جامعة حماة

كلية الطب البيطري

قسم التشريح المرضي

التغيرات التشريحية المرافقة للتسمم بالليفاميزول عند دجاج اللحم

رسالة مقدمة لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية

– اختصاص التشريح المرضي –

إعداد طالبة الدراسات العليا

مَيْ أديب الماغوط

إشراف

د. وديع شديد

مشرفاً علمياً

د. سمير حمود

مشرفاً مشاركاً

2018 م / 1439 هـ

- إلى من وهبوا لي الحياة ... **أبي** قطب الحياة

أمي الحاضرة ولن تغيب

- إخوتي النور السرمدي لروحي ... **رند، حسين، ريم**
- لأملٍ ينمو أمامي ولا يخبو .... لقيمة الحياة التي أحياها ... **ولدي الغالي الأوس**
- **لأقاربٍ وأصدقاءٍ** كانوا ومازالوا ضوءً للقلب ...
- يحمل القلب بطاقات شكر لكل من أخذ بيدي لأعبر طريق دراستي الشاق ..

والشكر الأكبر لـــ : **الدكتور أيمن شتيان .. الدكتور ياسر محمد العمر**

الدكتور عبد الناصر العمر

- الشكر **لمؤسسة الآغا خان** على التسهيلات والمساعدة التي قدمتها في مراحل إنجاز البحث.
- الشكر **لشركة أكمافيد** على تقديمها المادة الدوائية دعماً للبحث العلمي.
- الشكر **لهيئة البحوث العلمية الزراعية** " مرج الكريم" على دعمه وتشجيعه للبحث العلمي.
- يعوّل محاربو النور على أيام من هذا النـــوع...**اليـــوم**، يمكننـــا أن نـــذرف الـــدمع جـــراء بعض الإجحاف الذي لحق بنا والذي بقي يضيق علينـــا الخنـــاق. ســـوف نهـــاتف شخصـــاً أقسمنا بأننا لن نهاتفه يوماً (مع أننا نعشق أن نسمع منـــه رســـالة صـــوتية مســـجلة علـــى مجيب هاتفنا). يجب أن يتميز نهارنا هذا بالنص الذي نخطـــه كـــل صـــباح. **اليـــوم**، كـــل الأخطاء مباحة ومغفورة. اليوم، يوم للاستفادة من الحياة .....

شهادة

أشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة، هو نتيجة بحث قامت به المرشحة طالبة الدراسات العليا، الطبيبة البيطرية **مي الماغوط** لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية، باختصاص **التشريح المرضي** تحت إشراف الدكتور وديع شديد الأستاذ المساعد في قسم التشريح المرضي في كلية الطب البيطري في جامعة حماة، والدكتور سمير حمود الأستاذ المساعد في الطب الشرعي كلية العلوم الصحية جامعة البعث، وأي رجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع موثق في النص.

المرشحة	المشرف العلمي	المشرف المشارك
مي الماغوط	أ.م.د. وديع شديد	أ.م.د. سمير حمود

التاريخ: / / 2018

Certificate

It is hereby certified that the work described in this thesis is the result of author's own investigation **Dr. Mai Almaghout** specialization Pathology under supervision of Ass. Prof. Dr. Wadih Shedid at the Department of Pathology in Faculty of Veterinary Medicine, Hama University & Ass. Prof. Dr. Sameer Hammod and any reference to other researcher work has been acknowledged in the text.

Candidate	Supervisor	
Mai Almaghout	Dr. Wadih Shedid	Dr. Sameer Hammod

Data: / / 2018

تصريح

أصرح بأن هذا البحث الموسوم بعنوان:

" التغيرات التشريحية المرافقة للتسمم بالليفاميزول عند دجاج اللحم "

لم يسبق أن حصل على أي شهادة، ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشحة : مي الماغوط

التاريخ: / / 2018

DECLARATION

It is hereby declared that this work under title:

" The Pathological Changes Associated With Levamisol Toxicity in Broiler chicken "

has not already been accepted for any degree, nor is being submitted concurrently for any other degree.

Candidate: Mai Almaghout

Data : / / 2018

فهرس المحتويات

الموضوع	رقم الصفحة
ملخص البحث	1
المقدمة	5
الدراسة المرجعية	9
مواد وطرائق العمل	30
النتائج	38
المناقشة	58
الاستنتاجات	65
التوصيات	67
المراجع	69

فهرس الصور

رقم الصورة	عنوان الصورة	رقم الصفحة
1	التركيب الكيميائي لليفاميزول	10
2	جهاز إدماج العينات النسيجية	35
3	جهاز الميكروتوم Microtome	36
4	محم جاف ومحم مائي وجهاز صهر البارافين	36
5	صورة توضح علامات التشنج والتقلص العضلي على أحد طيور مجموعة التسمم الحاد بالليفاميزول	39
6	صورة توضح علامات التشنج والتقلص العضلي على أحد طيور مجموعة التسمم الحاد بالليفاميزول	40
7	**التغيرات المجهرية في مرحلة التسمم الحاد في نسيج الكبد1 بؤر نخرية مختلفة الحجم**	41
8	التغيرات المجهرية في مرحلة التسمم الحاد في نسيج الكبد2 بؤر نخرية مختلفة الحجم	41
9	التغيرات المجهرية في مرحلة التسمم الحاد في نسيج الكلى1 بؤر تنكس ونخر في النبيبات الكلوية	42
10	التغيرات المجهرية في مرحلة التسمم الحاد في نسيج الكلى2 ارتشاح الخلايا اللمفاوية	42
11	التغيرات في اليوم 10 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الرئة احتقان الشعيرات الدموية في جدر الأسناخ وسماكة النسيج الخلالي	44
12	التغيرات المجهرية في اليوم 10 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الرئة ارتشاح الخلايا الالتهابية	44
13	التغيرات المجهرية في اليوم 10 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الكبد تبدو طبيعية	45
14	التغيرات المجهرية في اليوم 10 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الكلى ارتشاح أماكن نخر النبيبات بالخلايا الالتهابية	46
15	التغيرات المجهرية في اليوم 10 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الكلى ارتشاح اللمفاويات في أماكن نخر النبيبات	46

رقم الصورة	عنوان الصورة	رقم الصفحة
16	نسيج كلية سليم	47
17	التغيرات المجهرية في اليوم 20 لإعطاء الليفاميزول في الرئة ارتشاح بلاعم في النسيج الخلالي	48
18	التغيرات المجهرية في اليوم 20 لإعطاء الليفاميزول في الرئة ارتشاح بلاعم في القصبات الهوائية	49
19	التغيرات المجهرية في اليوم 20 لإعطاء الليفاميزول في الكبد ارتشاح الخلايا الالتهابية في المسافات البابية	49
20	نسيج كبد سليم	50
21	التغيرات المجهرية في اليوم 20 لإعطاء الليفاميزول في الكلى تنكس الخلايا المبطنة وارتشاح الخلايا الالتهابية	50
22	التغيرات المجهرية في اليوم 20 لإعطاء الليفاميزول في قشرة الدماغ بداية نخر في قشرة الدماغ	51
23	التغيرات المجهرية في اليوم 30 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الرئة ارتشاح القصبات بالخلايا الالتهابية	52
24	التغيرات المجهرية في اليوم 30 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الرئة ارتشاح الأسناخ والنسيج الخلالي بالخلايا الالتهابية	53
25	التغيرات المجهرية في اليوم 30 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الكبد تنكس الخلايا الكبدية	54
26	نسيج كبد سليم	54
27	التغيرات المجهرية في اليوم 30 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الكبد نخر الخلايا الكبدية وارتشاح الخلايا الالتهابية	55
28	التغيرات المجهرية في اليوم 30 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الكلى نخر النبيبات الكلوية وارتشاح خلايا الالتهابية	55
29	نسيج كلية سليم	56
30	التغيرات المجهرية في اليوم 30 لإعطاء الليفاميزول في نسيج الدماغ نخر متعدد في قشرة الدماغ ووجود لخلايا دبقية	56

فهرس الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
1	البيانات المتعلقة بحساب الجرعة القاتلة للنصف حسب نتائج التجربة المنفذة	32
2	التوزيع التكراري المطلق والنسبي المئوي للأعضاء المتضررة	37

ملخص البحث

Abstract

1- ملخص البحث باللغة العربية :

تم إجراء البحث على (110) طائراً من طيور دجاج اللحم بعمر أسبوعين، من سلالة (هابرد فلكس) سليمة ظاهريا"، في مزرعة دجاج لحم في منطقة سلمية، حيث قسم العمل إلى ثلاثة مراحل:

- **المرحلة الأولى:** تم فيها تحديد الجرعة القاتلة للنصف LD50 لمركب الليفاميزول حيث بلغت LD50 = 1غ/كغ وزن حي، وأجريت التجربة على (50) طائراً قسمت إلى خمس مجموعات، أعطيت مركب الليفاميزول بجرعات (0-0.5- 1- 1.5- 2) غ/كغ على التوالي، ثم تم احتساب الجرعة القاتلة للنصف LD50.
- **المرحلة الثانية:** أجريت على (20) طائراً قسمت إلى مجموعتين (10 طيور في كل منها) بحيث كانت إحداها شاهداً أعطيت الماء فقط، في حين أعطيت الثانية الليفاميزول بالجرعة القاتلة للنصف (1) غ/كغ التي تم حسابها في المرحلة الأولى، وذلك لدراسة التغيرات المرضية المرافقة للتسمم الحاد بالليفاميزول.
- **المرحلة الثالثة:** درست التغيرات التشريحية المرافقة للتسمم المزمن بالليفاميزول. وأجريت التجربة على (40) طائراً أعطيت خمس الجرعة القاتلة للنصف لليفاميزول (200 ملغ/كغ)، وأخذت عينات من الأنسجة المختلفة للطيور بعد ذبح عشرة طيور في اليوم العاشر من إعطاء الليفاميزول، ومثلها في اليوم العشرين؛ وأيضاً اليوم الثلاثين. وحفظت العينات في الفورمالين المتعادل، وحضرت منها مقاطع نسيجية لونت بالهيماتوكسيلين والأيوزين.

باستعمال الجرعة القاتلة للنصف لمركب الليفاميزول (LD50 = 1g/kg) في مجموعة الطيور المدروسة في المرحلة الأولى، تجلت أعراض التسمم الحاد بظواهر عصبية؛ وتشنجات عضلية؛ واضطراب التناسق الحركي قبل النفوق. كما لوحظت تغيرات نسيجية في الأعضاء الهامة، مثل الكبد والكلى، على شكل بؤر نخرية متعددة؛ ومنتشرة مع ارتشاح مناطق النخر بالخلايا اللمفاوية.

لوحظ في مرحلة التسمم المزمن وجود تغيرات مرضية بسيطة في أنسجة الرئة والكبد والكلى، بعد (10) أيام من إعطاء الليفاميزول، وازدادت التغيرات وضوحا بعد اليوم (30)، وكانت التغيرات على شكل بؤر وارتشاح الخلايا الالتهابية إلى أماكن التخرب الخلوي، بينما ظهرت التغيرات في النسيج الدماغي بدءاً من اليوم (20)، وازدادت حتى اليوم (30)، أما في النسيج العضلي والمعوي فلم تلاحظ أي تغيرات نسيجية مهّمة.

2- Abstract :

The research was carried out on 110 birds of the two-week-old broiler chicken with a known disease-free strain. The work was divided into three stages:

Stage 1: LD50 = 1 g / kg weight of the bird was determined by LD50 = 1 g / kg of bird weight and was performed on 50 birds divided into five groups given the levamizole compound in doses (0.5-1-1.5-2-0) Respectively, and then the mean LD50 was calculated and it was 1 g / kg b w.

Stage 2: An experiment was conducted on 20 birds divided into two groups (10 birds each). One of them was a control given water only while the second was given levamizole with the intermediate toxic dose that was calculated in the first stage.

The third stage of the study examined the pathological changes associated with chronic levamizole poisoning. Experiments were conducted on 40 birds. Five medium lethal doses of levamizole were given with respect to the mean weight of the bird. The samples of the different tissues of the birds were taken after slaughtering on the 10th, 20th, and 30th day samples were preserved in neutral buttered formalin and tissue slices were present and dyed with hematoxylin Eosin.

The study showed that acute levamizole poisoning leads to neurological symptoms and signs of spasm

Chronic toxicity showed changes in lung, liver and kidney tissue 10 days after administration of levamizole and changes increased in severity up to date (30). The changes were in the form of necrotic foci and infiltration of inflammatory cells in cellular destruction sites.

While in the brain tissue, changes began, "from day (20) and increased in severity to date (30). Muscular and intestinal tissue showed no changes, in phases of this study.

الفصل الأول : المقدمة

Chapter I : Introduction

1- المقدمة : Introduction

على الرغم من تطور العلوم الطبيـــة البيطريـــة المختلفـــة وتطبيقاتهـــا لتحســـين مـــردود مـــزارع الدواجن في مختلف أنحاء العالم، وبالإضافة لتطـــوير نظـــم الإدارة والتربيـــة وتطبيـــق اللقاحـــات المخصصة والتغذية الجيدة، إلا أنه لا يزال هناك عدد كبيـــر مـــن المســـببات المرضـــية وأخطـــاء التربية، التي تسبب خسائر كبيرة في قطعان الدواجن.

ولذلك فإن تحقيق الربح في تربية الدواجن يمكن أن يعتمـــد أساســـاً علـــى رفـــع المناعـــة بشـــكل جيد ضد الأمراض المختلفة لقطعان المـــزارع، ممـــا يســـاعد علـــى خفـــض الحـــالات المرضـــية، وبالتالي تحقيق زيادة في وزن الطيور بأقل تكلفة ممكنة.

ويشكل الإجهاد أثر كبير على الطائر، وخصوصا عند زيادة كثافـــة التربيـــة، ومـــن أهـــم النتـــائج التي تظهر على الطائر المجهد، هي تثبـــيط الجهـــاز المنـــاعي، أو انخفـــاض الكفـــاءة الإنتاجيـــة لديه، وعملياً يمكن للطيور المريضة أن تُعالَج، ولكـــن ينبغـــي أن يحصـــل ذلـــك كخطـــوة أخيـــرة متبعة في مجال الطب الوقائي الحديث، وهي خطوة مكلفة ماديا بنفس الوقت.

من المعلوم أنّ القناة الهضمية المعوية هي خـــط الـــدفاع الأول عنـــد الطـــائر، ضـــد العديـــد مـــن الكائنات الحية المسببة للأمراض، ولكي تقوم بدورها الدفاعي، لابـــدّ مـــن وجـــود جهـــاز منـــاعي حصين، قادر على الدفاع عن الطيور، والذي لا ينحصر تأثيره فقـــط فـــي الوظـــائف الموضـــعية، بل أيضا" في الوظائف الوقائيّة المختلفة للجسم كاملاً

(Regulation,2017., Drug residue table I,2017; clopton,2002)

وإنّ لاستخدام الصادات الحيوية المستمر مســـاوئ كثيـــرة، و أصـــبحت واضـــحة للجميـــع ســـواءً للمربين أو المشرفين على مزارع إنتاج الدواجن، مـــن خـــلال التكـــاليف الباهظـــة، وكـــذلك مـــن خلال ما تسببه من تثبيط مناعي، بالإضافة إلى الثمالات الدوائية التـــي تتـــرك آثارهـــا فـــي لحـــوم الطيور، والتي تشكل في أغلب الأحيان خطراً كبيراً على صحة المستهلك.

وقـد اسـتخدمت العديـد مـن المحسـنات المناعيـة الطبيعيـة للجهـاز المنـاعي كالخمـائر (خميرة البيرة) أو بعض المركبات التي تحتـوي علـى الجـراثيم اللبنيـة (البروبيوتيـك)، إلا أنـه لا توجد دراسات كافية حول تأثير بعض مضـادات الطفيليـات كالليفـاميزول المعـروف بتـأثيره المضاد للديدان المعدية المعوية والتنفسية، وكمحسن للمناعة.

يعد الليفاميزول من المركبات التي تلعب دوراً هاماً فـي رفـع مقاومـة العائـل بصـورة عامـة، ومقاومته للأخماج الجرثومية بشكلٍ خاص (Pavlovsky,et al.1981).

وقد أجريت هذه الدراسة بهـدف توضـيح سـمية هـذا المركـب الكيميـائي بأشـكالها المختلفـة، ولضمان استخدامه الآمن فـي مـزارع الـدواجن، و لمعرفـة تـأثير الجرعـات السـمية علـى الأنسجة من خلال دراسة التغيرات التشريحية المرضـية، وذلـك بـإجراء دراسـة تجريبيـة يـتم فيها إعطاء مركب الليفاميزول ضمن برنامج محدد.

تم في السنوات القليلة الماضـية اسـتخدام الليفـاميزول عـن طريـق الفـم، لتحسـين الوظـائف المناعية ،وتحسين فعاليـة اللقاحـات، ومقاومـة الأمـراض عنـد الطيـور، وعنـد الحيوانـات المستأنسة الكبيرة كـذلك (Guerrero,1980). حيـث تـم مـن خـلال هـذه الدراسـة تحديـد التأثيرات السمية، لاستخدام مركب الليفـاميزول، ممـا يسـاعد فـي الدراسـات المسـتقبلية علـى معرفة التأثيرات المناعية النوعية، وغير النوعية، والإنتاجيـة لمركـب الليفـاميزول عنـد دجـاج اللحم.

2- مبررات الدراسة : Justifications of the study

يمكن تحديد المبررات لإجراء المشروع البحثي من خلال النقاط التالية:

1- عدم وجود أي دراسات سابقة تتعلق بالتغيرات التشريحية المرضية لمركب الليفاميزول محلياً (في منطقة السلمية).

2- عدم وجود أبحاث سابقة حول تحديد الجرعة القاتلة للنصف (LD50) لتأثير الليفاميزول في قطعان الطيور المحلية.

3- الأهمية الاقتصادية لاستخدام الليفاميزول، كمحسن مناعي عند الطيور، واستخدامه كمنتج دوائي وقائي وعلاجي لبعض الأمراض عند الطيور.

4- ندرة الأبحاث العلمية السابقة المتعلقة بدراسة التغيرات التشريحية المرضية لاستخدام الليفاميزول في المراحل العمرية المختلفة، حيث تركزت معظم الدراسات السابقة حول تأثير الليفاميزول كمحسن للمناعة (الخلطية والخلوية)، أو المناعة الموضعية في غدة الضرع عند المجترات.

3- أهداف الدراسة : Objectives of the study

يمكن تلخيص الهدف من الدراسة بالآتي:

1- تحديد الجرعة القاتلة للنصف LD_{50} لليفاميزول عند دجاج اللحم، ولاسيما أن هامش الأمان لهذا المركب الدوائي ضيقاً، وأغلب مربي الدواجن في الوقت الحالي يستخدمونه كمحفز للمناعة، اعتباراً من الأسبوع الأول للتربية، وكمحسن للاستجابة المناعية لدى الطيور عند التلقيح، وللوقاية من الأمراض المختلفة.

2- الكشف عن التغيرات التشريحية المرضية المرافقة للتسمم الحاد في مجاميع طيور الدراسة.

3- الكشف عن التغيرات التشريحية المرضية المرافقة للتسمم المزمن بالليفاميزول عند دجاج اللحم، بعد إعطائه على فترات مختلفة.

الفصل الثاني : الدراسة المرجعية

Chapter II : Literature Review

2- الدراسة المرجعية : Literature Review

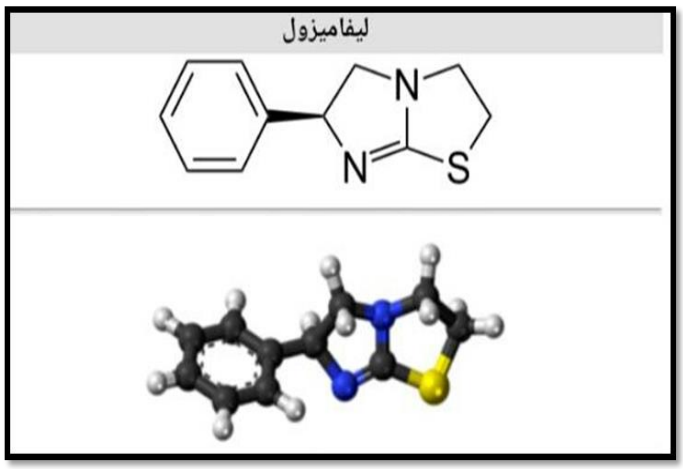
يعد الليفاميزول Levamisole من مضادات الديدان واسعة الطيف شائعة الاستعمال، بوصفه علاجاً فعالاً ضد الديدان الأسطوانية التي تصيب القناة المعدية المعوية، والجهاز التنفسي للإنسان والحيوانات الحقلية (Thienpont et al., 1966; Roberson, 1982; Dalvi, 1990). فضلاً عن استخدامه بوصفه محسناً للمناعة (Immunostimulant)

(Symoens and Rosenthal , 1977; Brunner and Muscoplat 1980; Renoux, 1980; Ghai, 1996; Donald, 2001 ; Irmak et al., 2003).

استطاع الباحثون Thienpont et al سنة 1966 اكتشاف التترامیزول (Tetramisole)، ولاحظوا أن فعالية التترامیزول كمضاد للديدان تعود إلى الايسومير الأيسر L – Isomer للتترامیزول، الذي يمثل الليفاميزول (Thienpont et al., 1966; Janssen, 1976; Tripathi, 1985; Coppoc, 1996; Aiello,1998).

الاسم والتركيب الكيميائي لليفاميزول : الليفاميزول هو الايسومير الأيسر L –isomer أو النظير التماكبي لمركب التترامیزول

l Tetramisole [2,3,5,6- Tetrahydro-6-Imidazo(2,1-b thiazole)]
(Thienpont et al.,1966; Roberson, 1982; Reinemeyer and Courteny, 2001)



النظير التماكبي لمركب التترامیزول

الصورة رقم (1) التركيب الكيميائي لليفاميزول **(Roberson, 1982)**

ويتوفر الليفاميزول على شكل مسحوق بلوري ذي لون ابيض، أو كريمي فاتح، وزنه الجزيئي240.75 ويوجد عادةً بشكلين من الأملاح إما بشكل أملاح الفوسفات، أو أملاح الهيدروكلوريد. وعادةً يذوب الليفاميزول في الماء (1غ/2 مل في الماء المقطر) (Reynolds, 1982; Donald, 2001) ولا يتحلل في المحاليل المائية الحامضية في حين يتحلل في المحاليل المائية القاعدية، ويكوّن مركباً بلورياً أبيض غير ذائب في الماء d,I 2–oxo–3–3 (2–Mercaptoethyl) –5– phenyle – Imidazoline يعرف بالـ (O.M.P.I) (Guerrero ,1980; Roberson,1982).

