مما يسبب صلابته وتخثره بشكل أبطأ عن تخثر الحليب الطبيعي(Resmini et al., 1980)، بينما في عينة الحليب المعاملة بالكارنيتين إلى جانب الفورم ألدهيد ارتفع بروتين الحليب (وهذا الارتفاع قد يكون غير حقيقي انما فقط تشويش لنتيجة قياس التركيب الكيميائي للحليب) وقد يفسر هذا الارتفاع بسبب الطبيعة البروتينية لمادة الـ L–

كارنيتين مما خفض من تأثير الفورم ألدهيد على تركيب الكازئين وبالتالي تخثر الحليب كان أقرب للشاهد من حيث زمن التخثر (34) دقيقة وقوام الخثرة.

كما يلاحظ في الجدول/4/ أن الخثرة الناتجة عن عينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد أقل تماســـك وأكثر طراوة من الخثرة الناتجة عن عينة الحليب الخام (الشـــاهد)، ويفســـر ذلك أنه كلما كان وقت التخثر أكبر في التخثر الإنزيمي كلما كانت الخثرة أكثر طراوة وهذا ما يتوافق مع الباحثين (توفيق, 2005; نيوف, 2018). أما بالنسـبة لانفصـال المصـل كان أسـرع في عينة الحليب المعاملة بالفورم ألدهيد، ويتوافق ذلك مع الباحث (Bajaj and Rai., 1993) الذي وجد عند إضـافة الفورم ألدهيد للحليب أن نسـبة بروتين الحليب تنخفض بسـبب قدرته على حجب المواقع النشـطة عن عملها في البروتين، حيث تعد نسـبة البروتين من أهم العوامل المؤثرة على سرعة انفصال المصل خلال عملية التخثر الأنزيمي، فكلما انخفضت نسبة بروتين الحليب كان انفصال المصل أسرع.

كما بينت النتائج في الجدول/4/ أن وزن الخثرة الناتجة عن الحليب المعامل بالفورم ألدهيد أقل بنسبة 2% من وزن الخثرة الناتجة عن الحليب الطبيعي، وهذا ما لم يتفق مع نتائج (El-Gendy *et al*., 1980) الذي وجد في دراسته زيادة في إنتاجية الجبن بنسبة 6% عندما إضافة الفورم ألدهيد للحليب والملح بنسب مختلفة، في حين لم نضف في الدراسة الحالية الملح خلال مراحل العمل وتمت إضافة الفورم ألدهيد فقط.

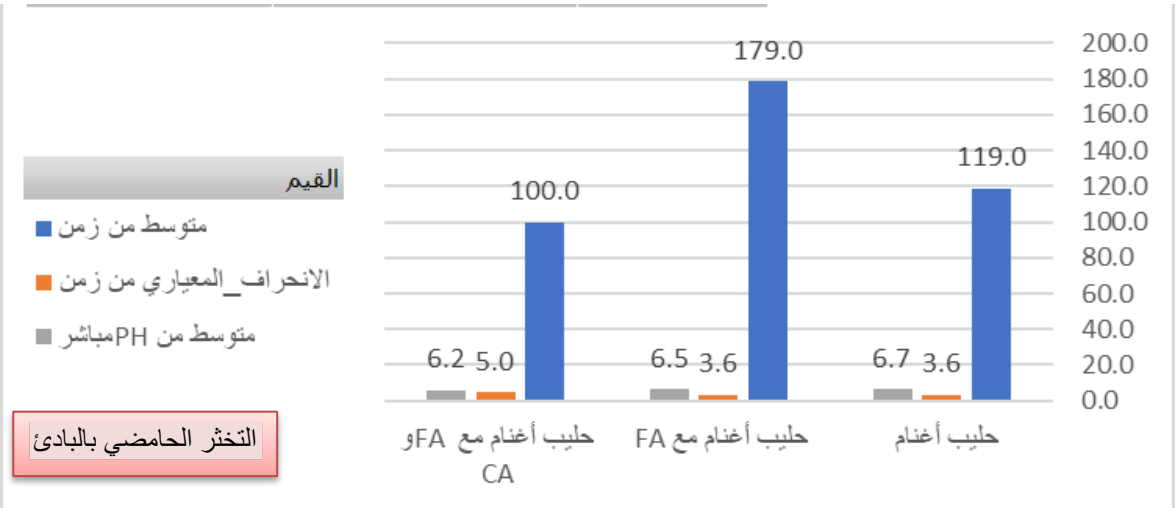
جدول (4). متوسط زمن التخثر الإنزيمي للحليب ولون ومواصفات الخثرة والمصل لعينة الحليب (5كغ).

عينة الحليب	متوسط زمن التخثر/دقيقة	مواصفات ووزن الخثرة	مواصفات ووزن المصل الناتج
حليب أغنام PH= 6.7	31	– الخثرة متماسكة ومنتظمة بلون أبيض مائل للصفرة – الوزن الناتج 1.5 كغ جبن	– انفصال المصل بشكل طبيعي بلون أصفر رائق – الوزن 1.75 كغ مصل
حليب أغنام مع فورم ألدهيد PH= 6.5	42	– الخثرة أقل تماسك (طرية الملمس) بلون أبيض. – الوزن 1.4 كغ جبن	– انفصال المصل بشكل أسرع من السابق بلون أصفر كريمي. – الوزن 1.92 كغ مصل
حليب أغنام مع فورم ألدهيد + L – كارنيتين PH= 6.4	34	– الخثرة متماسكة بلون أبيض. – الوزن 1.5 كغ جبن	– انفصال المصل أقرب للطبيعي بلون أصفر. – الوزن 1.79 كغ مصل

وبالتحليل الاحصائي الذي يوضح المقارنات المتعددة (البعدية) (Multiple Comparison) لمتوسطات زمن التخثر (الحامضي والإنزيمي) باستخدام طريقتي قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D) واختبار (Dunnett-t) كما هو موضح في الجدول (5) لوحظ وجود دلالة معنوية عالية للفروق بين متوسطات الأزمنة للمعاملة مع الشاهد عند مستوى (5%)، وقد توافق ذلك مع نتائج (توفيق, 2005) بضعف قابلية الحليب للتخثر عند إضافة الفورم ألدهيد بصورة معنوية وقد اتضح ذلك من قياس زمن التخثر بالمنفحة بحيث يزداد الزمن مع زيادة نسبة الفورم ألدهيد المضاف للحليب.

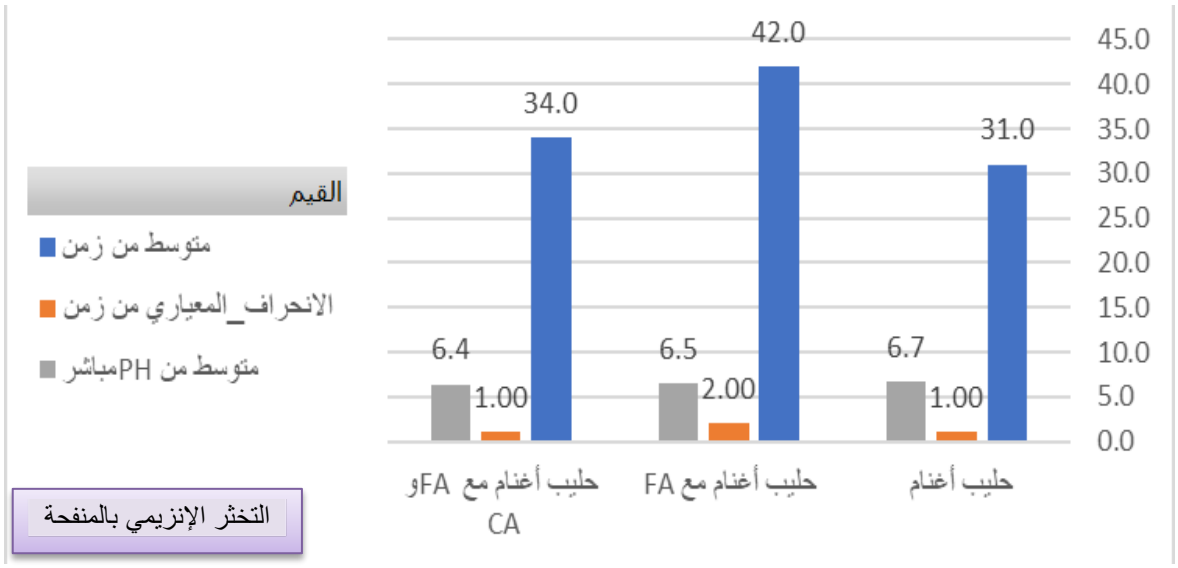
جدول (5). المقارنات المتعددة لمتوسطات زمن التخثر(دقيقة) بمقارنة المعاملة مع الشاهد.

نوع التخثر	المقارنة البعدية	المعاملات	الشاهد	الزمن ± S.D	متوسط الفروق	الدلالة المعنوية
الحامضي باستخدام البادئ	Dunnett- t	حليب أغنام+FA	حليب أغنام خال من أي إضافات	179±3.6	60.000*	0.000
		حليب أغنام +CA+FA		100±5.0	19.000*	0.002
الحامضي باستخدام حمض كلور الماء		حليب أغنام+FA		20±2	9.000*	0.001
		حليب أغنام +CA+FA		13±2	2.000	0.332
الإنزيمي		حليب أغنام+FA		42±2	11.000*	0.000
		حليب أغنام +FA+CA		34±2	3.000	0.070



المخطط (2). يوضح المتوسطات والانحراف المعياري لـ زمن التخثر الحامضي للحليب باستخدام البادئ.

المخطط (3). يوضح المتوسطات والانحراف المعياري لـ زمن التخثر الحامضي للحليب باستخدام حمض كلور الماء.



المخطط (4). يوضح المتوسطات والانحراف المعياري لـ زمن التخثر الإنزيمي للحليب باستخدام المنفحة.

(4-1-4) اختبار الزرع الجرثومي للحليب:

كانت نتائج التعداد العام للجراثيم كما هو موضـــح بالجدول /6/ ضـــمن عينات الحليب الخام مطابقة للمواصفات القياسية السورية في حالة الزرع المباشر لكلا العينتين ($8.4x10^3$،$5.4x10^3$ CFU/مل)، وهذا ما اختلفت نتائجه مع الباحث (أبو غرة و زملاؤه , 2009) حيث تراوح معه التعداد العام الجرثومي في الميليميتر الواحد من الحليب الخام ما بين ($2.6x10^6$ و $8.5x10^8$ CFU/مل) في عينات حليب الأبقار التي تم جمعها من مزارع مختلفة في مدينة دمشـــق و ضـــواحيها، وقد أعاد الســـبب في ذلك إلى عدم تبريد الحليب مباشـــرة بعد الحلابة أو عدم الاهتمام بعوامل النظافة للعاملين أثناء الحلابة أو حتى نظافة أدوات وأوعية نقل الحليب مما أســـهم برفع الحمولة الجرثومية للحليب الخام(OIE., 2002)، بينما كانت نتائج هذه الدراسة مقاربة للحد الأقصى من التعداد بعد 24 ساعة من جمع العينات($1.2x10^6$ CFU/مل) ، في حين تجاوز التعداد العام الحد الجرثومي الأقصى بعد 48 ساعة من أخذ العينات($2.3x10^7$ CFU/مل).

بينما كانت نتائج التعداد العام للجراثيم ضـمن عينات الحليب المضـاف لها الفورم ألدهيد مطابقة للمواصـفات القياسـية السـورية ولم تتجاوز الحد الأقصـى للتعداد الجرثومي خلال الفترات الثلاث للزرع الجرثومي كما هو واضـــح بالجدول /6/، وبالتالي اســـتطاع مركب الفورم ألدهيد أن يثبط نشـــاط الخلايا الجرثومية في الحليب وإطالة عمر الحليب الخام، وهذا ما أعطى نتيجة مشـــابهة لنتيجة الدراســـة في دراســـة الباحثين (El-Shabrawy and El-Fadaly., 2006) حيث تم فحص حليب الأبقار التي تم تغذيتها على عليقة معاملة بالفورم ألدهيد وأثبتت النتائج انخفاض التعداد العام الجرثومي فيها مقارنة مع حليب الأبقار التي تم تغذيتها على عليقة خالية من الفورم ألدهيد. وفي دراسة للباحث (Afzal *et al*., 2011) على الجودة الميكروبيولوجية للحليب الخام من منافذ البيع بالأســـواق في الباكســـتان تم التوصـــل إلى وجود عدد من العينات ذات جودة ميكروبيولوجية مقبولة كمعيار، إلا أنه تم العثور عليها مغشـوشـة ببعض المواد الكيميائية السـامة مثل اليوريا والفورم ألدهيد والمنظفات وما إلى ذلك. وبالتالي بقي الفورم ألدهيد يســـتخدم كمادة حافظة للحليب بهدف نقله لمســـافات طويلة دون تبريد رغم التشـــريعات الغذائية التي تنص على منع اســـتخدامه (Mabood *et al*., 2017).

جدول (6). نتائج التعداد العام للجراثيم الحية في عينات الحليب مقدرة بـ CFU/1مل.

فترات الزرع الجرثومي	متوسط التعداد العام لعينات الحليب الخام	متوسط التعداد العام لعينات الحليب+ فورم ألدهيد
زرع مباشر	$8.4x10^3$	$5.4x10^3$
(بعد24ساعة)	$1.2x10^6$	$2.5x10^4$
(بعد48ساعة)	$2.3x10^7$	$1.1x10^5$

ملاحظة:

الحد الجرثومي المطلوب للتعداد العام حسب المواصفات القياسية السورية2007/2179: **$1CFUx10^5/1$مل.**

الحد الجرثومي الأقصى للتعداد العام حسب المواصفات القياسية السورية 2007/2179: **$1CFUx10^6/1$مل.**

(2-4) الاختبارات الدموية التي أجريت على حيوانات التجربة:

(1-2-4) اختبارات نشاط إنزيمات (ALT،AST):

لدى تحليل عينات الدم المأخوذة من حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً فقد أظهرت النتائج أن قيم متوسطات كل من أنزيمي الكبد ALT,AST انخفضت مقارنة مع الشاهد كما هو موضح بالجدول /7,8/ إلا أنها بقيت ضمن الحدود الطبيعية في مجموعة الحيوانات المعاملة بمركب L-كارنيتين فقط دون وجود أي فرق معنوي عند ($p<0.05$) لمتوسط القراءات في هذه المجموعة بالمقارنة مع مجموعة الشاهد كما هو موضح بالجدول /9/، وهذا ما توافق مع نتائج كل من الباحث(Askarpour *et al*., 2020) الذي أوضح انخفاض نشاط إنزيمات الكبد مع عدم وجود أي دلالة إحصائية لمكملات L-كارنيتين في الأشخاص الأصحاء، ونتائج الباحث (El-Sawy *et al*., 2023) الذي أوضح عن وجود تغيرات غير معنوية في قيم نشاط أنزيمات الكبد لجرذان التجربة المعاملة بمركب L- كارنيتين عند ($p<0.05$)، ونتائج الباحث (Yousefi *et al*., 2019) الذي أوضح أن مكملات L-كارنيتين أدت لانخفاض إنزيمات الكبد في مصل دم أشخاص التجربة ويمكن أن تنخفض بشكل أكبر بازدياد فترة التجربة أو بارتفاع جرعة مركب L-كارنيتين. في حين لم تتوافق مع نتائج الباحث (Seleem *et al*.,2006) الذي سجلت نتائجه زيادة معنوية عند مستوى ($p<0.05$) لإنزيمي الكبد نتيجة إضافة مركب L-كارنيتين لماء شرب الأرانب النيوزيلندي البيضاء بالمقارنة مع شاهد التجربة، ونتائج الباحث (Pirmadah *et al*.,2020) الذي أوضح أن مركب L- كارنيتين يُحسّن بشكل كبير من مستوى إنزيمات الكبد وبالتالي قد يؤثر بشكل إيجابي على وظائف الكبد. في حين أوضح الباحث (Nezhad *et al*.,2019) أن مركب L-كارنيتين خفض وبشكل ملحوظ من مستوى نشاط إنزيم AST في مصل دم الأشخاص الذين أعطوا هذا المركب عن طريق الفم، بينما لم يكن له تأثير كبير على مستوى إنزيم ALT لديهم، وارتفعت هذه القيم بشكل واضح وأعلى من الحدود الطبيعية مع تزايد فترة التجربة في مجموعة الحيوانات التي تم تجريعها الحليب المعامل بالفورم ألدهيد، أما مجموعة الحيوانات التي تم تجريعها حليب معامل بالفورم ألدهيد ومركب L-كارنيتين معاً فقد ارتفعت قيم متوسطات إنزيمي الكبد ALT, AST بشكل تدريجي، إلا أن هذا الارتفاع بقي أقل بكثير مما هو عليه في مجموعة الفورم ألدهيد ويكاد يكون أقرب للمعدل الطبيعي، وقد يفسر ذلك أن مركب L- كارنيتين قد شارك في أكسدة الأحماض

الدهنية الحرة وعمل على خفض المستقلبات السامة الناتجة عنها ولا سيما حمض الفورميك الناتج عن أكسدة الفورم ألدهيد، وهذه المستقلبات السامة تساهم في وجود خلل بعمل المتقدرات ومقاومة الأنسولين (Lane *et al.*, 2016)، حيث يعتبر خلل وظيفة المتقدرات في خلايا الكبد مؤشراً لاضطرابات الكبد وارتفاع مستوى أنزيماته (Lane *et al.*,2016, Marinho *et al.*, 2018)، وهذا ما كان واضحاً في مجموعة الفورم ألدهيد، وعليه فإن التأثير المفيد لمركب L- كارنيتين بأنه ذو خصائص مضادة للالتهاب الناتج عن الفورم ألدهيد مما يحسن وظائف الكبد و يخفض مستوى أنزيمات الكبد (Davis *et al.*,2009, Khalatbari-Soltani *et al.*,2015) وخاصة لدى مرضى التهاب الكبد المزمن (Hyunwoo *et al.*, 2022).

وبالتحليل الاحصائي الذي يوضح المقارنات البعدية (المتعددة) (Multiple Comparison) لمتوسطات القراءات باستخدام اختبار (Dunnett-t) كما هو موضح في الجدول /9/، لوحظ وجود دلالة معنوية عالية للفروق بين متوسطات القراءات في مجموعة الفورم ألدهيد لكل من أنزيمي الكبد (ALT,AST) بالمقارنة مع الشاهد عند ($p<0.05$)، وقد توافقت هذه النتيجة مع كل من الباحثين (Gulec *et al.*, 2006; Mahmoud *et al.*, 2015) اللذين أعطيا الفورم ألدهيد حقناً داخل صفاق فئران التجربة مما يقدم دليلاً على أذية (تلف) خلايا الكبد (Khatun *et al.*, 2015)، كما كشفوا عن أن إنزيمي ALT,AST هما علامات مصلية دالة على التسمم الكبدي بالفورم ألدهيد وافترضوا أن ارتفاعهما قد يكون نتيجة تشكل مستقلب جذري حر يرتبط بالبروتين الدهني فيسبب أكسدة الدهون (Khatun *et al.*, 2015) بينما لوحظ وجود دلالة معنوية عالية في اختبار AST في مجموعة الفورم ألدهيد و L-كارنيتين معاً.

جدول(7). متوسطات قيم نشاط إنزيم (ALT) مع الانحراف المعياري المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً.

اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	74.33±3.50	79.50±5.31	80.05±6.01	82.00±3.00	88.22±1.70	115.00±45.00
CA	80.63±4.04	82.13±6.80	85.50±8.50	74.33±18.17	74.00±14.00	70.66±12.50
FA+ CA	81.71±4.01	84.47±9.97	120.22±32.42	157.50±3.90	160.66±20.03	205.00±5.00
FA	80.00±5.29	87.63±10.78	235.66±152.33	309.60±95.91	588.75±86.39	877.50±47.50

- المعدل الطبيعي لل (**ALT**) عند الأرانب: **32-129 U/L**.

جدول(8). متوسطات قيم نشاط إنزيم (AST) مع الانحراف المعياري المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً.

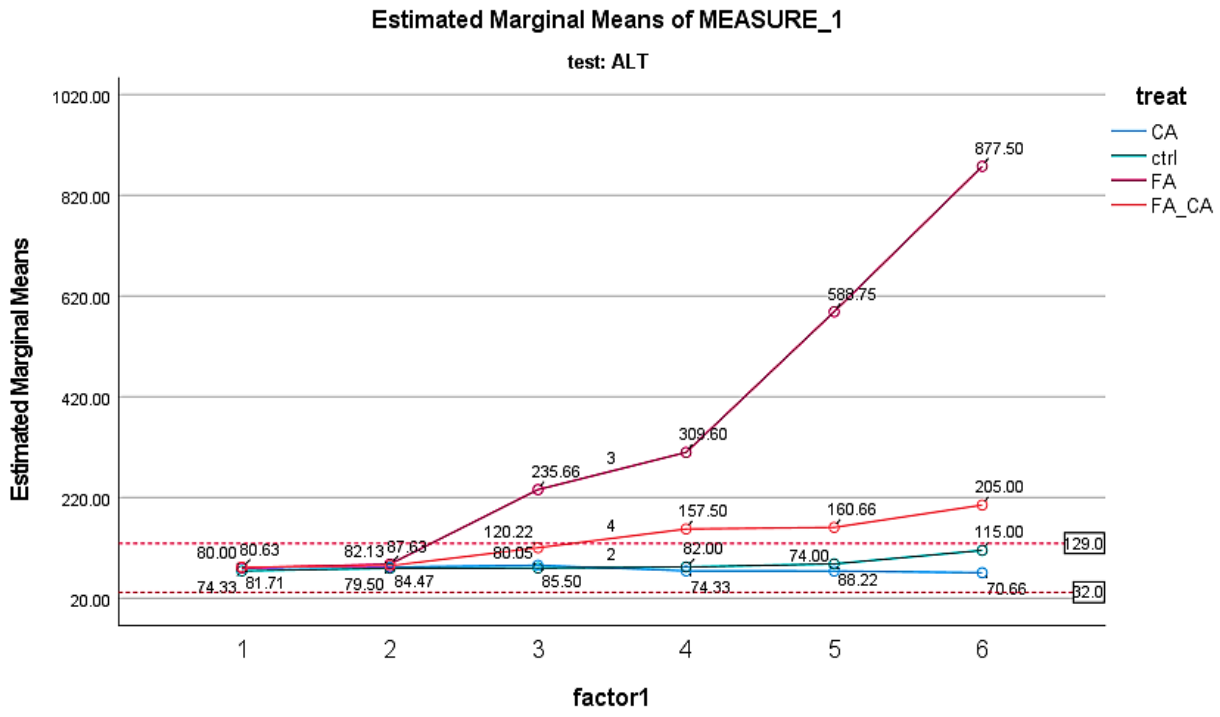
اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	71.50±7.36	73.00±6.08	75.06±1.67	73.00±5.00	78.24±9.95	78.02±9.95
CA	79.20±6.87	79.38±10.59	74.50±9.50	64.00±32.51	66.02±6.05	64.33±15.30
FA+ CA	75.00±8.48	81.05±9.71	112.00±35.00	148.00±2.64	150.00±18.00	176.02±14.21
FA	72.00±6.24	75.14±1.20	219.00±92.86	297.40±72.72	581.25±51.14	866.00±51.00

- المعدل الطبيعي لل **(AST)** عند الأرانب: **16-100 U/L**.

