



التأثيرات الكيميائية الحيوية لحمض الفورميك والفورمالدهايد على نشاط بعض الإنزيمات الموجودة في فئران التجارب

سليمة محمد فرحات*، وسام كلاب، مروة محمد حمودة، الهام علي الصقر

قسم الكيمياء، كلية العلوم، الجامعة الأسمرية الإسلامية، زليتن، ليبيا.

*البريد الإلكتروني: s.farhat@sci.asmarya.edu.ly

Biochemical Effects of Formic Acid and Formaldehyde on the Activity of Selected Enzymes existing in Experimental Rats

Salima Mohamed Farhat*, Wessam Kollab, Marwa Mohamed Hmouda, and Elham Ali Elsaqr

Department of Chemistry, Faculty of Science, Alasmariya Islamic University, Zliten, Libya.

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم التأثير السمي لكل من حمض الفورميك والفورمالدهايد على الإنزيمات الحيوية في الدم باستخدام الفئران البيضاء. تم تقسيم الفئران إلى سبع مجموعات: مجموعة تحكم، ومجموعات عولجت بحمض الفورميك أو الفورمالدهايد بتركيزين مختلفين (0.5% و1%). تمت دراسة التأثيرات على إنزيمات القلب والكبد والكلية، وهي ناقلة الألائين (ALT)، ناقلة الأسبارتات (AS)، الفوسفاتاز القلوي (ALP)، كيناز الكرياتين (CPK)، ومستويات الكرياتينين في الدم، لتحديد التأثيرات السمية. كشفت النتائج أن حمض الفورميك والفورمالدهايد يؤديان إلى تغيرات ملحوظة في مستويات الإنزيمات المدروسة، مما يشير إلى تأثيرهما الضار على الأنسجة المستهدفة. أظهرت الفئران المعالجة بتركيز 1% تأثيرات أكثر حدة مقارنة بتركيز 0.5%، حيث سجلت زيادة كبيرة في مستويات إنزيمات الكبد والقلب، مما يدل على ضرر محتمل لهذه الأعضاء. تشير هذه التأثيرات إلى أن حمض الفورميك والفورمالدهايد يسببان الإجهاد التأكسدي وتثبيط نشاط الإنزيمات، مما يؤدي إلى اختلال العمليات الأيضية في الأعضاء المستهدفة. تسلط الدراسة الضوء على خطورة التعرض المزمن لهذه المواد الكيميائية المستخدمة بشكل واسع في الصناعات المختلفة، خاصة في البيئات المهنية. توصي الدراسة باتخاذ تدابير وقائية صارمة، مثل تحسين أنظمة التهوية وارتداء معدات الحماية الشخصية لتقليل التعرض لهذه المواد. فضلا عن إجراء المزيد من الدراسات لفهم الآليات الجزيئية لهذه التأثيرات.

الكلمات الدالة: حمض الفورميك، الفورمالدهايد، الإنزيمات، التأثيرات الكيميائية الحيوية، فئران التجارب.

Abstract

This study aimed to evaluate the toxic effects of formic acid and formaldehyde on the biochemical enzymes in the blood using white rats. The rats were divided into seven groups: a control group, and groups treated with formic acid or



formaldehyde at two different concentrations (0.5% and 1%). The effects on heart, liver, and kidney enzymes were studied, including alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AS), alkaline phosphatase (ALP), creatine kinase (CPK), and blood creatinine levels, to determine the toxic effects. The results revealed that both formic acid and formaldehyde led to noticeable changes in the enzyme levels studied, indicating their harmful effects on the targeted tissues. Rats treated with a 1% concentration showed more severe effects compared to the 0.5% concentration, with a significant increase in liver and heart enzyme levels, indicating potential damage to these organs. These effects suggest that formic acid and formaldehyde cause oxidative stress and inhibit enzyme activity, leading to metabolic disturbances in the targeted organs. The study highlights the danger of chronic exposure to these chemicals, which are widely used in various industries, especially in occupational environments. The study recommends taking strict preventive measures, such as improving ventilation systems and wearing personal protective equipment to reduce exposure to these substances. Additionally, further studies are suggested to understand the molecular mechanisms behind these toxic effects.