ويعد هذا المركب (O.M.P.I) من المركبات الاستقلابية التي تتكون داخل الجسم كناتج استقلابي للتحلل المائي لحلقة الثيازول، وله دور هام في التأثير المناعي، فضلاً عن آلية عمله بوصفه مضاداً للديدان (Van Belle and Janssen, 1979; Guerrero, 1980)

ويمكن تفسير آلية تأثير العقار بنظريتين :

- **النظرية الأولى:** التعويض عن النقص الوظيفي الذي يحصل للخلايا المناعية، إذ يعمل العقار على تقوية ورفع المناعة المنخفضة (Kimball et al., 1992).
- **النظرية الثانية:** انضاج خلايا الدم المتحركة، التي تساهم في العمليات الدفاعية (Amery 1967).

وينشط الليفاميزول عمل الخلايا اللمفاوية التائية، وبخاصة الخلايا التائية المساعدة (T-Helper cells) عندما تكون أقل من الطبيعي، إضافة إلى تأثيره في تحفيز عملية البلعمة وتحرير خميرة الجسم الحال (Lysosomal enzyme) وتنظيم عمل المدورات السيتوكينات (Cytokiness) المنتجة من البلاعم الكبيرة (Kimball et al., 1992) وزيادة تكاثر الخلايا اللمفاوية، بعد تعرضها للمحسنات غير النوعية، ورفع استجابة الجهاز المناعي، وزيادة إنتاج الأضداد التي تتبع عملية التمنيع (Manog & Singh 2003). ومن العوامل التي ساعدت في استخدامه لمقاومة الفيروسات، هي قابليته على تحفيز الانترافيرون: IFN (antiviral proteins) وبالتالي التقليل من فعالية الفيروس.

كما لاحظ (Findlay and Monday 2000) قابلية العقار على زيادة فعالية الجهاز المناعي غير المتخصص Nonspecific defence system والتي تم تحديدها بواسطة دليل البلعمة وزيادة قابلية البلعمة وزيادة الفعالية المحللة للمخاط والمصل. كما يمتلك الليفاميزول خصائص مشابهه لهرمونات التوتة Thymomimatic hormone وبالتالي يؤدي إلى تحفيز تمايز الخلايا اللمفاوية التائية والبائية، والاستجابة ضد المستضد، وزيادة فعالية البلاعم، الكبيرة وانتاج السيتوكينات (Szeleszczuk et al.,2003).

أشار (Goldstein and Topan 1987) إلى أن الليفاميزول أدى إلى زيادة وزن جراب فابريشيوس وزيادة تمايز الخلايا البائية وبالتالي زيادة الخلايا المصورية (البلازمية) المسؤولة عن إنتاج الأضداد فازداد بالتالي إنتاجها.

استطاع بعض الباحثين (Szeleszczuk et al.,2003) إثبات تأثير الليفاميزول على جراب فابريشيبوس وزيادة وزنه، و تحفيزه على زيادة إنتاج Bursin hormone المسؤول عن زيادة تمايز الخلايا البائية اللمفاوية ،وبالتالي زيادة في إنتاج الخلايا المصورية Plasma cell الناتجة عن تحفيز الخلايا البائية بالمستضد، وبالتالي إنتاج الأضداد.

يعد الليفاميزول محفزاً للعقد الكولينية Cholinergic ganglia، فهو يعمل كشاردة أسيتيل كولينية Acetylcholine agonist إذ يعمل على إزالة استقطاب مستمر للغشاء العضلي في الطفيليات، مع غلق الاتصال العصبي– العضلي Blockade of the neuromuscular وهذا يؤدي إلى تقلص مستمر في العضلات، وبالتالي إلى الشلل في الطفيليات التي تطرح خارج الجسم بواسطة الحركة الحوية للأمعاء (Lewis et al. 1980; Robertson, and Martin, 1993; Aiello, 1998). كما يعمل كشاردة نيكوتينية متخصص Selective nicotinic agonist الذي يؤدي إلى شلل تشنجي Spastic Paralysis في الديدان (Aceves et al. 1970; Coppoc, 1996; Hoekstra et al., 1997; Martin et al., 1997; Richmond and jorgenson, 1999).

إن مكان عمل الليفاميزول هو القنوات الأيونية، التي تشكل مستقبلات كولينية نيكوتينية في عضلات الديدان الأسطوانية (Robertson and Martin, 1973) وقد يكون الشلل الذي يحدثه الليفاميزول في الجرعات العالية ناتجاً عن تداخله مع إنتاج الطاقة ،فهو يعمل على غلق الممرات الاستقلابية المسؤولة عن تكوين أدينوزين ثلاثي الفوسفات ATP خاصة في مواقع اختزال الفيوماريت وأكسدة السكسنيت Furmarate reduction and succinate oxidation وهذا يؤدي إلى تثبيط إنتاج ATP المسؤول عن تزويد الخلايا بالطاقة، وبالتالي تقليل الفعالية الاستقلابية للخلية، مؤدياً بالنتيجة إلى حدوث الشلل (Guerrero, 1980; Coppoc, 1996; Donald, 2001).

يعتبر الليفاميزول أفضل ما عرف كمضاد للديدان ،وهو يحفز الجهاز المناعي لدى الحيوانات في حالات الفشل المناعي، لأنه يؤثر على كل أطوار الاستجابة المناعية، وربما يكون ذلك بتأثيره على حلقة استقلاب النيكليوتيدات /cyclic nucleotide metabolism/ أو قد يزيد (C AMP) الأدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي Cyclic Adenosion Mono Phosphate، حيث أن زيادته تؤدي إلى نقص الكالسيوم، مما يحافظ على حيوية الخلية ويخفض مستوى (C G MP) الجوانين أحادى الفوسفات الحلقي Cyclic Guanosine Mono Phosphate الذي يؤدي إلى نقص الكالسيوم. وهو يؤثر على استجابة تكاثر الخلايا اللمفاوية وتخليق اللمفوكين /lymphokine/ أي المدورات اللمفاوية، التي تعمل على دعم وتنشيط خلايا البلعمة وحيدة النواة، عن طريق جذب البلاعم العملاقة إلى موقع الخلية اللمفاوية مع المستضد ومن ثم إتلافها، وتعمل الخلايا السمّية على إتلاف خلايا الهدف التي تحتوي على الميكروب النوعي داخل نواتها أو الخلايا السرطانية. إضافة إلى أن المدورات اللمفاوية تعمل على زيادة مقاومة الخلايا غير المصابة، وإنتاج الأجسام المضادة والخلايا البلعمية، وخاصيّة الانجذاب الكيميائي والقتل داخل الخلايا البلعمية العملاقة، والخلايا المحببة ،وتسهل انقسام طلائع الخلايا اللمفاوية التائية إلى الخلايا التائية الناضجة، مع زيادة في نسبة الخلايا المساعدة للخلايا الداعمة. ولذلك فإن الخلايا التي تدخل العمل المناعي يعاد ترميمها /restored/.((1991) Brander et al.,(1995); Adams.) .

استخدامات الليفاميزول:

يعد الليفاميزول من مضادات الديدان واسعة الطيف، ويستعمل كعلاج فعال ضد الديدان الأسطوانية المعوية، وديدان الرئة في الأبقار والأغنام والخنازير والماعز والدواجن.

وإن الطرائق الأكثر شيوعاً لإعطاء الليفاميزول هي عن طريق الفم، وتحت الجلد، فضلاً عن إمكانية إعطائه عن طريق الصب على الجلد (Dalvi, 1990; Coppoc,1996; Aiello, 1998).

وأشار العديد من الباحثين إلى أن الليفاميزول ذو هامش أمان ضيق Narrow Safety Margin عند الخيول (Roberson, 1983; Donald, 2001) والكلاب (Thienpont et al., 1968; Roudebush, 1980) والقطط (Marriner and Armour, 1986).

وتبدو الكفاءة العلاجية لليفاميزول ضد معظم الديدان التي تصيب الخيول محدودة (Donald, 2001) إذ لوحظ أن استخدام الليفاميزول بالجرعات العالية في الخيول لا يؤدي إلى طرد الديدان الاسطوانية Small and Large Strongylus بشكل كامل وقد تؤدّي هذه الجرعات إلى ظهور علامات التسمم في الخيول، وربما الموت، ونظراً للفعاليّة المحدودة لليفاميزول ضد الديدان الأسطونية Strongylus فلقد استدعى الأمر إلى تجنب الاستعمال الواسع لهذا العقار عند الخيول (Robenson, 1983).

واستخدم لعلاج الإصابة بديدان الرئة جنس Dictyocaulus arnifield عند الخيول ووصلت فعاليته إلى 94% (Theinpont et al., 1966; Robenson, 1983) وبجرعة مقدارها 7.5– 15 ملغ / كغ، عن طريق الفم و بجرعة 5–10 ملغ / كغ بالحقن تحت الجلد.

أما عند الماعز ينصح بعدم استخدام الليفاميزول، بسبب انخفاض الكفاءة العلاجية له، نظراً لسرعة استقلابه، وإزالته من الدم (Gillham and Obendorf , 1985; Sahagun et al., 2001) في حين إن الكفاءة العلاجية لليفاميزول متساوية تقريباً في باقي المجترات (الأبقار والأغنام) (Aiello, 1998)،

إذ يمكن إعطاؤه بالحقن العضلي بجرعة 5 ملغ / كغ من وزن الجسم (Santiago et al., 1972) أو بالحقن تحت الجلد بجرعة 3.3 – 8 ملغ / كغ من وزن الجسم (Donald, 2001) ويمكن استعماله بطريقة التطبيق الخارجي على الجلد بتركيز 10% أو بجرعة 10 ملغ/كغ من وزن الجسم (Dorn and Federmann, 1976; FDA, 1987).

ويمتلك الليفاميزول فعالية جيدة ضد الديدان الاسطوانية، التي تتطفل في المعدة مثل: الأوسترتاجية Ostertagia, الأسطونية الشعرية Trichostrongylus, الهيمونكس Haemonchus.

وديدان الأمعاء وتشمل: Trichostrongylus الإسطوانية الشعرية Cooperia الكوبوريا Nematodirus, نيماتوديروس, كابريتيا بوموستوموم Chabertia Bunostomu, أوغوفوغوستوموم Oseophagostomum. وديدان الرئة الكبيرة Dictyoculus (Robenson, 1982; FAD, 1987; Donald, 2001).

وتصل الكفاءة العلاجية لليفاميزول ضد ديدان الرئة إلى 98% في الأغنام والأبقار (Roberson, 1982; Armour and Bairden, 1983)، فضلاً عن استخدامه لعلاج ديدان العين Theilezia في الأبقار وذلك بحقن 2 مل من محلول 1 % داخل كيس الملتحمة Conjuctival Sac (Robenson, 1982)،في حين لم يكن له أي تأثير على ديدان الكبد Fasicula (Aiello, 1998). ويستخدم للوقاية من التهاب الضرع في الأبقار بإعطائه مرة واحدة خلال مدة الجفاف.

يتعرض الجهاز المناعي خلال حياة الطيور إلى العديد من العوامل المثبطة التي تنعكس سلباً على أدائها، وعلى ردود الفعل المناعية لديها، وعلى مقاومتها للعوامل الممرضة، لذا يمكن استخدام الليفاميزول كأحد المحسنات المناعية Levamisole one of the immune promotion.

يعطى الليفاميزول في الدواجن عن طريق ماء الشرب 5 – 15 مل / غالون ماء لعلاج ديدان الأمعاء، أو بالحقن تحت الجلد، أو في العضلة بجرعة 4 – 8 ملغ / كغ، وعند استخدامه كمحسن مناعي يعطى بجرعة 2 ملغ / كغ تحت الجلد أو في العضل لمدة 14 يوماً (Donald, 2001).

ويستخدم لعلاج الديدان الاسطوانية، التي تصيب القناة الهضمية عند الطيور، مثل Cappillaria Obsignata, Heterax Gallinarium, Ascaridia Galli إذ بلغت الكفاءة العلاجية له حوالي 95 %، كذلك يمكن استعماله لعلاج ديدان العين في الدواجن Oxyspira mansoni وذلك بوضع قطرات من محلول الليفاميزول 10 % في عين الطائر (Clarkson and Beg, 1970; Robenson, 1982; Marriner and Armour, 1986).

ويستعمل الليفاميزول عند الكلاب والقطط لعلاج الإصابة بالديدان الاسطوانية التي تصيب القناة الهضمية Toxascaria, Toxocara، وكذلك ضد الديدان الشصية Hook Worms مثل Ancylostoma وبجرعة 5 – 10 ملغ / كغ من وزن الجسم، عن طريق الفم (Roudebush, 1980) وبجرعة 4 – 5 ملغ / كغ تحت الجلد في القطط (Connan, 1979; Roberson, 1982; Blair and Klei, 1986) ويستخدم لعلاج الإصابة بديدان القلب Dirofilaria immitis (Donald, 2001).

تأثير الليفاميزول في الجهاز المناعي:

يستخدم الليفاميزول كمحسن مناعي Immunostimulant ولم تعرف حتى الآن آلية عمله التي تؤدي إلى تحفيز الجهاز المناعي، ولكن يعتقد أن ميكانيكية عمله تعود إلى كونه يعمل على تنشيط الوظائف المناعية للخلايا اللمفية المحيطية نوع T-lymphocytes.T الناضجة وغير الناضجة (Brunner and Muscoplat, 1980; Mulcahy and Quinn, 1986; Taki and Schwartz, 1994; Donald, 2001) وكذلك يعمل على تحفيز البلاعم Macrophage، والخلايا وحيدة النواة Monocytes (Kaneene et al., 1981; Donald, 2001) ويعمل على زيادة تمايز الخلايا اللمفية نوع T، وزيادة استجابة الخلايا اللمفية المثبطة Suppressor lymphocyte وزيادة استجابة الخلايا العدلات ووحيدات

النواة للانجذاب الكيميائي Chemotoxic، كما يسرع من ارتباط المستضد وسرعة إزالته من الجسم بواسطة تحفيز عملية البلعمة Phagocytosis (Renoux, 1980; Brunner and Muscoplat, 1980; Koller, 1982)

ويعتقد أن الناتج الاستقلابي لليفاميزول (O.M.P.I) يلعب دوراً رئيسياً في عملية تحفيز الجهاز المناعي (Van Belle and Janssen, 1979). و يحفز الليفاميزول إعادة الوظائف المناعية بجرعة تنحصر بين 2 – 3 ملغ / كغ من وزن جسم الطائر، في حين أن الجرعات العالية أو حتى العلاجية المستخدمة كمضاد للديدان، من الممكن أن تكون مثبطة للجهاز المناعي (Renoux, 1980; Brunner and Muscoplat, 1980; Anderson, 1984).

ويستخدم الليفاميزول محسناً مناعياً عند إعطاء لقاح الكوكسيديا Coccidiosis Vaccination بجرعة 25 ملغ / كغ بإعطائه لمدة ثلاثة أيام قبل اللقاح، إذ يؤدي إلى زيادة الاستجابة المناعية للطائر (Giambrone and Klesius, 1985)، فضلاً عن استخدامه مع لقاح مرض التهاب الجراب الخمجي Infection Bursal Disease بجرعة 15 ملغ / كغ لمدة أربعة أيام ابتداءً من اليوم الأول من التلقيح (Rojs et al., 2000)

ويعطى الليفاميزول عبر الفم أو حقنا بجرعة(2–15) ملغ/كغ يومياً، ويستخدم لمعالجة الأمراض المعدية المزمنة، والأمراض السرطانية، ولقد وجدت له فائدة كبيرة في السيطرة على الأمراض المعدية الحادة، المترافقة مع تثبيط الجهاز المناعي.

وفي عام 1992 أُشير إلى أن الليفاميزول يزيد من استجابة مرضى بعض أنواع السرطان، كما أنه يعد ذا تأثير جيد ومفيد لأمراض المفاصل، حسب ما أدرجته الدراسة (Kimball et al., 1992).

ويستخدم الليفاميزول لعلاج أورام المستقيم والقولون في الإنسان، كعلاج مساعد مع 5– فلورويوراسيل Fluorouracil (Moertel et al., 1990; Mutch and Hutson, 1991) فضلاً عن تسريعه الشفاء من مرض السل في الإنسان، عند إعطائه كمساعد مع الصادات الحيوية Antibiotics (Reynolds, 1989)، وعلاج حالات البروسيلا في الإنسان (Yong and McMillan, 1987) وفي علاج بعض الأمراض ذاتية المناعة، مثل التهاب المفاصل الرثوي في الإنسان (Huskisson and Adam, 1980).

وقد أثبت أن استخدام الليفاميزول إلى جانب المعالجة بالصادات الحيوية الكلاسيكية، في حالات البروسيلا المزمنة، يؤدي إلى زيادة فعالية هذه الصادات بشكل كافٍ، وخاصة فيما يتعلق بالاستجابة السريرية والمخبرية، وذلك بالمقارنة مع إجراء المعالجة بالصادات الحيوية التقليدية لوحدها (Irmak et al. , 2003).

وقد تم التمكن من إثبات قدرة الليفاميزول على التحريض المناعي، وتحسين الاستجابة المناعية السريرية عند الإصابة بالالتهابات الرئوية، الناجمة عن مرض السل، وكان بالإمكان التكهن بالاستجابة لدى المرضى، الذين ليس لديهم ردود فعل للاختبارات الجلدية الخاصة بمرض السل، حيث حسّن استخدام الليفاميزول الاستجابة لهذه الاختبارات (GATNER, 1981).

وقد يحدث الليفاميزول عندما يعطى للإنسان بجرعات عالية أعراضاً سمية، تترافق مع تنبيه مفرط للفعل الكوليني، وهناك دلائل ضعيفة على التسمم الدموي الحاد التي تتضمن ابيضاض الدم وفرط الكريات المحببة، وربما يزيد خطورة بعض الأمراض نتيجة النشاط المفرط للخلايا الليمفاوية التائية T.

وبالنسبة للطيور فهي تتحمل جرعة مقدارها (2.75) غ / كغ كحد أعلى أما الحد الأدنى فهو (640) ملغ / كغ عند إعطائه عن طريق الفم (Giambrone and Klesius, 1985).

وأثبتت بعض الدراسات التي أجريت على الأبقار السليمة صحياً بعد المعالجة بالليفاميزول وخاصة فيما يتعلق بغدد الضرع زيادة في نسبة الخلايا اللمفاوية البائية B-Lymphocytes المتواجدة في الحليب، كما أدت إلى زيادة واضحة في الغلوبيولينات المناعية في الحليب (تحسين فعالية النظام المناعي الموضعي (المناعة الموضعية في غدة الضرع)، واقتُرح بأن الليفاميزول ذو أهمية كبيرة في التحكم بالتهابات الضرع عند الأبقار، طالما أنه عامل مهم في تحسين المناعة الموضعية لغدة الضرع، وبالتالي زيادة الحواجز الدفاعية للمسببات الجرثومية، التي قد تدخل قناة غدة الضرع (Ishikawa and Shimizu. 2004).

أثبت العديد من الباحثين، بأن الليفاميزول له تأثير على دفاعات العائل، من خلال نمذجة وتحريض الاستجابة المناعية الخلوية Sunshine et al,.1975. Lieberman,.1976. Thies et al,.1980.,Teller et al,. 1979.Eskola et al ,.1979.Cooperband et al,. 1976

بالإضافة إلى تأثيره على المناعة الخلطية , والاستجابة المناعية الخلطية (Pangirahy et al ,. 1979. REYERO et al,. 1979.,Viljanen et al ،,.1979.Maheswaran et al,. 1980)

وكذلك كمحسن للوظائف الخلوية للبلاعم والخلايا المتعددة الأنوية Nathanson et al,1978. Palmblad., and Engstedt. 1979. Schmidt , and) .Douglas. 1976)

وقد استطاع (Ishikawa et al ,. 1982) إثبات أن الليفاميزول ذو قيمة وفعالية هامة في معالجة التهابات الضرع تحت السريرية، مع وجود زيادة في قيم الغلوبيولينات المناعية في الأرباع السليمة في عينات الحليب المأخوذة من الأبقار المعالجة، كما سجل انخفاضاً في الخلايا اللمفاوية البائية B- Lymphocytes المنتجة خلال التهابات الضرع.

أما في مجال الدواجن فقد استخدم بجرعة (15) ملغ/كغ وزن حي، ولمدة أربعة أيام متواصلة، للسيطرة على حالات الجمبورو التي تم تشخيصها في اليوم الأول، فكانت له نتائج ممتازة في السيطرة على هذا المرض .ولقد نشرت العديد من الأبحاث العلمية حول هذا الموضوع نذكر منها:

دراسات (Pangirahy et al ,. 1979. Reyero et al,. 1979.,Viljanen et al 1979.Maheswaran et al,. 1980)،، حول تأثيره على المناعة الخلطية والمناعة الخلوية حيث وجد أن الليفاميزول بجرعة 0.25 ملغ/كغ لديه المقدرة على تحفيز كلاً من المناعة الخلطية والخلوية في الطيور الطبيعية. وقد يكون ذلك عائداً إلى تفعيل دور الخلايا التائية وكذلك دور الأجسام المضادة، وكذلك نشرت دراسات حول علاقة الليفاميزول مع مرض ماريك بجرعة 3 ملغ/كغ ،عندما تم تعريض الطيور لعدوى بفيروس ماريك ،ثم استخدم الليفاميزول بالجرعة المذكورة فوجد أن الطيور التي لم يقدم لها الليفاميزول كانت تموت بشكل أسرع من تلك التي قدم لها.

أما بخصوص النيوكاسل لاحظ النعيمي (1997) أن جرعة 10 ملغ/كغ من وزن الجسم تعد أكثر الجرع فعالية في التقوية المناعية لوزن الجسم، ووزن جراب فابيريشيس ومستوى البروتين الكلي بالدم المعطاة الى دجاج اللحم عن طريق الحقن العضلي.

وقد أجريت التجارب على طيور أمهات ليجهورن بعمر شهرين بجرعة 3 ملغ/كغ ،أعطيت الليفاميزول لمرة واحدة حقنا أو عن طريق ماء الشرب، قبل أو بعد استخدام لقاح اللاسوتا بـ 24 ساعة ،فوجد أن ذلك يطيل فترة الاستجابة المناعية بشكل أكبر مما لو أعطي اللقاح لوحده. كما أشار (Rahman, et al. 1989) حول تمنيع الكوكسيديا في الفروج حيث وجد أن الحماية عند التعرض لعدوى الكوكسيديا الأعورية، كانت أعلى عند استخدام الليفاميزول بجرعة 1.25 –5 ملغ/كغ عبر الفم لمرة واحدة يومياً، وعلى مدة ثلاث أيام متواصلة، حيث انعكس ذلك على وضع الطيور المناعي الأفضل.

وقد تم نشر أبحاث (Rahman, et al, 1989. Giambrone and Klesius, 1985) حول استجابة الدجاج للقاح الكوكسيديا، مع استخدام الليفاميزول بجرعة واحدة ،وذلك بعمر اسبوع وبعد المراقبة لمدة ثلاث أسابيع وجد أن وزن الطيور المعالجة بالليفاميزول بعد اللقاح أفضل من الطيور غير المعالجة به، كما وجد أن قدرة الطيور المعالجة بالليفاميزول أكبر في مجابهة تحدي الكوكسيديا الأعورية، حيث أن إعطاء الليفاميزول بجرعة 25 ملغ/كغ حقنا لمدة ثلاث أيام بعد لقاح الكوكسيديا يحسن الاستجابة المناعية بشكل كبير.