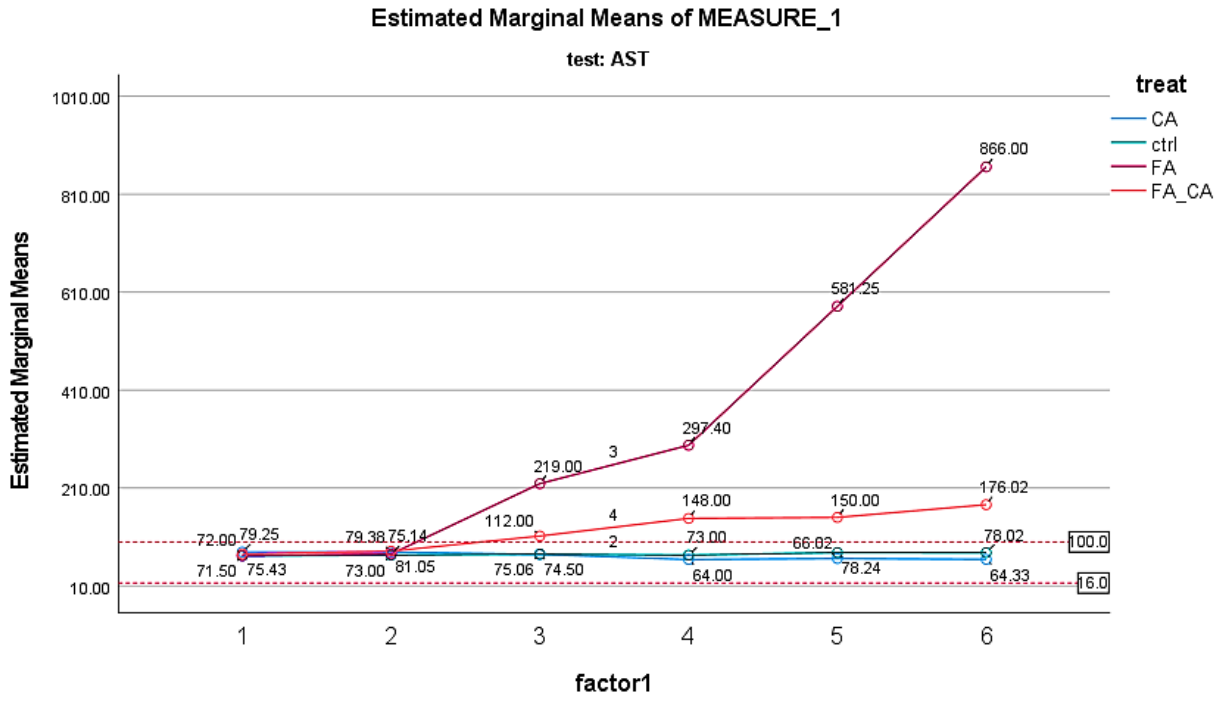
جدول(9). متوسط الفروقات لقيم نشاط إنزيمي (AST, ALT) ودلالتها المعنوية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد.

Dunnett- t	المجموعة التجريبية	البيان	متوسط الفروقات Mean Difference	الدلالة المعنوية للفروقات Sig
ALT	CA	**الشاهد**	8.638	0.976
	FA+CA		48.406	0.240
	FA		277.022*	0.000
AST	CA		3.566	0.992
	FA+CA		48.961*	0.037
	FA		277.000*	0.000

ـــ * تشير إلى وجود دلالة معنوية عالية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد.



المخطط (5). يوضح متوسطات قيم نشاط إنزيم (ALT) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل(15) يوماً خلال فترة التجربة.



المخطط (6). يوضح متوسطات قيم نشاط إنزيم (AST) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.

(4-2-2) اختبارات وظائف الكلى (BUN، CREA):

من الجدول رقم (10,11) نلاحظ أن متوسطات قيم كل من الكرياتينين والبولة قد ارتفع تركيزها في مصل دم مجموعة الأرانب المعاملة بالكارنيتين مقارنة مع الشاهد إلا أن مستوى تركيزهما بقي ضمن المعدل الطبيعي، وهذا ما توافق مع نتائج الباحث (İnci *et al*., 2013) الذي أوضح عدم حدوث تغيير واضح في مستويات الكرياتينين و البولة في مصل دم الجرذان المغذاة على الكارنيتين وبالتحليل الاحصائي باستخدام اختبار Dunnett- t كما هو موضح بالجدول (12) لوحظ عدم وجود دلالة معنوية عند($p<0.05$) لمتوسط الفروقات بقيم الكرياتينين في مجموعة L–كارنيتين مقارنة مع الشاهد، وهذا ما توافق مع نتائج الباحث(El-Sawy *et al*., 2023) على مصل دم ذكور الجرذان البيضاء المحقونة بمركب L–كارنيتين، بينما ظهرت دلالة معنوية عالية عند($p<0.05$) لمتوسط الفروقات بقيم البولة في مجموعة L–كارنيتين بالمقارنة مع الشاهد.

لوحظ وجود ارتفاع متزايد مع استمرار التجربة في متوسطات قيم كل من الكرياتينين و البولة في مصل دم مجموعة الأرانب المعاملة بالفورم ألدهيد مقارنة مع الشاهد، هذا التزايد بدأ بشكل واضح و بقيم أعلى من المعدل الطبيعي من منتصف فترة التجربة بالنسبة لاختبار الكرياتينين كما في الجدول (10)، والذي أشير إليه في بعض الدراسات أن زيادته في مصل الدم بشكل واضح بعد التعرض للفورم ألدهيد هو دليل على الفشل في وظائف الكلى (Kunak *et al*.,2015; Milovanovic *et al*., 2015)، ومن الشهر الثاني بالنسبة لاختبار البولة، وبالتحليل الاحصائي باستخدام اختبار Dunnett- t لوحظ وجود دلالة معنوية عالية عند ($p<0.05$) لمتوسط الفروقات بقيم الكرياتينين والبولة في مجموعة الفورم ألدهيد مقارنة مع الشاهد كما في جدول (12)، وهذا ما توافق مع نتائج دراستي الباحثين (Boj *et al*., 2003; Ramos *et al*., 2017) المنفذتان على الفئران. بينما أوضحت دراسة الباحث (Chinedul *et al*., 2017) عدم وجود فرق معنوي في مستوى كرياتينين مصل دم الأشخاص بعد التعرض للفورم ألدهيد، في حين كان هناك زيادة معنوية في مستوى البولة في مصل دم نفس الأشخاص، هذه النتيجة تتفق أيضاً مع دراسة (Kum *et al*., 2007) الذي وجد أن تركيز البولة في الدم ارتفع في الجرذان المعرضة لـ 6 جزء في المليون من الفورم ألدهيد بمعدل 8 ساعات / يوم لمدة 6 أسابيع في حين لم يلاحظ أي تغييرات في تركيز الكرياتينين في المصل مقارنة بالحيوانات الضابطة. وقد فسر نتائجه أن التعرض للفورم ألدهيد يسبب الجفاف ونقص نسبة الماء في الدم

مما يســـبب ارتفاع تركيز البولة في المصـــل، كما أن تركيز البولة قد يرتفع نتيجة التغذية على طعام عالي البروتين، في حين متوســـط مســـتوى الكرياتينين أقل تأثراً بهذه العوامل لأنه يعتمد بشـــكل كبير على كتلة العضلات ووزن الجسم(Carl *et al.*,2008).

أما مجموعة الأرانب التي تمت معاملتها بالفورم ألدهيد وL–كارنيتين معاً فقد ارتفعت فيها قيم كل من الكرياتينين والبولة مع استمرار فترة التجربة، إلا أن قيمة كل من الكرياتينين والبولة في نهاية فترة التجربة بقيتا أقرب للحدود العليا من المعدل الطبيعي لهما عند الأرانب وأخفض بشـكل واضـح مما هو عليه في مجموعة الأرانب المعاملة بالفورم ألدهيد فقط كما هو واضح في جدول(10,11)، وبالتالي فقد استطاع مركب الكارنيتين أن يخفف من التأثير الضار للفورم ألدهيد على أنسجة الكلى من خلال تأثيره المضاد للأكسدة، وهذا ما أكده الباحث (Nezhad *et al.*,2019) بأن مكملات L–كارنيتين تخفض مســتوى كل من الكرياتينين والبولة في مصل دم المرضى الذين يعانون من ارتفاعهما بسبب أمراض الكبد أو الكلى، وبالتحليل الاحصائي باستخدام اختبار Dunnett- t لوحظ وجود دلالة معنوية عالية عند($p<0.05$) لمتوســـط الفروقات بقيم الكرياتينين والبولة في مجموعة الفورم ألدهيد و L–كارنيتين معاً مقارنة مع الشـــاهد كما في جدول(12)، وفي تجربة مشابهة لهذه الدراسة تم الحصول على نفس النتيجة عند مشاركة L–كارنيتين لمركب كبريتات السيفكوينوم والذي أحدث تغيرات كبدية كلوية عند معاملته لذكور الجرذان البيضاء حقناً تحت الجلد، حيث استطاع مركب الكارنيتين خفض كل من قيم الكرياتينين والبولة وعودتهما للقيم شبه الطبيعية.(El-Sawy *et al*., 2023).

جدول (10). متوسطات قيم الكرياتينين(CREA) مع الانحراف المعياري في مصل دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً.

اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	0.98±0.19	0.97±0.19	0.96±0.04	0.97±0.11	1.20±0.28	1.20±0.26
CA	0.92±0.15	0.96±0.12	0.96±0.20	1.50±0.17	1.83±0.30	1.95±0.25
FA+ CA	0.91±0.07	1.01±0.05	1.35±0.18	1.35±0.09	1.89±0.39	2.20±0.15
FA	0.92±0.06	1.50±0.30	2.67±0.34	2.39±0.25	2.54±0.39	3.20±0.81

- المعدل الطبيعي للكرياتينين **(CREA)** عند الأرانب:**0.5-2.6 mg/dl** .

جدول (11). متوسطات قيم البولة (BUN) مع الانحراف المعياري في مصل دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً.

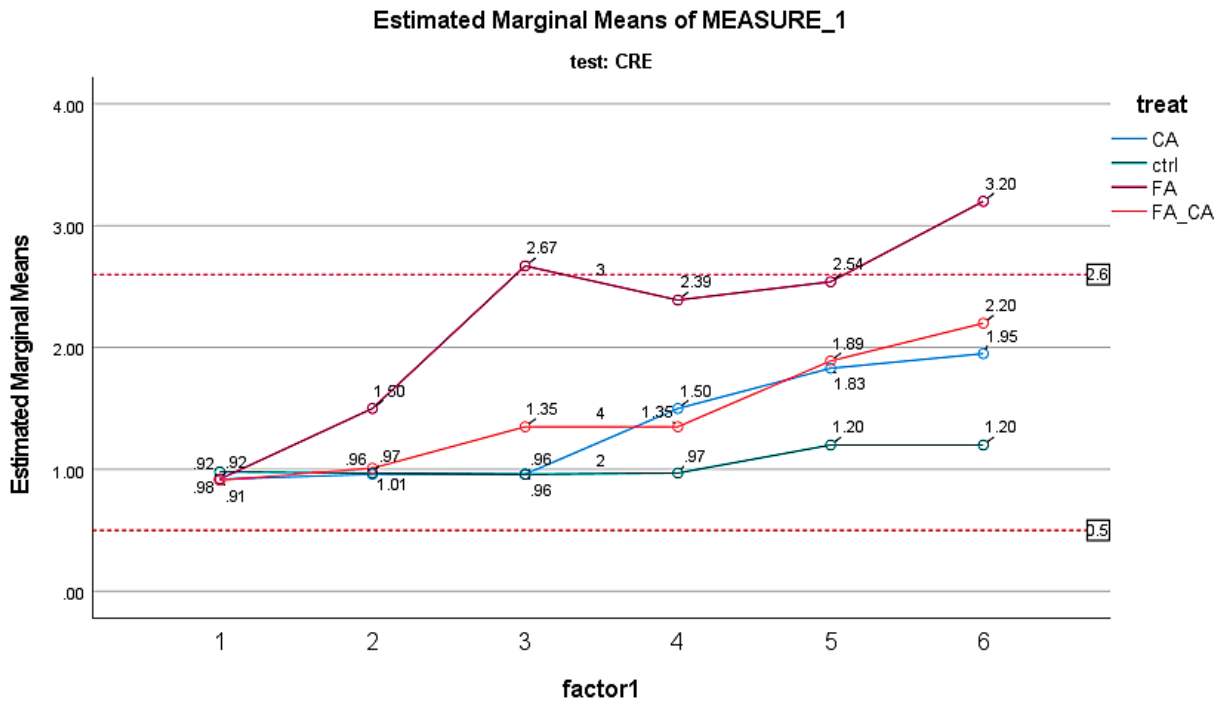
اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	14.45±1.21	14.61±1.15	14.40±1.81	14.71±1.35	15.24±1.24	15.27±0.91
CA	14.58±1.16	14.83±2.01	15.46±1.32	18.21±0.50	19.66±0.92	19.58±1.47
FA+ CA	17.22±1.72	18.27±0.65	26.44±2.18	26.39±2.09	28.04±0.15	29.41±0.95
FA	16.25±0.77	35.57±0.46	33.00±1.81	33.98±2.03	45.99±0.49	54.01±0.30

- المعدل الطبيعي للبولة **(BUN)** عند الأرانب:**9.1-25.5 mg/dl** .

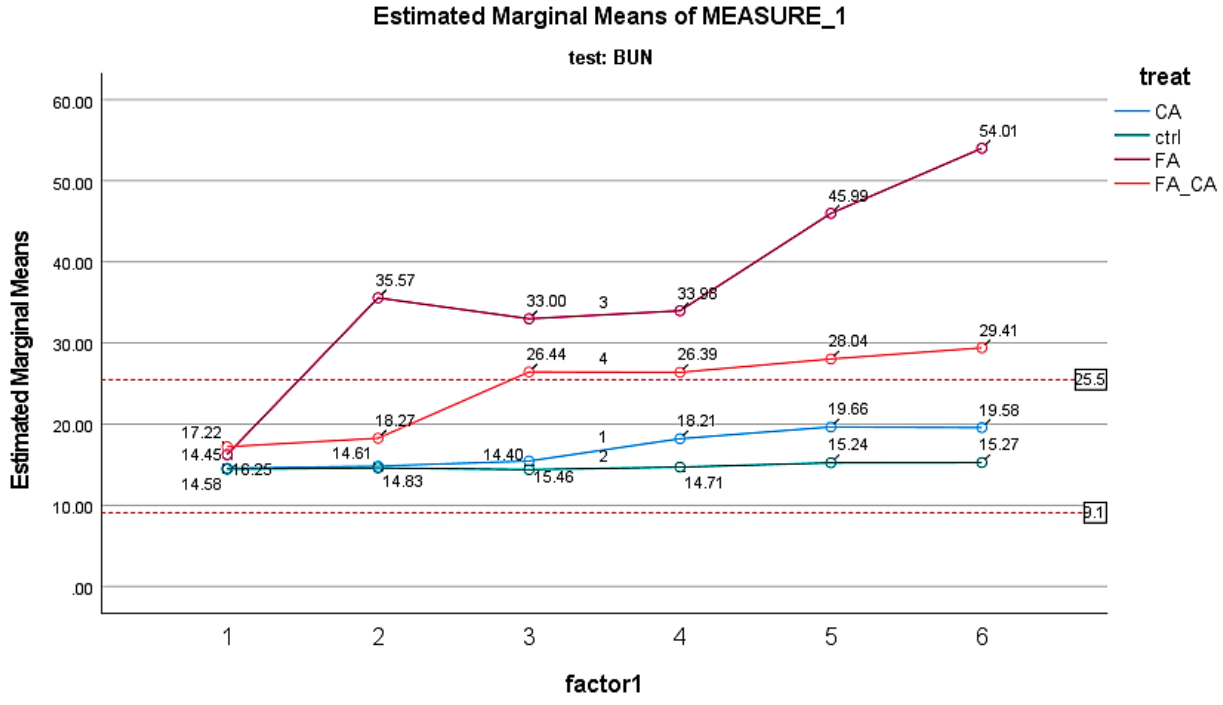
جدول (12). متوسط الفروقات لقيم الكرياتينين والبولة (BUN, CREA) ودلالتها المعنوية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد.

Dunnett- t	المجموعة التجريبية	البيان	متوسط الفروقات Mean Difference	الدلالة المعنوية للفروقات Sig
CREA	CA	**الشاهد**	0.306	0.114
	FA+CA		0.405*	0.037
	FA		1.153*	0.000
BUN	CA		2.272*	0.030
	FA+CA		9.513*	0.000
	FA		21.686*	0.000

ـــ * تشير إلى وجود دلالة معنوية عالية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد.



المخطط (7). يوضح متوسطات قيم كرياتينين الكلى (CREA) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.



المخطط (8). يوضح متوسطات قيم البولة (BUN) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.

(4-2-3) اختبار الصورة الدموية:

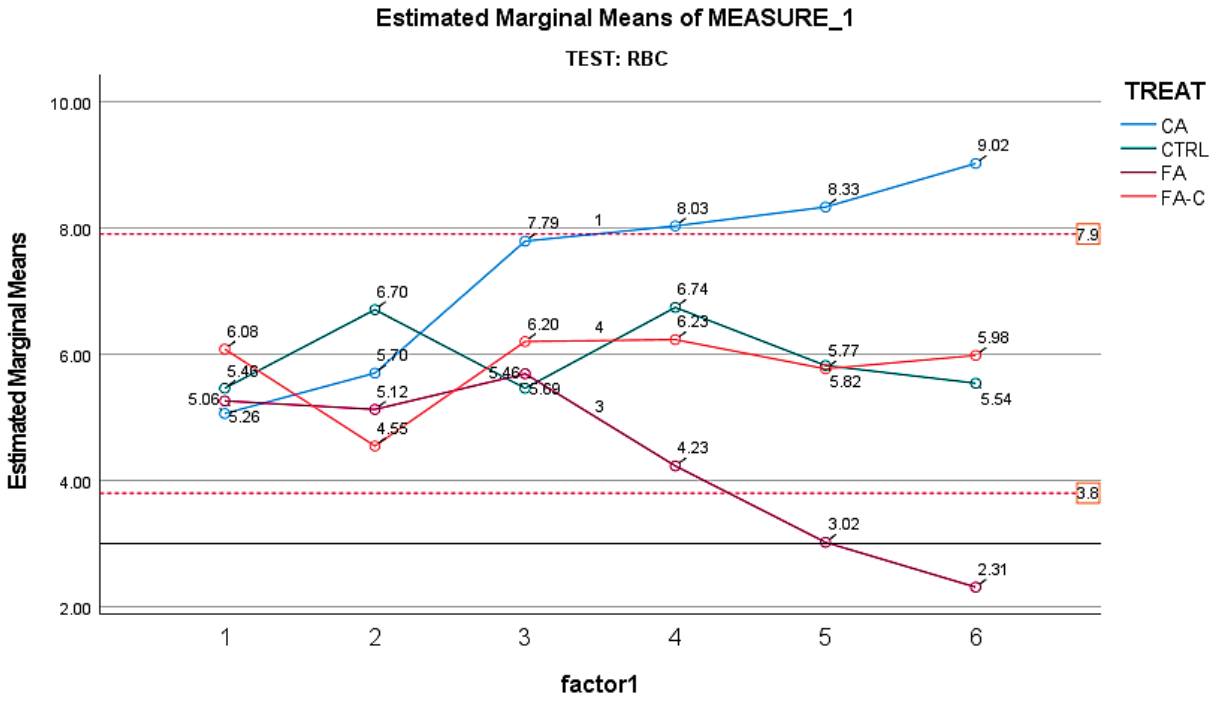
(4-2-3-1) تعداد كريات الدم الحمراء والبيضاء:

بالعودة إلى النتائج الموضحة بالجدولين (13,14) فقد لوحظ زيادة تعداد كريات الدم الحمراء والبيضاء في مجموعة الحيوانات المعاملة بالكارنيتين مع وجود دلالة معنوية عالية عند مستوى (5%) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد كما هو موضح بالجدول (20)، وهذا ما توافق مع نتائج الباحثان(Seleem *et al*., 2006, El-Abad *et al*., 2022) من خلال إعطاء الكارنيتين مع ماء الشرب لأرانب التجربة، بينما انخفض تعداد كلاً من الكريات الحمراء والبيضاء في مجموعة الحيوانات المعاملة بالفورم ألدهيد كما في الجدولين(13,14) مع وجود دلالة معنوية عالية عند مستوى (5%) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد كما هو موضح بالجدول (20)، وهذا ما توافق مع نتائج الباحثان (Al-Sarraj and Al-Habity., 2013)، المنفذ على الأرانب عن طريق استنشاق بخار الفورم ألدهيد، ونتائج دراستا الباحث (Khan *et al*., 2005, Khan *et al*., 2006) الذي نفذهما على طيور الليغورن البيضاء وطيور السمان الياباني عن طريق تغذيتهم بالعلف المعامل بالفورم ألدهيد، وكذلك مع الدراسة التي تم اجراؤها في تايوان للباحث(Kuo *et al*., 1997) والتي أظهرت انخفاضاً في عدد الكريات البيضاء في دم الممرضات المعرضات للفورم ألدهيد، وكذلك مع نتائج الباحثان (Lyapina *et al*., 2004, Wang *et al*.,2009) اللذين أشارا إلى أن التعرض المهني للفورم ألدهيد للعاملين في المجال الصناعي مرتبط بانخفاض كريات الدم البيضاء، ونتائج الباحث(Negara *et al*., 2023) الذي أظهرت نتائجه أن سمية الفورم ألدهيد لها تأثير على انخفاض عدد الكريات البيضاء في الدم وكلما زاد تركيز الفورم ألدهيد كان التأثير أكبر، في حين بقي تعداد الكريات الحمراء والبيضاء ضمن المعدل الطبيعي في مجموعة الحيوانات المعاملة بالكارنيتين والفورم ألدهيد معاً كما في الجدولين (13,14)، دون وجود دلالة معنوية عند مستوى (5%) بالنسبة لكريات الدم الحمراء مقارنة مع الشاهد، ووجود دلالة معنوية عند مستوى (5%) بالنسبة لكريات الدم البيضاء كما هو واضح بالجدول (20). ويمكن تفسير هذه النتائج أن حيوانات التجربة قد عانت من الإجهاد التأكسدي عند تعرضها للفورم ألدهيد بسبب زيادة أنواع الأوكسجين التفاعلية مما يؤدي إلى تلف خلايا نقي العظم مما يسبب لاحقاً تعطيل إنتاج كريات الدم البيضاء والحمراء (Pizzino *et al*., 2017, van der Laan *et al*., 2022).

جدول(13). متوسطات تعداد كريات الدم الحمراء (RBC) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً.

اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	5.46±0.41	6.71±0.34	5.46±0.68	6.74±0.29	5.82±0.66	5.54±0.64
CA	5.06±0.88	5.70±1.06	7.79±0.33	8.03±0.26	8.33±0.43	9.02±0.26
FA+ CA	6.08±1.30	4.55±0.41	6.20±0.47	6.23±0.62	5.77±0.60	5.98±0.39
FA	5.26±0.70	5.13±0.36	5.69±0.80	4.23±0.62	3.02±0.44	2.31±0.53

- المعدل الطبيعي لتعداد كريات الدم الحمراء(RBC)عند الأرانب:**3.8-7.9 x10^6/ µl** .

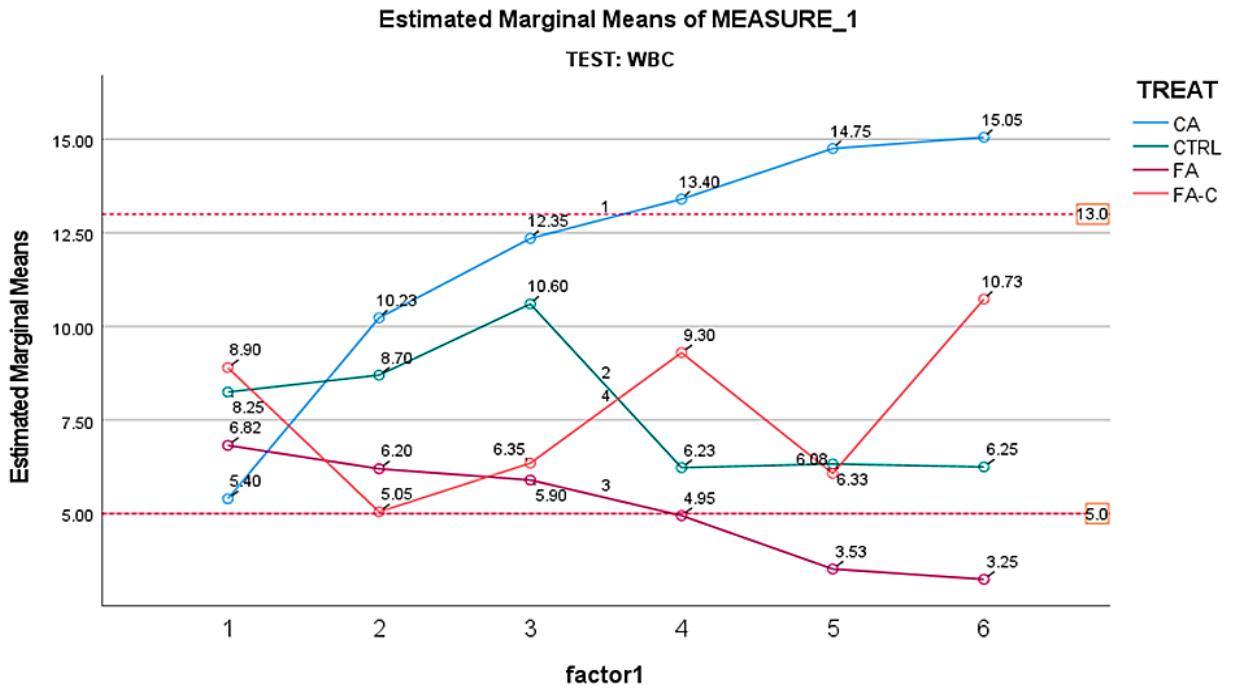


المخطط (9). يوضح متوسطات تعداد كريات الدم الحمراء (RBC) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.

جدول(14). متوسطات تعداد كريات الدم البيضاء (WBC) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً.

اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	8.25±2.12	8.70±3.80	10.60±1.25	6.23±0.70	6.33±0.54	6.73±0.73
CA	5.40±0.69	10.23±1.61	12.35±0.73	13.40±0.60	14.75±0.84	15.05±1.15
FA+ CA	8.90±1.04	5.05±0.53	6.35±0.20	9.30±0.29	6.08±0.23	10.73±1.31
FA	6.83±1.97	6.20±0.68	5.90±0.90	4.95±0.97	3.53±0.48	3.25±0.70

- المعدل الطبيعي لتعداد كريات الدم البيضاء **(WBC)**عند الأرانب:**$5.0\text{-}13.1\ x10^3/\mu l$** .



المخطط (10). يوضح متوسطات تعداد كريات الدم البيضاء (WBC) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.

(4-2-3-2) تعداد كريات الدم البيضاء اللمفاوية والمحببة:

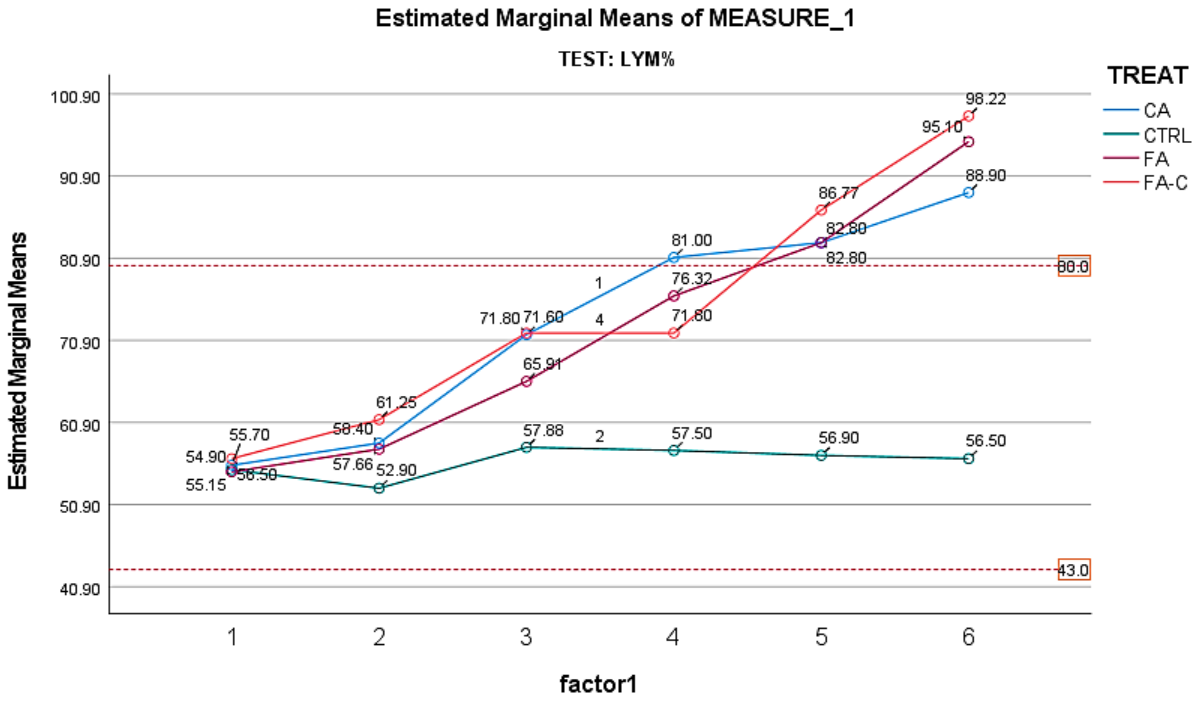
أظهرت النتائج بالجدولين (15,16) زيادة نسبة خلايا الدم البيضاء اللمفاوية والمحببة في مجموعة الحيوانات المعاملة بالكارنيتين مع وجود دلالة معنوية عالية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد كما هو واضح بالجدول (20)، بينما ازدادت نسبة الخلايا اللمفاوية بشكل أعلى من المعدل الطبيعي في مجموعة الحيوانات المعاملة بالفورم ألدهيد كما هو واضح بالجدول(15)، وهذا ما توافق مع نتائج الباحثان (Al-Sarraj and Al-Habity., 2013)، في حين اختلفت نتائج هذه الدراسة عن نتائج الباحث (Negara *et al*., 2023) الذي بين انخفاض في تعداد الخلايا اللمفاوية في مجموعة الفئران المعرضة لتراكيز مختلفة من الفورم ألدهيد، بينما أظهرت دراسة في الصين انخفاض الخلايا اللمفاوية التائية في دم العمال المعرضين للفورم ألدهيد(Ye *et al*., 2005)، في حين انخفضت نسبة الخلايا المحببة دون الحد الأدنى للمعدل الطبيعي لها في نفس المجموعة كما في الجدول (16)، وهذا ما لوحظ في نتائج الباحث (Lyapina *et al*., 2004) الذي أوضح أن هناك انخفاضاً ملحوظاً في نسبة الخلايا المحببة نتيجة التعرض المهني للفورم ألدهيد لدى عمال التجربة، ونتائج الباحث (Negara *et al*., 2023) التي أوضحت انخفاض في تعداد الخلايا المحببة في مجموعة الفئران المعرضة لتراكيز مختلفة من الفورم ألدهيد مقارنة بالمجموعة الضابطة في التجربة، مع وجود دلالة معنوية عالية لكل من الخلايا اللمفاوية والمحببة عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد كما هو واضح بالجدول(20).

أما مجموعة الحيوانات المعاملة بالفورم ألدهيد والكارنيتين معاً فقد ارتفعت فيها الخلايا اللمفاوية بشكل أعلى من المعدل الطبيعي كما هو واضح بالجدول (15) مع وجود دلالة معنوية عالية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد كما في الجدول (20)، في حين بقيت الخلايا المحببة ضمن المعدل الطبيعي كما في الجدول (16) دون وجود دلالة معنوية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد كما هو مبين بالجدول (20).

جدول(15). متوسطات نسبة خلايا الدم البيضاء اللمفاوية (LYM) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً.

اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	55.15±3.00	52.90±0.27	57.88±1.87	57.50±1.87	56.90±1.15	56.50±2.01
CA	55.70±2.42	58.40±2.55	71.66±2.08	81.00±1.00	82.80±1.05	88.90±1.65
FA+ CA	56.50±2.23	61.25±2.14	1.80±1.927	71.80±1.83	86.77±2.25	98.22±0.69
FA	54.90±2.52	57.66±1.19	65.91±3.46	76.32±3.21	82.80±0.72	95.10±1.85

- المعدل الطبيعي لنسبة الخلايا اللمفاوية **(LYM)** عند الأرانب:**% 80-43.**

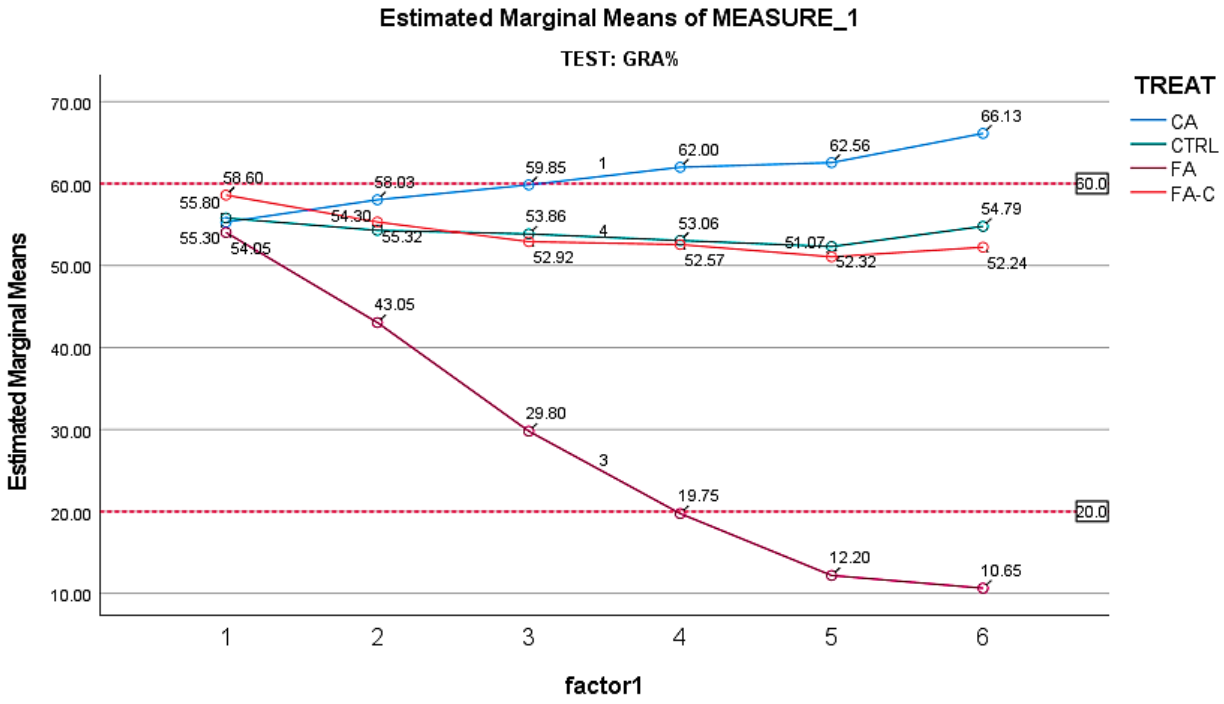


المخطط (11). يوضح متوسطات نسبة خلايا الدم البيضاء اللمفاوية (LYM) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.

جدول(16). متوسطات نسبة خلايا الدم البيضاء المحببة (GRA) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً.

اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	55.80±2.77	54.30±0.80	53.86±0.90	53.06±2.31	52.32±2.06	54.79±2.10
CA	55.33±3.21	58.03±3.22	59.85±1.93	62.00±0.99	62.56±1.07	66.13±1.69
FA+ CA	58.60±2.35	55.32±2.49	52.92±1.59	52.57±1.44	51.07±1.67	52.24±2.04
FA	54.05±0.42	43.05±2.17	29.80±4.70	19.75±1.39	12.20±0.91	10.65±1.50

- المعدل الطبيعي لنسبة الخلايا المحببة **(GRA)** عند الأرانب:**% 20-60**.



المخطط (12). يوضح متوسطات نسبة خلايا الدم البيضاء المحببة (GRA) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.

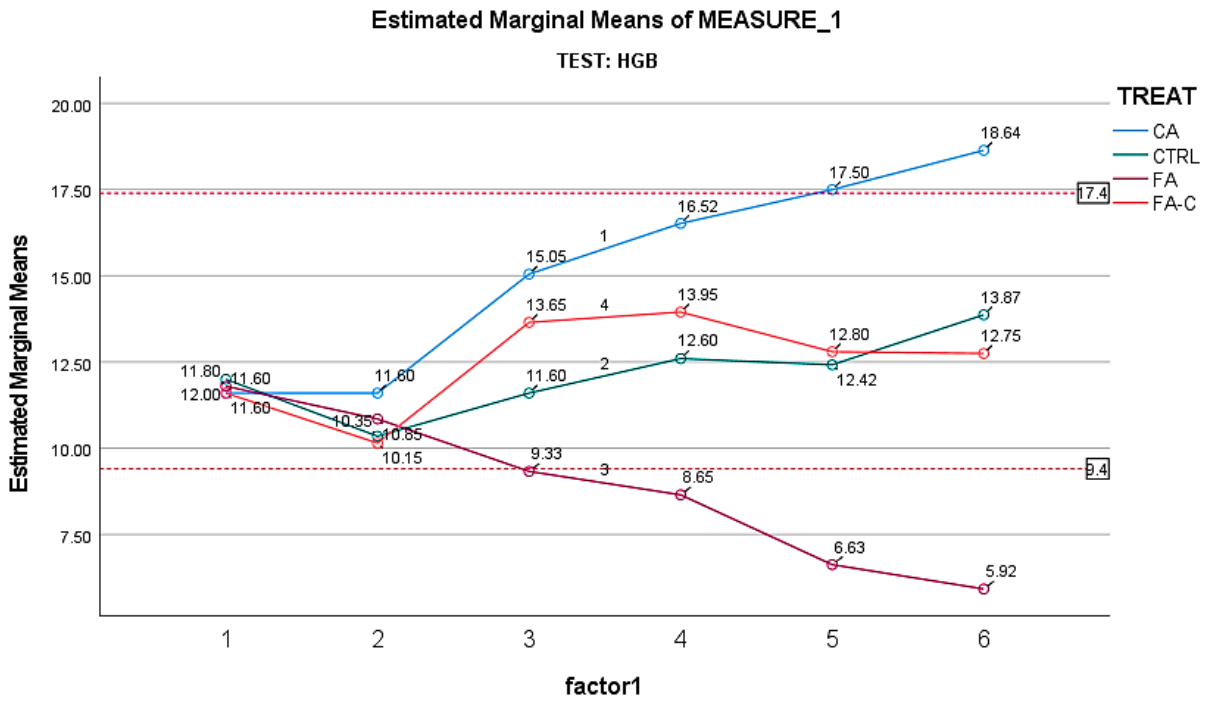
(4-2-3-3) تركيز خضاب الدم:

بالنسبة لتركيز الخضاب في دم حيوانات التجربة فقد تزايدت نسبته بشكل طفيف في مجموعة الحيوانات المعاملة بالكارنيتين وأقرب للحد العلوي من المعدل الطبيعي كما في الجدول (17)، وهذا ما توافق مع نتائج (Seleem *et al*., 2006, El-Abad *et al*., 2022) من خلال إعطاء الكارنيتين مع ماء الشرب لأرانب التجربة، في حين انخفض تركيز الهيموغلوبين عن المعدل الطبيعي بشكل واضح في مجموعة الفورم ألدهيد كما في الجدول (17)، مع وجود دلالة معنوية عالية عند مستوى (5%) لكلا المجموعتين بالمقارنة مع الشاهد كما هو واضح بالجدول(20)، وجاءت هذه النتائج متوافقة مع نتائج الباحث (Khan *et al*., 2005; Khan *et al*., 2006)، في حين بقي تركيز الهيموغلوبين في مجموعة الحيوانات المعاملة بالفورم ألدهيد والكارنيتين معاً ضمن المعدل الطبيعي كما في الجدول (17) دون وجود دلالة معنوية عند مستوى (5%) بالمقارنة مع الشاهد كما في الجدول (20).

جدول(17). متوسطات تركيز الخضاب (HGB) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً.

اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	12.00±0.10	10.35±0.56	11.60±0.37	12.60±0.20	12.42±0.19	13.87±0.03
CA	11.60±0.40	11.60±0.28	15.05±0.06	16.52±0.34	17.50±0.26	18.64±0.12
FA+ CA	11.60±0.24	10.15±0.52	13.65±0.19	13.95±0.02	12.80±0.17	12.75±0.21
FA	11.80±0.19	10.85±0.16	9.33±0.17	8.65±0.32	6.63±0.16	5.92±0.23

- المعدل الطبيعي لمتوسطات تركيز الخضاب **(HGB): 9.4-17.4 g/dl.**



المخطط (13). يوضح متوسطات تركيز الخضاب (HGB) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.

(4-3-2-4) تعداد الصفائح الدموية ونسبة الهيماتوكريت في الدم:

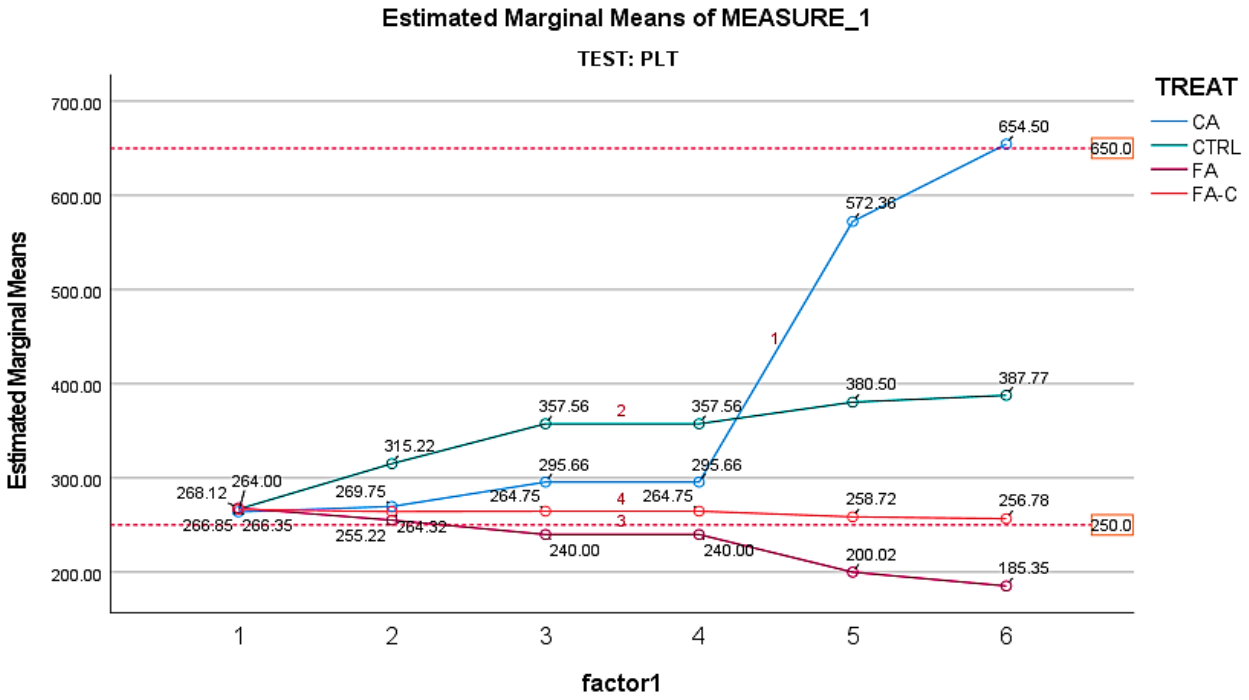
أظهرت نتائج الدراسة أن تعداد الصفائح الدموية ونسبة الهيماتوكريت قد انخفضا في دم مجموعة الحيوانات المعاملة بالفورم ألدهيد عن المعدل الطبيعي له وهذا واضح بالجدولين (18,19)، وهذا ما توافق مع نتائج الباحثان (Wang *et al*., 2009; Al-Sarraj and Al-Habity., 2013) من حيث انخفاض تعداد الصفائح الدموية، وتوافق مع نتائج الباحث (Khan *et al*., 2005) من ناحية انخفاض نسبة الهيماتوكريت في دم إناث طيور السمان الياباني المغذاة على علف معامل بالفورم ألدهيد، في حين بقيا ضمن المعدل الطبيعي في كل من مجموعة الحيوانات المعاملة بالكارنيتين ومجموعة الحيوانات المعاملة بالكارنيتين والفورم ألدهيد معاً كما في الجدولين (18,19)، وهذه النتيجة لم تتوافق مع نتائج دراسة كل من الباحثين (Seleem *et al*., 2006; El-Abad *et al*., 2022) التي أوضحت ارتفاع نسبة هيماتوكريت الدم من خلال إعطاء الكارنيتين مع ماء الشرب للأرانب النيوزيلندية البيضاء بالمقارنة مع الشاهد. مع وجود دلالة معنوية عالية لتعداد الصفائح الدموية لكل المجموعات عند مستوى (5%) بالمقارنة مع الشاهد، وعدم وجود دلالة معنوية عند مستوى (5%) لنسبة الهيماتوكريت في الدم في كل من مجموعة الكارنيتين ومجموعة الكارنيتين والفورم

ألدهيد معاً، ووجود دلالة معنوية عالية عند مســـتوى (5%) في مجموعة الفورم ألدهيد بالمقارنة مع الشـــاهد وهذا ما هو واضح بالجدول (20).