أما فيما يتعلق بدوره في الصيصان التي تعرضت لتثبيط مناعي بعد الإصابة بالجمبورو، فلقد استخدم بجرعة 15 ملغ/كغ فكان لها دور كبير في تحسين الوضع المناعي للطيور، كما أنه خفض مستوى التلف الحاصل في جراب فابريشيوس، وعمل على ترميم المتضرر منها ،كما رفع مستوى الأجسام المضادة التي تم قياسها باختبار الإليزا في الأسبوع الثاني والرابع. وفيما يلي بعضاً من المشاهدات الحقلية التي صادفها الباحثون أثناء الممارسات اليومية ،فعلى سبيل المثال نذكر أنه يمكن استخدام الليفاميزول أثناء معالجة أي نوع من الإصابات الجرثومية، التي تتعرض لها قطعان الدواجن، خاصة تلك المعندة منها، حيث وجد أنها تساهم في تسريع الشفاء، لاسيما أنه لا يوجد له أية تضادات دوائية ملحوظة، وهنا يمكن استخدام الجرعة بمعدل 20 غ/200 لتراً من ماء الشرب ولقد استخدم الليفاميزول بالجرعة المذكورة حقنا في قطيع أمهات، خلال فترة الرعاية لديوك كانت قد تعرضت لعدوى بفيروس النيوكاسل، وظهرت الأعراض العصبية على الديوك، وبعد استخدام الليفاميزول اختفت الأعراض، ويمكن على العموم استخدامه قبل وبعد اللقاحات، وذلك لرفع مقاومة الطيور، والوصول إلى أحسن النتائج المرجوة من عمليات التحصين المختلفة (Cho. & Musa,1989).

يُعدّ الليفاميزول من المحسنات المناعية، وقد أجريت العديد من الدراسات لمعرفة آلية تأثيره على المناعة، ويمكن ملاحظة ذلك في الحالات التي تعاني من نقص مناعي، كما في حالات الإصابات المزمنة والأورام السرطانية في الإنسان والحيوان (panigrphy et al., 1979) إذ إن العقار ينشط عمليات الجذب الكيمائي للخلايا وحيدة النواة Monocytes chemotaxis وهذه الخاصية تحرض على جذب الخلايا البلعمية إلى منطقة الورم أو منطقة الخمج الجرثومي ثم تنشيطها، وتبدأ بعد ذلك بالعمل وتحطيم الورم، فضلاً عن مساعدته على إنتاج الانترفيرون Interferon الذي يقلل من فعالية الفيروس مما دفع

إلى استعمال الليفاميزول في علاج المصابين بمتلازمة نقص المناعة المكتسبة (AIDS) (Bourinbair et al., 1994.Porchezhian and Punniamurthy ,2006).

يعمل الليفاميزول على زيادة فعالية الخلايا البائية (Clearance and Asa , 1991) بتحفيزها على إنتاج الإنترالوكين IL-1 والذي بدوره يحفز الخلايا اللمفية التائية المساعدة 2 Lymphocyte (T-Helper) (Th2) والتي بدورها تحفز تحرر مجموعة من الخلايا اللمفاوية Lymphokines والمتمثلة بـ /IL-6, IL-5, IL-4/ وهذه الأخيرة تحفز الخلايا البائية على إنتاج الأضداد المناعية (Davison et al., 1996).

كما يؤثر الليفاميزول على الخلايا اللمفية التائية، ويحفزها على التمايز والاستجابة للمستضدات وزيادة فعالية الخلايا اللمفية الجائلة، وإنتاج الإنترافيرون ولاسيما نوع غاما InterFeron-Gmma- Y (IFN-y) الذي يزيد من فعالية الخلايا البلعمية ويحفز الخلايا البائية على إنتاج الأضداد المناعية (Cho and Musa, 1984).

وقد أكد (Vyas et al 1987) في دراسته زيادة مستوى البروتين في دم الدجاج عند استخدام الليفاميزول، وبصورة أساسية لبروتين الغلوبيولين. وأشار (Coles, 1986) إلى أن التغيير في مستوى بروتين دم الدجاج يعود إلى زيادة الغلوبيولينات المناعية الناتجة عن التحفيز المناعي.

وقد توصل (Singla et al 2000) إلى أن إعطاء الليفاميزول يؤدي لزيادة تركيز البروتين الكلي، في مصل الدم مع زيادة معنوية في عيار الأضداد الناتجة عن التحفيز المناعي، وهذا ما أكدته دراسة أخرى (فرقان- صيار كاظم 2009) والتي بينت حدوث زيادة معنوية في تركيز البروتين الكلي لمصل الدم، في مجاميع الدجاج المعاملة بالليفاميزول لوحدة أو بفيتامين C لوحده، أو بالليفاميزول وفيتامين C معاً، وهي تتوافق مع الزيادة الحاصلة بمعيار الأضداد نتيجة التحفيز المناعي.

الحركية الدوائية : Pharmacokinetics

يمتص الليفاميزول بسرعة من القناة الهضمية، أو من موقع الحقن العضلي، أو الحقن تحت الجلد، أو عند استعماله بالتطبيق الخارجي على الجلد (Dorn and Federmann, 1976; Guerrero, 1980; Dalvi, 1990) ويرجع ذلك لذوبانه بصورة جيدة، وكذلك لعدم تأثره بالعوامل المختلفة أثناء مروره إلى الكرش Ruminal by pass (Aiello, 1998).

يصل الليفاميزول إلى أعلى مستوى له في بلازما الدم Maximum Plasma Concentration في الماشية خلال ساعة من حقنه تحت الجلد، وينخفض هذا التركيز بسرعة، ويطرح حوالي 90 % منه خلال 24 ساعة عن طريق الكلية (Aiello, 1998).

أما في الماعز فإن الحركية الدوائية لليفاميزول تختلف، إذ يصل إلى أعلى مستوى له في بلازما الدم، الذي يكون بحدود 0.7 مايكرو غرام / مل بعد 5 – 15 دقيقة من إعطائه بجرعة 7.1 ملغ / كغ عن طريق الفم، ثم ينخفض تركيزه بسرعة في البلازما إلى أقل من 0.2 مايكرو غرام/ مل بعد ساعتين من إعطائه للحيوان. إن سرعة زوال الليفاميزول من بلازما الدم في الماعز هي المسؤولة عن فشله في علاج الديدان الأسطوانية في هذا الحيوان (Gillham and Obendrof, 1985; Sahagun, 2001).

أما في الكلاب فيمتص الليفاميزول بسرعة من القناة الهضمية، ويصل إلى أعلى مستوى له في البلازما 15 مايكرومول / لتر بعد 1.8 ساعة من إعطائه بجرعة 10 ملغ / كغ عبر الفم ويقدر نصف العمر الحيوي t 1/2 (Half Life) له بحدود 1.3 – 1.8 ساعة اعتماداً على طريقة إعطائه، إذ يكون أقل في حالة إعطاء الليفاميزول عن طريق الفم، مقارنة بالحقن الوريدي، وكان التيسير الحيوي Bioavailability لليفاميزول في الكلاب المصومة Fasted بحدود 64% وانخفض عند إطعام الكلاب قبل إعطاء العلاج إلى 49 %. ويطرح الليفاميزول عند الكلاب بسرعة في البول بنسبة أكثر من 80 % من الجرعة المعطاة بشكلها الفعال، مما يدل على قلة استقلاب الليفاميزول في الكلاب (Watson et al., 1988).

أما في الجرذان فقد لوحظ أن الليفاميزول يمتص بسرعة من القناة الهضمية، وموقع الحقن ويصل أعلى تركيز له في الدم إلى 10 مايكروغرام / مل بعد 30 دقيقة من إعطائه بجرعة 8 ملغ / كغ بالحقن في العضل (Guerrero, 1980).

يطرح الليفاميزول بشكل رئيس عن طريق الكلية في الفئران، فحوالي 48 % منه يطرح عن طريق الكلية في حين يطرح 41 % منه عن طريق البراز، ويطرح كلياً خلال ثمانية أيام (Gatterdam et al., 1966; Boyd et al., 1973) وعند إعطاء الدواء للفئران في العضل بجرعة 7.5 ملغ / كغ فإن حوالي 68 – 78 % يطرح من خلال الكلية، في حين يطرح 17 – 23 % عن طريق البراز خلال 72 ساعة. إن طرح الدواء خلال القناة الصفراوية يكون بمعدل 26 % عند حقن الدواء بالعضل وبمعدل 13 % عند التجريع عبر الفم (Galtier et al., 1983) ووجدت كمية صغيرة تفرز خلال الغدد الدمعية والمخاط القصبي والحليب والبيض، خلال الساعة الأولى من إعطاء الليفاميزول (Dalvi, 1990).

ويستقلب الليفاميزول بشكل رئيس في الكبد، والكلية بعملية الأكسدة Oxidation (Gatterdam et al., 1966; Boyd et al., 1973; Engelmann and Rechardson, 1986; Larvijsen et al., 1993).

والطريقة الثانية لاستقلابه بعد عملية الأكسدة، هي عن طريق التحلل المائي لحلقة الثيازوليدينThiazolidine إلى الناتج الاستقلابي أوكسوميدازول Oxoimidazole، والطريقة الثالثة هي تكوين بيدروكسي تيتراميزول Phydroxy Tetramisole الذي يقترن مع حمض الغلورونيك Glucuronic acid ويطرح الناتج الاستقلابي في البول (koyama et al., 1983)، والطريقة الرابعة لاستقلابه هي التحلل المائي Hydrolysis لحلقة الثيازول Thiazole لإنتاج Mecaptoerthyl مركب وسطي الذي يعرف باسم (O.M.P.I) يعرف بالـ d,I 2 – oxo – 3 – 3 (2 –Mercaptoethyl)– 5 – phenyle Imidazoline – وبعدها يؤكسد إلى سلفوكسيد Sulphoxid Sulphone, (Gatterdam et al., 1966; Boyd et al., 1973).

وتقدر مدة سحب الدواء من جسم drawal with time من لحوم الحيوانات المخصصة للاستهلاك البشري بحدود سبعة أيام (Robenson, 1982)، ومن الحليب بعد يومين (Osterdahl et al., 1986) ومن البيض ولحوم الدواجن خلال ثلاثة أيام من إعطاء العلاج (Marriner and Armor, 1986).

يعطى الليفاميزول كعلاج عن طريق الفم /orally/ أو حقناً /parent rally/ وهو يمتص بسرعة عبر القناة المعدية المعوية، ويصل إلى قمة مستواه في البلاسما خلال /1-2/ ساعة ،وتقدر فترة نصف عمره في البلاسما /3-4/ ساعات في جسم الإنسان، ويكون طرحه عبر الكلى (70%) خلال ثلاثة أيام وأقل من (5%) منه غير متغير أما طرحه عبر الفضلات فيكون بنسبة(5%) وأقل من (2%) منه غير متغير يستقلب الليفاميزول في الكبد ،ويطرح الدواء المرافق له وناتج الاستقلاب عبر البولة ،ويعتبر الاطراح البولي لليفاميزول ذاته بطيئا ويتأثر بدرجة الـ /PH/ حيث أن درجات الـ /PH/ المنخفضة تنشط معدلات طرحه . (Adams.(1995); Brander et al.,(1991)).

آلية التسمم:

هناك نظريات كثيرة حول آلية التسمم الخاصة بالليفاميزول، فبعض الباحثين يرى أن التأثيرات السمية له ناتجة عن فعله المثبط لنشاط خميرة الكولين استراز، مما يؤدي إلى ظهور علامة التسمم المسكرينية والنيكوتينية للناقل العصبي الأستيل كولين Acetylcholine (Ach) المتمثلة بتقلص العضلات الملساء، وزيادة الإفرازات الغدية. (Sharma, 1970; Eyre, 1970,الدباغ, 1996)، في حين يؤكد باحثون آخرون أن علامات التسمم تظهر نتيجة لتحفيز المستقبلات الكولينية في العقد العصبية (اللاإرادية) الذاتية Autonomic ganglia في الجهاز العصبي المركزي ومناطق الارتباط العصبي – العضلي في العضلات الهيكلية (Hsu, 1980; Coppoc, 1996).

في حين عدّ الليفاميزول من المواد المشابهة للنيكوتين Nicotine استناداً إلى التشابه بين البناء الجزيئي وعلامات التسمم، ولذلك فإن الليفاميزول يعمل على تحفيز العقد العصبية مؤدياً إلى ظهور علامات نيكوتينية ومسكرينية (Braund, 2003)، ومن الأمور التي تدعم الفرضية الأخيرة هي أن استعمال مضاد التأثيرات المسكرينية المتخصصة Specific Abtimuscarinic Agents مثل كبريتات الأتروبين Atropine Sulfate كترياق Antidote في حالة التسمم بالليفاميزول، يوفر حماية جزئية فقط ضد التسمم بهذا العقار (Hsu, 1980, Aiello, 1998)، ويمكن كبح التأثيرات التنفسية والقلبية لليفاميزول جزئياً باستعمال العوامل الكابحة للعقد العصبية الذاتية Autonomic Ganglia مثل الميكامايلامين Mecamylamine والهكساميثونيوم Hexamethonium (Hsu, 1980; Dalvi, 1990).

أعراض التسمم بالليفاميزول:

تؤكد الدراسات أن علامات التسمم بالليفاميزول لا تظهر ما لم تتجاوز الجرعة المعطاة الجرعة العلاجية، لذا فإن سمية الليفاميزول في الإضافات قد تتجاوز فعاليته المضادة للديدان (Aiello, 1998)، عدا ذلك إن حقن الليفاميزول تحت الجلد، يؤدي إلى التهاب مؤقت في موضع الحقن Transient Inflammation (Dorn and Federmann, 1976; Aiello, 1998).

تبدو أعراض التسمم بالليفاميزول كولينية Cholinergic Signs وتشمل كل العلامات المسكرينية والنيكوتينية، وبالتالي فهي تشبه حالات التسمم بالمركبات الفسفورية العضوية والتسمم بالنيكوتين (Eyre, 1970; Hsu, 1980; Braund, 2003)، حيث تشمل علامات التسمم بالليفاميزول التقيؤ Vomiting وزيادة إفراز اللعاب Salivation والتبول Urination المتكرر والتغوط Defecation والمغص Colic ورجفة العضلات Muscle Tremor والترنح Ataxia والاختلاجات العصبية Convulsions والإعياء Fatigue ولا نظمية القلب Cardiac arrhythmia، وتسرع التنفس Tachypnia، وعسر التنفس Despnea، والموت بسبب قصور التنفس Apenia (Hsu, 1980; Jackson, 1976; Dalvi, 1990; Coppoc, 1996; Aiello, 1998; Aldabagh and Mohammad, 1999; Sahagun, 2000; Braund, 2003).

و قد أجريت أول دراسة على سمية الليفاميزول في الأغنام عام (1966) إذ تم تجريعها بهذا العقار، وظهرت عليها علامات التسمم بعد 5 –15 دقيقة من التجريع، وظهرت أشد علامات التسمم بعد 30 دقيقة ،و تمثلت بهز الرأس ولعق الشفاه وسيلان اللعاب وزيادة التعرق، وارتجاف العضلات والترنح وعدم الاستقرار والاختلاج العصبي والتغوط المستمر والإعياء مع تنفس سريع جداً ترافق بعسر التنفس والنفوق (Forsyth, 1968)، وقد لوحظت الأعراض ذاتها في حالة التسمم بالليفاميزول عند الأبقار والكلاب (Hsu, 1980; Robenson, 1982; Watson et al., 1988).

ويمتلك الليفاميزول هامشاً ضيقاً للأمان Narrow Spectrum of Safety مقارنة مع مضادات الديدان الأخرى مثل مركبات البنزيمدازول Albenzimidazoles (Rebenson, 1982; Aiello, 1998) ولوحظ أن هامش الأمان للتتراميزول يتراوح بين 2 – 6 أضعاف الجرعة العلاجية المحددة بـ 15 ملغ / كغ عن طريق الفم12.5 ملغ / كغ بالحقن تحت الجلد (Dalvi, 1990)، ونظراً لكون الفعل المضاد للديدان موجوداً في الأيسومير الأيسر (الليفاميزول) وأن الأيسومير الآخر الدكساميزول D-Isomer ساماً بالدرجة ذاتها ،لذا يكون عامل سلامة التتراميزول ضعف ما هو الليفاميزول (Forsyth, 1968; Hart et al., 1969; Roberson, 1982).

وقد تم تحديد الجرعة القاتلة للنصف L.D50 لليفاميزول في الحيوانات المختبرية وبطرائق الحقن المختلفة، فكانت تتراوح في الجرذان ما بين 205 – 285 ملغ / كغ عن طريق الفم و20 – 28 ملغ / كغ عن طريق الوريد و 102 – 121 ملغ / كغ بالحقن تحت الجلد، وفي الفئران تراوحت ما بين 458 – 1095 ملغ / كغ عن طريق الفم و 81 – 89 ملغ / كغ تحت الجلد و 17 – 28 ملغ / كغ حقناً بالوريد (Niemegeers, 1975)، أما في الأغنام فقد كانت الجرعة القاتلة لـ 50 % من الحيوانات 90 ملغ / كغ عن طريق الفم ،وظهرت علامات التسمم بالليفاميزول والموت بجرعة 30 – 50 ملغ / كغ، في حين كانت الأبقار أكثر مقاومة للتسمم بالتتراميزول والليفاميزول (Robenson, 1982).

وقياساً بالحيوانات المستأنسة فإن الدجاج أكثر الحيوانات مقاومة للتسمم بالتتراميزول والليفاميزول، إذ بلغت الجرعة القاتلة للنصف LD50 للتراميزول عن طريق الفم 2.75 غ / كغ من وزن الجسم (Robenson, 1982) وظهرت علامات التسمم عند مضاعفة الجرعة بمقدار 2 – 4 مرات من الجرعة العلاجية (Coppoc, 1996; Braund, 2003).

وإن طريقة الإعطاء الأكثر خطورة والتي تؤدي إلى ظهور علامات التسمم هي الحقن، وهي أكثر خطورة من التجريع عن طريق الفم (Hsu, 1980; Donald, 2001)،وقد لوحظ أن سمية الليفاميزول تزداد في حال وجود أذيات كلوية في حين تبقى السمية نفسها في حال وجود أذية كبدية (Abdelsalam and Ford, 1987) ويمكن أن تظهر العلامات السمية بعد جرعة 12 ملغ / كغ عن طريق الفم في الماشية (Braund, 2003).

وتشمل علامات التسمم بالليفاميزول الناجمة عن التعرض للجرعات العالية منه علامات مسكرينية Muscarinic signs، وعلامات نيكوتينية Nicotinic signs، والعلامات المرتبطة بالجهاز العصبي المركزي. وتشمل هذه العلامات زيادة إفراز اللعاب، ورجفان العضلات والترنح وتكرار التبول والتغوط والتقيؤ وتشقق الجلد وعسر التنفس ولانظمية القلب، واضطرابات في القناة المعدية المعوية وهز الرأس، وهذه العلامات مشابهة لحالات التسمم بالمركبات الفسفورية العضوية Organophosphorus compound والنيكوتين Nicotine (Hsu,1980; Dalvi,1990; Coppoc,1996; Aldabagh and Mohammad,1999; Rossoff, 2002)

أثبتت بعض الدراسات أن الليفاميزول يُحدث تسمماً في الحيوانات ،وذلك نظراً لأن هامش الأمان لهذا العقار ضيق ومحدود (Merck and CoInc, 1998). وأثبت الباحثون (Sahagun et al ,. 2000. Lea and Febiger,1994) أن آلية التسمم بهذا العقار يحتمل أن يعود للتأثير المشابه للمركبات الفوسفورية العضوية، إذ يؤدي لتثبيط نشاط خميرة الكولين استيراز، وتراكم الناقل العصبي كولين استيراز، وظهور علامات تسمم نيكوتينية وموسكرينية.

وأظهرت نتائج بعض الأبحاث أن التسمم بالليفاميزول يعود لكونه شارداً كولونياً ويعمل عمل الأستيل كولين (Martin et al ,.1997; Martin et al,.2005; Reinemeyer, and Courtney.2001)، بينما أشارت دراسات أخرى أن الليفاميزول يعمل

كالنيكوتين المحفز للعقد العصبية الذاتية، ومناطق الارتباط العصبي العضلي (النجار، 2005 ; Aiello SE,1998) وبيّنت الدراسة المسجلة من قبل (فارس، 1995) أن التأثيرات السمية لليفاميزول غير مرتبطة بتثبيط خميرة الكولين استيراز.

في حين أظهرت دراسة أخرى أن الليفاميزول لا يؤدي لانخفاض معنوي لهذه الخميرة في بلازما الدم وكريات الدم الحمراء في الخنازير (Hsu, 1980). وهناك آراء مشابهه في دراسات سجلت من قبل (النجار، 2005) أن الليفاميزول لا يؤدي لانخفاض معنوي في نشاط خميرة كولين إستيريز داخل الجسم الحي لفروخ الطيور أو الدجاج.

وأثبتت العديد من الدراسات (Katzung, 2006. Mohammad et al, 2002) (فارس، 1995 الشمري، 2008) أن الديفنهيدرامين (Diphenhydramine) يسبب تثبيط وقائي لنشاط خميرة الكولين استيراز، وبالتالي توفر حماية من التسمم بمركبات الليفاميزول و المركبات الفوسفورية العضوية إلا أن الجرعة العالية من الديفنهيدرامين (Diphenhydramine) وبمعدل (10 – 20) ملغ / كغ تحت الجلد أدت لظهور علامات تسمم مشابهه للعلامات المرافقة لحقن الجرعة السامة لليفاميزول.

وقد بيّنت بعض الدراسات أن هذه السمية تعود إلى أن الديفنهيدرامين (Diphenhydramine) بجرعاته العالية يعمل على إغلاق المستقبلات الموسكرينية نوع M2 المتموضعة في المشابك الدماغية ،مما يؤدي لزيادة تحرير الناقل العصبي الأستيل الكولين وزيادة حالة التسمم، وقد يؤدي الديفنهيدرامين بالجرعات العالية إلى تثبيط عكسي لخميرة الكولين استيراز، وبالتالي إحداث علامات التسمم المشابهه للمركبات الفوسفورية العضوية.(Gilman et al., 1990، فارس، 1995).

يستطيع الليفاميزول إعادة ترميم الوظيفة المناعية الطبيعية في الحيوانات بمشاركة الخلايا المناعية ،وعلى كل حال فإن تأثيره يكون هامشياً /Marginal/ في الحيوانات التي تكون دفاعاتها المناعية سليمة ((Adams.(1995); Brander et al.,(1991).