جدول(18). متوسطات تعداد الصفائح الدموية (PLT) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً.

اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	266.85±14.15	315.22±8.00	357.56±1.80	357.56±1.73	380.50±1.32	387.77±2.26
CA	264.00±10.53	269.75±9.06	295.66±1.17	295.66±1.38	572.36±3.02	654.50±1.32
FA+ CA	266.35±13.62	264.32±12.06	264.75±11.67	264.75±10.73	258.72±7.57	256.78±5.40
FA	268.12±10.35	255.22±3.02	240.00±3.60	240.00±6.55	200.02±1.03	185.35±8.53

- المعدل الطبيعي لتعداد الصفائح الدموية **(PLT): $250\text{-}650 \times 10^9$/ L.**

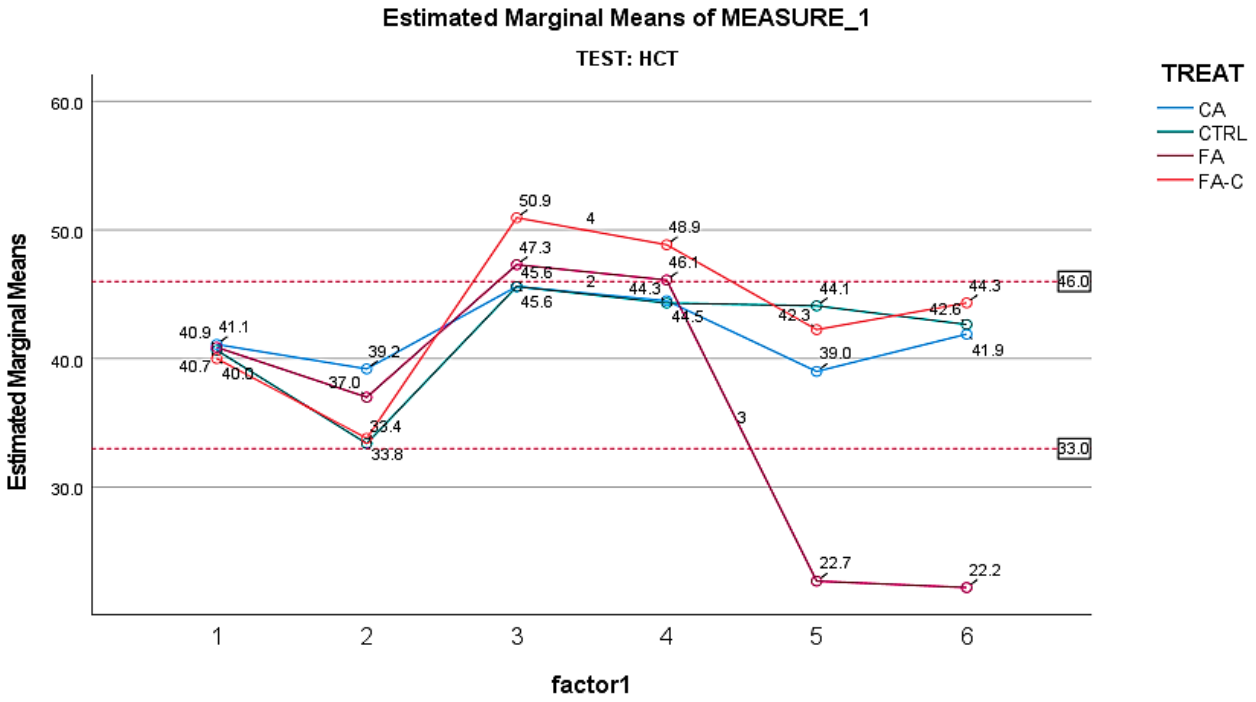


المخطط (14). يوضح متوسطات تعداد الصفائح الدموية (PLT) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.

جدول(19). متوسطات نسبة الهيماتوكريت (HCT) مع الانحراف المعياري في دم حيوانات التجربة بشكل دوري كل /15/ يوماً.

اسم المجموعة	SD±قراءة/1/	SD±قراءة/2/	SD±قراءة/3/	SD±قراءة/4/	SD±قراءة/5/	SD±قراءة/6/
شاهد	40.65±1.71	33.40±2.60	45.60±0.52	44.32±0.94	44.10±1.15	42.65±2.49
CA	41.10±1.91	39.20±1.70	45.60±1.44	44.50±1.50	39.00±2.00	41.90±1.69
FA+ CA	40.00±3.00	33.80±2.98	50.95±0.95	48.85±1.20	42.25±2.05	44.33±0.95
FA	40.88±1.63	37.00±2.00	47.33±0.57	46.11±1.01	22.70±1.75	22.20±0.91

- المعدل الطبيعي لنسبة الهيماتوكريت **(HCT):% 33-46 .**



المخطط (15). يوضح متوسطات نسبة الهيماتوكريت (HCT) المأخوذة من دم حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.

جدول (20). متوسط الفروقات لقيم اختبارات الصورة الدموية ودلالتها المعنوية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد.

Dunnett- t	المجموعة التجريبية	البيان	متوسط الفروقات Mean Difference	الدلالة المعنوية للفروقات Sig
RBC كريات الدم الحمراء	CA	الشاهد	1.366*	0.001
	FA+CA		0.152	0.828
	FA		1.681*	0.000
WBC كريات الدم البيضاء	CA		4.139*	0.001
	FA+CA		0.010	1.000
	FA		2.615*	0.011
LYM% الخلايا اللمفاوية	CA		16.941*	0.000
	FA+CA		15.981*	0.000
	FA		18.251*	0.000
GRA% الخلايا المحببة	CA		6.627*	0.000
	FA+CA		0.237	0.990
	FA		25.769*	0.000
HGB هيموغلوبين الدم	CA		3.020*	0.000
	FA+CA		0.348	0.072
	FA		3.278*	0.000
PLT الصفائح الدموية	CA		47.745*	0.000
	FA+CA		81.631*	0.000
	FA		112.791*	0.000
HCT% الهيماتوكريت	CA		0.098	0.998
	FA+CA		1.577	0.165
	FA		5.748*	0.000

ـــ * تشير إلى وجود دلالة معنوية عالية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد.

(3-4) نتائج قياس الوزن الحي والتشريح المرضي لأرانب التجربة:

(1-3-4) قياس الوزن الحي:

توضح البيانات الواردة في الجدول (21) تغير متوسط وزن مجموعات حيوانات التجربة حيث بينت أن متوسط الوزن الحي في كل من مجموعة الشاهد ومجموعة L– كارنيتين كان في تزايد مستمر بالمقارنة مع وزن بدء التجربة، بينما متوسط الوزن في مجموعة الفورم ألدهيد (FA) بدأ بالتزايد حتى منتصف فترة التجربة ليعود بالتناقص تدريجياً حتى نهاية التجربة، و كذلك الأمر بالنسبة لمجموعة الفورم ألدهيد + L– كارنيتين (FA+CA) بدأ الوزن بالزيادة حتى منتصف فترة التجربة (45 يوماً) ليستقر لمدة /15/ يوماً لا زيادة ولا نقصان حتى بدء الشهر الأخير ومرور (60 يوماً) من التجربة، حيث لوحظ وجود انخفاض طفيف في متوسط وزن هذه المجموعة مقارنة مع انخفاض متوسط وزن مجموعة الفورم ألدهيد، وقد لوحظ مع اختلاف متوسط وزن مجموعات التجربة اختلاف الانحراف المعياري لكل مجموعة والمكونة من (6) ذكور من الأرانب .

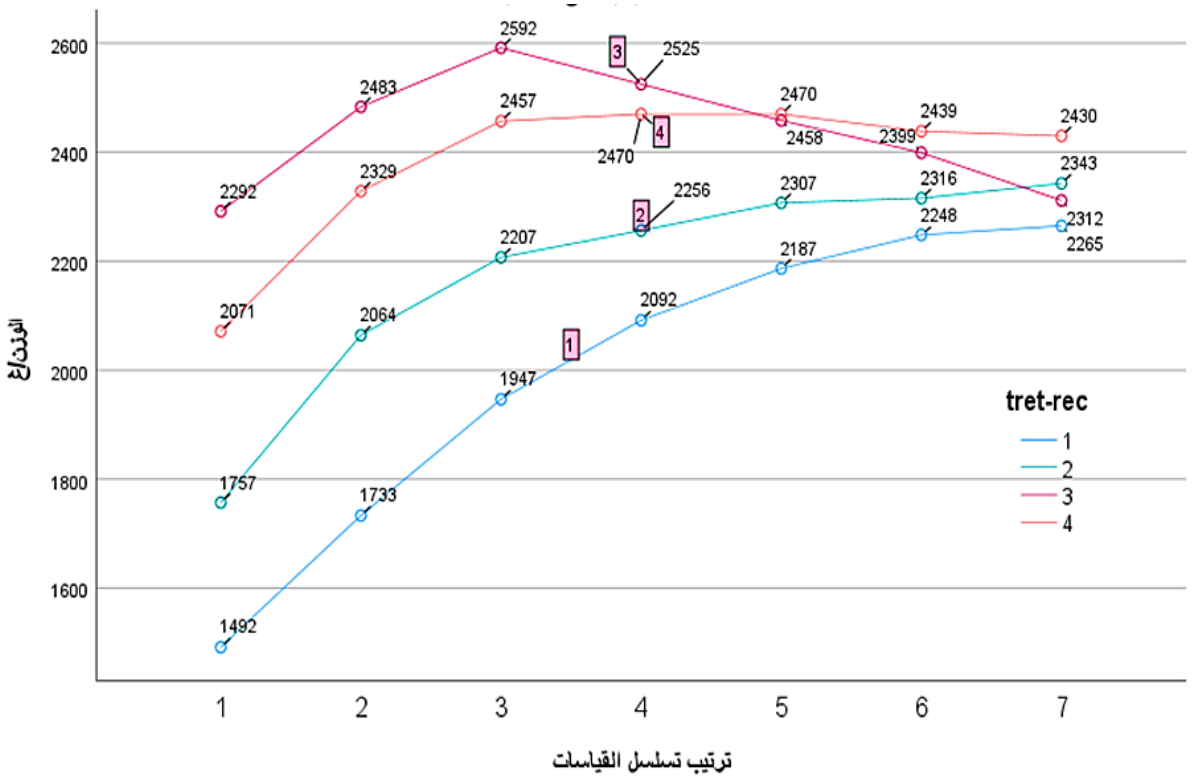
وبالتحليل الاحصائي لمتوسط فروقات الأوزان حسب الجدول (22) لوحظ عدم وجود فرق معنوي بين مجموعة L–كارنيتين والشاهد عند مستوى دلالة (5%)، بينما كان هناك دلالة معنوية عالية لمتوسط الفروقات بين مجموعة الشاهد وكل من مجموعتي الفورم ألدهيد ومجموعة الفورم ألدهيد مع L–كارنيتين.

جدول(21). متوسطات أوزان حيوانات التجربة (غرام) وانحرافاتها المعيارية كل (15) يوماً.

اسم المجموعة	/0/وزن±SD	/1/وزن±SD	/2/وزن±SD	/3/وزن±SD	/4/وزن±SD	/5/وزن±SD	/6/وزن±SD
شاهد	1491.67± 106.84	1733.33± 250.33	1946.67± 158.23	2091.67± 185.51	2186.67± 176.03	2248.33± 198.43	2265.00± 176.38
CA	1757.14± 142.67	2064.29± 213.53	2207.14± 209.02	2256.43± 180.66	2307.14± 142.44	2315.71± 123.26	2342.86± 126.05
FA+ CA	2071.43± 63.621	2328.57± 179.94	2457.14± 171.82	2470.00± 214.55	2470.00± 191.39	2438.57± 165.97	2311.67± 321.21
FA	2291.67± 80.10	2483.33± 254.29	2591.67± 276.43	2525.00± 285.92	2458.33± 290.54	2399.17± 298.50	2430.00± 184.30

جدول(22). متوسط فروقات أوزان حيوانات التجربة (غرام) ودلالتها المعنوية عند مستوى (5%) مقارنة مع الشاهد.

المجموعة التجريبية	البيان	متوسط الفروقات Mean Difference	الدلالة المعنوية للفروقات Sig	
CA	الشاهد	183.91	0.182	Dunnett- t
FA+CA		386.05*	0.002	
FA		442.50*	0.001	



المخطط (16). يوضح تغير متوسطات أوزان حيوانات التجربة كل (15) يوماً خلال فترة التجربة.

(١. شاهد، 2. مجموعة CA، 3. مجموعة FA، 4. مجموعة FA+CA)

أظهرت البيانات الواردة في الجدول (23) أدناه متوسط تغير وزن حيوانات التجربة غ/يوم كل(15)يوم، مع العلم أن قيمة متوسط تغير الوزن اليومي الإجمالي غ/يوم لحيوانات التجربة خلال فترة (90

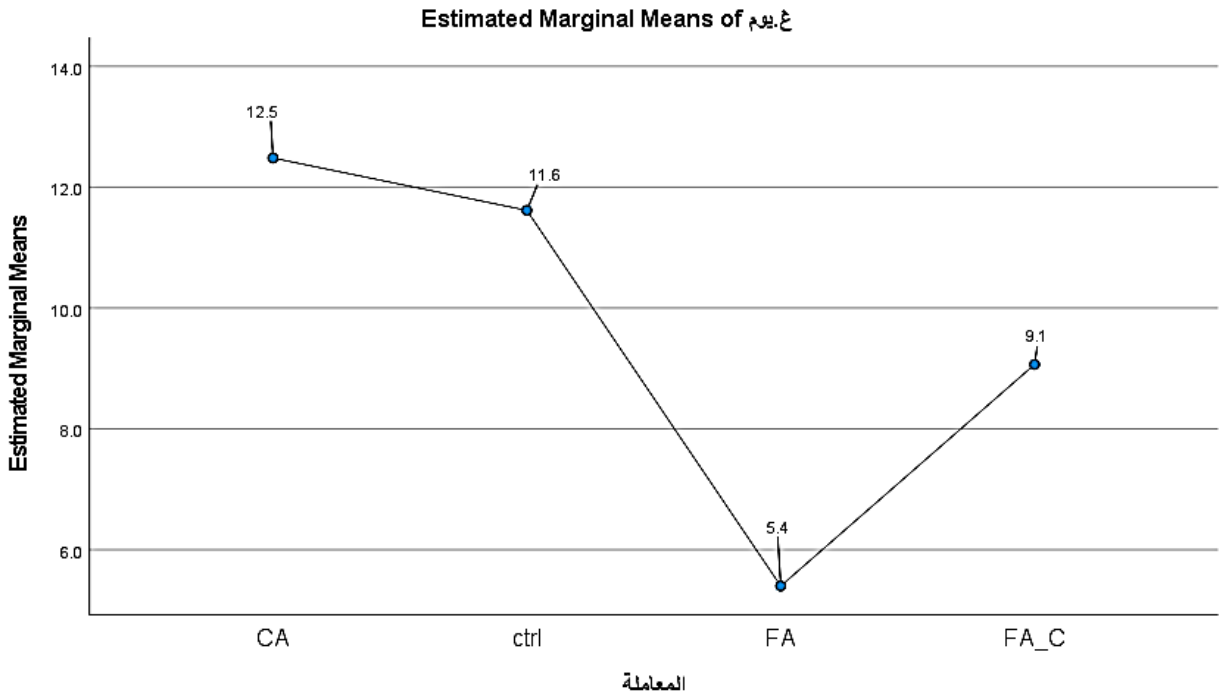
يوماً) كانت الأعلى في مجموعة L- كارنيتين بمعدل 12.48±2.92 مقارنة بباقي المجموعات بما فيها الشاهد 5.29± 11.61 كما هو موضح بالجدول (24)، ويمكن تفسير ذلك أن L- كارنيتين هو عامل مساعد في عملية التمثيل الغذائي بحيث يساعد في عملية تحويل البروتين و الدهون و الكربوهيدرات من الطعام إلى طاقة للجسم يستخدم جزء منها بالاحتراق المباشر و جزء آخر يتم تخزينه للاستخدام لاحقاً على شكل أحماض دهنية التي لا يمكن أن تنتقل إلى المتقدرات دون وجود الكارنيتين بالمشاركة مع بعض العناصر مثل الأوكسجين بحيث يتم أكسدتها لإنتاج أدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP) مما ينشط عملية التمثيل الغذائي (Belay *et al*., 2006) ويعزز استخدام الطاقة مما يحسن زيادة وزن الجسم و كفاءة التغذية (Neuman *et al*., 2002)، كما يعتقد أن L- كارنيتين يفيد النمو لأنه يتسبب في إطلاق العوامل المشابهة للأنسولين المعزز للنمو (Beccavin *et al*., 2001; Kita *et al*., 2002).

جدول(23). يوضح متوسط تغير وزن حيوانات مجموعات التجربة غ/يوم كل /15/يوماً من التجربة.

اسم المجموعة	متوسط تغير وزن غ/ يوم /15/ يوم	متوسط تغير وزن غ/ يوم /30/ يوم	متوسط تغير وزن غ/ يوم /45/ يوم	متوسط تغير وزن غ/ يوم /60/ يوم	متوسط تغير وزن غ/ يوم /75/ يوم	متوسط تغير وزن غ/ يوم / 90/ يوم
شاهد	20.500± 5.299	15.000± 5.299	11.100± 5.299	9.200± 5.299	7.400± 5.299	6.500± 5.299
CA	16.100± 2.921	15.200± 2.921	13.300± 2.921	11.600± 2.921	10.100± 2.921	8.600± 2.921
FA+ CA	17.100± 5.067	12.900± 5.067	8.900± 5.067	6.600± 5.067	4.900± 5.067	4.000± 5.067
FA	12.800± 5.015	10.000± 5.015	5.200± 5.015	2.800± 5.015	1.400± 5.015	0.200± 5.015

جدول(24). يوضح متوسط تغير الوزن الإجمالي غ / يوم لحيوانات التجربة.

المعاملات	عدد القياسات (N)	متوسط تغير الوزن الإجمالي غ / يوم ± الانحراف المعياري Mean gr/d ± Std. Deviation
شاهد	**6**	11.61 ±5.29
CA		12.48±2.92
CA+FA		9.06±5.06
FA		5.40±5.01



المخطط (17). يوضح متوسط تغير الوزن الإجمالي اليومي غ / يوم لحيوانات التجربة.

وبالتحليل الاحصـــائي لبيانات متوســـط الفروقات الوزنية لحيوانات التجربة باســـتخدام اختبار (Dunnett-t) تبين من خلال الجدول (25) وجود دلالة معنوية عالية لمجموعة الفورم ألدهيد مقارنة مع الشـــاهد عند مســـتوى دلالة (5%)، ووجود دلالة معنوية لمجموعة الفورم ألدهيد + L− كارنيتين مقارنة مع الشاهد، بينما لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي بين مجموعة الكارنيتين والشاهد.

جدول(25). متوسط فروقات تغير الوزن الإجمالي اليومي غ/يوم لحيوانات التجربة ودلالتها المعنوية عند مستوى(5%) مقارنة مع الشاهد.

	المجموعة التجريبية	البيان	متوسط الفروقات Mean Difference	الدلالة المعنوية للفروقات Sig
Dunnett- t	CA	الشاهد	0.867	0.752
	FA+CA		-2.550	0.356
	FA		-6.217*	0.032

أظهر تجريع ذكور الأرانب للفورم ألدهيد مع الحليب التأثير الســـلبي على أوزانها حيث كان هناك

فرق كبير من الناحية الإحصـــائية بين متوســـط وزن مجموعة الفورم ألدهيد بالمقارنة مع كل من مجموعة الشـــاهد والكارنيتين، بينما تبين أن الحيوانات حافظت على وزنها بمعدل قريب من الطبيعي عند تناولها للكارنيتين مع الفورم ألدهيد معاً وهذا ما توافق مع دراسات كل من (Hussain *et al*., 2012; George *et al*., 2017).

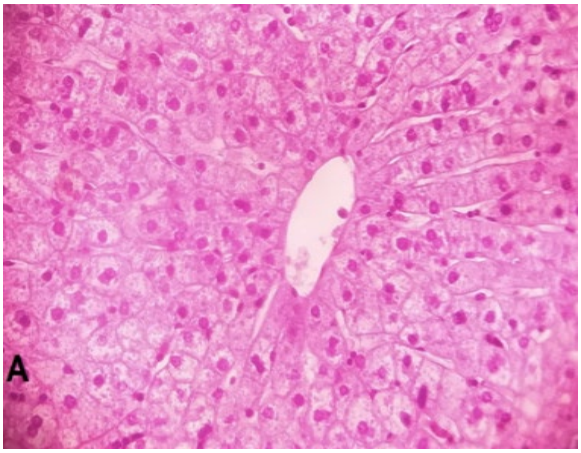
أظهرت العديد من الدراسات (Ozen *et al*., 2002,2003; Songur *et al*., 2003; Zararsiz., 2006) أن استنشاق الفورم ألدهيد أو تناوله عن طريق الفم مخلوطاً بالعلف (Khan *et al*., 2005) يسبب تأثيرات سامة و انخفاضاً عكسياً في تناول الطعام و استهلاك المياه و في وزن الجسم عند طيور السمان، وقد فسر (Ozen *et al*., 2003) هذه التأثيرات السامة أنها نتيجة تثبيط مركزي أو على الأرجح نتيجة تثبيط الحمض النووي و تركيب البروتين، كما ســـجل الباحث (Kamata *et al*., 1997) انخفاضـــاً كبيراً في استهلاك الغذاء ووزن الجسم ومعدل البقاء على قيد الحياة في الحيوانات المعرضة للفورم ألدهيد ، وفُسرت هذه النتائج على أنها ناتجة انخفاض مستويات الدهون الثلاثية ووزن الكبد المطلق. كما كان هناك انخفاض مطرد في وزن الجسم ووزن الأعضاء الداخلية بما فيها الكبد والكلى مع إعطاء الفورم ألدهيد (Chowdhury *et al*.,1992)، وهذا كله يتوافق مع نتائج الدراسة الحالية ولاسيما من ناحية انخفاض وزن الجسم عند ذكور الأرانب في مجموعة الفورم ألدهيد، في حين أظهرت نتيجة الدراسة التي قام بها (Soffritti *et al*., 2002) عدم تأثر كلاً من الاستهلاك الغذائي اليومي وأوزان حيوانات التجربة (الفئران) بالفورم ألدهيد الذي تم اعطاؤه بتراكيز مختلفة مع ماء الشـــرب خلال مدة التجربة التي اســـتغرقت 104 أســـابيع. في حين أن الباحث (Hussein *et al*., 2012) أوضـــح نتيجة لدراســـته انخفاض وزن جســـم أرانب التجربة دون أن ينخفض استهلاكها للغذاء، وفسر ذلك بأنه قد يكون نتيجة لضعف عمليات التمثيل الغذائي تحت تأثير الفورم ألدهيد ،على النقيض من ذلك أوضحت نتائج الدراسة الحالية أن تجريع L- كارنيتين بتركيز 250ملغ/كغ من وزن ذكور الأرانب أدى لزيادة في وزن الجسم بالمقارنة مع المجموعات الأخرى، وهذا ما توافق مع الدراسة التي أجراها (Malgorzata *et al*., 2023) والذي لاحظ أن إضـــافة L- كارنيتين للعلف يســـبب زيادة في وزن دجاج التسمين مقارنة بمجموعة الشاهد، ولم يتوافق مع نتائج (Maraie *et al*.,2023) التي أظهرت أن وزن الجســـم النهائي لحيوانات التجربة(الدجاج الفيومي) كان أعلى بكثير في المجموعات المعالجة بالكارنيتين مقارنة مع الشـــاهد. كما بينت نتائج الدراســـة الحالية أن قيمة الزيادة اليومية (غ/يوم) لوزن حيوانات التجربة كانت أعلى بشـــكل غير معنوي عند مســـتوى (5%) في مجموعة الكارنيتين مقارنة مع الشـــاهد، على حين

أوضــح الباحث (seleem *et al*., 2006) أن قيم الزيادة اليومية لوزن الجســم لحيوانات التجربة كانت أعلى بشكل معنوي عند مستوى (5%) عند تناولها لماء الشرب المضاف له الكارنيتين مقارنة مع الشاهد.

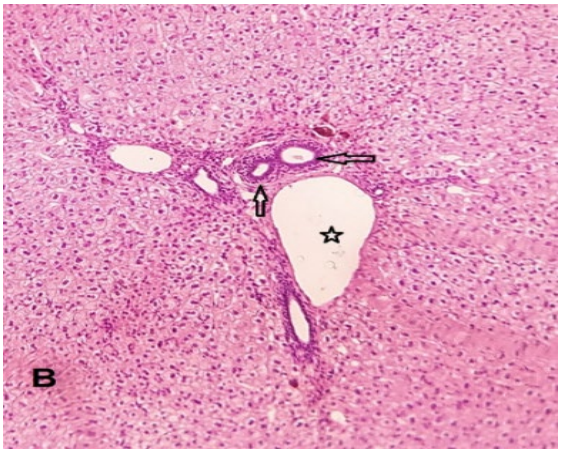
(4-3-2) التشريح المرضي لحيوانات التجربة:

(4-3-2-1) نتائج الدراسة النسيجية للكبد:

أظهرت نتائج فحص المقاطع النسيجية لكبد حيوانات التجربة في كافة المجموعات باستخدام المجهر الضوئي ، أن البنية النسـيجية الطبيعية السـليمة للكبد في كل من مجموعة الشـاهد و مجموعة L- كارنيتين، كما هو موضح في الشكل(A,B) حيث تظهر منطقة الثالوث البابي في الفصيص الكبدي بشكل واضح وتشع الخلايا الكبدية بنوى واضـحة من الوريد المركزي على شكل حبال كبدية مترابطة، بينما لوحظ التنكس الشـديد للخلايا الكبدية نتيجة الأثر السـمي للفورم ألدهيد مع غياب الانتظام الشـعاعي للخلايا الكبدية وفقدان أنويتها كما هو موضح في الشكل(F)، وظهور استحالة شحمية واضحة في نسيج الكبد كما في الشكل(E)، ووجود ارتشاح شـديد للخلايا اللمفاوية كما في الشـكل(H) وظهور أجسـام كونسـيلمان (خلايا الموت المبرمج) كما هو في الشــكل(I)، في حين غابت كل هذه التغيرات النســيجية المرضــية في مجموعة الحيوانات المعالجة بالفورم ألدهيد و L- كارنيتين واقتصـرت على وجود كثافة ارتشـاحية للخلايا اللمفاوية في منطقة الثالوث الكبدي كما هو موضح بالشكل(G).

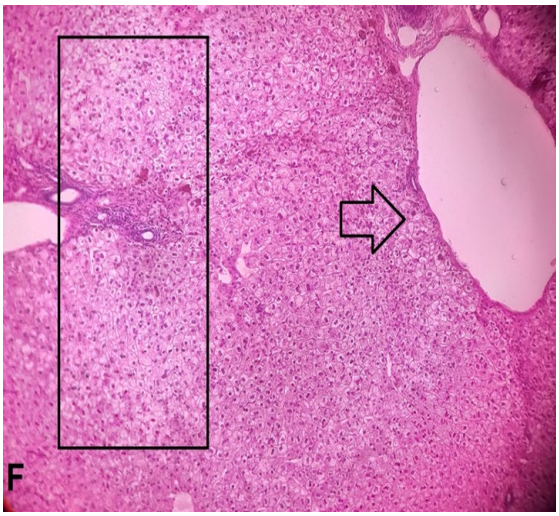


شكل (**A**): توضح البنية النسيجية الطبيعية للكبد لمجموعة الشاهد ويظهر فيها الوريد المركزي والخلايا الكبدية أحادية وثنائية النوى والمصفوفة بشكل شعاعي حوله بالإضافة للجيبانات الكبدية (تكبير 400).

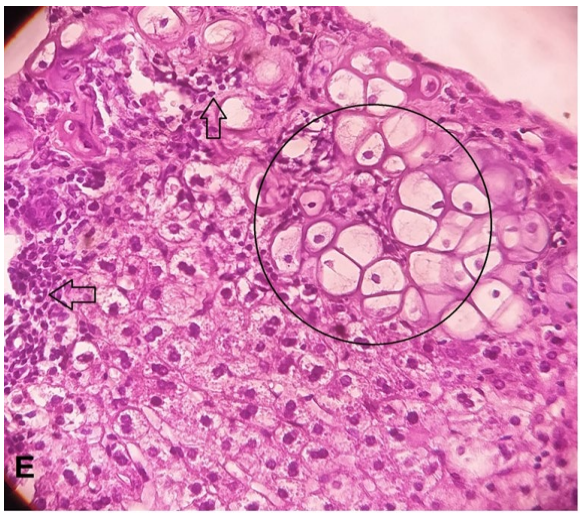


شكل (**B**): تظهر الثالوث البابي: وريد بابي(نجمة) والقناة الصفراوية (سهم لليسار) والشريان الكبدي (سهم للأعلى)، (تكبير 100).

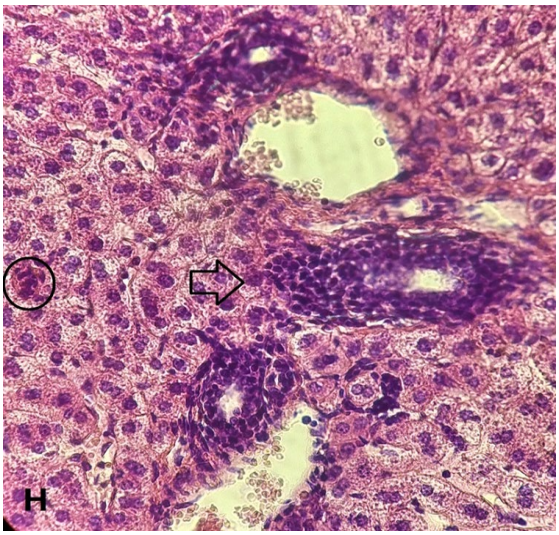
شكل(1): التغيرات النسيجية للكبد في مجموعة الشاهد ومجموعة L-كارنيتين.



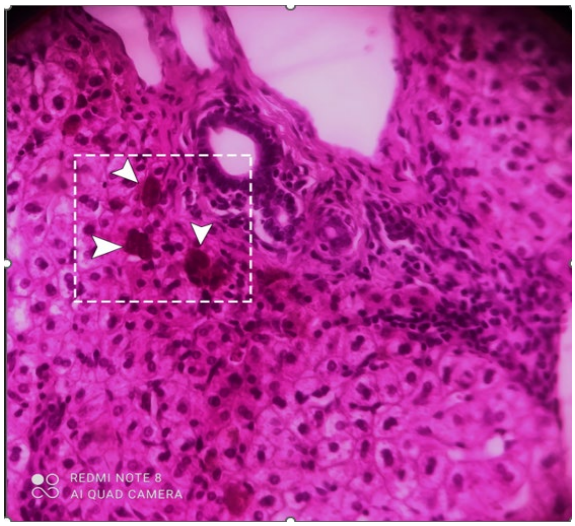
شكل (**F**): تظهر التنكس الشديد للخلايا الكبدية السمي الناجم عن الأثر السمي للفورم ألدهيد في المنطقة القريبة من الثالوث البابي مع غياب الانتظام الشعاعي للخلايا الكبدية وفقدان أنويتها ضمن المستطيل مع توسع شديد للوريد البابي والمشار له بالسهم (تكبير 100).



شكل (**E**): تظهر استحالة شحمية نتيجة الأثر للفورم ألدهيد موضح ضمن الدائرة وهي عبارة طرفية تغزو بارانشيما الكبد مع ارتشاحات لخلايا لمفاوية مشار لها بالأسهم(تكبير 400).

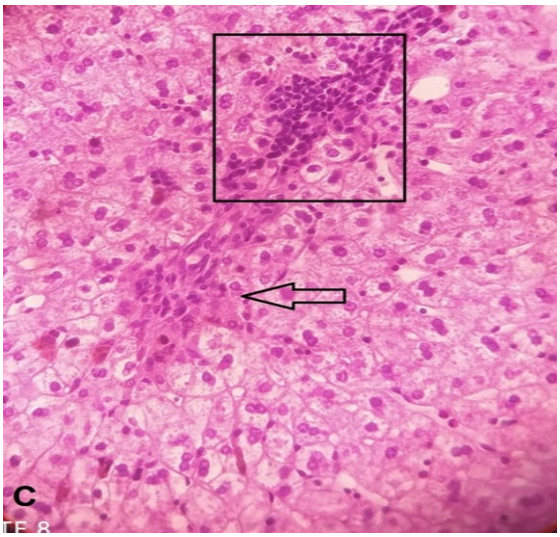


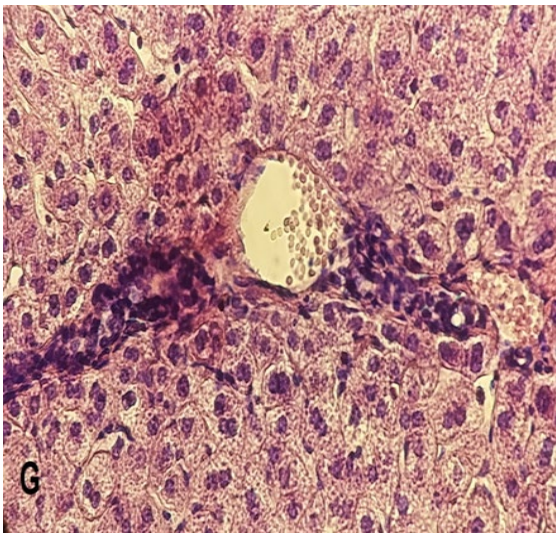
شكل(**H**): تظهر منطقة الثالوث البابي مع كثافة شديدة للخلايا اللمفاوية المرتشحة (سهم) وظهور خلايا التهابية (دائرة) نتيجة الأثر السمي للفورم ألدهيد (تكبير 400).



شكل(**I**): تظهر أجسام كونسيلمان (أجسام الموت المبرمج) والمشار إليها بخطوط بسبب الأثر السمي للفورم ألدهيد (تكبير 100).

شكل (2): التغيرات النسيجية للكبد في مجموعة الفورم ألدهيد.





شكل(**C**):(تكبير 100) تظهر تليف خلايا الكبد مشار إليه بسهم مع ارتشاح للخلايا اللمفاوية ضمن المستطيل نتيجة سمية الفورم ألدهيد، مقارنة مع المجموعة المعاملة بالفورم ألدهيد +**L**-كارنيتين وجود كثافة ارتشاحية للخلايا اللمفاوية في منطقة الثالوث البابي بالشكل (**G**)(تكبير 400).

شكل (3): التغيرات النسيجية للكبد في مجموعة الفورم ألدهيد + L-كارنيتين.

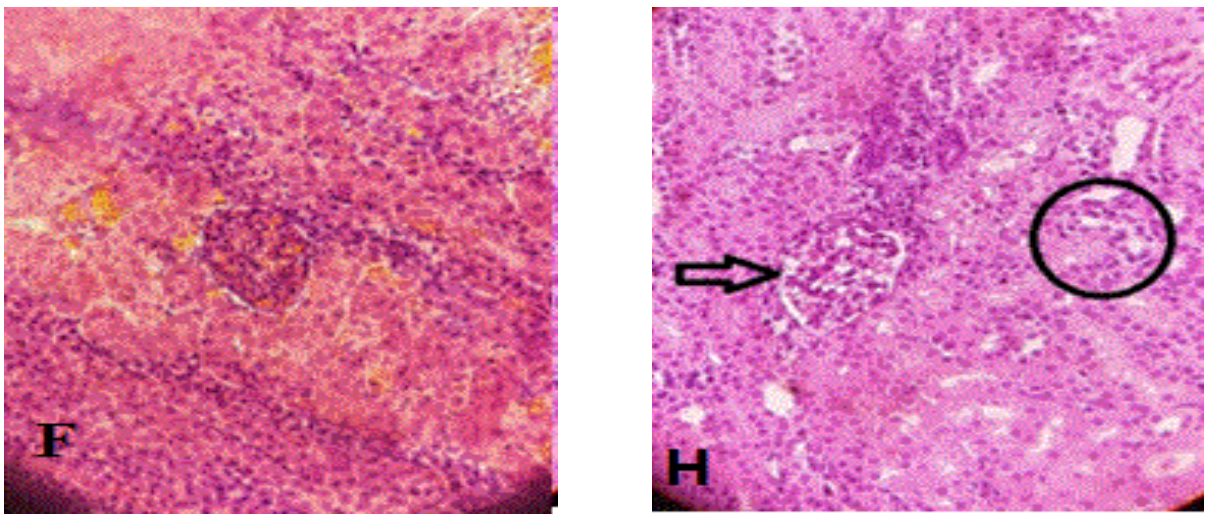
وفي دراسة سابقة للباحث (Mahmoud *et al*., 2016) أظهرت المجموعة المعالجة بـ FA بؤر نخرية متعددة في بعض الفصيصات الكبدية مكونة من حطام الخلايا الكبدية وارتشاح الخلايا اللمفاوية وهذا ما توافق مع نتائج الدراسة الحالية، كما كشف كل من (Mamun *et al*., 2014; Mahmoud *et al*., 2016) عن توسعات واحتقانات في الوريد المركزي، وأعاد (Puche *et al*., 2013) هذه النتائج إلى ارتفاع ضغط الدم البابي، ومن ناحية أخرى أرجع كل من (Rockey, 2001; Puche *et al*., 2013) أن هذه التوسعات تعود إلى تنشيط الخلايا المحيطة بالوريد والتي لها خصائص انقباضية.

وفي الدراسة الحالية كشفت المقاطع النسيجية بالمجموعة المعالجة بـ FA وجود أجسام الموت المبرمج وهو يدل على تغير في بنية الكبد الطبيعية، كما أثبت (Taylor *et al*., 2008) وهذا ما توافق مع نتائج (seleem *et al*., 2006)، كما أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود ارتشاح خلوي كثيف في منطقة الثالوث الكبدي وهذا ما يتوافق مع نتائج كل من (seleem *et al*., 2006; Pekmez *et al*., 2008; Bakar and Cerkezkayabekir., 2014) الذين استخدموا الفورم ألدهيد بجرعة 10ملغ/كغ، وأظهر (seleem *et al*., 2006) الذي أعطى 30ملغ/كغ لمدة 5 أيام نفس النتائج السابقة مع علامات التنكس الدهني أيضاً، وبالمثل بين الباحث (Teng *et al*., 2001) في دراسته التجريبية على خلايا كبد الفئران أن الفورم ألدهيد بتركيزات منخفضة يسبب الإجهاد التأكسدي، في حين الكارنيتين هو عامل قوي كمضاد للأكسدة ويلعب دوراً وقائياً ضد الإجهاد التأكسدي وفقاً للباحث (Kanter *et al*., 2010).

(4-3-2-2) نتائج الدراسة النسيجية للكلى:

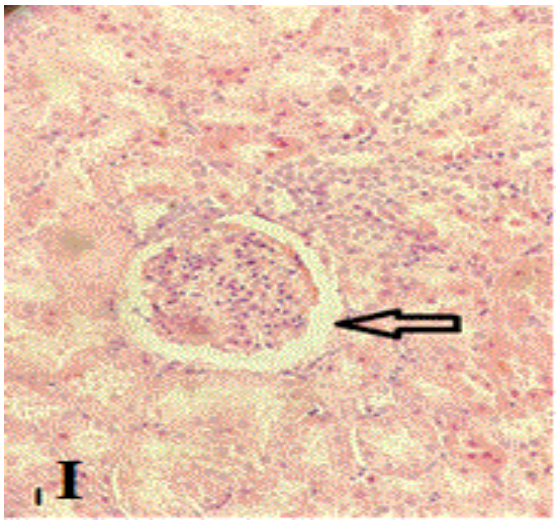
بينت نتائج فحوصات المقاطع النسيجية لكلى حيوانات التجربة في كافة المجموعات باستخدام المجهر الضوئي أن البنية النسيجية الطبيعية السليمة للكلية في كل من مجموعة الشاهد و مجموعة الكارنيتين كما هو موضح في الشكل (F,H)، حيث تظهر فيهما الكبيبة الشعرية و محفظة بومان بشكلهما الطبيعي مع النبيبات القاصية طبيعية و سليمة ، بينما لوحظ في مجموعة الفورم ألدهيد وجود تنكس في قشرة الكلية من خلال غياب أنوية الخلايا وعدم ظهور النبيبات القاصية بشكل واضح كما هو في الشكل(S)، بينما الشكل(R) تظهر ارتشاح الخلايا اللمفاوية مع حطام خلوي في لب الكلية كما تتواجد أذية واضحة في النبيبات الجامعة مع غزارة و توسع بالشعيرات الدموية. وقد أوضح مثل تلك التغيرات التشريحية الباحث (Bansal *et al*., 2011) الذي أشار إلى أن الفورم ألدهيد يعمل كسم مهيج للظهارة الأنبوبية مما يسبب نقص الأوكسجين الأمر الذي يؤدي إلى احتقان الأوعية الدموية، ولم نجد سوى القليل من الدراسات حول الكيمياء النسيجية والتغيرات النسيجية المرضية لأنسجة الكلى الناجمة عن سمية الفورم ألدهيد (Boj *et al*., 2003; Zararsiz *et al*., 2006).

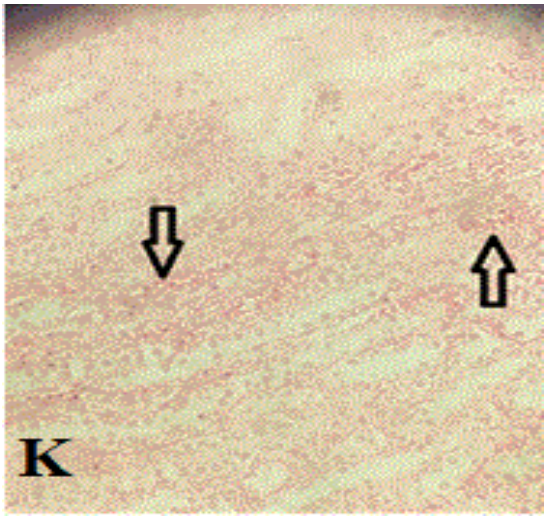
في حين غابت كل هذه التغيرات النسيجية المرضية في مجموعة الحيوانات المعالجة بالفورم ألدهيد والكارنيتين وظهرت الكلية ببنية أقرب للطبيعية واقتصرت التغيرات النسيجية على توسع بسيط بمحفظة بومان كما في الشكل(I)، واحتقان وتوسع بالجيبانات الدموية كما هو في الشكل(K).



شكل(F,H): توضحان البنية الطبيعية السليمة للكلية تظهر فيها الكبيبة الشعرية ومحفظة بومان بشكلها الطبيعي مشار إليها بسهم مع النبيبات القاصية سليمة (محاطة بدائرة) (تكبير400).

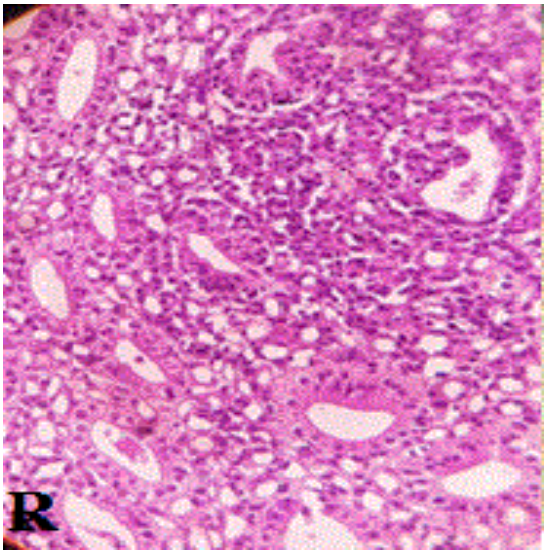
شكل(4): التغيرات النسيجية لأنسجة الكلى في مجموعة الشاهد ومجموعة L-كارنيتين.