الفصل الثالث : مواد وطرائق العمل

Chapter III : Materials and Methods

3- مواد وطرائق البحث :

جمع العينات :

تم إجراء البحث على (110) طـائراً مـن طيـور دجـاج اللحـم بعمـر أسـبوعين مـن سـلالة (هابرد فليكس) خالية من الأمـراض إكلينيكيـاً، وذلـك ضـمن مزرعـة دجـاج تابعـة للقطـاع الخاص وتقع شمال منطقة سلمية، معدة لتربية دجاج اللحم.

تم عزل طيور التجربة في جـزء مـن الهنكـار، ووضـعت الطيـور بنسـبة 8-10 طيـور/ م^2 ضمن ظروف التربية النظامية، تركت الطيـور مـدة أسـبوعين للتـأقلم مـع ظـروف التربيـة، ولكشف أية حالات مرضية واتخاذ الإجراءات المناسبة.

قسمت طيور التجربة تبعاً لمراحل العمل إلى ثلاث مراحل :

- **المرحلة الأولى:** تحديـد الجرعـة القاتلـة للنصـف (L.D50) لليفـاميزول، مـن خـلال إجـراء التجربة على خمس مجموعات تضـم كـل مجموعـة (10) طيـور، حيـث وضـعت فـي نفـس ظروف التربية والتغذية والرعاية.

أعطيت المجموعـة الأولـى المـاء المقطـر بـدون إضـافة الليفـاميزول (مجموعـة الشـاهد). بينما أعطيت المجموعة الثانية الليفاميزول مـع المـاء بجرعـة (0.5) غ/كـغ. وقـدم المجموعـة الثالثة الليفاميزول بجرعـة (1) غ/كـغ. فـي حـين أعطيـت المجموعـة الرابعـة الليفـاميزول بجرعة (1.5) غ/كغ مع الماء. وقدم للمجموعـة الخامسـة الليفـاميزول بجرعـة (2) غ/كـغ مـع الماء. سجل عدد حالات النفوق الحاصلة في كل مجموعة بعـد مضـي 24 سـاعة علـى إعطـاء المجموعات المختبرة لمادة الليفاميزول، ثم بناء على تلـك البيانـات تـم حسـاب الجرعـة القاتلـة للنصف كما هو موضح بالجدول رقم (1). وفقاً لقانون ديغنز التالي:

الجرعـة القاتلـة للنصـف L.D50 = أعلـى جرعـة _ مجمـوع [الفرق بـين جرعـات مجمـوعتين متتـاليتين × متوسـط عـدد الحيوانـات النافقـة فـي كـل مجموعتين متتاليتين] / عدد الحيوانات في كل مجموعة

$$LD_{50} = DM - \sum (Z.D) / n$$

الجدول (1): البيانات المتعلقة بحساب الجرعة القاتلة للنصف حسب نتائج التجربة المنفذة

رقم المجموعة	الجرعة بالغرام/كغ وزن حي	عدد طيور المجموعة	عدد النفوق خلال 24 ساعة	الفرق بين جرعات مجموعتين متتاليتين (D)	متوسط النفوق لمجموعتين متتاليتين (Z)	Z.D
1	0	10	0	–	–	–
2	0.5	10	0	0.5	0	0
3	1	10	5	0.5	2.5	1.25
4	1.5	10	9	0.5	7	3.5
5	DM=2	10	10	0.5	9.5	4.75
						∑Z.D =9.5

- **المرحلة الثانية :** تمت دراسة التغيرات الحاصلة نتيجة التسمم الحاد بالليفاميزول، من خلال إجراء التجربة على (20) طائراً قسمت إلى مجموعتين إحداها مجموعة شاهدة قدم لها الماء المقطر فقط، والأخرى أعطيت الجرعة السامة الوسطية $L.D_{50}$ =1غ/كغ لليفاميزول التي تم حسابها في مرحلة العمل الأولى ، وبعدها سجلت الأعراض السريرية الملاحظة على الطيور، ثم جمعت الطيور النافقة خلال 24 ساعة من إعطاء الجرعة السامة الوسطية، وأجري عليها التشريح المرضي وسجلت التغيرات التشريحية المرضية العيانية الملاحظة على الأعضاء المختلفة للجسم. ثم أخذت عينات نسيجية مباشرة من الطيور النافقة خلال 24 ساعة وحفظت بالفورمالين من أجل تحضير المقاطع النسيجية للفحص المجهري.

- **المرحلة الثالثة :** تم في هذه المرحلة دراسة التغيرات الناتجة عن التسمم المزمن بالليفاميزول، حيث أجريت التجربة على (40) طائراً وضعت في نفس ظروف التربية وأعطيت مجاميع الطيور خمس الجرعة القاتلة للنصف ($L.D._{50}$) المحسوبة في مرحلة العمل الأولى (LD_{50} 1/5 / Kg = 200 مغ/كغ) مع مراعاة متوسط وزن الطيور عند إعطاء الجرعة، وذلك بهدف الحصول على عينات نسيجية من الطيور.

سجلت خلال هذه المرحلة الأعراض الملاحظة على الطيور طيلة فترة التجربة، ثم درست التغيرات المرضية العيانية بعد ذبح مجموعة من الطيور كل عشرة أيام بمعدل 10 طيور في كل مرة، وأخذت العينات النسيجية من كافة الطيور من الأعضاء المختلفة، وحفظت في الفورمالين لتحضير المقاطع النسيجية. وبذلك نكون قد قسمنا الطيور المدروسة إلى أربعة مجاميع يضم كل منها (10) طيور إحداها مجموعة شاهدة (ذبح منها 3 طيور في كل مرحلة بعد 10، 20، 30 يوم من إعطاء الليفاميزول للمجموعات الأخرى)، أما المجموعات المدروسة الأخرى المعطاة الليفاميزول فقد ذبحت على التوالي بعد (10) و(20) و(30) يوم من إعطاء المركب.

- **تحضير العينات:**

في نهاية كل من مرحلتي التجربة الثانية والثالثة (مرحلة التسمم الحاد والمزمن) أخذت عينات نسيجية من الأعضاء التالية:

1. الكبد.
2. الكلية.
3. الدماغ.
4. العضلات
5. الرئة
6. أمعاء

حفظت جميع العينات من الأعضاء المذكورة أعلاه على شكل خزعات نسيجة ،وحفظت في محلول الفورمالين المتعادل 10% للتثبيت إلى حين تحضير المقاطع النسيجية.

أدمجت الخزعات النسيجية المأخوذة من الأعضاء حسب الطريقة التقليدية للإدماج بالبارفين، وتم تحضير عدة مقاطع نسيجية بسماكة (5- 6) ميكرون من كل عينة.

وتمت صباغة المقاطع النسيجية بصبغة الهيماتوكسلين والأيوزين من أجل دراسة التغيرات التشريحية المرضية المجهرية، ومقارنتها مع عينات الشاهد.

وثم درست المقاطع النسيجية بعد صباغتها، وأخذت صور للتغيرات الهامة الملاحظة على المقاطع النسيجية باستخدام مجهر مزود بآلة تصوير من نوع (Nikon-D3000).

- **مواد العمل:**

استخدمت المواد التالية لإنجاز الجزء العملي من البحث :

- **الليفاميزول :** استخدم في هذا البحث ليفاميزول هولندي المنشأ استخدم على شكل ليفاميزول هيدروكلورايد (Levamisole HCL) وهو عبارة عن بلورات بيضاء تقع ضمن وسط حامضي (PH = 4) ويحتوي على عناصر معدنية ثقيلة أقل من 20 جزء بالمليون (< 20 ppm).
- **صبغة الهيماتوكسلين والأيوزين H&E :** وهي الصبغة شائعة الاستخدام في المخابر. صبغة الهيماتوكسلين لتلوين النوى باللون الأزرق، والأيوزين لتلوين باقي أجزاء الخلية باللون الوردي.
- **الفورمالين 10% :** استخدم لحفظ العينات النسيجية، بهدف تثبيتها والحفاظ على التغيرات الحاصلة في النسيج إن وجدت.
- **طيور دجاج لحم نوع هابرد فليكس** بعمر أسبوعين خالية سريرياً من الأمراض.
- **علف :** استخدم في مراحل التجربة علف محبب تبعاً لعمر التربية، علف مرحلة أولى نامي من عمر 15 يوم حتى عمر 28 يوم، وعلف مرحلة ثانية حتى عمر 36 يوم، وعلف مرحلة ثالثة حتى نهاية التجربة بعمر45 يوم.

استخدم لإتمام هذا العمل :

- جهاز إدماج العينات النسيجية كما هو موضح في الصورة رقم (2).

صورة (2) جهاز إدماج العينات النسيجية

- **جهاز المشراح Microtome :** جهاز تقطيع العينات النسيجية المدمجة بالبارافين. حيث يتم بواسطته الحصول على مقاطع نسيجية بسماكة تتراوح بين (4-5) ميكرون (صورة رقم 3).

- **المحم المائي :** درجة حرارة الماء فيه /45/ مْ بهدف إزالة التجعدات في المقاطع النسيجية نتيجة التقطيع الدقيق والسماكة البسيطة (صورة رقم 4).

- **محم جاف :** توضع الشرائح الزجاجية في المحم الجاف بعد وضع المقاطع النسيجية عليها بهدف تجفيف وثبيت المقاطع على الشرائح الزجاجية (صورة رقم 4).

- **جهاز إذابة البرافين** (صورة رقم 4).

صورة رقم (3) جهاز الميكروتوم Microtome

صورة رقم (4) محم جاف ومحم مائي وجهاز صهر البارافين

التحليل الإحصائي :

استخدم اختبار بيرسون مربع كاي Person's chi square لدراسة الفروقات في النسب المئوية للتغيرات التشريحية المرضية بين مجموعات التجربة والشاهد في كلا مرحلتي التسمم الحاد والمزمن، حيث يعد اختبار بيرسون مربع كاي Person's chi square من الاختبارات الإحصائية الخاصة لمقارنة النسب المئوية بين مجاميع الدراسة المختلفة وتقييم الفروقات المعنوية ضمن مستوى ألفا α أقل من 0.05 (P<0.05).

استخدم برنامج (Statestix , 2012) النسخة (20.00)، وهو نظم التحليل الإحصائية الأمريكية لتحديد الفروقات المعنوية بين مجاميع الدراسة واعتماداً على نظرية العدم _ نموذج الخطأ _ I _ النوع الأول.

ويوضح الجدول رقم (2) التوزيع التكراري المطلق والنسبي المئوي للأعضاء التي أخذت منها العينات النسيجية في مرحلتي التسمم الحاد والمزمن.

الجدول (2) : التوزيع التكراري المطلق والنسبي المئوي للأعضاء المتضررة

المرحلة	التكرار المطلق	التكرار المئوي %
التسمم الحاد	20	19.9
التسمم المزمن	50	36.6

الفصل الرابع : النتائج

Chapter IV : RESULTS

4- النتائج :

1- المرحلة الأولى : أظهرت نتائج هذه المرحلة الجرعة القاتلة للنصف ($L.D._{50}$) لليفاميزول وذلك لإجراء عمليتي التسمم الحاد والمزمن، حيث بلغت هذه الجرعة حوالي **(1 kg/g)** وفق ما يلي:

$$LD50 = DM - \sum(Z.D) / \mathbf{n}$$

$$\mathbf{L.D_{50} = 2 - (9.5/10) = 1.05\ g \approx 1g \setminus Kg}$$

2- المرحلة الثانية :

2- أ- حالة التسمم الحاد :

تم في هذه المرحلة تسجيل التغيرات المرضية التي ظهرت على طيور مجموعات التسمم الحاد بالليفاميزول عيانياً ومجهرياً، حسب ما هو مبين أدناه:

1- عيانياً : لوحظ على طيور مجموعة التجربة أثناء مراقبتها خلال 24 ساعة بعد إعطائها الجرعة القاتلة للنصف ($L.D._{50}$=1غ/كغ) علامات عصبية عضلية، ما بين اضطراب التناسق الحركي والترنح وعدم القدرة على الوقوف، ثم السقوط مع تشنجات واختلاجات في عضلات الساقين والجناحين؛ قبل نفوق الطيور (صورة رقم 5 و6).

صورة (5): علامات التشنج والتقلص العضلي على أحد طيور مجموعة التسمم الحاد بالليفاميزول

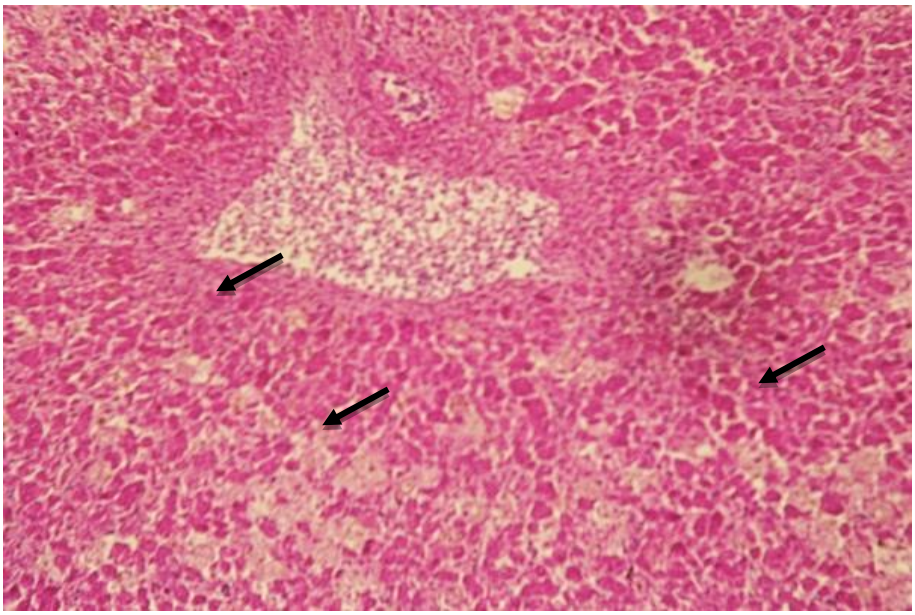
صورة (6): تبدو علامات التشنج والتقلص العضلي على أحد طيور مجموعة التسمم الحاد بالليفاميزول

2- التغيرات التشريحية المرضية المشاهدة مجهرياً في مجموعة طيور التسمم الحاد بالليفاميزول :

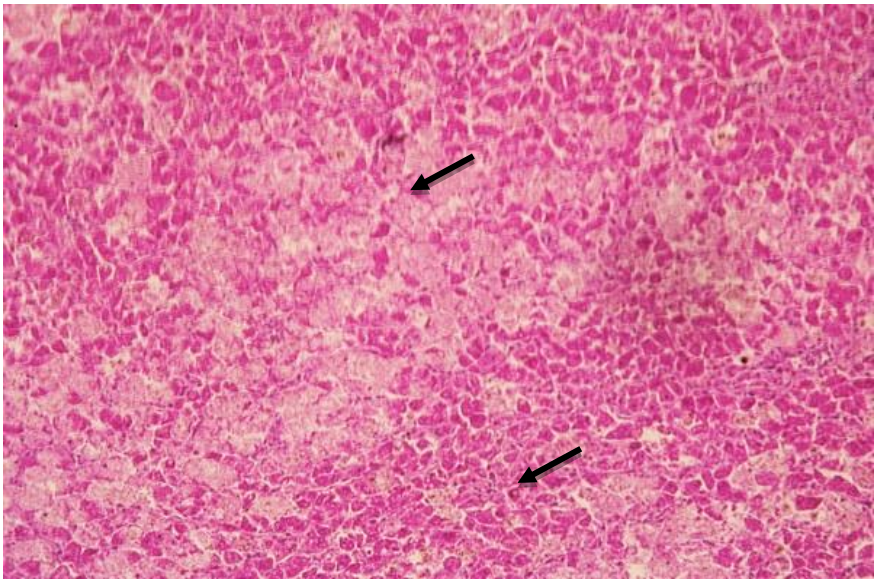
تبين بعد تشريح الطيور ودراسة التغيرات التشريحية المرضية العيانية والمجهرية للأعضاء المختلفة لمجموعة طيور، التسمم الحاد التي أعطيت الجرعة 1غ/كغ (**1=L.D.$_{50}$ kg/g**) ظهور تغيرات مرضية في نسيجي الكبد والكلية فقط، في حين لم يلاحظ أية تغيرات مرضية هامة على بقية أنسجة الأعضاء المختلفة الأخرى للطيور.

2- أ- التغيرات التشريحية المرضية في الكبد :

لوحظ عيانياً أثناء التشريح فقدان اللون الطبيعي في بعض مناطق الكبد، إذ بدت بلون باهت، أما **مجهرياً** فقد ظهرت في معظم المقاطع النسيجية لكبد الطيور النافقة تغيرات مختلفة (صورة 7) تراوحت ما بين تنكس فجوي (Vacuolar Degeneration) للخلايا الكبدية إلى مراحل نخر تخثري بؤري متعدد (Multi Focal Coagulation Necrosis) (صورة 8)، وكذلك لوحظ وجود رشح التهابي مع زيادة في عدد الخلايا اللمفاوية ضمن النسيج الكبدي.



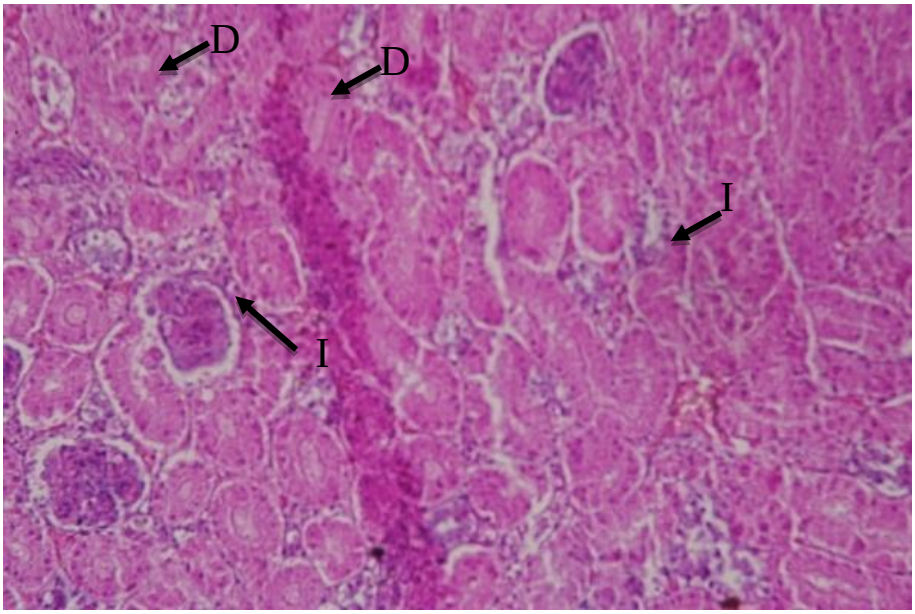
صورة (7): نسيج كبد دجاج لحم بعد التسمم الحاد بالليفاميزول تظهر عليه بؤر نخرية (المشار إليها بالسهم) مختلفة الأحجام (H&E X200)



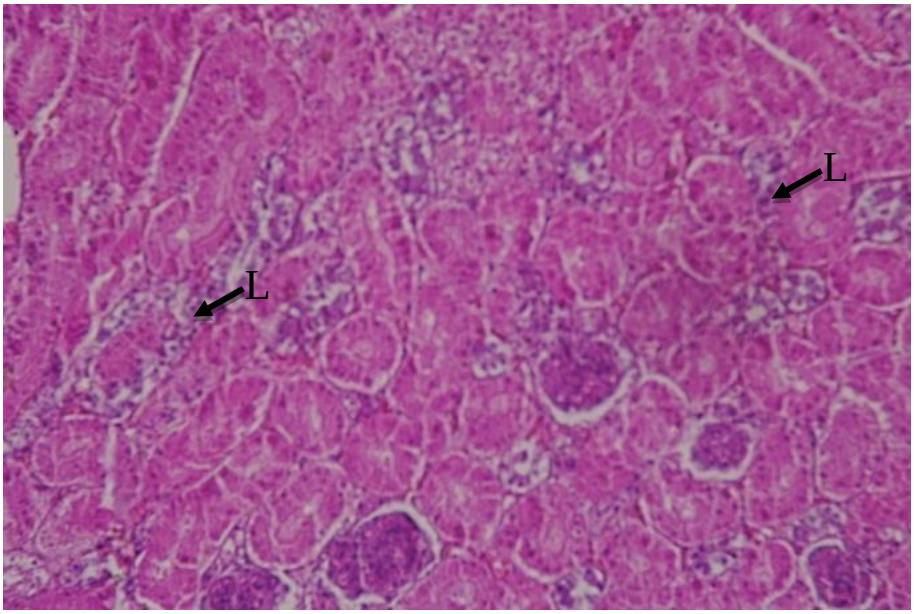
صورة (8): نسيج كبد دجاج لحم بعد التسمم الحاد بالليفاميزول تظهر بؤر نخرية (المشار إليها بالسهم) (H&E X200)

2- ب- التغيرات التشريحية المرضية في الكلى:

لوحظ **عيانياً** انتباج الكلى قليلاً مع شحوب لونها، أما **مجهرياً** فقد ظهرت بؤر تنكس فجوي شديدة منتشرة (Vacuolar Degeneration) ونخر في النبيبات الكلوية (صورة 9) في مناطق مختلفة، علاوةً على ذلك ارتشاح الخلايا اللمفاوية إلى النسيج الكلوي (صورة 10).



صورة (9): بؤر تنكس (D) ومناطق نخر مختلفة (I) في النبيبات الكلوية في مقطع كلية أحد الطيور بعد التسمم الحاد بالليفاميزول (H&E X200)



صورة (10):مقطع في نسيج كلية طائر دجاج لحم بعد التسمم الحاد بالليفاميزول تظهر عليه بؤر التنكس وارتشاح الخلايا اللمفاوية (L) (H&E X200)

2- ب - حالة التسمم المزمن:

تم في هذه المرحلة تسجيل التغيرات المرضية في أعضاء وأنسجة مجموعة طيور التسمم المزمن بالليفاميزول عيانياً ومجهرياً، وذلك بأعمار مختلفة بعد إعطاء الليفاميزول، بدءاً من عمر أسبوعين بجرعة تعادل (1/5) الجرعة القاتلة للنصف (LD_{50} 1/5 /لكل كغ) من متوسط وزن طيور التجربة حتى نهاية مرحلة التربية.