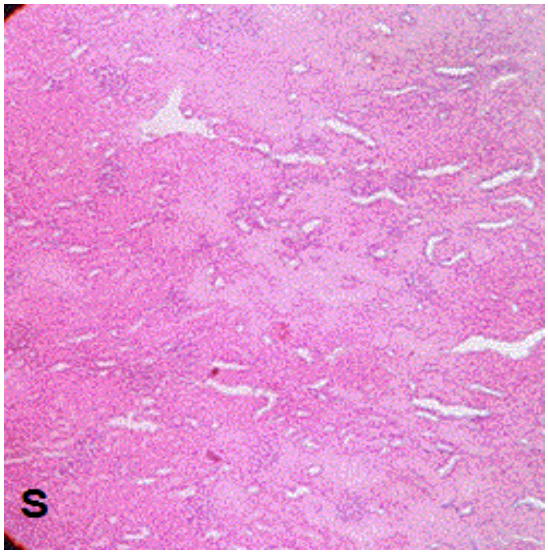




شكل(**I,K**): تظهر الكلية فيهما ببنية طبيعية مع توسع بمحفظة بومان (سهم لليسار) و احتقان وتوسع بالجيبانات الدموية، لمعة واضحة تحتوي على كريات دم حمراء داخلها (سهمين للأعلى والأسفل) (تكبير400).

شكل (5): التغيرات النسيجية لأنسجة الكلى في مجموعة L-كارنيتين والفورم ألدهيد.





شكل(**R**): النسيج بين خلالي ارتشاح خلايا لمفاوية مع حطام خلوي في لب الكلية، أذية في النبيبات الجامعة مع غزارة وتوسع بالشعيرات الدموية (تكبير400).

شكل(**S**): تنكس في بنية الكلية الطبيعية منطقة القشرة وغياب الأنوية الخلوية وعدم ظهور النبيبات القاصية بشكل واضح (تكبير100).

شكل (6): التغيرات النسيجية لأنسجة الكلى في مجموعة الفورم ألدهيد.

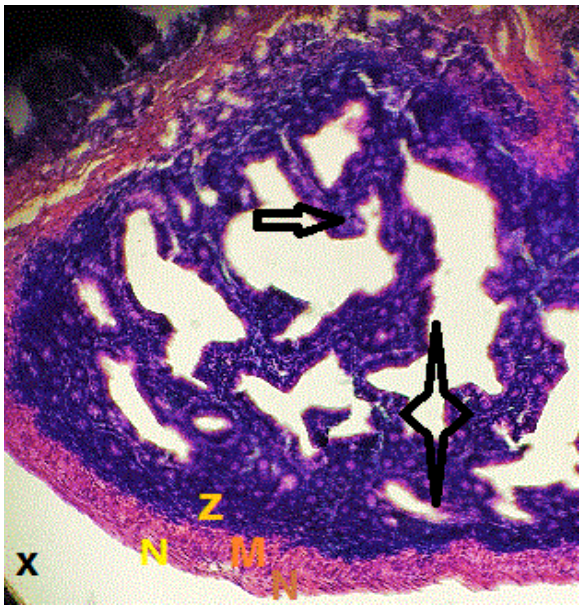
مما سبق نجد أن التغيرات المرضية لمجموعة الفورم ألدهيد التي ظهرت في الدراسة الحالية قد توافقت مع الدراسات العلمية التي أجراها كل من الباحث (Mamun *et al*., 2014) حول التأثير السمي للفورمالين في أنسجة الكلية عند الفئران والذي تم اعطاؤه عن طريق الفم، والباحث (Morsy, 2018) الذي

خلص الى حدوث تغيرات نسيجية في قشرة ولب الكلية تشير لوجود نخر في الخلايا نتيجة حقن فئران التجربة بالفورم ألدهيد، وأيضـــاً ذكر الباحث (Bansal *et al*., 2011) بوجود احتقان ونزيف في الكبيبات والأوعية الدموية بين الأنابيب ونخر في النبيبات القريبة والبعيدة وتوســع في محفظة بومان وارتشــاح واضــح للخلايا اللمفاوية نتيجة الأثر الســـمي للفورم ألدهيد على نســـيج الكلية عند الأرانب، في حين أشـــار الباحث (Golalipour *et al*., 2009) في دراســته التي أظهرت أن اســتنشــاق فئران التجربة للفورم ألدهيد بتراكيز مختلفة وجود احتقان كبيبي خفيف و تنكس في الخلايا الأنبوبية، بينما لم يتواجد أدلة على ارتشـــاح الخلايا الالتهابية ضمن النسيج الخلالي وشوهد فقط احتقان بسيط في الأوعية القشرية.

كذلك أظهرت نتائج الدراســـة في مجموعة الفورم ألدهيد وL-كارنيتين توافقاً مع نتائج الباحث (George *et al*., 2017) الذي اختفت لديه التغيرات النســيجية المرضــية في مجموعة الأرانب المعالجة بالفورمالين وL-كارنيتين الذي لعب دوراً مضـاداً للأكسدة واستعادة الخلايا الأصلية، الأمر الذي يشارك في منع تلف الأنسجة وضمان صحتها الطبيعية.

(4-3-2-3) نتائج الدراسة النسيجية للأمعاء:

في الدراسة الحالية أظهرت المقاطع النسيجية المحضرة من الأمعاء الدقيقة لحيوانات التجارب عدم تأثر بنيتها النســيجية بالمركبات المســتخدمة بالتجربة ســواء الفورم ألدهيد أو L- كارنيتين، حيث بقيت الأمعاء طبيعية بكافة طبقاتها وفي جميع مجموعات التجربة كما هو واضــح في الشــكل (X)، دون ملاحظة أي تغيير على أي من هذه الطبقات وقد يكون ذلك لقصــر فترة التجربة أو نتيجة اســتخدام تركيز منخفض من مركب الفورم ألدهيد.



شكل(**X**): توضح البنية الطبيعية للأمعاء الدقيقة عند حيوانات التجربة. ظهرت فيها كل من الطبقة المخاطية المشار لها بنجمة التي تبرز فيها الزغابات المعوية المشار لها بسهم، يليهم نحو الخارج الطبقة تحت المخاطية(**Z**) ومن ثم الطبقة العضلية (**M**) فالمصلية (**N**)(تكبير 100).

شكل (7): التغيرات النسيجية لأنسجة الأمعاء.

في حين أظهرت نتائج دراسة الباحثين (Zaghlul *et al*, 2007) حدوث آثار مدمرة لبطانة كل من المعدة والأمعاء الدقيقة لحيوانات التجربة (الفئران) نتيجة تجريعها الفورم ألدهيد عن طريق الفم، وكان الغشاء المبطن لجدار المعدة أكثر تأثراً حيث تكونت بعض القرحات النافذة فيه، أما الأمعاء الدقيقة فقد تراوحت الآثار بين متوسطة وضعيفة وسببت تلف الزغابات المعوية بأشكال مختلفة ودرجات متفاوتة. أظهرت النتائج الأولية لدراسة الباحثين (Soffritti *et al*., 2002) ظهور أورام خبيثة وحميدة في معدة وأمعاء الحيوانات المعالجة بالفورم ألدهيد، إلا أنه كان معدل الأورام بالأمعاء منخفضاً وعند استخدام جرعة عالية من الفورم ألدهيد ظهرت أورام الطبقة العضلية الملساء (ساركوما) وهي من الأورام النادرة جداً في الفئران المستخدمة للتجربة. هذا ولم نجد أبحاث تظهر أي تأثير سلبي أو إيجابي لاستخدام مركب الـ L – كارنيتين في الوقاية من التأثير السام للفورم ألدهيد على الأمعاء.

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

CONCLUSIONS

and

RECOMMENDATIONS

الاستنتاجات:

١- لا تأثير لإضـــافة الفورم ألدهيد كمادة حافظة للحليب أو مركب L -كارنيتين في قيم تراكيز التركيب الكيميائي للحليب المدروس (دهن، بروتين، سكر الحليب، المواد الصلبة اللادهنية).

٢- انخفاض مواصـفات ووزن الخثرة الناتجة عن الحليب المعامل بالفورم ألدهيد مقارنة مع الخثرة الناتجة عن الحليب الطبيعي وبالتالي فقدان جودة وصحة وسلامة منتجات الحليب، وعند إضافة مركب L- كارنيتين للحليب كانت مواصفات ووزن الخثرة أقرب للحليب الطبيعي.

٣- ازدياد الزمن اللازم لإتمام عمليتي التخثر الإنزيمي والحامضـــي الناتج عن الحليب المضـــاف له الفورم ألدهيد مقارنة مع الحليب الطبيعي، مما يترتب عليه ضياع في الوقت والجهد لتصنيع مثل هذه المنتجات.

٤- اســتطاع مركب الفورم ألدهيد أن يثبط نشــاط الخلايا الجرثومية في الحليب وإطالة عمر الحليب الخام، حيث كانت نتائج التعداد العام للجراثيم ضـــمن عينات الحليب المضـــاف لها الفورم ألدهيد مطابقة للمواصفات القياسية السورية ولم تتجاوز الحد الأقصى للتعداد الجرثومي خلال الفترات الثلاث للزرع.

٥- أظهرت نتائج الدراســة الحالية إلى مدى تأثر المعايير الكيمياحيوية (كبد، كلى، صــورة دموية) عند أرانب التجربة بإضــافة الفورم ألدهيد للحليب وتحولها عن معدلها الطبيعي، في حين اســتطاع مركب الـــــ L- كارنيتين من خلال تأثيره المضـاد للأكسـدة أن يخفف من التأثير الضـار للفورم ألدهيد ويعيد تلك المعايير إلى قيمها شبه الطبيعية مما يحسن وظائف الأعضاء المدروسة.

٦- كشفت نتائج هذه الدراسة إلى مدى ضرر مركب الفورم ألدهيد بالصحة وتأثيره الخطير على أنسجة الكبد والكلى عند الأرانب بالرغم من اســتخدامه بالجرعة تحت المزمنة، وقد أظهر اســتخدام مركب الـــــ L- كارنيتين دوراً وقائياً في الحد من ســمية الفورم ألدهيد على وزن الجســم عند ذكور الأرانب وتلف أنســجة الكبد والكلى.

التوصيات:

١- الاستمرار في عمليات مراقبة الحليب من الناحية الصحية واتخاذ إجراءات بسيطة وسريعة للكشف عن غش الحليب بالفورم ألدهيد كاستخدام حمض الكبريتيك والذي يبين عند إضافته للحليب وجود كميات غير مضبوطة من إضافة الفورم ألدهيد كمادة حافظة، وذلك للحد من تلك المخالفات وعمليات الغش لدى صانعي الجبن والمتلاعبين بتركيب الحليب ومنتجاته.

٢- المزيد من الاهتمام للحد من التعرض المهني والبيئي للفورم ألدهيد، وتطوير البدائل عن استخدام الفورم ألدهيد كمادة حافظة للعديد من المنتجات الغذائية والصناعية، كما ينصح الأفراد المعرضون بشدة للفورم ألدهيد بتناول مركب L- كارنيتين للتخفيف من أثره السام على الصحة.

٣- نشر ارشادات توعوية للتنبيه على أهمية الالتزام بالشروط الصحية لتصنيع ونقل وحفظ الحليب ومنتجاته.

٤- ضرورة التنسيق ما بين الجهات البحثية والمؤسسات الصحية لربط نتائج الأبحاث بالخطوات العملية المطبقة.

الفصل السادس

المراجع

REFRENCES

المراجع العربية

١. **المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية (2020):** مديرية الإحصاء. إدارة الاقتصاد الزراعي. وزارة الزراعة والإحصاء الزراعي. الجمهورية العربية السورية.

٢. **محيو، عادل؛ كيالي، علي زياد؛ الميدع الياس (1990):** علم الألبان منشورات جامعة حلب.

٣. **توفيق، ميراندا (2005):** تأثير الفورمالين وفوق أوكسيد الهيدروجين على خصائص ومكونات اللبن والجبن. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة عين شمس. مصر.

٤. **أبو غرة، صياح؛ هدال، أحمد؛ أبو يونس، أحمد (2009):** تقييم نوعية الحليب الخام في دمشق وضـــواحيها ميكروبيولوجياً وفيزياكيميائياً. مجلة جامعة دمشـــق للعلوم الزراعية – (2009) – المجلد (25) – العدد2– الصفحات: 207:219.

٥. **نيوف، محمد (2019):** علم وتكنولوجيا الألبان 2018– منشورات جامعة حماه 2019.

المراجع الاجنبية

-A-

1. **Abbiss, H., Maker, GL. and Trengove, RD. (2019).** Metabolomics approaches for the diagnosis and understanding of kidney diseases. Metabolites. 9(2):34.
2. **Abernethy, G., and Higgs, K. (2013).** Rapid detection of economic adulterants in fresh milk by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography,* A.1288: 10-20.
3. **Afzal, A., Mahmood, M.S., Hussain, I. and Akhtar, M. (2011).** Adulteration and Microbiological Quality of Milk (A Review). Pakistan. *Journal of Nutrition,* 10 (12): 1195-1202.
4. **Alais, C. (1974).** Biochimie de la coagulation enzymatique du lait Chimia (1974).
5. **AL-Baghdady, E.F., AL-Mehanna, NH. and Kadhim, KH. (2012).** The distribution of the goblet cells, paneth cells and brunner's glands in duodenum of adult one Humped Camels (Camelus dromedarius). Al-Qadisiyah. *Journal of Veterinary Medicine Sciences,* 11(2): 46-52.
6. **Ali, A., Mahmood, M.S., Hussain, L. and Akhtar, M. (2011).** Adulteration and microbiological quality of milk (A Review). Pak J Nutri 12: 1195-1202.
7. **Alichanidis, E. and Polychroniadou, A. (1996).** Special features of dairy products from ewe and goat milk from the physicochemical and organoleptic point of view. In Proc. Of IDF/ CIVRAL Seminar on production and Utilization of Ewe and Goat milk, Crete, Greece. Inter. Dairy Federation , Brusse, Belgium.

8. **Al-Sarraj, A., & Al-Habity, A., (2013).** Effect of formaldehyde vapor on the blood constituents of male rabbits. Iraqi. *Journal of Veterinary Sciences*, Vol 27, (Issue 1).
9. **Al-Shamary, ER., Jarad, AS., Taher, IA., Al-Saffar, FJ., and Naji, WA. (2017).** Some histo-morphometric and histochemical comparsion aspect of the duodenum in Collard Dove (Frivaldszky), Ruddy Shelduck (Pallas) and Owl (Otus Scors brucei) in south Iraq. *Journal of Entomology and Zoology Studies,* 5(6): 923-928.
10. **Alves, A. M. D.; Lima, P. H. D.; Da Costa, M. A. S.; Da Silva, C. B.; Sousa, J. D.; Pereira, D. D. T.; Lima, P. R. and De Freitas, J. D. (2018).** Determination of aflatoxin M1 in bovine milk from the Alagoas/Brazil State dairy belt by high performance liquid chromatography (HPLC). African. *Journal of Microbiology Research,* 12 (25): 580-586.
11. **Andreucci, M., Faga, T., Pisani, A., Perticone, M., Michael, A. (2017).** The ischemic/nephrotoxic acute kidney injury and the use of renal biomarkers in clinical practice. Eur J Intern Med. 39:1-8.
12. **Andrews, RK., Yip, J., Shen, Y., Berndt, MC. (2005).** "Primary platelet adhesion receptors". IUBMB Life (International Union of Biochemistry and Molecular Biology: Life). 2(57): 103-80.
13. **Anifantakis, E.M. (1987).** Influence d'une présure d'agneau sur la qualité du fromage Kefalotyri. Lait, 56: 76-83.
14. Askarpour, M.; K. Djafarian; E. Ghaedi; O. Sadeghi; A. Sheikhi, and S. Shab-Bidara, (2020). Effect of L-Carnitine Supplementation on Liver Enzymes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. Archives of Medical Research 51 : 82-94.
15. **Aslan, H., Songur, A., Tunc, AT., Ozen, OA., Bas, O., Yagmurca, M., Turgut, M., Sarsilmaz, M. and Kaplan, S. (2006).** Effects of formaldehyde

exposure on granule cell number and volume of dentate gyrus: A histopathological and stereological study. Brain Res 1122: 191–200.

16. **Awan, A., Naseer, M., Iqbal, A., Ali, M. and Iqbal, R. (2014).** A study on chemical composition and detection of chemical adulteration in tetra pack milk samples commercially available in Multan. Pak J Pharm Sci:27:183-186.

-B-

17. **Badis, A. D., Guètarni, B., Moussa,Boudjema, D.E., Henni, M.E., Tornadijo, M. Kihal. (2004).** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat's milk of four Algerian races Food Microbiol. 2, pp: 579-588.
18. **Bajaj, V. K. and Rai, T. (1993).** Effect of formalin on comparative efficiency of protein and lactose estimation. Indian *J. Dairy Sci,* 46: 21-25.
19. **Bajaj, V.K. and Rai, T.(1992).** Comparative efficiency of various analytical methods for fat and total solid determined gravimetrically in formalin preserved milk samples. Indian *J. Animal Sci.* 62: 1096-1098.
20. **Bakar, E., Ulucam, E. and Cerkezkayabekir, A. (2014).** Investigation of the protective effects of proanthocyanidin and vitamin E against the toxic effect caused by formaldehyde on the liver tissue. Environmental toxicology, 30(12), 1406-1415.
21. **Bansal, A.(1989).** Effect of formalin on different constituents of cow and buffalo milks with particular reference to Fat Globule Membrane (FGM). PhD. Kurukshetra University, Kurukshetra, Haryana, India .
22. **Bansal, A. and Singhal, O.P. (1991).** Preservation of Milk samples with Formalin- Effect on acidity. Indian *J. Dairy Sci,* 44: 573-576.
23. **Bansal, N., Uppal, V. and Anuradha. (2011).** Nephrotoxic effects caused by formaldehyde exposure in rabbits: A histomorphochemical study. Indian. *Journal of Animal Sciences*, 81 (9): 935–937, September 2011.

24. **Bao, Y. W., Yuan, Y., Chen, J. H., Lin, W. Q. (2018).** Kidney disease models: tools to identify mechanisms and potential therapeutic targets. Zool Res. 2018;39(2):72-86.

25. **Barber, R. D. and Donohue, T. J.(1998).** Pathways for transcriptional activation of a glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase gene. J Mol Biol, 280: 775–784.

26. **Barham, G. S., Khaskheli, M ., Soomro, A. H., Nizamani, Z. A. (2014).** Extent of extraneous water and detection of various adulterants in market milk at Mirpurkhas, Pakistan. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science.* Issue 3 Ver. I (Apr. 2014), PP 83-89.

27. **Barillet, F. and Boichard, D. (1987).** Studies on dairy productions of milked ewes. 1. Estimates of genetic parameters for total milk composition and yield. Genet Sel Evoi 19, 459-474.

28. **Beccavin, C., Chevalier, B., Cogburn, L. A., Simon, J. and Duclos, M. J. (2001).** Insulin-like growth factors and body growth in chickens were divergently selected for high or low growth rates. J. Endocrinol. 168, 297–306.

29. **Bector, B.S. and Narayanan, K. M. (1973).** Studies on the changes in composition of milk containing HCHO during storage. Food Industry. J.5:5-6.

30. **Belay, B., Esteban-Cruciani, N., Walsh, C. A., Kaskel, F. J. (2006).** The use of levo-carnitine in children with renal disease: a review and a call for future studies. Pediatr Nephrol 2006;21:308-17.

31. **Birkenfeld, C., Kluge, H. and Eder, K. (2006).** L-carnitine supplementation of sows during pregnancy improves the suckling behaviour of their offspring. Controlled Clinical Trial Br J Nutr. Aug;96(2):334-42.

32. **Bocquier, F. and Caja, G. (1993).** Recent advances on nutrition and feeding of dairy sheep. Sheep Dairy News 16 (2) pp: 32-37.

33. **Boj, J.R.; Marco, I.; Cortes, O. (2003).** "The acute nephrotoxicity of systemically administered formaldehyde in rats". Eur. *J. Pediatr. Dent*. 4: 16–20.

34. **Bolt, H. M. (1987).** Experimental toxicology of formaldehyde. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 113:305–309.

35. **Borum, P. R., Birt, D.F., Stalling, V., Yates, A. (2020).** Carnitine In: Marriott eds. Present Knowledge in Nutrition, 11th ed:551-9.

36. **Brulé, G., Roger, L., Fauquant, R. and Plot, M. (1987).** Procédé de traitement d'une matière à base de caséine contenant des phosphocaséinates de cations monovalents ou leurs dérivés, produits obtenus et applications. Brevet Français n. 80: 02-281.

37. **Budde, U., Genderen, P. J., Leenknegt, H., Michiels, J. J. (1996).** "Acquired von Willebrand disease in myeloproliferative disorders". Leukemia and Lymphoma. 22 Suppl 1: 79–82.

-C-

38. **Calamar, C.D., Patruica. S., Dumitrescu, G., Bura, M., Dunea, I. B. and Nicula, M. (2014).** Morpho-histological study of the digestive tract and the annex glands of Chinchilla laniger. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies,* 47(1): 269-274.

39. **Calvani, M., Benatti, P., Mancinelli, A., D'Iddio, S., Giordano, V. (2004).** Carnitine replacement in end-stage renal disease and hemodialysis. Ann NY Acad Sci 2004;1033:52-66.

40. **Carl, A.B; Edward, R.A; David, E.B. (2008).** Creatinine, Urea and Uricacid; Laboratory Considerations. In Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 6th edition, Elsevier; New Delhi, India, 2008; 298: 363-366.

41. **Cheng, G., Shi, Y., Sturla, S. J., Jalas, J. R., McIntee, E. J., Villalta, P. W., Wang, M. and Hecht, S. S. (2003).** Reactions of formaldehyde plus

acetaldehyde with deoxyguanosine and DNA: Formation of cyclic deoxyguanosine adducts and formaldehyde cross-links. Chem Res Toxicol. 16:145–152.

42. **Chinedu1, I.A., Chukwuemeka, O.E., Nwabunwanne, O.V., Ndumnworo, O.D.F., O.E., Chidiebere, N.A., Igube, A.U., Kalu. and Emmanuel, A.B. (2017).** Effect Of Short-Term Exposure To Formalin On Kidney Function Tests Of Students In Nnewi. Ejbps, Volume 4, Issue 12 51-55.
43. **Chowdhury, A. R., Gautam, A.K., Patel, K.G. and Trivedi, H. S. (1992).** Steroidogenic inhibition in testicular tissue of formaldehyde exposed rats. Indian. *J. Physiol Pharmacol.* 36(3): 162-8.
44. **Clapointe, V. (2002).** Science et technologie du lait transformation du lait. Physiological Research. 574: 130-176.
45. **Cogliano, V. J., Baan, R., El Ghissassi, F., Grosse, Y. (2006).** Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 01 Jan 2006, 88:1-478
46. **Cohen, B. I., Pagnillo, M. K., Musikant, B. L, Deutsch, A. S. (1998).** Formaldehyde evaluation from endodontic materials. Oral Health 88: 37–39.
47. **Cooper, J. R. and Kini, M. M .(1962).** The biochemistry of methanol poisoning. BiochemPharmaco. l 9:145–148.
48. **Cunningham, J. G. and Klein, B. G. (2007).** Textbook of Veterinary Physiology, 4th ed: WB Saunders/Elsevier Science, Philadelphia, USA. Pp. 720.

-D-

49. **Daviau, C., Famelart, M. H., Pierre, A., Goude´Dranche, H. and Maubois, J. L. (2000).** Rennet coagulation of skim milk and curd drainage: effect of pH, casein concentration, ionic strength and heat treatment. Lait, 80: 397–415.

50. **Davis, P.A; Mormino, P. and Savica, V. (2009).** L-carnitine, inflammation and hypertension .Nephrology (Carlton) 2009;14:264e265.

51. **Dehlink, E., Douig, K. J. and Loibichler, C. (2007).** Heat and formalin inactivated probiotic bacteria induce comparable cytokine leucocyte in intestinal epithelial cell leucocyte coculture. J. food prot.70(10):2417-2421.

52. **Durazzo, A., Lucarini, M., Nazhand, A., Bouto, S. B, Silva, A. M., (2020).** The nutraceutical value of carnitine and its use in dietary supplements. Molecules 2020;25:2127.

-E-

53. **Eftekhari. A., Hasanzadeh, A., Khalilov. R., Hosainzadegan. H., Ahmadian, E., Eghbal, M. A. (2020).** Hepatoprotective role of berberine against paraquat-induced liver toxicity in rat. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(5):4969-75.

54. **Ehuwa, O., Jaiswal, A. K. and Jaiswal, S. (2021).** Salmonella, Food Safety, and Food Handling Practices. Foods, 10(5): 907.

55. **Eknoyan, G., Latos, D.L. and Lindberg, J. (2003).** National Kidney Foundation Carnitine Consensus Conference. Practice recommendations for the use of L-carnitine in dialysis-related carnitine disorder. Am J Kidney Dis 2003;41:868-76.

56. **El-Abad, A.A.M, Mohamed H.H, Youssef, El-Ghodary, H.E.M. (2022).** Effect of L-Carnitine preparation in drinking water on some productive performance of rabbits.

57. **El-Gendy, SH., Abdel-Motaleb, M., Abo-Alnaga, L. (1980).** Characteristics of Domiatti Cheese Made from Milk Containing Formalin. *Journal of Food Protection,* Vol. 43. No.9. Pages: 694-698.

58. **El-Sawy, A.E.F., El-Maddawy, Z. Elsaady.,M.K. and Hawary, S.I. (2023).** Ameliorative Effect of L- Carnitine against Hematological and Hepatorenal

Alterations Induced by Cefquinome Sulfate in Male Albino Rats. *Journal of Advanced Veterinary Research (2023),* Volume 13, Issue 5, 730-736.

59. **El-Shabrawy, H.M. and El-Fadaly, H.A .(2006).** Effect Of Formaldehyde Treatment And Feeding Regime Of Diets For Crossbred Friesian Cows On Milk Production And Microbiological Status. Egyptian *J. Anim. Prod*, 43(1):25-39.

-F-

60. **Fahmi, A.H., Tawab, G.A. and Abou-El-Neba, A. (1982).** Effect of added neutralizers and preservatives on the Methylene Blue Reduction Test. Egypt J. Dairy Sci, 10, 15.
61. **Fao. (2017).** Biodiversitéetanimauxd' élevage ,https: /www.pyreneespireneus.com/ Agriculture-Pyrenees Pastoralisme-Pyrenees/ Biodiversite-Environnement/ Pastoralisme-Biodiversite Animale.htm, (25/10/2017).
62. **Ferreira, C.R. Van Karnebeek, C.D. (2019).** Inborn errors of metabolism. In: de Vries LS, Glass HC, eds. Handbook of Clinical Neurology, vol. 162: Neonatal Neurology. Elsevier; 2019:449-81.
63. **Francois, J. G. (2002).** Probiotic and formaldehyde treatment of artemia nauplii as food larval Pollack, Polluchius. http:// dx.doi.org // 0.1016 / S004-8486(02)001382.
64. **Franklin, P., Dingle, P. and Stick, S. (2000).** Raised exhaled nitric oxide in healthy children is associated with domestic formaldehyde levels. Am. J. Respir Crit Care Med. 161: 1757–1759.
65. **Fuertes, J. A., Gonzalo, C., De La Fuente, L. F. and Primitivo, F. S. (1998)**. Errores de estimacio´n de la produccio´n la´ ctea a partir de diferentes me´todos de control lechero en el ganado ovino. Inf. Tec. Econ. Agrar. 18:242–244.

66. **Fung, F., Wang, H. and Menon, S.(2018).** Food safety in the 21st century. Biomedical Journal. 41(2): 88- 95.

-G-

67. **Gadelha-Alves, R., Rozensztranch, AMS. and Rocha-Barbosa, O. (2008).** Comparative intestinal histomorphology of five species of Phyllostomid Bats (Phyllostomidae, Microchiroptera): ecomorphological relations with alimentary habits. *International Journal of Morphology,* 26(3): 591-602.

68. **Galli, A; Svegliati-Baroni, G.; Ceni, E.; Milani, S.; Ridolfi, F.; Salzano, R.; Tarocchi, M.; Grappone, C.; Pellegrini, G.; Benedetti, A. and Surrenti, C. (2005).** Oxidative Stress Stimulates Proliferation and Invasiveness of Hepatic Stellate Cells via a MMP2- Mediated Mechanism. Hepatology, 41(5): 1074-1084.

69. **Ganong, W.F. (2003).** Review of medical physiology New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill .518 .ISBN:978-0-07-121765-1.

70. **Garg, F.C (2005).** Experimental Microbiology. CBS Publishers & Distributors. p. 48. Archived from the original on 2020-04-11.

71. Genetics Home Reference. Primary carnitine deficiency 18. Medline Plus 2014. http://medlineplus.gov/.

72. **George, S. M., Yassa, H. A., Hassan A., Hussein, H. A. and El Refaiy. A. M. (2017).** Protective Effect of L- Carnitine Against Formaldehyde-Induced Kidney, Liver and Testicular Damage in Rabbits, A Histopathological Study. Mansoura. *J. Forens. Med. Clin. Toxicol.,* Vol.25, No. 2, July, 2017.

73. **Gnoni. A., Longo, S., Gnoni, GV., Giudetti, A.M. (2020).** Carnitine in human muscle bioenergetics: Can carnitine supplementation improve physical exercise? Molecules 2020;25:182.

74. **Golalipour, M. J., Azarhoush, R., Ghafari, S., Davarian, A. and Fazeli. H. S. A. (2009).** Can formaldeyde exposure induce histopathologic and

morphometric changes on rat kidney? *International Journal of Morphology*, 27(4): 1195–1200.

75. **Grazuleviciene, R., Dulskiene, V. and Vencloviene, J. (1998).** "Formaldehyde exposure and low birth weight incidence". *J. Occup Health,* 40: 61–67.
76. **Gueguen, R., Neville, P. and Guillemin, F. (2017).** Segregation analysis and variance components analysis of bone mineral density in healthy families. *J Bone Miner Res*, 10, 2017–2022.
77. **Gulec, M., Gurel, A. and Armutcu, F. (2006).** Vitamin E protects against oxidative damage caused by formaldehyde in the liver and plasma of rats. Molecular and cellular biochemistry, 290(1 -2), 61 -67.
78. **Gurel, A. Coskun, O., Armutcu, F., Kanter, M. and Ozen, O. A. (2005).** Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in frontal cortex and hippocampus: Biochemical and histological studies. *J. Chem Neuroanat.* 29: 173–178.

-H-

79. **Haenlein, G.F.W. and Wendorff, W.L. (2006).** Sheep milk. In: Handbook of milk of non-bovine mammals (ed. by Park, Y.W., Haenlein, G.F.W.). Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. pp. 137-194.
80. **Hall, J.E. (2016).** Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, Jordanian Edition E-Book: Elsevier Health Sciences; 2016.
81. **Hall, E. and John., Ph.D. (1996).** "32"Guyton, M.D translated to arabic by The world Health Organization . Textbook of Medical physiology.
82. **Hayes, R.B., Sheffet, A. and Spirtas, R.(1989).** Cancer mortality among a cohort of chromium pigment workers. American. *journal of industrial medicine,* 16(2):127-33.

83. Heung, M. and Chawla, L.S. (2012). Predicting progression to chronic kidney disease after recovery from acute kidney injury. Curr Opin Nephrol Hypertens. 21(6):628-34.

84. Hodgson, E. A. (2004). textbook of modern toxicology: John Wiley & Sons.

85. Hu Y-Y, Liu C-H, Wang R-P, Liu C, Zhu D-Y, Liu P. (2000). Protective actions of salvianolic acid A on hepatocyte injured by peroxidation in vitro. *World Journal of Gastroenterology*, 6(3):402.

86. Hussein, H., George, S. and Yassa, H. (2012). Reproductive performance, semen quality and testicular blood flow in rabbits following subchronic toxicity of formaldehyde with possible protective effect of L-Carnitine. *Assiut Vet. Med. J.* Vol. 58 No. 135 October 2012.

87. Hyunwoo, O.h.; Park, C.P. and Jun, D.W. (2022). Impact of L-Carnitine Supplementation on Liver Enzyme Normalization in Patients with Chronic Liver Disease: A Meta-Analysis of Randomized Trials. *J Pers Med*, 12(7): 1053.

-I-

88. IARC. (2006). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 88. Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol. Geneva, Switzerland : International Agency for Research on Cancer, 39–93, 273.

89. İnci, M; Zararsız, I.; Davarcı, M. and Sadık, G. (2013). Toxic effects of formaldehyde on the urinary system. Turk. *J Urol. Mar,*39 (1): 48–52.

90. ISO (International Organization for Standardization). (2017). Microbiology of the food chain — preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. ISO 6887-1:2017. Geneva, Switzerland.

91. **Italiano. J. E., Machlus, K. R. and Thon, J. N. (2014).** "Interpreting the developmental dance of the megakaryocyte: A review of the cellular and molecular processes mediating platelet formation". British. *Journal of Haematology,* 36–227 :2 .165.

-J-

92. **Jogl, G; S.Hsiao, and L. Tong. (2004).** Structure and function of carnitine acyltransferases. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1033:17-29.

93. **Johanson, F. R., Levinsks, G. J., Tegeirs, A. S. (1986).** " Effect formaldehyde in the rat and dog following oral exposure". Toxicol. Letters, 30, 1986, 1-6.

-K-

94. **Kadadi, S.P. (2012).** Histology and histochemical study of human brunner's glands in comparison with a few mammals, phD. Thesis, Rajiv Gandhi University Health Sciences, Karnataka, Bangalore, pp. 155.

95. **Kamata, E.; Nakadate, M.; Uchida, O.; Ogawa, Y.; Suzuki, S.; Kaneko, T.; Saito, M. and Kurokawa, Y. (1997).** "Results of a 28-month chronic inhalation toxicity study of formaldehyde in male Fisher-rats". *J. Toxicol Sci*, 22(3): 239-254.

96. **Kandpal, S.D., Srivastava, A.K., Negi, K.S. (2012).** Estimation of quality of raw milk (open & branded) by milk adulteration testing kit. Ind. *J Community Health,* 3: 188-192.

97. **Kanter, M., Topcu-Tarladacalisir, Y. Parlar, S. (2010).** "Antiapoptotic effect of L-carnitine on testicular irradiation". J. Mol. Histol.; 41(2-3):121-128.

98. **Kanwal, R., Ahmed, T. and Mirza, B. (2004).** " Comparative analysis of milk collected from buffalo, cow, goat and sheep of Rawalpindi/Islamabad region in Pakistan". Asian *J Plant Sci* 3(4): 300-305.

99. Karmakar, B. and Ghatak, P. K. (1997). Effect of Chemical Preservatives on Different Constituents of Cow Milk During Storage Under Refrigerated Conditions. Cheiron. 26: 89- 93.

100. Karmakar, M. B. and Ghatak, P. K. (1995). Effect of chemical preservatives on chemical quality of buffalo milk during storage. Indian. *J. Dairy Sci,*48:559-561.

101. Khalatbari-Soltani, S. and Tabibi, H. (2015). Inflammation and L-carnitine therapy in hemodialysis patients: a review. Clin. Exp. Nephrol; 19:331e335.

102. Khan, A., Hussain, S.M., Khan, M.Z. (2006). Effects of formalin feeding or administering into the crops of white leghorn cockerels on hematological and biochemical parameters. Randomized Controlled Trial. Poult Sci. 2006 Sep;85(9):1513-9.

103. Khan, A.; Bachaya, H.; Khan, M.Z. and Mahmood. F (2005). "Pathological effects of formalin (37% formaldehyde) feeding in female Japanese quails (Coturnix coturnix japonica)". Human & Experimental Toxicology 24: p. 415-422.

104. Khatun, A; Rana, M.M.; Khan, M.R.I.; Wahed, M.I.I.; Habib, M.A.; Uddin, M.N.; Sathi, Z.S.; Amin, A.R. and Anisuzzaman, A.S.M. (2015). Molecular Mechanism of Formalin-Induced Toxicity and Its Management. American Journal of Life Sciences, 3(2), 85-92.

105. Kita, K., Kato, S., Amanyaman, M., Okumura, J. and Yokota, H. (2002). Dietary L-carnitine increases plasma insulin-like growth factor-I concentration in chicks fed a diet with adequate dietary protein levels. Br. Poult. Sci. 43, 117–121.

106. Kum, C., Sekkin, S., and Ferda Akar, F. (2007). Effects of xylene and formaldehyde inhalations on renal oxidative stress and some serum

biochemical parameters in rats. Sage journal. Toxicology and Industrial Health,first published March 2007.

107. **Kunak, C. S; Ugan, R. A.; Cadirci, E.; Karakus, E.; Polat, B.; Halici, U. H.; Saritemur, M.; Atmaca, H. T. and Karaman, A. (2015).** Nephroprotective potential of carnitine against glycerol and contrast-induced kidney injury in rats through modulation of oxidative stress, proinflammatory cytokines, and apoptosis. Br. *J. Radiol*.;2014.07.24.

108. **Kuo, H., Jian, G., Chen, C., Liu, C., Lai, J. (1997).** White blood cell count as an indicator of formaldehyde exposure. Bull Environ Contam Toxicol.1997;59:261-267.

-L-

109. **LaFleur-Brooks, M. (2008).** Exploring Medical Language: A Student-Directed Approach (7th). St. Louis, Missouri, US: Mosby Elsevier. 398. ISBN:978-0-323-04950-4.

110. **La Montagne, A. D., Herrick, R. F., Van Dyke, M. V, Martyny, J. W., Ruttenber, A. J. (2002).** Exposure databases and exposure surveillance: Promise and practice. Am Ind Hyg Assoc J 63:205–212.

111. **Lane, M; Boczonadi, V. and Bachtari, S. (2016).** Mitochondrial dysfunction in liver failure requiring transplantation. J. Inherit Metab Dis;39:427-436.

112. **Longo, N., Frigeni, M. and Pasquali, M. (2016).** Carnitine transport and fatty acid oxidation. Biochim Biophys Acta 2016;1863:2422-35.

113. **Lyapina, M., Zhelezova, G., Petrova, E., Boev, M. (2004).** Flow cytometric determination of neutrophil respiratory burst activity in workers exposed to formaldehyde.: Int Arch Occup Environ Health. 2004;77(5):335-40.

-M-

114. **Mabood, F., Hussain, J., Al Nabhani, M.O.O., Gilani, S.A., Farooq, S., Naureen, Z., Ahmed, F.J.M., Zahid Hussain, Z. and Al-Harrasi, A. (2017).** Detection and Quantification of Formalin Adulteration in Cow Milk Using Near Infrared Spectroscopy Combined with Multivariate Analysis. *J. Adv Dairy,* Res 2017, 5:1.

115. **Mahmoud, S.M.; Hegab, A.S.; Ibrahim I.H. and Farag, A.I. (2015).** The effect of formaldehyde on the liver of adult male albino Rats and possible protective role of vitamin c. ESCTJ; Vol. (4):(1).

116. **Mahmoud, S.M., Hegab, A. S., Ibrahim, I.H. and Farag, A. I. (2016).** The effect of formaldehyde on the liver of adult male albino rats and possible protective role of vitamin c. Esctj; Vol. (4) N0. (1) June ;2016.

117. **Makowski, L., Noland, R., Koves, T., Xing, W., Ilkayeva, O.R., Michael, J., Muehlbauer, M.J., Stevens, R.D. and Muoio, D.M, (2009)**. Metabolic profiling of PPARY mice reveals defect in carintine and amino acid homeostasis that are partially reversed by oral carnitine supplementation. The FASEB journal; 23:586-604. www. **Material safety data sheet**.com. www.healthlink.com.au/nat_lib/htm-data/htm-supp/supps72.htm

118. **Małgorzata, K., Karolina, J. R., Wanda, W., Anna, W. M. and Magdalena. K. (2023).** Effects of Dietary Supplementation of L-Carnitine and Mannan-Oligosaccharides on Growth Performance, Selected Carcass Traits, Content of Basic and Mineral Components in Liver and Muscle Tissues, and Bone Quality in Turkeys. Animals (Basel). 2023 Feb 20;13(4):770. doi: 10.3390/ani13040770.

119. **Mamun, M. A. A., Rahman, M.A., Kzaman1, M., Ferdousi1, Z. and Abu Reza, M., (2014).** "Toxicological effect of formalin as food preservative on kidney and liver tissues in mice model". IOSR Journal of Environmental

Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT) e-ISSN: 2319-2402,p- ISSN: 2319-2399.Volume 8, Issue 9 Ver. II (Sep. 2014), PP 47-51.

120. Mamun, M. A. A., Rahman, M.A., Kzaman1, M., Ferdousi1, Z. and Abu Reza, M. (2014). "Toxicological effect of formalin as food preservative on kidney and liver tissues in mice model". IOSR *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT) e-ISSN:* 2319-2402,p- ISSN: 2319-2399.Volume 8, Issue 9 Ver. II (Sep. 2014), PP 47-51.

121. Maraie, M. G., Attia, M., Bahgat, H., El-Shafee, A. and El-gendy. F. (2023). Evaluating meat production, growth performance, carcass traits, and blood parameters in the Fayoumi chicken breed by using L-Carnitine. *Benha Veterinary Medical Journal,* 44: 20-25.

122. Marinho, P.C.; Vieira, A.B. and Pereira, P.G. (2018). Capybara oil improves hepatic mitochondrial dysfunction, steatosis, and inflammation in a murine model of nonalcoholic fatty liver disease. Evid Based Complement Alternat Med. 2018:4956079.

123. Marquering, B., Havermann, H. and Kurdal. E. (1972). Comparative studies of fat determination in milk of individual cows using the method of Gerber,rose Gottlieb and milko-tester. Milkhwissenschaft. Bonn. German Federal Republic. 5: 290-293.

124. Maurer, M., Altrichter, S. and Bieber, T. (2013). Efficacy and safety of omalizumab in patients with chronic urticaria who exhibit IgE against thyroperoxidase. *J Allergy Clin Immunol;* 128(1):202.e5-209.e5.

125. Mayes, P. A. (2003). Oxidation of fatty acids: ketogenesis. In: Harper's Biochemistry. P. K. Murray, D. K. Granner, P. A. Mayes and V. W. Rodwell (eds), Appleton and Lange Publishing, California, USA, pp. 262-263.

126. Metz, B., Kersten, G.F., Hoogerhout, P., Brugghe, H.F., Timmermans, H.A., Jong, A., Meiring, H., TenHove, J., Hennink, W.E., Crommelin, D.

J., Jiskoot, W. (2004). Identification offormaldehyde-induced modifications in proteins: Reactions with model peptides. *J. Biol Chem,* 279:6235–6243.

127. Meyer. J., Daniels, S.U., Grindler, S. and Tröscher-Mußotter, J. (2020). Effects of a Dietary L-Carnitine Supplementation on Performance, Energy Metabolism and Recovery from Calving in Dairy Cows. Animals (Basel). 2020 Feb; 10(2): 342. Published online 2020 Feb 21.

128. Michael, J. T., Tallitsch, R.B. and Frederic, M. (2006). Human anatomy (5.th). San Francisco: Pearson/Benjamin Cummings.529. ISBN:978-0-8053-7211-3.

129. Miroslav, T., kenran, H. and Zlalonova. J. (2009). Influence of physicochemical factors on the oligomerization and Biological activity of bacteriocin . *J.of fluorescence.*19(1): 53-62.

130. Mitul, B., Amit, C., Singh, R., Arora, S., Mann, B. and Singhrao, P.(2020). Efficiency of bronopol and kathon in preservation of milk and milk products samples stored for analytical purpose. Indian Dairy Association (India).

131. Mohamed, A.M.A., Taha, A.M. and Ali, A.M. (2019). Morphology of Intestinal Goblet Cells of The Dromedary (Camelus dromedarius). Anatomy *Journal of Africa,* 8(1): 1379-1384.

132. Mohamed, E. and Hamad, M. (2011). Carnitine-rich yoghurt as a promising functional food. City for Scientific Research and Technological Applications (SRTA-City), Department of Food Technology, Universities and Research Center Dist., 21934 Alex Alexandria, Egypt.

133. Monakhova, B.Y., Jendral, J.A. and Lachenmeier, D. (2012). The Margin of Exposure to Formaldehyde in Alcoholic Beverages. Arh Hig Rada Toksikol. 2012 Jun 1;63(2):227-37.

134. Morsy, M. M. (2018). The effect of formaldehyde on the renal cortex of adult male albino rats and possible protective role of vitamin C. Eur. *J. Anat,* 22 (1): 75-84.

-N-

135. Nascimento, C.F., Brasil, M.A., Costa, S.P., Pinto, P.C., Saraiva, M.L.M. and Rocha, F.R. (2015). Exploitation of pulsed flows for on-line dispersive liquid–liquid microextraction: Spectrophotometric determination of formaldehyde in milk. Talanta, 144: 1189-1194.