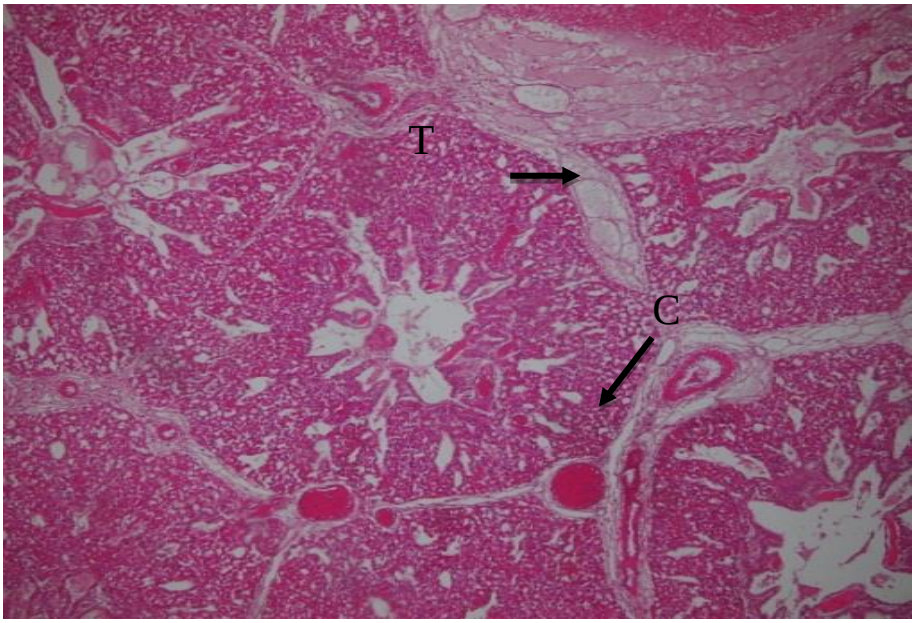
الأعراض المشاهدة في مجموعة طيور التسمم المزمن بالليفاميزول :

لوحظ على مجموعة طيور التسمم المزمن بالليفاميزول، أثناء مراقبتها أعراض مشابهة لتلك التي حصلت لدى الطيور التي تعرضت للتسمم الحاد بالليفاميزول؛ لكن بصورة أضعف، وذلك بدءاً من عمر30 يوم، وازدادت شدة الأعراض مع تقدم العمر وانتهت بشلل الطيور وعدم قدرتها على الوقوف، أو حتى الوصول إلى المعالف والمشارب الأمر الذي أدى إلى نفوقها.

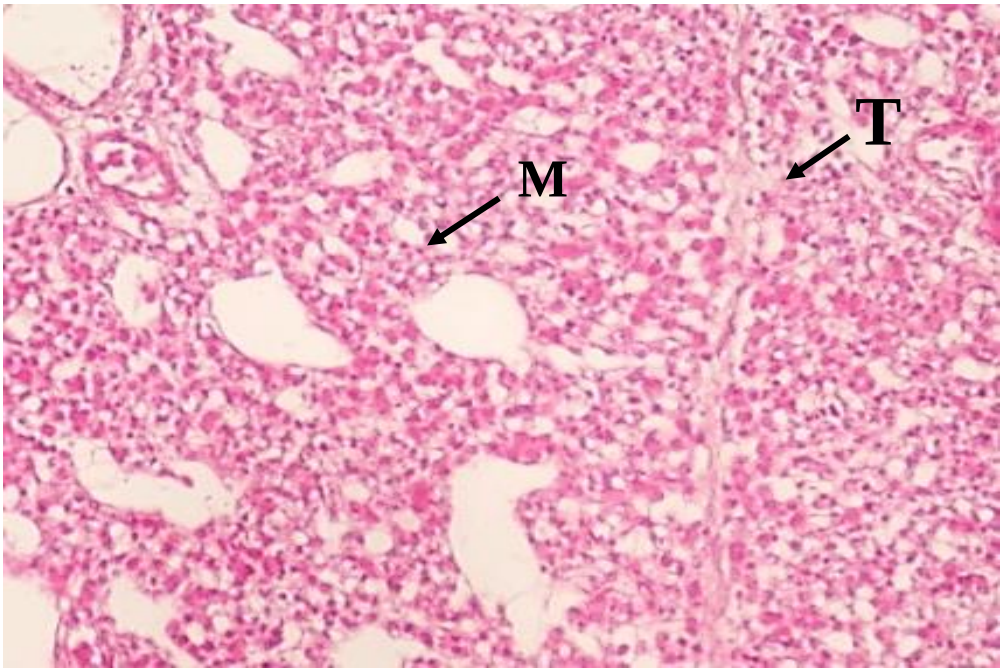
2-ب-1 التغيرات التشريحية المرضية في مجموعة طيور التسمم المزمن بعد 10 أيام من إعطاء الليفاميزول :

- **التغيرات التشريحية المرضية في الرئة بعد 10 أيام من إعطاء الليفاميزول :**

لم يلاحظ عيانياً أية تغيرات مرضية هامة، أما مجهرياً فقد بيّنت دراسة المقاطع النسيجية وجود سماكة في النسيج الخلالي الرئوي نتيجة ارتشاح الخلايا الالتهابية البلعمية واحتقان الشعيرات الدموية في جدر الأسناخ الرئوية (صورة 12،11)، والتي لم تلاحظ في نسيج الرئة عند مجموعة الشاهد.



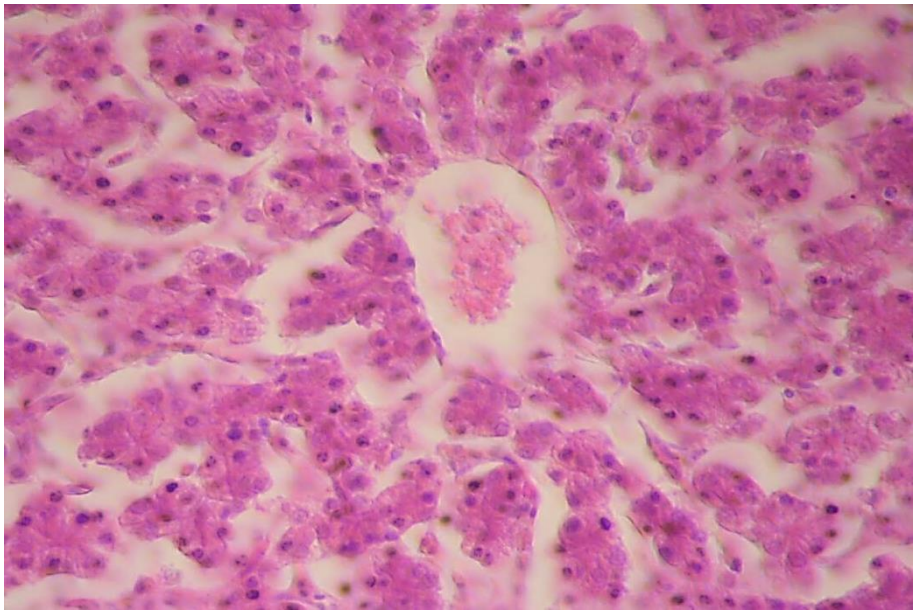
صورة (11): احتقان الشعيرات الدموية في جدر الأسناخ الرئوية (C) وسماكة النسيج الخلالي الرئوي (T) عند طائر دجاج لحم بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 10 أيام (H&E X100)



صورة (12): سماكة النسيج الخلالي الرئوي (T) مع ارتشاح خلايا التهابية من نوع البلاعم (M) بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 10 أيام (H&E X1000)

- **التغيرات التشريحية المرضية في النسيج الكبدي بعد 10 أيام من إعطاء الليفاميزول :**

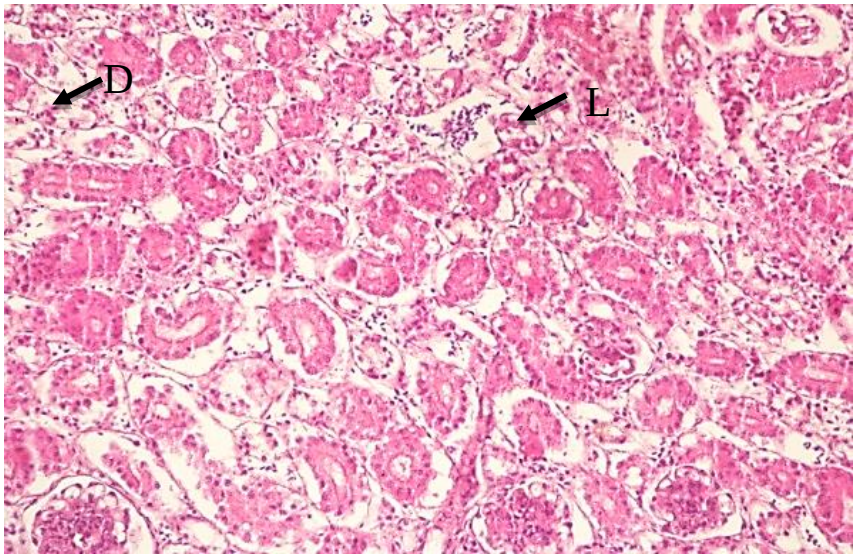
لم تسجل الدراسة أية تغيرات مرضية نسيجية كبدية حيث بدا النسيج الكبدي مؤلفاً من فصيصات كبدية، مكونة من حبال من الخلايا الكبدية المصطفة بشكل طبيعي حول الأوردة المركزية (صورة 13).



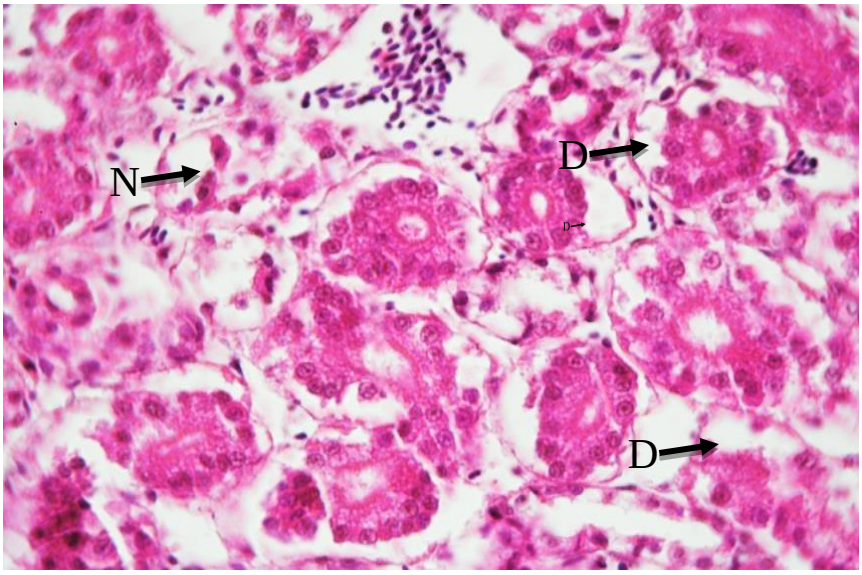
صورة (13): تبدو الخلايا الكبدية بشكلها الطبيعي متوضعة حول الوريد المركزي عند طائر دجاج لحم بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 10 أيام (H&E X400)

- **التغيرات التشريحية المرضية في الكلى بعد 10 أيام من إعطاء الليفاميزول:**

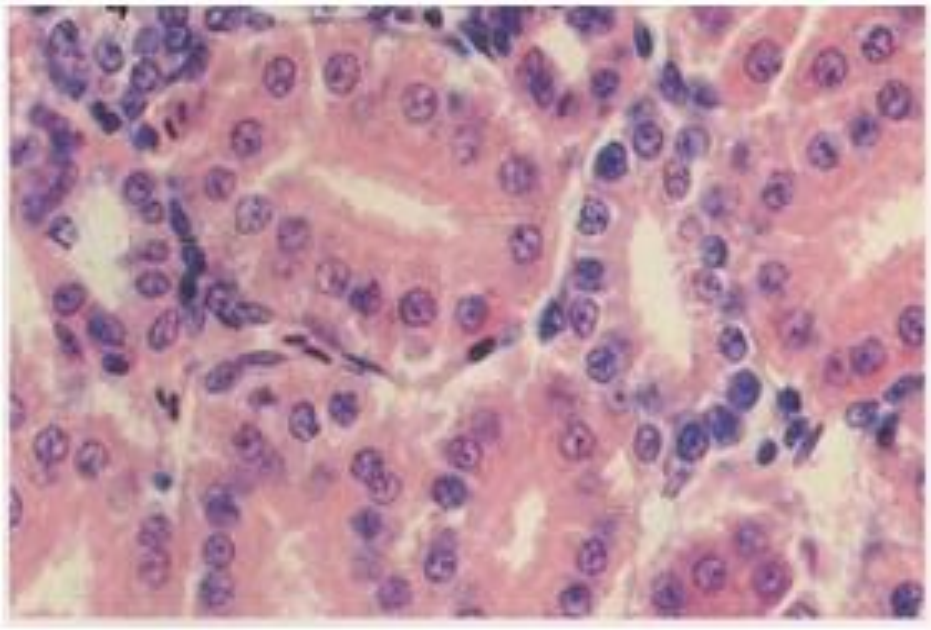
عيانياً : بدت الكلى متضخمة باهتة اللون، أما **مجهرياً** فظهر نخر بؤري في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية في بعض المناطق، بالإضافة إلى وجود مناطق تنكس فجوي (صورة 14) وارتشاح للخلايا الالتهابية اللمفاوية في مناطق نخر النبيبات (صورة 15) بالمقارنة مع الشاهد (صورة 16).



صورة (14): نخر (D) في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية، وارتشاح لمفاوي (L) في مناطق نخر تلك النبيبات بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 10 أيام (H&E X400)



صورة(15): تنكس ونخر (D) في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية، ومناطق نخر تلك النبيبات (N) في طائر دجاج لحم بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 10 أيام (H&E X1000)



صورة (16): صورة لنسيج كلية(سليم) من مجموعة الشاهد لم تلاحظ عليه أية تغيرات مرضية (H&E X1000)

- **التغيرات التشريحية المرضية في نسيج الدماغ بعد 10 أيام من إعطاء الليفاميزول:**

لم تسجل الدراسة أية تغيرات هامة في النسيج الدماغي لطيور دجاج اللحم بعد 10 أيام من إعطائها الليفاميزول، حيث بدت المادتين الرمادية والبيضاء بشكلهما الطبيعي.

- **التغيرات التشريحية المرضية في النسيج العضلي بعد 10 أيام من إعطاء الليفاميزول:**

لم تسجل في الدراسة أية تغيرات هامة في نسيج عضلات الصدر من الناحيتين العيانية والمجهرية بعد 10 أيام من إعطاء الليفاميزول ، حيث لوحظ النسيج العضلي بشكل طبيعي مؤلف من حزم من الألياف العضلية الطولية والعرضية المتشعبة ذات نوى متطاولة محيطية.

- **التغيرات التشريحية المرضية في الأمعاء بعد 10 أيام من إعطاء الليفاميزول:**

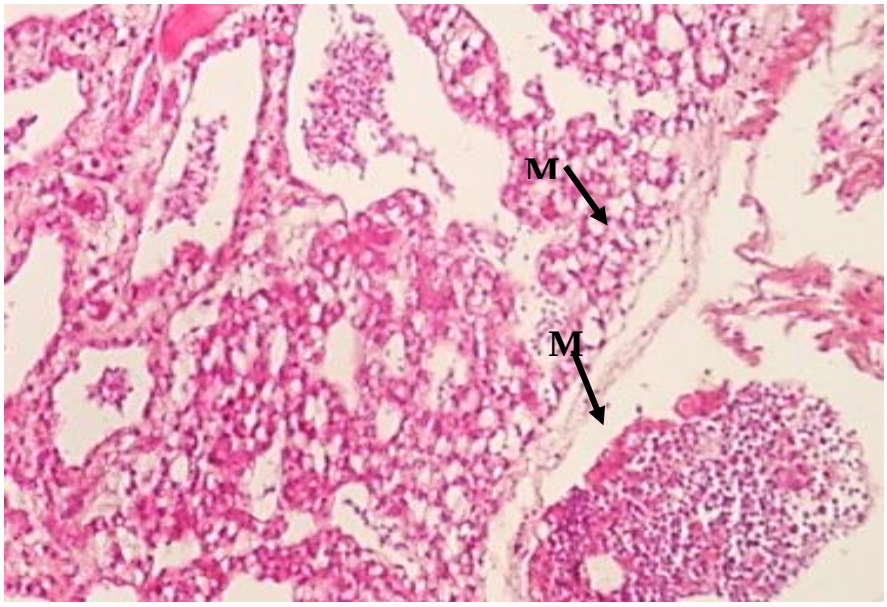
من خلال فحص الأمعاء عيانياً ومجهرياً، لم تظهر أية تغيرات تسترعي الانتباه عند الطيور التي أعطيت الليفاميزول لمدة 10 أيام، حيث بدت مجهرياً كل من غدد ليبركون والزغابات المعوية طبيعية تماماً.

2-ب-2- التغيرات التشريحية المرضية في مجموعة طيور التسمم المزمن بعد (20) يوم من إعطاء الليفاميزول :

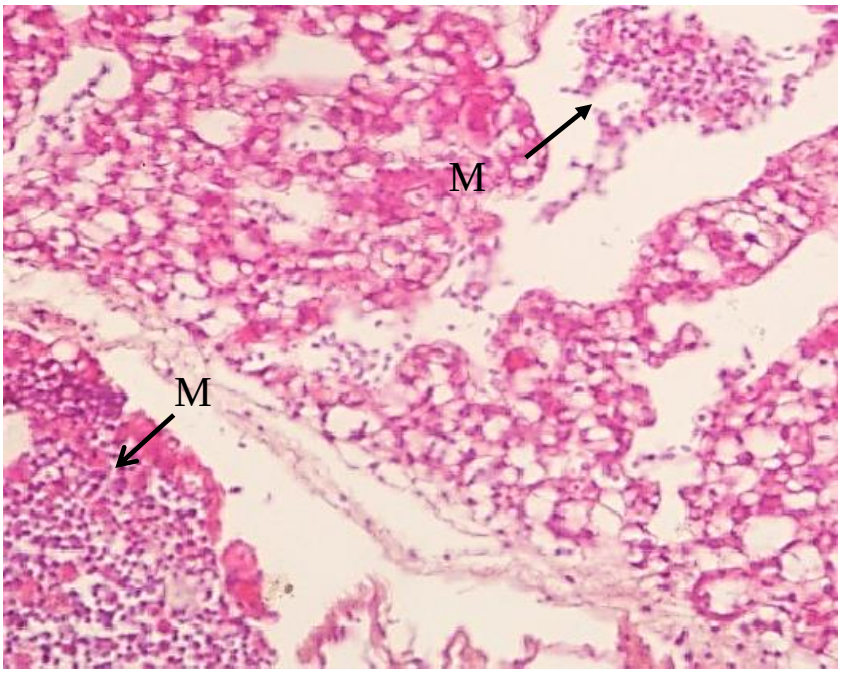
بدت التغيرات المرضية في أعضاء مجموعة هذه طيور أشد وضوحاً مقارنة مع التغيرات الحاصلة في مجموعة طيور التجربة بعد 10 أيام من إعطاء الليفاميزول:

- **التغيرات التشريحية المرضية في الرئتين بعد إعطاء الليفاميزول لمدة (20) يوماً:**

لم تلاحظ أية تغيرات عيانية، وسُجل مجهرياً وجود رشح التهابي فقط في النسيج الخلالي الرئوي (صورة 17)، و حيث ارتشحت أعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية كالبلاعم إلى القصبات الهوائية، بالإضافة إلى تواجد كريات دم حمراء (صورة 18) بالمقارنة مع الشاهد.



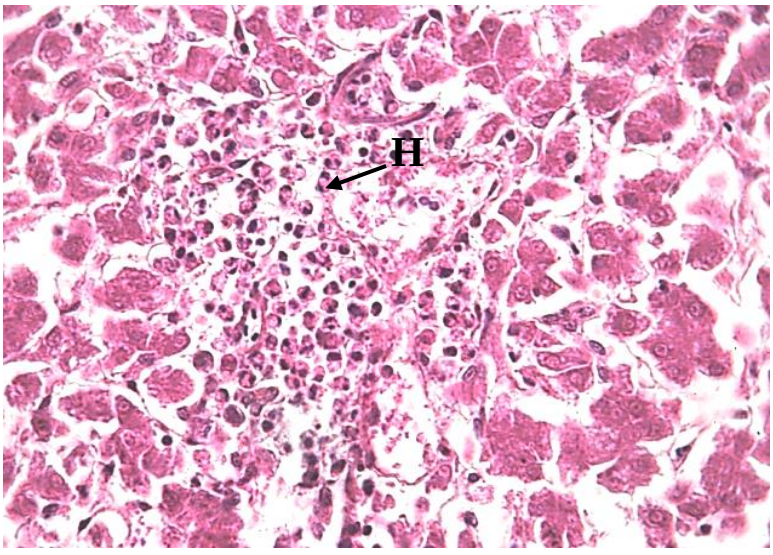
صورة (17): ارتشاح النسيج الخلالي الرئوي بأعداد معتدلة من الخلايا الالتهابية من نوع البلاعم (M) عند طائر دجاج لحم بعد 20 يوم من التسمم المزمن بالليفاميزول (H&E X400)



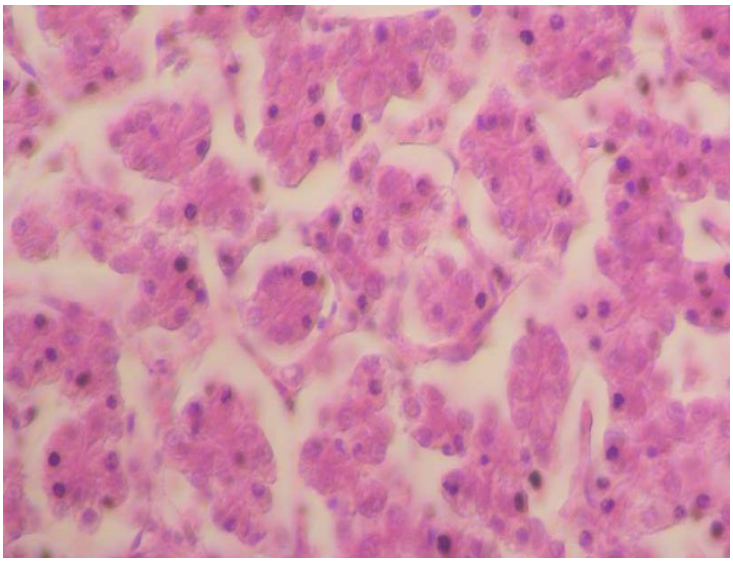
صورة (18): ارتشاح القصبات الهوائية بأعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية من نوع البلاعم (M) عند طائر دجاج لحم بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 20 يوم (H&E X1000)

- **التغيرات التشريحية المرضية في الكبد بعد 20 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

عيانياً بدت الأكباد بلون باهت ولوحظ مجهرياً وجود تجمع كبير للخلايا الالتهابية اللمفاوية، ضمن المسافات البابية، إلى جانب أعداد قليلة من المستغيرات (صورة 19)، بالإضافة إلى احتقان في أشباه الجيوب الكبدية، والتي لا تلاحظ في النسيج السليم (صورة 20).