136. Neelam, U., Ankit, G., Anil, K., Darshan, L. G. and Richa. S. (2014). Preservation of milk and milk products for analytical purposes. National Dairy Research Institute, Karnal, Haryana, India.

137. Negara, T.I.P., Wedayani, A.A.A.N. and Dirja, B.T. (2023). The Relationship Between The Total Count of Leukocyte Types and Formahldehyde Induction in Wistar Rats. *Jurnal Biologi Tropis,* 23 (1): 359 – 363.

138. Neuman, S.L., Lin, T.L. and Heste, P. Y. (2002). The effect of dietary carnitine on semen traits of white Leghorn roosters1. Poult. Sci. 81, 495–503.

139. Nezhad, A.A; Choghakhori, R.; Kashkooli, S.; Alipour, M.; Asbaghi, O. and Rasool , M. (2019). Effect of L-carnitine on liver enzymes and biochemical factors in hepatic encephalopathy: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 1-9.

-O-

140. OIE (Office International des Epizooties). (2002). "Pathogenic micro-organisms Milk and Dairy Products the Situation in France and Europe". 16: 452 – 471.

141. Ozen, O. A., Yaman, M., Sarsilmaz, M., Songur, A. and Kus, I. (2002). Testicular zinc, copper and iron concentrations in male rats exposed to subacute and subchronic formaldehyde gas inhalation. *J Trace Elem Med Biol*, 16: 119–122.

142. Ozen, O. A., Songur, A., Sarsilmaz, M., Yaman, M. and Kus. I. (2003). Zinc, copper and iron concentrations in cerebral cortex of male rats exposed to formaldehyde inhalation. *J Trace Elem Med Biol*, 17: 207–209.

143. Ozen, O.A., Akpolat, N. and Songur, A. (2005). Effect of formaldehyde inhalation on Hsp70 in seminiferous tubules of rat testes: an immunohistochemical study. Toxicology and Industrial Health.21:249–254.

-P-

144. Pekala, J., Patkowska-Sokoła. B., Bodkowski, R., Jamroz, D. and Nowakowski, P. (2011). L-carnitine--metabolic functions and meaning in humans life. Curr Drug Metab 2011;12:667-78.

145. Pekmez, H., Camci, N.Ç., Zararsiz, Đ., Kus, İ., Ögetürk, M. Yilmaz, H. R., and Sarsilmaz. M. (2008). The Effect of Melatonin Hormone on Formaldehyde-Induced Liver Injury: A Light Microscopic and Biochemical Study. Fırat Tıp Dergisi 2008; 13 (2): 92, 7.

146. Pirmadah, F; Ramezani-Jolfaie, N.; Mohammadi, M.; Talenezhad, N.; Cain C.T.C .and Salehi-Abargouei, A. (2020). Does L-carnitine supplementation affect serum levels of enzymes mainly produced by liver? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. Aug;59(5):1767-1783.

147. **Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017).** Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 1–13.

148. **Posati, L.P. and Orr. M. L. (1976).** Composition of Foods. Dairy and Egg Products: Raw, Processed, Prepared. Agricultural Handbook No. 8-1. ARS, USDA, Washington, DC. Item Nos. 009, 025, 090, 096, and 106.

149. **Puche, J., Saiman, Y. and Friedman. S. (2013).** Hepatic Stellate Cells and Liver Fibrosis. Compr Physiol; (3):1473-1492.

-R-

150. **Ramanau. A., Kluge, H., Spike, J. and Eder, k. (2004).** Supplementation of Sows with L-Carnitine during Pregnancy and Lactation Improves Growth of the Piglets during the Suckling Period Through Increased Milk Production. *Journal of Nutrition*, 134(1):86-92.

151. **Ramosa, C.D.O; Clarissa, R. N., Camposa, K.K.D.; G.D.P. Costac; Talvanic, A.; Bezerraa, F.S.; Penaa, K.B.; Machadoa, D.F.; and Bandeira, A.C.B. (2017).** The exposure to formaldehyde causes renal dysfunction, inflammation and redox imbalance in rats. Experimental and Toxicologic Pathology, 69 : 367–372.

152. **Ranjan, K.D. (2007).** Diagnostic microbiology. Medical college and hospital, medical publishers (p) Ltd Newdelhi. PP: 124.

153. **Ranvir, S., Gosewade, S., Kumar, H. and Seth, R. (2015).** Effect of methyl paraben, propyl paraben and formalin preserved milk on chemical composition during storage. *Oriental, J Chem,* 31:2147-2152.

154. **Rebouche, C.J., Carnitine. In: Ross, A.C., Caballero, B., Cousins, R.J. (2014).** Modern Nutrition in Health and Disease. 11th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins:252-3.

155. Resmini, P., Saracchi, S., De Bernardi, G. and Volonterio. G. (1980). Formaldehyde in Grana Padano cheese. II. Detection of stable reaction compounds between HCHO and proteins in commercial products. Il Latte 16: 45-71 .

156. Restni, P and Galli, C.L. (1991). " Oral toxicity of formaldehyde and its derivatives. Critical" Rev. in Toxicol, 21, 1991, 315-328.

157. Ringseis, R., Keller, J. and Eder, K. (2018). Basic mechanisms of the regulation of L-carnitine status in monogastrics and efficacy of L-carnitine as a feed additive in pigs and poultry. Animal Phisiology and Animal Nutrition. Pages 1686-1719.

158. Rockey, D.C. (2001). Hepatic blood flow regulation by stellate cells in normal and injured liver. Semin Liver Dis; 21:337–349.

159. Rolim, F.R.L., Freitas Neto, O.C., Oliveira, M.E.G., Oliveira, C.J.B., Queiroga, R.C.R.E. (2020). Cheeses as food matrixes for probiotics:In vitro and in vivo tests. Trends Food Sci. Technol, 100, 138–154.

160. Rusch, G., MClary, J.J., Rinehart, W.E. and Bolte, H.F. (1983). " A 26-week inhalation toxicity study with formaldehyde in monkey, rat. And hamster". Toxicol. Appl. Pharmacol, 68:329-343.

-S-

161. Sandhu, J.S., Nusrath, N., Narayanaswamy, M. and Kanpur, O. P. (1984). Study on the effect of formalin as preservative on different constituents of raw milk samples during storage. *J. Food Sci. Technol*, 21 (6): 424-425.

162. Sarnak, M.J., Long, J., King, A.J. (1999). Intravesicular formaldehyde instillation and renal complications.Clin Nephrol 51: 122–125.

163. Seim, H; Eichler, K. and Kleber, H. (2001). L-Carnitine and its precursor, gamma-butyrobetaine. In: Kramer K, Hoppe P,Packer L, eds. Nutraceuticals in Healthand Disease Prevention. New York: Marcel Dekker, Inc. P.P. 217-256.

164. Seleem, T. S. T;Abd El-Motaal, A. E. M and El-Kholy, K. H. (2006). Effect of l-carnitine preparation in drinking water on some productive and reproductive performance of nzw rabbits. *J. Biol. Chem. Environ. Sci,* 1(14).

165. Shehab, Amal.A and Mahdy, Amal.A. (2011)." Effects of oral administration of formaldehyde on albino rat stomach: light and scanning electron microscopic study". Egyptian. *Journal of Histology* : 662–673.

166. Shike, M., Shils, M.E. and Olson, J.A. (1999). Modern nutrition in health and disease. 9thed.Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins. P.P.505-512.

167. Singuluri, H., Sukumaran, M.K. (2014). Milk Adulteration in Hyderabad, India–A Comparative Study on the Levels of Different Adulterants Present in Milk. *J Chromat Separation Techniq*, 5: 212.

168. Siwicki. M., Gort-Freitas, N.A., Messemaker, M., Bill, R., Gungabeesoon, J. and Engblom, C. (2021). Resident Kupffer cells and neutrophils drive liver toxicity in cancer immunotherapy. Science Immunology. 6(61):eabi7083.

169. Smith, A. E. (1992). Formaldehyde. Occup Med 42: 83–88.

170. Soffritti, M., Belposggi, F. and Lambertini, L. (2002). Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of formaldehyde and acetaldehyde in rats. Ann N Y Acad Sci 982:87–105.

171. Sogut, S., Songur, A., Ozen, O. A., Ozyurt, H. and Sarsilmaz M. (2004). Does the subacute (4-week) exposure to formaldehyde inhalation lead to oxidant/antioxidant imbalance in rat liver?. Eur J Gen Med1: 26–32.

172. Solomons, K. and Cochrane, J.W. (1984). Formaldehyde toxicity. Part II. Review of acute and chronic effects on health. S. Afr .Med. J.; 66: 103–106.

173. Songur, A., Akpolat, N., Kus, I., Ozen, O.A., Zararsiz, I. and Sarsilmaz. M. (2003). The effects of the inhaled formaldehyde during the early postnatal

period in the hippocampus of rats: A morphological and immunohistochemical study. Neurosci Res Commun. 33: 168–178 .

174. **Souza, S.S., Cruz, A.G., Walter, E.H., Faria, J.A., Celeghini, R.M., Ferreira, M.M., Granato, D. and Sant'Ana. A.D.S.(2011).** Monitoring the authenticity of Brazilian UHT milk: A chemometric approach. Food Chemistry. 124(2): 692-695.

175. **Stanley, C.A. (2004).** Carnitine deficiency disorders in children. Ann NY Acad Sci 2004;1033:42-51.

176. **St-Gelais, C., Lamboley, L ., Champagne, P. and Lamoureux, M. (1999).** Growth and morphology of thermophilic dairy starters in alginate beads. J. Gen. Appl. Microbiol. 49:205–214.

177. **Stvolinsky, S.L and Dobrota, D. (2000)**. Anti-ischemic activity of carnosine. Biochemistry (Moscow) 65, 849–855.

-T-

178. **Taylor, R.C., Cullen, S.P. and Martin, S.J. (2008).** Apoptosis: controlled demolition at cellular level. Nature reviews Molecular cell biology, 9(3), 231-241.

179. **Teng, S., Beard, K. and Pourahmad, J.E. (2001).** "The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes". Chemical Biological Interactions; 130:285 - 296.

-V-

180. **van der Laan, L., Cardenas, A., Vermeulen, R., Fadadu, R. P., Hubbard, A. E., Phillips, R. V., Zhang, L., Breeze, C., Hu, W., Wen, C., Huang, Y., Tang, X., Smith, M. T., Rothman, N., & Lan, Q. (2022).** Epigenetic aging biomarkers and occupational exposure to benzene, trichloroethylene and formaldehyde. Environment International, 158.

181. **Veisseyre, R. (1975).** Technologie du lait: constitution récolte, traitement et transformation du lait. La Maison rustique 3: 714.

182. **Vignola–Lapointe, C. (2002).** Science et technologie du lait: transformation du lait. Physiological Research, 574, 130-176.

-W-

183. **Walker, J. F. (1964).** Formaldehyde; Reinhold Publishing Corporation: New York.

184. **Wang. M., Cheng, G., Balbo, S., Carmella, S.G., Villalta, P.W. and Hecht S.S. (2009).** Clear differences in levels of a formaldehyde-DNA adduct in leukocytes of smokers and nonsmokers. Cancer Res 2009;69:7170–4.

185. **Wasung, M.E., Chawla, L.S. and Madero, M. (2015).** Biomarkers of renal function, which and when? Clin Chim Acta. 7: 438-350.

186. **Wendorff, B. (2003).** Milk composition and cheese yield. Accessed August 21.

187. **Wolff, R.I., and Fabien. R. J., (1998).** Utilisation de l'isopropanolpourl' extractionde la matièregrasse de produits laitiers et pour l'estérification subséquente des acides gras, Lait 69: 33-46.

188. **Wu. L., Gao, Y., Liu, J., Li, H. (2017).** Event-triggered sliding mode control of stochastic systems via output feedback. Automatica. 82:79-92.

-X-

189. **Xu, X., Su, R., Zhao, X,. Liu, Z., Li, D., Zhang, X. and Wang, Z. (2011).** Determination of formaldehyde in beverages using microwave-assisted derivatization and ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography. Talanta 85(5): 2632-2638.

-Y-

190. Yamato, H., Nakashima, T., Kikuta, A., Kunugita, N., Arashidani, K., Nagafuchi, Y. and Tanaka, I. (2005). A novel local ventilation system to reduce the levels of formaldehyde exposure during a gross anatomy dissection course and its evaluation using real-time monitoring. *J. Occup Health,* 47: 450–453.

191. Yao, Y., Zang, Y., Qu, J., Tang, M. and Zhang, T. (2019). The toxicity of metallic nanoparticles on liver: the subcellular damages, mechanisms, and outcomes. *International journal of nanomedicine,*14:8787.

192. Ye X, Yan W, Xie H, Zhao M, Ying C.(2005). Cytogenetic analysis of nasal mucosa cells and lymphocytes from high-level long-term formaldehyde exposed workers and low-level short-term exposed waiters. Mutat Res. 2005;588:22–7.

193. Yousefi R.E; slampou, E.; Falahi, E.; Mardani, M.; Hekmatdoost A.; Asbaghi, O. and Saboori, S. (2019). Effects of carnitine supplementation on liver aminotransferase enzymes: Asystematic review and meta-analysis of randomized controlled clinica. trials. Epub 2019.Dec;38(6):470-479.

-Z-

194. Zaghlul, D.A., Attia, G., Abdel Hakeem, A.H. (2007). Scanning electron microscopic study on the effects of oral formaldehyde administration on the gastrointestinal tract of the adult albino rat. *Assiut Medical Journal.* 2007; 31 (2): 65-78.

195. Zararsiz, I., Sönmez, M.F. and Yilmaz, H.R. (2006). "Effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde induced nephropathy in rats". Toxicology and Industrial Health. 25: 223–229.

196. Zhang, L., Wu, L. L., Wang, Y. P., Liu, A. M. and Zou, C. C. (2009). Melamine contaminated milk products induced urinary tract calculi in children. *World J Pediatr,* 5: 31-35.

الملحق

Appendice

الصورة رقم (1): توضح التقسيم الأولي لأرانب التجربة لأربع مجموعات

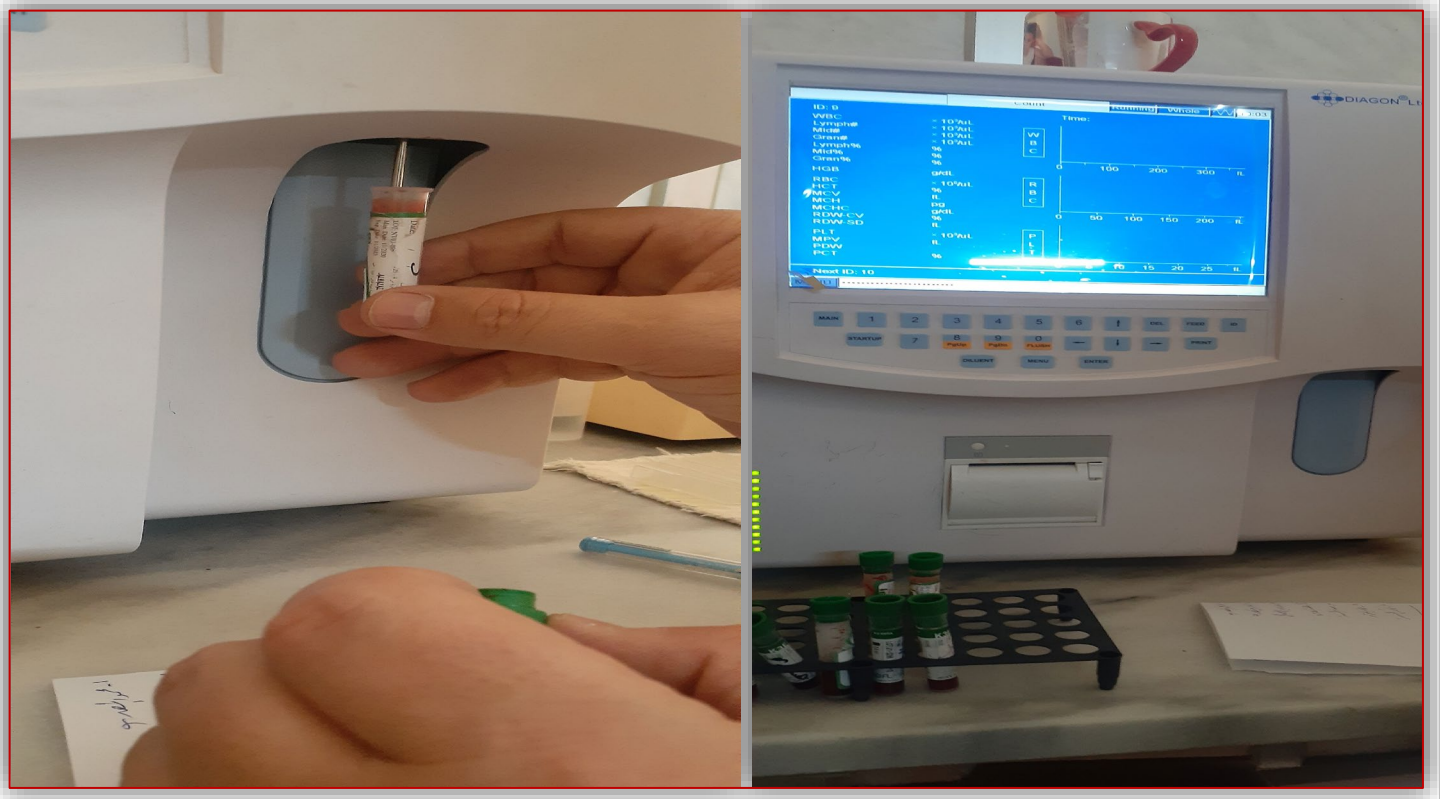
الصورة رقم (2): توضح تقسيم أرانب التجربة لأقفاص فردية

الصورة رقم (3): توضح قياس وزن حيوانات التجربة.

الصورة رقم (4): توضح تجريع حيوانات التجربة بمركب L . كارنيتين.

الصورة رقم (5): توضح تجريع حيوانات التجربة بحليب الأغنام المضاف له الفورم ألدهيد و مركب L. كارنيتين

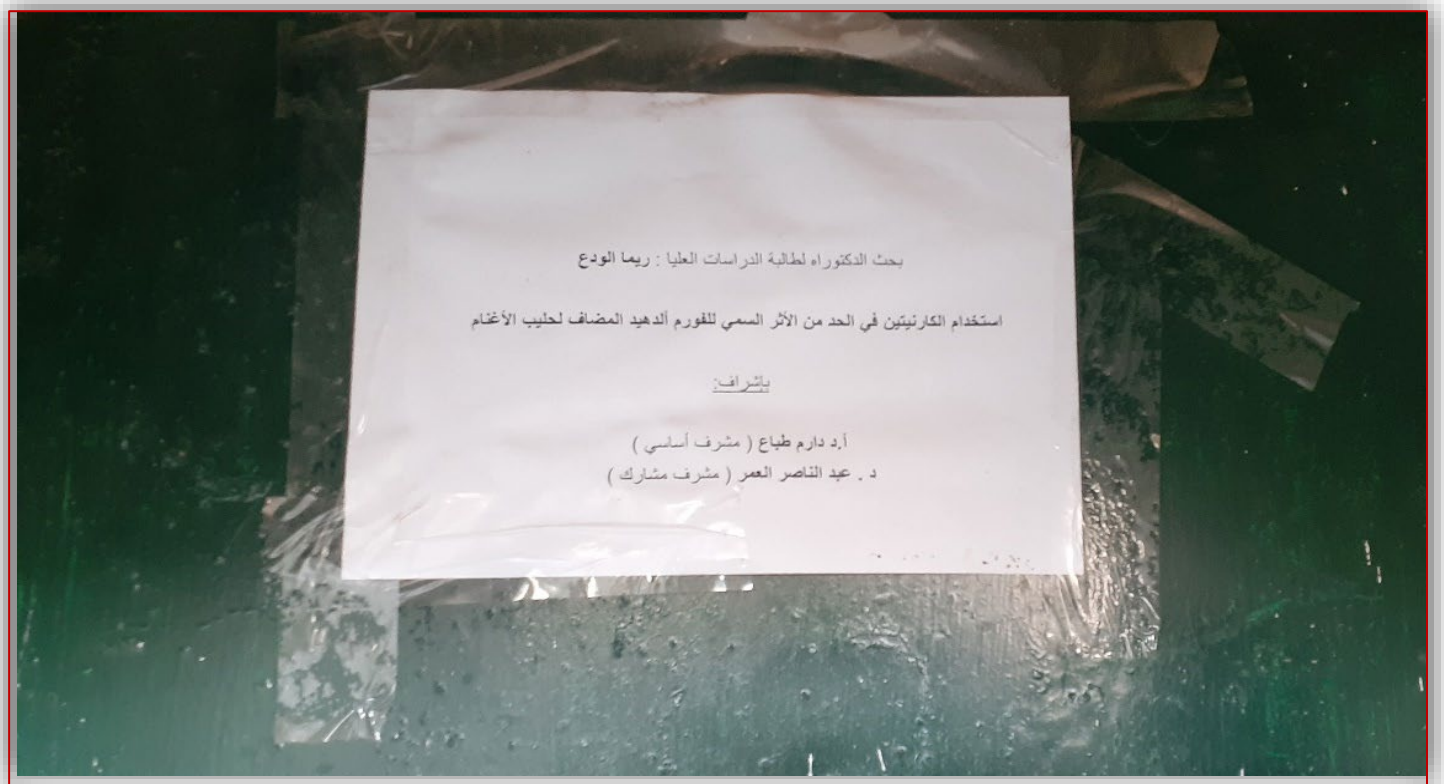
الصورة رقم (6): توضح سحب عينات دم من حيوانات التجربة لزوم تحاليل الدم.



الصورة رقم (7): توضح جهاز التعداد الآلي و اختبار الصورة الدموية .

الصورة رقم (8): توضح الأجهزة في المخبر لإجراء التحاليل المطلوبة.

الصورة رقم 9): توضح الزرع الجرثومي للحليب في المخبر.



الصورة رقم (10): توضح زيارة السيدة المدير العام للبحوث العلمية الزراعية لموقع التجربة.

الصورة رقم (11): توضح زيارة د. مرهف لحلح و د.عروانة من قسم الصحة العامة لموقع التجربة .

Syrian Arab Republic

Hama University

Faculty of Vet. Med

Department of Public Health and Preventive Medicine

Using of L- Carnitine in limiting of the toxic effect of Formaldehyde added to sheep milk

A Thesis prepared
by

Rema Anwar Al-Wadaa

For

The PHD Degree in Veterinary Medical Science
(Dairy health and technology)

Supervised By

Prof. Darem Tabbaa

Dr. Abd Alnaser Al.omar

1445 H-2024AD