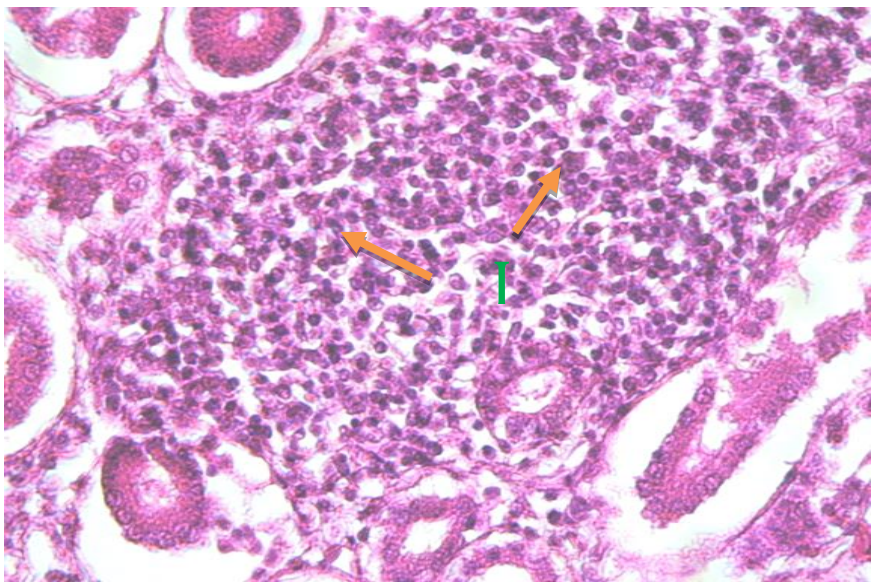
صورة (19): ارتشاح منطقة المسافة البابية بأعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية كاللمفاويات والبلاعم والمستغيرات (H) عند طائر دجاج لحم بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 20 يوم (H&E X1000)



صورة (20): صورة لنسيج كبد(سليم) من مجموعة الشاهد لم تلاحظ عليه أية تغيرات مرضية (H&E X1000)

- **التغيرات التشريحية المرضية في الكلى بعد 20 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

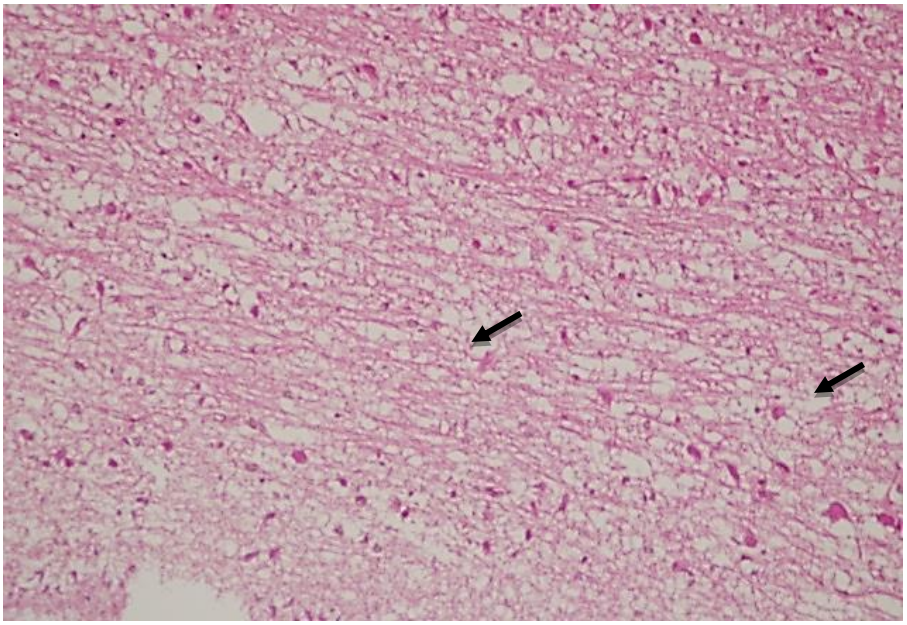
بدت الكلى متضخمة قليلاً، ولوحظ بالدراسة المجهرية تغيرات عديدة في النسيج الكلوي ،إذ شوهد وجود مناطق تنكس ونخر في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات والكبب الكلوية، بالإضافة إلى ارتشاح مناطق النخر بأعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية كاللمفاويات والبلاعم والمستغيرات (صورة 21).



صورة (21): وارتشاح مناطق النخر بالخلايا الالتهابية (I) كالبلاعم واللمفاويات والمستغيرات عند طائر دجاج لحم بعد 20 يوم من التسمم المزمن بالليفاميزول (H&E X1000)

- **التغيرات التشريحية المرضية في الدماغ بعد 20 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

أظهرت الدراسة وجود مناطق من النخر والتخرب في قشرة الدماغ (صورة 22) مع ازدياد خلايا الدبق العصبي الصغيرة في أماكن الأذية بالمقارنة مع النسيج السليم.



صورة (22): مناطق نخر(سهم) قشرة الدماغ طائر دجاج لحم بعد 20 يوم من التسمم المزمن بالليفاميزول (H&E X400)

- **التغيرات التشريحية المرضية في العضلات بعد 20 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

لم تلاحظ في العضلات أية تغيرات هامة، حيث لم تتأثر حزم الألياف العضلية الطولية والعرضية وحافظت على شكلها الطبيعي دون أي تغيير.

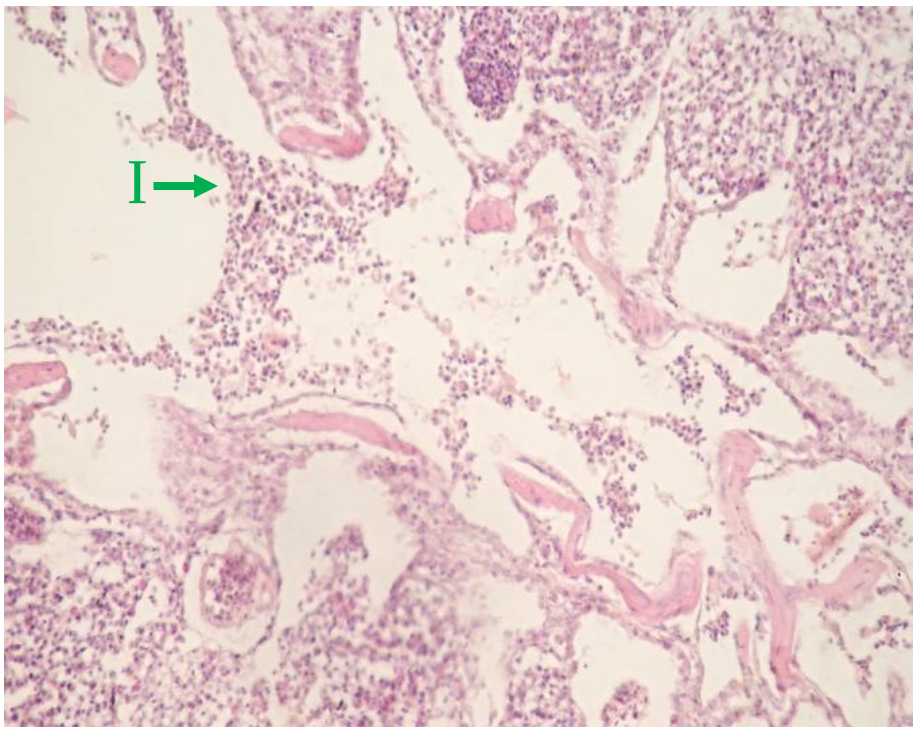
- **التغيرات التشريحية المرضية في الأمعاء بعد 20 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

لم تظهر على الأمعاء أية تغيرات هامة من الناحيتين العيانية والمجهرية.

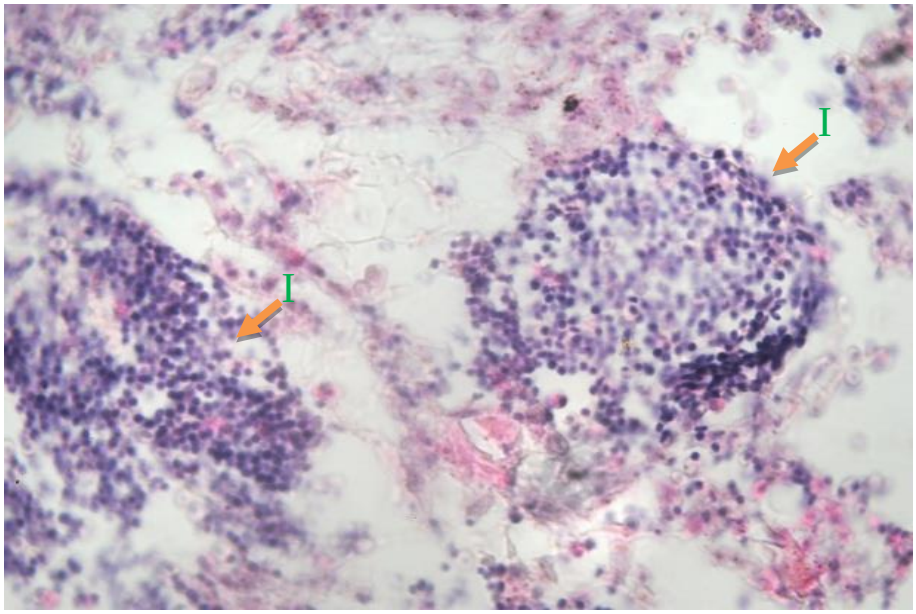
2-ب-3- التغيرات التشريحية المرضية في مجموعة طيور التسمم المزمن بعد (30) يوم من إعطاء الليفاميزول:

- **التغيرات التشريحية المرضية في نسيج الرئة بعد 30 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

لوحظ ارتشاح واضح للخلايا الالتهابية كالخلايا اللمفاوية والبلاعم إلى لمعة القصيبات التنفسية (صورة 23)، بالإضافة إلى وجود مناطق نخر في النسيج الرئوي مع تجمعات لأعداد كبيرة من الخلايا اللمفاوية في مناطق النخر، وظهر في بعض مناطق النسيج الخلالي الرئوي ارتشاح للخلايا اللمفاوية والبلاعم السنخية على حساب لمعة الأسناخ الرئوي (صورة 24) وهذا لم يلاحظ في الشاهد.



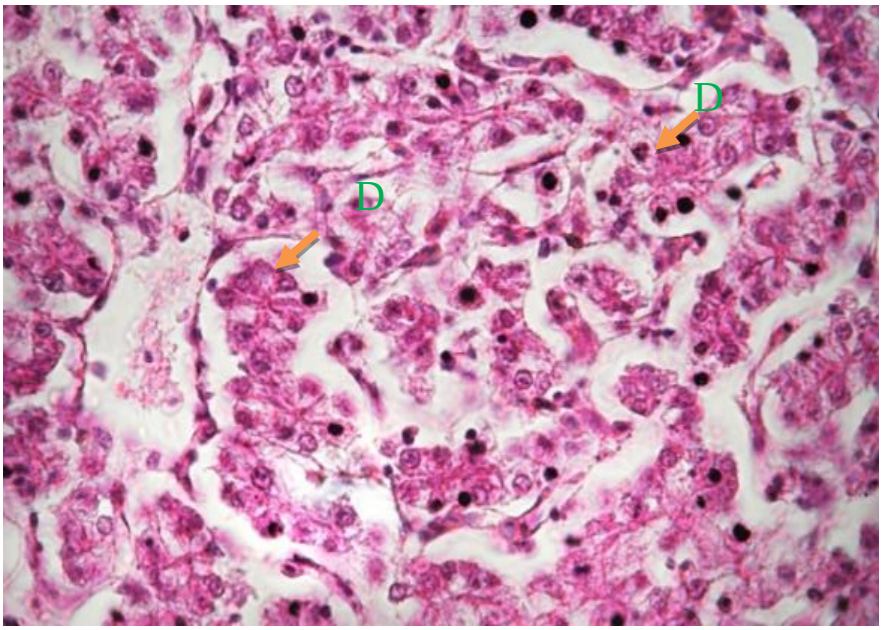
صورة (23): ارتشاح القصبات الهوائية (I) بأعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية من نوع البلاعم واللمفاويات عند طائر1 دجاج لحم بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 30 يوم (H&E X400)



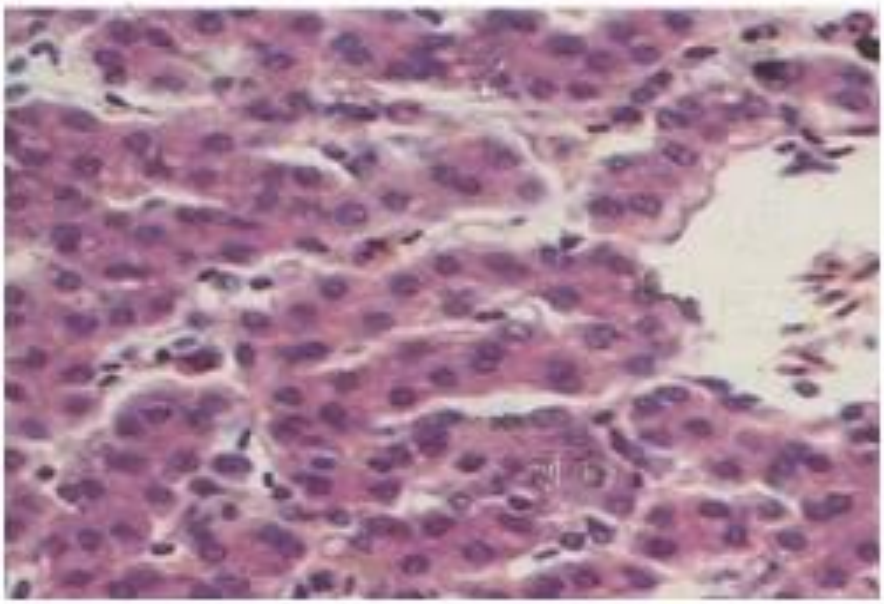
صورة (24): ارتشاح الأسناخ والنسيج الخلالي الرئوي (I) بأعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية كالبلاعم واللمفاويات عند طائر دجاج لحم بعد 30 يوم من التسمم المزمن بالليفاميزول (H&E X1000)

- **التغيرات التشريحية المرضية في النسيج الكبدي بعد 30 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

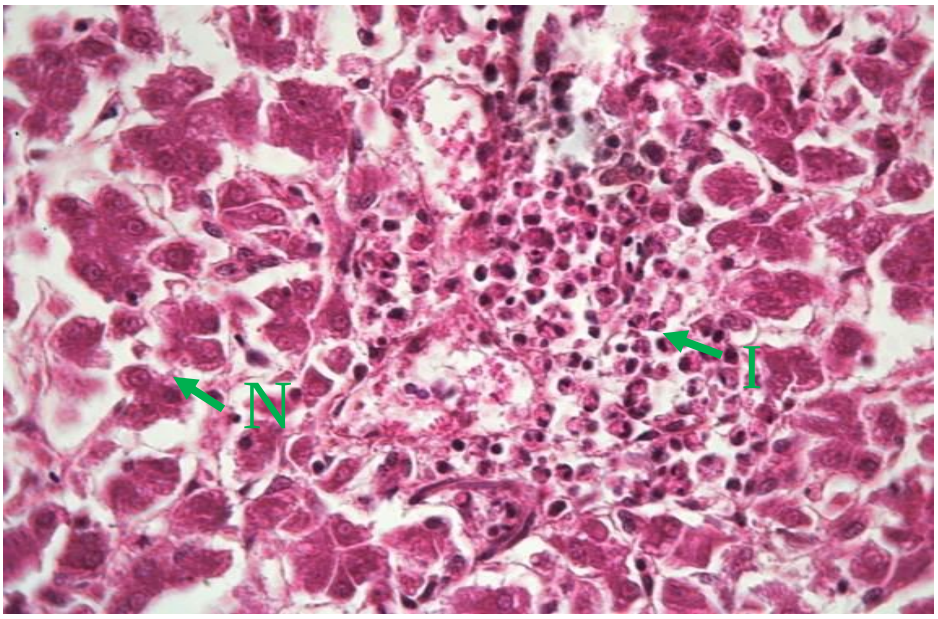
أظهرت النتائج أن التغيرات في هذه المرحلة كانت أكثر وضوحاً، حيث لوحظ نخر شديد في الخلايا الكبدية، وغياب معالم الفصيصات الكبدية في بعض المناطق، وتنكس خلوي بروتيني وتنكس فجوي في الخلايا الكبدية (صورة 25)، وارتشاح الخلايا الالتهابية إلى مناطق التخرب النسيجي (صورة 27)، وانحلال لبعض الأنوية بشكل جزئي وبعضها بشكل كامل مقارنةً بالشاهد (صورة 26).



صورة (25): يبدو تنكس الخلايا الكبدية (D) في مقطع نسيجي لكبد طائر بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 30 يوم (H&E X1000)



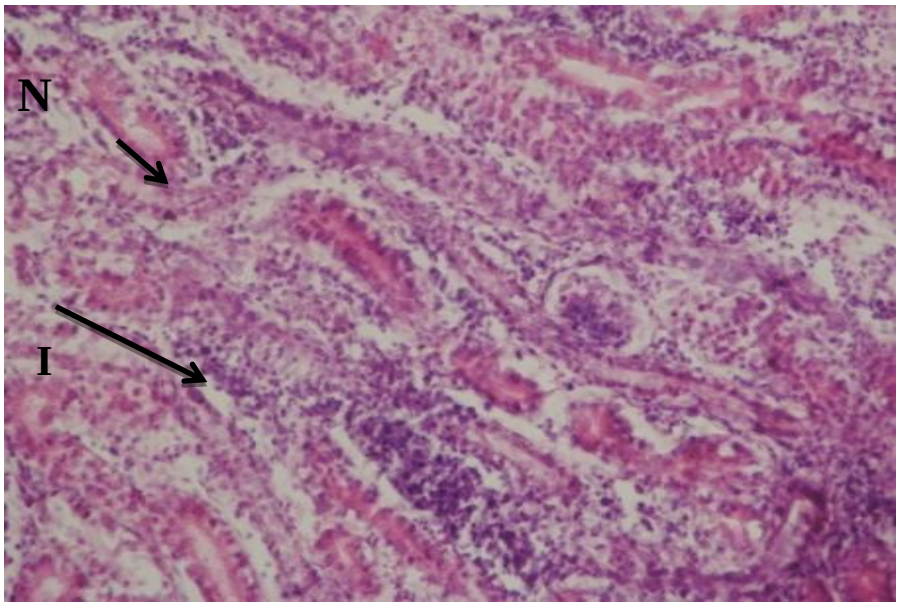
صورة (26): سيج كبد (سليم) من مجموعة الشاهد لم تلاحظ عليه أية تغيرات مرضية (H&E X1000)



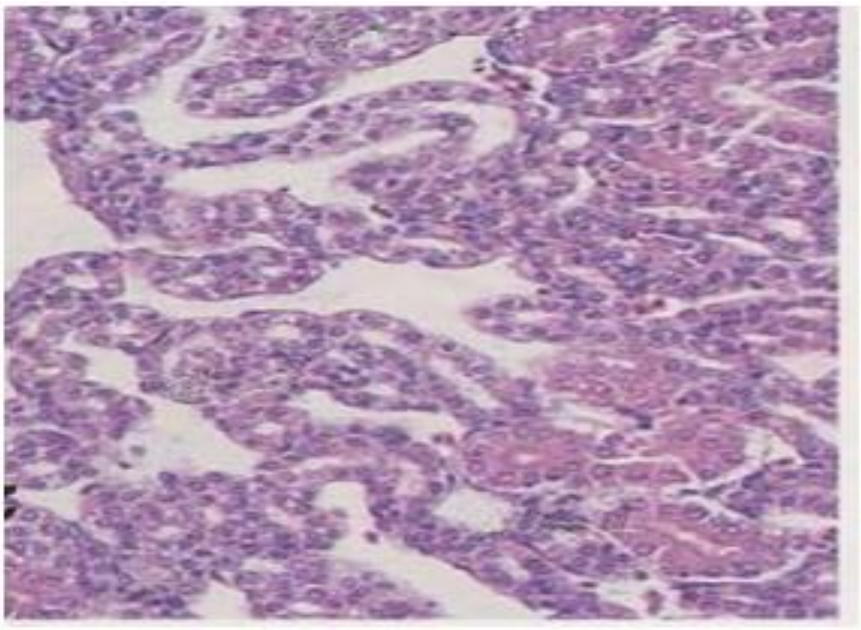
صورة (27): بؤر نخرية متعددة في الخلايا الكبدية (N) وارتشاح مناطق النخر بالخلايا الالتهابية (I) عند طائر دجاج لحم بعد 30 يوم من التسمم المزمن بالليفاميزول (H&E X1000)

- **التغيرات التشريحية المرضية في النسيج كلوي بعد 30 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

كانت التغيرات أشد في هذه المرحلة وبشكل مشابه للنسيج الكبدي، حيث لوحظ تخرب شديد في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية وغياب معالم النسيج الكلوي في بعض المناطق مع ارتشاحها بالخلايا الالتهابية كاللمفاويات والبلاعم (صورة 28) ولم يلاحظ هذا في الشاهد (صورة 29).



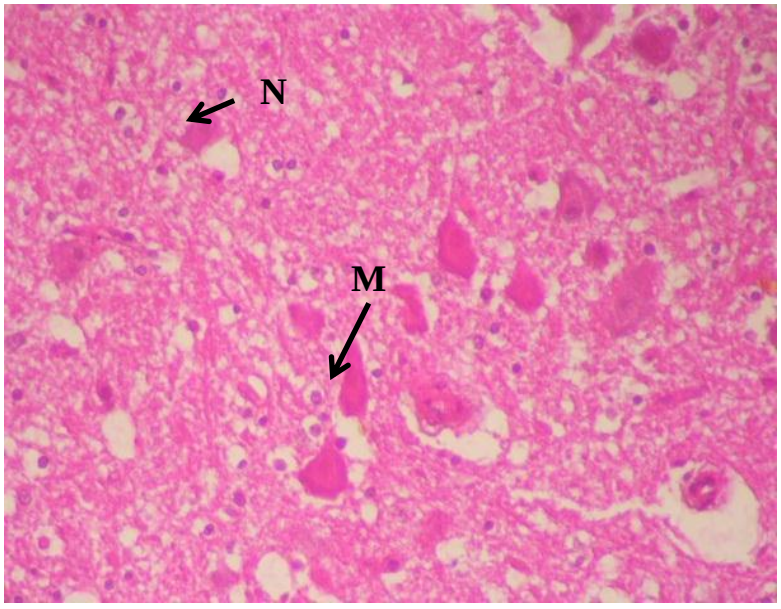
صورة (28): مناطق نخر متعددة في النبيبات الكلوية (N) وارتشاح مناطق النخر بالخلايا الالتهابية (I) عند طائر دجاج لحم بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 30 يوم(H&E X400)



صورة (29): نسيج كلية (سليم) من مجموعة الشاهد لم تلاحظ عليه أية تغيرات مرضية (H&E X400)

- **التغيرات التشريحية المرضية في النسيج الدماغي بعد 30 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

لوحظ بالفحص المجهري وجود بعض مناطق النخر والتخرب في قشرة الدماغ (صورة 30).



صورة (30): مقطع نسيجي في الدماغ تبدو فيه مناطق نخر متعددة (N)، وخلايا الدبق العصبي الصغيرة (M) في تلك المناطق عند طائر دجاج لحم بعد التسمم المزمن بالليفاميزول لمدة 30 يوم (H&E X1000)

- **التغيرات التشريحية المرضية في العضلات بعد 30 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

لم يلاحظ أية تغيرات في النسيج العضلي عند الطيور التي أعطيت الليفاميزول لمدة 30 يوم، حيث بدت حزم الألياف العضلية الطولية والعرضية بشكلها الطبيعي.

- **التغيرات التشريحية المرضية في الأمعاء بعد 30 يوم من إعطاء الليفاميزول:**

لم يُظهر الفحص العياني والمجهري وجود تغيرات مرضية في الأمعاء، عند إعطاء الليفاميزول فترة 30 يوماً كما هو الحال عند إعطاء الليفاميزول لمدة 10 و20.

الفصل الخامس : المناقشة

Chapter V : Discussion

5- المناقشة Discussion :

تعد هذه الدراسة الأولى من نوعها في الجمهورية العربية السورية، والتي تهتم بدراسة التغيرات التشريحية المرضية المرافقة لإعطاء مركب الليفاميزول (المعروف علمياً بتأثيره على المناعة) خلال فترات زمنية محددة، بعد تحديد الجرعة القاتلة للنصف.

يعتبر الليفاميزول من المركبات التي تلعب دوراً هاماً في رفع مقاومة العائل عموماً للعديد من الأخماج الجرثومية، حسب دراسات علمية متعددة (Irmak, et al., 2003).

و يعد مركب الليفاميزول من مضادات الطفيليات ذات التأثير على الديدان المعدية والمعوية والتنفسية ، ويتصف أيضا" بقدرته المميزة على رفع المناعة (Gatner,1981). وبالمقارنة مع العديد من المحسنات المناعية الطبيعية للجهاز المناعي، كخمائر السيكرومايزين أو مركبات البروبيوتيك، التي تحتوي على جراثيم لبنية استخدمت سابقا" في تحسين الجهاز المناعي. وأيضاً مقارنةً بالصادات الحيوية التي استخدمت لنفس الغرض سابقا" وتم اكتشاف مساوئها المتعددة.

إلا أن تأثيرات الليفاميزول السمية، التي قد تحدث بشكل حاد أو مزمن، لم تدرس بشكل كافٍ من خلال الدراسة المرجعية والأبحاث والدراسات المنشورة، وهذا ما دفعنا للاهتمام وأن نكون سباقين في تحديد الجرعة القاتلة للنصف، والكشف عن التغيرات المرضية المرافقة للتسمم الحاد والمزمن بمركب الليفاميزول، نظراً لعدم وجود دراسات حول تأثيراته على الأنسجة، وذلك لما لهذا الموضوع من أهمية تطبيقية في مجال تطوير صناعة الدواجن في القطر العربي السوري، ونظراً لعدم وجود دراسات حول تأثيراته النسيجية.

لم توضح الأبحاث العلمية آلية التسمم الخاصة بمركب الليفاميزول بشكل دقيق، حيث تشير معظم الدراسات إلى أن تأثيره السمي قد يكون ناجماً عن تأثير المثبط لفعالية أنزيم الكولين استيراز، حيث يؤدي إلى علامات تسمم موسكرينية ونيكوتينية، من خلال الناقل العصبي أستيل كولين (Shirley, 2009).

كما لوحظ وجود تفاوت عند تحديد الجرعة السامة لمركب الليفاميزول في أغلب الدراسات المهتمة بهذا المجال وفي مختلف أنواع الحيوانات (Culetto 2004).

بينت دراسة (Robenson, 1982) أن الجرعة القاتلة للنصف (LD50=2.75g/kg) من وزن الجسم عند الإعطاء عن طريق الفم، وهي أكبر من القيمة التي توصلنا إليها في هذه الدراسة وهي (LD50=1g/kg). وقد يكون هذا الاختلاف كما نعتقد ناتجاً عن اختلاف السلالة وظروف التجربة ومصدر الليفاميزول النقي (Robenson, 1982)

أجريت الدراسة على الطورين الحاد والمزمن للتسمم في مجاميع الدراسة، حيث أثبتت الدراسة وجود فروقات معنوية واضحة جداً بين المكررات المطلقة والمئوية (النسبية) باستخدام اختبار بيرسون مربع كاي **Person's chi square**

$$(P = 0.00000, \quad X^2 = 50, \quad DF = 1)$$

وعند دراسة التغيرات السمية لليفاميزول قسمت التغيرات المرضية المشاهدة على طيور التجربة إلى مجموعتين، تشمل الأولى التغيرات المرضية للتسمم الحاد، والثانية تشمل التغيرات المرضية للتسمم المزمن.

تمثلت التغيرات المرضية المشاهدة في مجاميع طيور الدراسة المعرضة للتسمم الحاد بالليفاميزول (أثناء مراقبة طيور التجربة وبعد إعطائها الجرعة القاتلة للنصف LD50) بأعراض الرنح والتشنج والتقلص العضلي وأعراض عصبية قبل النفوق بوقت قصير.

أما تشريحياً فقد لوحظ تغيرات في كل من الكبد والكلية مع عدم مشاهدة أية تغيرات في باقي أنسجة الجسم. وقد يعزى ذلك إلى أن الليفاميزول يستقلب بعملية الأكسدة ويطرح بصورة رئيسية في الكبد والكلية بعملية الأكسدة Oxedation، (Gatterdam et al., 1966; Boyd et al., 1973; Engelmann and Rechardson, 1986; Larvijsen et al., 1993).

وقد تبين من خلال دراستنا أن التغيرات التشريحية المرضية المرافقة للتسمم الحاد بمركب الليفاميزول، كانت بشكل بؤر نخرية مبعثرة، مع وجود رشح التهابي بخلايا لمفاوية في بعض مناطق النخر في النسيج الكبدي، وهذا ما أشار إليه (Jan,1981) أيضاً.

أما في نسيج الكلية فقد لوحظ بؤر نخرية في النبيبات الكلوية إضافة إلى زيادة الرشح اللمفاوي. ويعتقد أن السبب في الأذية الكلوية يعزى إلى أن 48% من الليفاميزول يطرح عن طريق الكلية، وهذا ما أكده (Gatterdam et al., 1966; Whit and Boyd. 1973).

كما درست التغيرات المرضية النسيجية لمجموعات طيور التسمم المزمن بمركب الليفاميزول، حيث أعطي بدءاً من عمر أسبوعين و لفترات زمنية محددة (10–20–30) يوم وبجرعة (LD50 1/5) خمس الجرعة القاتلة للنصف حسب متوسط وزن الطير الحي، وكان من الضروري أن نبين التغيرات التشريحية الناتجة عن إعطاء الليفاميزول للفترات الزمنية المختلفة التي استخدم فيها.

عند إعطاء الليفاميزول لمدة (10) أيام لم نلاحظ أية تغيرات واضحة في الرئة، ولكن لوحظ تشريحيا" في النسيج الرئوي سماكة النسيج الخلالي، نتيجة لارتشاح الخلايا الالتهابية البلعمية واحتقان الشعيرات الدموية في جدر الأسناخ الرئوية، ويعتقد أن هذا التغير يعود لتأثير الليفاميزول كمحفز مناعي (Irmak, et al., 2003).

ومن خلال دراسة المقاطع النسيجية للكلى، ظهرت بعض مناطق نخر في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية، ووجود مناطق تنكس فجوي، وارتشاح الخلايا الالتهابية اللمفاوية إلى مناطق نخر النبيبات، و قد شوهدت هذه التغيرات في دراسة للباحث (Daughaday, et al ,1977). إذ إن هناك العديد من الدراسات التي تؤكد أن الكلية هي الطريق الأساسي لإطراح الليفاميزول (Galtier et al., 1983 .Dalvi, 1990, Aiello, 1998).

بينما لم نلاحظ في نسيج الكبد والنسيج المعوي والدماغي والعضلي أية تغيرات نسيجية بعد إعطاء الليفاميزول لمدة (10) أيام.

عند فحص العينات النسيجية، بعد التأثير المزمن للعقار مدة (20) يوم لم نجد أية تغيرات عيانية على الرئة، في حين أظهرت دراسة المقاطع النسيجية ارتشاح أعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية البلعمية إلى القصبات الهوائية، إلى جانب كريات دموية حمراء، وجاءت دراستنا متشابهة مع (Daughaday.et al,1977). وقد يعود ذلك إلى تحريض النسيج بصورة بطيئة، كرد فعل التهابي على وجود الليفاميزول، وتأثيره في جدر الأوعية الدموية، وبالتالي ارتشاح الكريات خارج الأوعية.

أما الكبد عيانياً فظهر باهتاً، في حين أظهرت دراسة المقاطع النسيجية تجمع الخلايا الالتهابية ضمن المسافات البابية، وهي عبارة عن خلايا لمفاوية مع أعداد قليلة من المستغيرات، إضافة إلى احتقان وعائي في أشباه الجيوب الكبدية، ويمكن أن نعزو ذلك للتحفيز المناعي الناتج عن إعطاء جرعات زائدة من الليفاميزول. وقد توافقت دراستنا مع ما توصل إليه . (Irmak ,et at, 2003).

لوحظ عيانيا" تضخم الكلية قليلاً في حين أظهرت دراسة المقاطع النسيجية الكلوية وجود بعض مناطق النخر والتنكس في الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات والكبب الكلوية. وارتشاحاً للخلايا الالتهابية اللمفاوية والمستغيرات والبلاعم بأعداد كبيرة إلى مناطق نخر النبيبات والكبب الكلوية وقد أكدت مثل هذه النتائج دراسة (Daughaday.et al,1977).

وأظهرت المقاطع النسيجية للدماغ ظهور تغيرات بشكل بؤر نخر وتخرب في النسيج العصبي مع ارتشاح خلايا الدبق العصبي الصغيرة إلى أماكن الأذية، وقد ترافقت هذه التغيرات النسيجية سريرية مع ظهور تشنج عضلي وأعراض عصبية على طيور التجربة (Robertson,1999).

أما إعطاء مركب الليفاميزول لمدة(30) يوماً، فقد ترافق مع تغيرات أكثر وضوحا" في نسيج الرئة من تلك التي ظهرت بعد إعطائه لمدة (20) يوماً. إذ لوحظ وجود ارتشاح واضح لخلايا التهابية متنوعة إلى لمعة القصيبات الهوائية إلى جانب بعض المستغيرات، ووجود مناطق نخر في النسيج الرئوي، مع تجمعات لأعداد كبيرة للخلايا اللمفاوية في مناطق النخر، كما لوحظ في بعض مناطق النسيج الخلالي الرئوي ارتشاح لخلايا لمفاوية وبلاعم سنخية، على حساب لمعة الأسناخ الرئوية، ولم تلاحظ مثل هذه التغيرات في دراسة (Daughaday.et al,1977). والتي أشارت نتائجه إلى أن التأثيرات الرئيسية لليفاميزول، تتعلق بقدرته على تحسين الحركة العشوائية للعدلات وزيادتها بصورة كبيرة، بالمقارنة مع باقي أنواع الكريات البيضاء.

وعند إعطاء الليفاميزول لمدة (30) يوماً تأكد لنا وجود تغيرات أكثر وضوحا في نسيج الكبد، من تلك التي شوهدت عند إعطائه لـ (20) يوم إذ لوحظ نخر شديد في الخلايا الكبدية، وغياب معالم الفصيصات الكبدية في بعض المناطق، وتنكس خلوي وانحلال بعض نوى الخلايا الكبدية بشكل جزئي، وبعضها بشكل كامل.

لوحظ بعد إعطاء الليفاميزول لمدة (30) يوماً أن التغيرات أكثر وضوحا في النسيج الكلوي من التغيرات المسجلة بعد إعطائه لـــ (20) يوم، وبدت بشكل تخرب شديد في الخلايا الظهارية للنبيبات الكلوية وغياب معالم النسيج الكلوي في بعض المناطق، مع ارتشاح الخلايا الالتهابية ويمكن أن نفسر ذلك باطراح الليفاميزول عبر الكلية بنسبة 70% مما يسبب أذية في النسيج الكلوي (Galtier et al., 1983).

تبين لنا عند دراسة النسيج الدماغي، وجود بعض مناطق النخر والتخرب في النسيج العصبي، مع ارتشاح خلايا الدبق العصبي الصغيرة إلى أماكن الأذية، وهذا يتوافق مع ما سجلته دراسة (Ayaz et al, 2007).

و لم نلاحظ في دراستنا للمقاطع النسيجية للعضلات والأمعاء أيّة تغيرات، بعد إعطاء الليفاميزول لفترات مختلفة (10،20،30) يوم على الرغم من أن هناك دراسات عديدة أشارت لظهور ردود فعل مختلفة على شكل اضطرابات معدية معوية ورجفان العضلات، ولكن عزي ذلك إلى ارتباطها بالتأثير السمي لليفاميزول على الجهاز العصبي المركزي (Hsu,1980; Rossoff, 2002).

ومن النتائج التي توصلنا إليها في دراستنا نستخلص أن الليفاميزول يمكن أن يكون مفيداً على المستوى الفردي للحيوانات (معالجة ومناعة وخفض معدل حدوث بعض الأمراض) وأيضاً على مستوى النظام الاقتصادي (Eco system) فهو يلعب دوراً في خفض تكاليف الإنتاج والرعاية وهذا يتفق مع ما سجله (Waklelin , 1984).

إن العديد من الدراسات أشارت إلى كفاءة الليفاميزول كمضاد للديدان أولا" وكمحسن مناعي في حال وجود تثبيط مناعي ليس فقط عند الطيور أو الحيوانات المجترة وإنما أيضاً عند مرضى السرطان من البشر في الدراسات القديمة (Amery , 1978) وحتى وقتنا الحاضر(Coletto,et al ,2004)، بل ولأكثر من ذلك و رغم السمية الضيقة المدرجة، فقد استخدم ليس فقط علاجاً ومحسناً مناعياً عند الطيور، بل استخدم في مجال تحسين المناعة غير النوعية الموضعية للوقاية والسيطرة والتحكم بأمراض التهاب الضرع والوذمات المرافقة بعد الولادة عند المجترات، وهذا ما أشار إليه الباحثين (Ishikawa ,& Shimizu, 1982).(Ishikawa ,& Shimizu, 2004).

وهكذا يعد الليفاميزول ذا هامش أمان ضيق مقارنة مع بقية المواد الكيماوية، إلا أنه لا يزال يستعمل في المعالجات الكيماوية لبعض أنواع أمراض السرطان عند الإنسان (Clopton, 2001) ولذلك شمل مع مجموعة المعالجات المتضمنة بالحدود الدنيا لجرعة السمية للمركبات الفوسفورية الجهازية (Hannah, 1999).

الفصل السادس : الاستنتاجات

Chapter VI : Conclusion

6- الاستنتاجات : Conclusions

يمكن تلخيص أهم الاستنتاجات من خلال هذه الدراسة بالنقاط التالية :

1- تم تحديد الجرعة القاتلة للنصف لمركب الليفاميزول حسب ظروف التربية السورية بـ (LD_{50}=1g/kg)، التي يمكن الاستفادة منها، عند استخدامه لأي غرض من الأغراض، سواء العلاجية منها أو الوقائية، أو لتحسين المناعة، أو لزيادة الكسب الوزني.

2- لابد من الحذر عند استخدام مركب الليفاميزول، والتقيد بالجرعات الموصى بها، تبعاً لتركيز المادة الفعالة، للحد من حالات التسمم الحاد، وعدم تكرارها لفترات طويلة لمنع ظهور أعراض التسمم المزمن بهذا المركب، والتي كانت أهم التغيرات التشريحية لحالة التسمم به كما يلي:

أ- أوضح الفحص المجهري في مرحلة التسمم الحاد وجود تغيرات في نسيجي الكبد والكلية، بشكل بؤر نخرية منتشرة ومتعددة، بالإضافة لرشح التهابي بالخلايا اللمفاوية، بينما لم تسجل أي تغيرات في باقي أنسجة الأعضاء الأخرى.

ب- في مرحلة التسمم المزمن، وبعد (10) أيام من إعطاء الليفاميزول بصورة متتالية، لوحظ وجود أعراضاً مشابهة لتلك التي حصلت لدى طيور مجموعة التسمم الحاد، وازدادت شدة الأعراض مع التقدم بالعمر حيث لوحظت التغيرات الآتية:

1- في نسيج الرئة وجد تغيرات على شكل رشح التهابي واحتقان للشعيرات الدموية في النسيج الخلالي ،وازدادت وضوحاً مع زيادة عدد أيام إعطاء الليفاميزول وبشكل مضطرد.

2- كانت التغيرات في نسيجي الكبد والكلية هي الأكثر وضوحاً، وظهرت بشكل بؤر نخرية وتنكس وارتشاح خلايا التهابية في مناطق الأذية.

3 - لوحظ بؤر نخرية وتخرب الخلايا العصبية، وارتشاح خلايا الدبق العصبي الصغيرة في النسيج الدماغي، بعد إعطاء الليفاميزول.

الفصل السابع : التوصيات

Chapter VII : Recommendation

7- التوصيات : Recommendations

1- يجب توخي الحذر الشديد عند استخدام مركب الليفاميزول عند طيور اللحم، مع الأخذ بعين الاعتبار الجرعة القاتلة للنصف LD50 حسب ما توصلت إليه هذه الدراسة، نظراً لظهور حالات تسمم وأذى في الأنسجة تؤثر على الطيور، وتؤدي إلى تراجعها، وعدم نموها بصورة سليمة.

2- إجراء دراسات مستقبلية فيما يتعلق بتأثير الليفاميزول كشارد كوليني، ومقارنته مع المركبات العضوية الفوسفورية المستخدمة في الطب البيطري كالديازينون والدايكلورفوس من وجهة التغيرات المرضية النسيجية في الأعضاء.

3- إجراء دراسات مستقبلا، لمعرفة تأثير الليفاميزول على المناعة الموضعية، ولاسيما لغدة الضرع عند الحيوانات، ودراسة التغيرات النسيجية المرضية في نسيج الأسناخ اللبنية.

الفصل الثامن : المراجع

Chapter VIII : References

8-1- المراجع العربية :

1- الدباغ، عماد ابراهيم (1996) سمية الليفاميزول مع الديكلورفوس في الأرانب، أطروحة ماجستير. كلية الطب البيطري- جامعة الموصل، الموصل، العراق.

2- الشمري، يعرب جعفر موسى (2008). استعمال مضاد الهستامين (الديفنهيدرامين) للوقاية والعلاج نموذج التسمم الحاد H1 بالمبيدات الحشرية الفسفورية العضوية في أفراخ الدجاج، المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد29، العدد1.

3- النجار، أفراح سالم منصور (2005). التأثيرات السمية العصبية لليفاميزول في أفراخ الدجاج. كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.

4- النعيمي، حاتم مجيد (1997). تأثير الليفاميزول في الاستجابة المناعية الخلطية للقاح النيوكاسل في الدجاج. أطروحة ماجستير، كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.

5- إبراهيم، ندى خليل (2011). سمية الأميدوكاربدايبروبايونيت وتداخله مع الديفنهيدرامين في أفراخ الدجاج. رسالة ماجستير، الموصل، جامعة الموصل.

6- فارس، غادة عبد المنعم (1995). تأثير مضاد الهستامين (الديفنهيدرامين) في سمية مبيدات الحشرات الفسفورية العضوية في الفئران. جامعة الموصل، الموصل.

7- كاظم، فرقان صيار (2009). تأثير استخدام الليفاميزول وفيتامين C على المناعة الخلطية في فروج اللحم. جامعة القادسية. كلية الطب البيطري. مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري العدد1.

8- متي، مهى يعقوب وفارس، غادة عبد المنعم (2015). تقييم التأثير الوقائي للديفنهيدرامين ضد التسمم الحاد بالليفاميزول في ذكور الفئران. المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد29، العدد 2.

8-2- المراجع الإنكليزية :

9- Abdelsalam, E.B., and ford, E.J. (1987). The effect of Induced Liver, Kidney and Lunge Lesions the Toxicity of Levamisole and Deazinon in calves

10- Aceve, J.,Erligi, D., and Martinez-Marnon, R.(1970). The mechanism of the paralyzing action of tetramisol on Ascaris somatic .Br. J.pharmacol.38, 602-607.

11- Adams,R.,(1995).Veterinary applied pharmacology and therapeutic, 7th adition, USA.

12- Aiello, S. E. (1998). The Merck Veterinary Manual. 8th ed Merck and Co., Inc., Whitehouse Station , N. J. USA

13- AL – Dabagh, I. I., and Mohammad, F. K. (1999). Reduction ofdichlorvos induced toxicosis in rabbits by levasmisole.Veterinarski. Archiv.,69:29-37

13- Amery,W.K,(1976): Double blind Levamisol trial in resectable lungcancer avances. Sci.277,260-298

14- Amery, W. K. (1978). The mechanism action of levamisole, immuno-restoration through enhanced cell maturation. J. Reticuloendothel. Soc., 24: 187-192.

15- Anderson, J.C. (1984). Levamisole and bovine mastitis. Vet. Rec. 11: 138-140.

16- Armour, J. and Bairden, K. (1983). Comparison of oral and intraruminal administration of oxfendazole against Ostertagia ostertagi and Cooperia oncophora. Vet. Rec., 113: 448–449

17- Ayaz. E, I. Türel., N . Ozdal., H.A. Akkan, H. Ozbek ., I. Keleş. (2007).Comparison of the effects of local and uncontrolled levamisole preparations on mice naturally infected with Aspiculuris tetraptera. Turkiye Parazitol Derg.

18- Bourinbair, A. S., ; Lee – Husing, S. ; Okrasink, K and Borkowsky, W. (1994). Anti HIV effect of immunomodulating agent, levamisoleinvitro. Biomed. Pharmacother, 48 : 327-330

19- Boyd, J. F., White, R.G. (1973). The effect of measles on the thymus and other lymphoid tissues. Clin Exp Immunol.:343–357

20- Brander, G.C., D.M. Pugh ,Robin J. Bywater , William L. Jenkins (1991).veterinary applied pharmacology and therapeutic ,5th adition, Britain

21- Braund KG.(2003) Neurotoxic disorders. International Veterinary Information Service, phaea Ny. www.Ivis.Org..

22- Brunner CJ; CC. Muscoplat (1980). Immunomodulatory effects of levamisole. 15;176(10 Spec No):1159-62

23- C. C. DAUGHADAY,' M. E. SCHMIDT,2 AND STEVEN D. DOUGLAS(1977). Effects of Polynucleotides and Levamisole on Alveolar Macrophage Morphology and Receptor Activity. INFZCTION AND IMMUNITY, p. 161-166.Copyrigh, American Society for Microbiology

24- Cho, Y. and Musa, K. (1984). Immunomodulatory effect of levamisole in normal and immuno suppressed broiler chicks. Poultry Sci., 63-79.

25- Cho ,Y. and Musa ,K..(1989) .Immunomodulatory effect of Levamisol in Normal and Immuno Suppressed Broiler chicks .Poult .sci.63.79

26- Clarkson, M.J. and .M.K. Beg, 1970.The anthelmintic activity of L-Tetramisole against Ascaridia galli and Capelaria obsignata in the fowl. Vet. Rec.,86:652-654.

27- Clopton, R. E., T. J. Prrcival cook, J. Janovy, Jr. (2001)Epimerite – Host Epithelium Relationships Among Eugregarines Parasittizing the Damselflies Enallagma Civile and Ischnura Verticalis. American Society of Parasitologistis. pp 988- 996.

28- Clearance, M. F. and Asa, M.(1991). The Merk Vet. Manual. 7th Ed.,:1520-1521

29- Coles, E. H. (1986). Veterinary Clinical Pathology. 4th Ed.,W.B.Saunders Company Philadelphia

30- Company. Iowa State Press. St. Paul Minnesota. 2001:pp.476-480.

31- Connan RM (1979) The use of anthelmintics in dogs and cats. In: Yoxall AT, Hird JFR (eds) Pharmacological basis of small animal medicine, pp 189–197

32- Coppoc, G. L. (1996). Antiparasitics. Purdue Research Foundation.USA

33- Copperban, S. R., V. J. Merluzzi, M. E. Whitcomb. (1976). The effect of levamisole on human lymphocyte mediator production in vitro. Cell. Immunnol. 21:272.

34- Culetto,E., Baylis,H.A.., Richmond,J.E.,Jones,A,K., Fleming ,J.T., .Michael, D. James A,Lewis.. and Sattelle,D,B.(2004). The Caenorhabditis elegans unc-63 gene encodes a levamisole-sensitive Nicotinic acetylcholine receptor α subunit. published, by JBC.,USA

35- Dalvi, R. R. (1990). Pharmacology and toxicology of levamisole in domestic Animal :Areview-International J. of animal science, 5:15-19.

36- Davison, T. F. ; Morris, T. R. and Payne, L. N. (1996). Poultry Immunology. 1st Ed. Jounals Oxford Ltd., London.

37- Donald C. Veterinary Drug Hand Book.4th ed., Black Well publishing.

38- Donald, C. (2001). Veterinary Drug Hand Book. 4thed., Black Well Publishing Company, Iowa State Press. St. Paul Minnesota. pp. 476- 480

39- Dorn,H., & Federmann,M.(1976).Citarin-LSpot-on - A new form of ad-Ministration of an established anthelmintic [levamisole]. Veterinary Medical Review,1,5–17

40- Donald L. Morton, MD, Nizar Habal, MD, Rishab K. Gupta, PhD, Anton J. Bilchik, MD, PhD, Reynold Yee, BS, Zacharias Leopoldo, DDM, Wei Ye, MS, and Robert M. Elashoff, PhD(2001), CancerVax, An Allogeneic Tumor Cell Vaccine, Induces Specific Humoral and Cellular Immune Responses in Advanced Colon Cancer. Published by Lippincott Williams & Wilkins.

41- Douglas, D. s., M. E. Schmidt, and C. C. Dauchaday. (1977). Effects of Polynucleotides and Levamisole on Alveolar Macrophage Macrophology and Receptor Activity., American Society for Microbiology.

42- Engelmann, G. L., A. G. Rechardson ,(1986). Effects of levamisole on primary cultures of adult rat hepatocytes. Biochem. Pharmacol May 1;35(9):15 47-54

43- EskolaE, J. S., O. Lassila, M. K Viljanen , and, O. P. Lehtonen. In vivo effect of levamisole on cellular and humoral immunity in normal chickens. Dec; 38(3): 609–614

44- Eyre, P.,(1970). Some pharmacodynamic effects of the nematocides: Methyridine, tetramisole and pyrantel. J. Pharm. Pharmacol., 22: 26-36.

45- Eyre, JA; S, Miller; M,Gibson; J.V, Physiol, M.S, O, Sullivan and J.V,Ramesh (1989).Presence Of Neorophyological Signs Of Spastity With Normal Conduction In The Fastest Fibren Of The Corticospinal Pathway In Babies Developing Cerebal Palsy 414:9p

46- FAD. Levamisole (NADA) 1987; 139-877.

47- Findlay, V. L. and Munday, B. L. (2000). The immunomodulatory effects of levamisole on the nonspecific immune system of Atlantic Salmon (SalmoSalar L.). J. of Fish dis., 23:369-378.

48- Forsyth, B. A. (1968). Parenteral chemotherapy of helminthosis of Sheep and Cattle. Aust.Vet.J.,44:185-190.

49- Galtier, P., Escoula, L. & Alvinerie, M. (1983) Pharmacokinetics of [3H] levamisole in pigs after oral and intramuscular administration. American Journal of Veterinary Research, 44, 583–587.

50- GATNER, F. H. (1981). Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal Biochem, 150, 76-85.// Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K.,GOEKE, N. M., Olson, B. J. & Klenk, D. C. 1985.

51- Garrison, C. J. (1990) Histamine, Bradykinin, 5-Hydroxytryptamine, and their antagonists. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, (eds).

52- Gartner, F.H .,Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J., and Klenk, D.C.(1985). Measurement of protein using bicinchonic acid. Anal. Biochem. 150:265–275

53- Gatterdamm,P.E.; D.A.Champagne; J.E,Boyd and R. Hall(1966). Tetramisol: Preliminary Studies of the absorpation, metabolism, and excretion in rats of CL 105,276 (Janssen R-8299), a potent anthelmintice agent. Unpublished report on progect No. FAO by Janssen Pharmaceutica, B-2340 Beerse, Belgium

54- Ghai, O. P. (1996). Rational drug therapy in children. In: Essential pediatrics, 4th ed, NewDelhi, Interprint, PP451.

55- Giambrone JJ, Klesius PH, (1985). Effect of levamisole on the response of broiler to coccidiosis vaccination. Poult Sci;64(6):1083-1089.

56- Gilman, A. G., T. W. Rall, A. S. Nies, P. Taylor. (1990). The pharmacological basis of therapeutics. 8th ed. New York: Pergamon. 1811 p

57- Gillham, A. T., and Obendorf , (1985). Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics. Pages 513-548. Philadelphia

58- Goldstein, G. and Topan, K. A., (1987). Bursin and thymopoitein. In: Avian Immunology Basis and Practice, 1st Ed., Edited By: Toivan, A. and Toranan. pp: 150-155.

59- Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. New York: McGraw-Hill Co., Inc.,:pp.575–592.

60- Guerrero, J. (1980). Parasite host interactions relative to Levamisole. J. A. V. M. A, 176:1163-1165

61- Hannah, H.W.(1999). Evolution of the law on liability for sale of diseased animals. JAVMA. 215: 636.

62- Hart, J. A., James, P. S. and Curr, C. (1969). The anthelmintic efficiency of laevo-tetramisole hydrochloride against nematode parasite of sheep and cattle. Aust.Vet. J., 45:73-77

63- H. Dorn, M. Federmann, , (1976)Veterinary Medical Review. Citarin-L spoton a new form of administration of an established anthelmintic levamisole.

64- HOEKSTRA, R., Visser, A., Wiley, L. J., Weiss,A..S.,Sangster, N.C. and Roos, M. H. (1997).Characterization of an acetylcholine receptor gene of Haemonchus contortus in relation to levamisole resistance. Mol.Biochem. parasitol.84,179-187

65- Hsu, W. H. (1980). Toxicity and drug interaction of levamisole. Am. J. Vet. Res., 176:1166-1169.

66- Huskisson, E. C. and Adams, R. (1980). Treatment of rheumatoid arthritis with levamisole. Huskisson, E.C. Agents Actions Suppl. 1980. Treatment of rheumatoid arthritis with levamisole.

67- Irmak, H., Buzgan, T., Karahocagil, M. K., Evirgen, O., Akdeniz, H., and Demir, A. P. (2003). The effect of levamisolecombined with the classical treatment chronic brucellosis. Tohoku. J. Exp. Med. Dec., 201(4):221. 228.

68- Ishikawa ,H. and shimizu, T. (2004). Depression of B-Lympho cytes by Masitits and treatment with Levamesole. National Insitute of animal Health-sapporo. Japan

69- Ishikawa ,H. shimizu , T. Hirano, N. Saity, and T. Nakano. (1982)protein composition of whey from subclini14cal mastitis and effect of tretmant with Levamisol. J. Dairy Sci. 65:653.

70- Jan. C. LE., (1981). In Vivo Effect of Levamisole on Responses of blood Lymphocytes to Mitogens in Calf. France.

71- Janssen, P. A. J. (1976). The levamisole story. Progress in drug Research., 20:347-383.

72- J.W.Hadden2,R.G.Coffey,E.M.HaddenE.LopezCorrales,andG.H.Sunshine. (1975). .Effects of levamisole and imidazole on lymphocyte proliferation and cyclic nucleotide levels. Laboratory of Immunopharmacology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 1275 York Avenue, New York, New York 10021 U.S.A.

73- Kaneene, J. M. B., Okino, F. C., Anderson, R. K., Muscoplat, C. C. and Johnson, D. W. (1981). Levamisole potentiation of antigen specific lymphocyte blastogenic response to Brucella abortus exposed but non-responsive cattle. Veterinary Immunology and Immunopathology 2, 75–85.

74- Katzung BG. Histamine, serotonin, and the ergot alkaloids:

Introduction. In: Katzung B G (editor), Basic and Clin Pharm. 10th ed., USA: McGraw-Hill Co., Inc., 2006:pp.377– 410.

75- Kimball, E. S. ; Schneider, C. R. ; Fisher, M. C. and Clark, M. C. (1992). Levamisol causes diffrential cytokine expression by elicited mouse peritoneal macrophages. J. of leukocyte Biol., 52: 349-356.

76- Klei, and Blair. (1986). Preliminary tests for activity of levamisole against the natural infections of eye worms in dairy calves- vet . med . small . Anim .clin .76(8) . 1199-1201.

77- Koller, L., (1982).Chemically induced immunomodulation. J Am. Vet. Med. Assoc., 181: 1102-1106

78- Koyama K., Oishi T., Ishii A., Deguchi T. (1983) Metabolic fate of levamisole in rats, dogs and monkeys. Pharmacometrics (Tokyo); 26: 869–876

79- Lavrijsen, A. P. M., B. J. Vermeer., and B. r. J. Dermatol. (1991). Cosmetics and drugs. Is there a need for a third group: cosmeceutics; 124: 503–4

80- Lea & Febiger (1994). Weyman A. Doppier instrumentation. In: Weyman A (ed).Prensples and Practice of Echocardiography,2n ed. Pheladelphia:167-168.

81- Lewis JA, Wu Ch, Berg H, Levine JH. 1980. The genetic of levamisol resistance in the nematode Caenorhabditis elegas. Genetics;95:905-928.

82- Lieberman, R., Hsu, M. (1976). . Levamisole-mediated restoration of cellular immunity in peripheral blood lymphocytes of patients with immunodeficiency diseases. Clinical Immunology and Immunopathology, Volume 5.

83- Manoj ,K.and Singh, K. (2003). : Immunopotentiating effect of levamisole on immune responses to RD vaccine in IBD vaccinated chickens. Indian Journal ofComparative Microbiology.24: 91-92

84- Marriner S. , Armour J. (1986). Gastrointestinal infections. In Chemotherapy of Parasitic Diseases. 287–305. Campbell W. C. , Rew R. S. New York/London: Plenum Press.

85- Martin, R. J. Modes of action of anthelmintic drugs. .1997. Vet J;154:11-34

86- Marten,R.j., Ropertson,A.P ., Bjorn,H. and Sangstar, N. C. (1997) Heterogeneous Levamisol resceptor: a singlr-channel study of nicotinic acetylcholine receptor from Oseophagostomum dentatum.Eur.I.pharmacol,322,249-257

87- Martin,R.J., Verma,S., Levandoski,M., Clark,C.L., Qian,H., Stewart,M., Robertson,A.P. (2005). Drug resistance and udies on the mode of action of nematodes: Recentst levamisol.S84-Parasitology.;131:S71.

88- Maheswaran et al,. 1980., Maheswaran, S.K.; Dua, S.K. and Thies, E.S. (1980): "Levamisole induced augmentation of immune response to a live fowl cholera vaccine". poultry Sci. 59: 742-755

89- Merck and Co., Inc, (1998). The merck index 12th edition. cd-rom version 12.1 - Levamisole Hydrochloride.

90- Mohammad, F.K, Faris G.A.M., Shindala M. K. h. (2002). Comparative antidotal effects of diphenhyd ramine and atropineagainst dichlorvos – induced acute toxicosis in rats. Vet Arhiv.;72:19– 28.

91- Moertel, C. G., T. R. Fleming., J. S. MacDonald., D. G. Haller., J. A. Laurie., P.J. Goodman., J. S. Ungerleider., W. A. Emerson., D. C. Tormey., J. H Glick.,. M.H. Veeder., and J. A. Maillard. (1990). Levamisole and fluorouracil foradjuvant therapy of resected colon carcinoma. N. Engl. J. Med 322 -358.

92- Mulcahy, G. P.J. Quinn, (1986). A review of immunomodulators and their application in veterinary medicine Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics.

93- Mutch, R.S. & Hutson P.R. (1991) Levamisole in the adjuvant treatment of colon cancer. Clin Pharmacol 10, 95.

94- Nathanson ,S, T.K, and M., Reddi.A, A.H.(1984). In vitro transformation of mesenchymal cells derived from embryonic muscle into cartilage in response to extracellular matrix components of bone. in: Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81. ; :3419–3423.

95- Nathanson ,S, T.K., P.L. Zamfirescu, J. K. Poretaro, J,B. De Kernion, and J. L.Fahey. (1978). Acute effects of orally administered levamisole on random monocyte motility and chemotaxis in man. J. Natl. cancer Inst. 61:301.

96- Niemegeers, C. J. (1975).Pharmacology Dept., Janssen Pharmaceutica, unpublished results.

97- Österdahl B., Norlander I., Johnsson H. Levamisole residues in milk from a herd of cows suffering from lungworms. Food Additives and Contaminants 1986; 3: 161–168.

98- Palmblad, J. and Engstedt, L. (1979). Activation of the bactericidal capacity of blood granulocytes. Evaluation of a new method and the effect of levamisole . Acta Pathol Microbiol Scand C. 1979 Dec;87(6):357-64.

99- Panigraphy, B. ; Grumbles, L. G. ; Millaris, D. ; Nagi ; S. A. and Hall, C. G. (1979). Antibiotic induce immunosuppression and levamisole induce immuno-potentiation in turkeys. Avian Dis., 23:501-408.

100- Panigrahy, B., L. C. Grumbles, D. Millar, S. A. Naqi, C. F. Hall. (1979) Antibiotic-induced immunosuppression and levamisole-induced immunopotentiation in turkeys Avian. Dis 23: 401-408.

101- Pavlovsky,S., F. sackmann, G. garay, E. Svarch, J. Beaier, M. Lagarde, M. Scaglione, M. Eppinger, R. Failace, E. Dibar. (1981). Chemoimmunotherapy with levamisole in acute Lymphoblastic leukemia. Batimore, USA.

102- Porch Zhian.T.and Punniamurthy .N.(2006). Effect of Oral Levamisol Hydro chloride on Humoral Immune Response and Serum Protein of Broilers.Jornal of animal and Veterinary Advances .5(10) .873 – 874.

103- Rahman ,S. A. Adel ,F. and Jagannath .M.S.(1989) Role of Levamisole in the Induction of cell Mediated Immunity in experimental cecal- coccidiosis of chickens.Ind,Vet.J,66(8) : 706 – 710

104- Reinemeyer, G. R. and Courteny, C. H. (2001). Antinematodal drug In: Richard, H. Adams. Veterinary Pharmacology Therapeutics 8th ed , Black Well Publishing Company , Iowa State Press. PP, 947-978.

105- Regulation 40 , (2017). Moximum permitted proportion of drug residues in food , fifteenth Aschedule , Drug esidue Dept USA.

106- Renoux, G. (1980). The general immunopharmacology of levamisole Drugs., 20:89-99.

107- Reynolds, J. E. F., Prasad, A. B. and Blake, P. S. et al., (1982). Martin Dale, The Extrapharmacopoeia, 28th ed., The Pharmaceutica Press, London , pp.830-842.

108- Reynolds, W. M. (1989). Reynolds Child Depression Scale. Professional manual. Odessa, FL: Psychological Assessment Resources.

109- Reyero, C., W. StÖckl, and J. G. Thalhammer. (1979).Stimulation of the antibody response to sheep red blood cells in piglets and young pigs by Levamisole. Br. Vet. J.135:17.

110- Richmond, J. E. and Jorgensen E. M. (1999). One GABA and two acetylcholine receptors function at the C. elegans neuromuscular junction. Nature Neuroscience 2, 791–797.

111- Roberson, E. L. (1972). Studies on the toxicological and pharmacological properties of thiabendazole . Toxicol .Appl pharmacol 7:53-63.

112- Roberson, E. L. (1982). Chemotherapy of parasitic diseases In: Booth, N. H. and McDonald, L. E. (eds). Veterinary pharmacology and Therapeutics.5th ed., Iowa State, University Press, Ames, Iowa, pp. 819-821.

113- Robertson SJ,and Martin RJ (1993);. Levamisole activated single channel current from muscle of the nematode parasite Ascaris suum. Br J Pharmacol 108:170-178.

114- Robertson A.p., Bjorn, H.E. and Martin, R.J. (1999). Resistance to levamisole resolved at the single – channel level. FASEB. J. 13, 749-760.

115- Rojs OZ, Cerne M, MrZel I, Urleb U, Muraoka, S. (2000). Immunostimulatory effects of the muramyl dipeptide analogus LK415 in chickens immunized with vaccine stain of injection bursal disease virus. Acta Vet Hung, 48(2):237-248.

116- Rossoff, I. (2002). Encyclopedia of Clinical Toxicology. 1st ed., The Parthenon Publishing group international publishers in Med. Sci. and Technol. Acrc Press Company, New York, 348-605

117- Roudebush P (1980) A practical guide to the chemotherapy of small animal intestinal parasites. Canine Pract 7:67–80

118- Sahagun A. M, Garcia JJ, Sierra M, Fernandez N, Diez MJ, and Teran MT. (2000). Subcutaneous bioavailability of levamisole in goats. J Vet Pharm. Ther.;23:189- 192.

119- Sahagun, A. M., Teran, M.T., Garcia, J.J., Fernandez, N., Siera, M. & Diez, M.J. (2001) Oral bioavailability of levamisole in goats. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 24, 239–242.

120- Santiago J. V., W. H. McAlister, S. K. Ratzan, Y. Bussman, M. W. aymond, G. Shakelfor d, V. V. Weldon (1977). Decreased cortical thickness and osteopenia in children with diabetes mellitus. Clin. Endocrinol. Metab

121- Sharma P V,(1970),Charck Samhita Delhi, Chowkhamba Orientalia,India.

122- Schmidt,M.E., and S.D. Douglas.(1976). Effects of Levamisole on human monocyte function and immunoprotein receptors. Clin. Immunol. Immunopathol. 6:299.

123- Shirley, D. (2009). The persistence of presentism. Teachers College Record, 111(11), 2505-2534.

124- Singla, L. D. ; Juyal. P. D. and Ahuja. S. P.(2000).Serum protein changes of corossbred calves experimentally infected with Trypanosomaevansiand immunomodulated with levamisole.Indian Vet. J., 77: 172-174.

125- Statistic (2012) Analytical software, Guide Manual , Microsoft , version No.10.0. Microsoft co. USA.

126- Symoens,J. and Rosenthal, M. (1977). Levamisole in the modulation of the immune response : the current experimental and clinical state Journal of the Reticuloendothelial Society, 21: 175-220.

127- Szeleszczuk, P., Ewakarp,S. , Wojciech, B.,Wanda,B and Gra,Y.(2003). Evaluation of chosen immuno-modulators toxicity for chicken embryos and one day old chicks. Bull. Vet. Inst. Pulawy 47: 411- 417.

128- Taki, H. N. and Schwartz, S. A. (1994). Levamisole as an immunopotentiator for T cell deficiency. Immunopharmacol. Immunotoxicol. 16: 129–137.

129- Teller MN, Renoux G, Renoux M, McMahon S, and Guillaumin JM.(1976). Potentiation of T-cell mediated immunity by levamisole. Clin Exp Immunol Aug;25(2):288-96._

130- Thies, E.S ,Maheshwaran, . and.; Dua, S.K. (1980). Studies on

Pasteurella multocida IX Levamisole- induced augmentation of immune responses to a live fowl cholera vaccine. Avian Dis., 24(1):71.

131- Thienpont, D., Vanparjis, O. F. J., Raeymaekers, A. H. M., Vandenberk, J., Demoen, P. J. A., Allewijn, F. T. N., Marsboom, R. P. H., Niemegeers, C.J.E., Schellekens, K. H. L. and Janssen, P. A. J. (1966). Tetramisole (R8299), anew, potent broad spectrum anthelmintic. Nature, 209:1084-1086.

132- Tripathi, K. D. (1985). Essentials of Medical Pharmacology. JayppeBrother, New Delhi., pp.540

133- Van Belle H; P.A. Janssen. (1979)alpha-Ketoaldehydes, specific catalysts for thiol formation from levamisole.15;28(8):1313-8

134- Viljanen ,M. K., E. Soppi, O. Lassila, O. P. Lehtonen, and J. Eskola.(1979). In vivo effect of levamisole on cellular and humoral immunity in normal chickens. Clin. Exp. Immunol. 38:609.

135- Vyas, G. P. ; Dholakia, P. M. and kathiria, L. E. (1987). Studies on immunemodulation by levamisole along with vaccination in chicken against Rankhit disease. Ind. Vet. J.,64: 456-462.

136- Waklin. D-(1984) Immunity to parasites : How animal control parasite in fections. Batimore : Edward Amold.USA.

137- Watson, A. D. J., Wilson, J. T., Turner. D.M., and Culvenor. J.A. (1980). Phenylbotazone – induced blood dyscrasias suspected in three dogs. Veterinary Record. 107, 239 – 241.

138- Young, E. J. , and Kathie McMillan. 1, September (1987)..Effects of Levamisole in Murine Brucellosis. The Journal of Infectious Diseases, Volume 156, Issue 3, , Pages 530–531

Hama University

Faculty of Veterinary Medicine

Department of Pathology

The Pathological Changes Associated With Levamisol Toxicity in Broiler chicken

For

Master Degree in veterinary medical science

- Pathology -

Thesis Presented by

Mai Adeeb Almaghout

Under the Supervision of

Ass .Prof. Dr. Wadih Shedid

Ass. Prof. Dr. Sameer Hammod

2018