Keywords: Formic Acid, Formaldehyde, Enzymes, Biochemical Effects, Experimental Rats.

1. المقدمة

حمض الفورميك هو مركب كيميائي موجود بشكل شائع في البيئة وينتج من مصادر مختلفة بما في ذلك المواد النباتية، وانبعاثات المركبات، واحتراق الأسمدة، والعمليات الكيميائية الضوئية. يصنف حمض الفورميك على أنه حمض كربونيك ويشار إليه أيضًا باسم حمض الكربوكسيل الهيدروجيني أو هيدروكسي "أوكسي" الميثان. يتميز برائحة قوية ونفاذة في درجة حرارة الغرفة، مما يميزه عن حمض الأسيتيك. يلعب هذا المركب دورًا حاسمًا في منهجيات التخليق الكيميائي، وهو مادة مزعجة موجودة في السم المرشوش لبعض أنواع النمل، حيث يطلق رذاذ حمض الفورميك من غدة السم للنملة عند الضرورة (Hietala, 2016). في التركيزات المرتفعة، يُظهر الحمض خصائص تآكلية وينتج أبخرة قوية وخطيرة؛ ومع ذلك، في التركيزات المنخفضة، يُظهر فائدة كبيرة. يعتبر الحمض المنتج السام الرئيسي لأكسدة الميثانول حيث يؤدي إلى نقص الأكسدة السمية للخلايا، وداخل أجسامنا يتم تحويل الميثانول إلى الفورمالدهايد وهذا بدوره يتحول بسرعة إلى حمض الفورميك، نتيجة لعلاقتهم ببعض وحقيقة أن الفورمالدهايد يتم استقلابه في الجسم إلى حمض الفورميك (Skrzydawska, 2003). الفورمالدهايد هو مركب يمتلك رائحة قوية أيضًا، يظهر قابلية للذوبان بسرعة في البيئات المائية وهو موجود بشكل طبيعي في العديد من الكائنات الحية. عند تناول الفورمالدهايد، يتم استقلابه إلى حمض الفورميك في أنسجة الكبد وكريات الدم الحمراء، يليه الإخراج من خلال البول والبراز أو عبر الجهاز التنفسي. الفورمالدهايد هو من بين المواد الكيميائية الأكثر بحثًا على نطاق واسع، وتشير الدراسات العملية والعلمية المتقدمة إلى وجود مستوى آمن عند التعرض له (Inci, 2013). يمارس كل من الفورمالدهايد



وحمض الفورميك المستنشق بتركيزات مرتفعة تأثيرات عميقة على الجهاز التنفسي والجهاز العصبي المركزي والأنسجة الجلدية والبنى العينية. حيث يمكن أن يؤدي تراكم الحمض إلى اعتلال العصب البصري وتلف الخلايا العقدية الشبكية. علاوة على ذلك، يعمل الفورمالدهايد كمسبب للحساسية الجلدية وقد يؤدي إلى تفاقم الضائقة التنفسية لدى الأفراد الذين يعانون من مسارات قصبية شديدة التفاعل: وقد ارتبط استنشاقه بتحريض سرطان الأنف في النماذج الحيوانية (الفأر) بتركيزات مماثلة لتلك التي يواجهها البشر (Bernstein, 1984). يركز العمل الحالي على التحليل المخبري للتأثيرات التي يحدثها كلا من: حمض الفورميك والفورمالدهايد المعملية والطبي (الفورمالين) على بعض الإنزيمات أجريت هذه الدراسة على 35 فأر من الفئران البيضاء البالغة وتم تقسيمها إلى 7 مجموعات، تمت دراسة تأثير كلا منهما على الأنزيمات في هذه الفئران. وقد أدت نتائج الأبحاث السابقة إلى زيادة المخاوف بشأن مستويات الفورمالدهايد وحمض الفورميك المنبعثة في البيئات الداخلية لمختلف المختبرات والسلع الاستهلاكية. ونتيجة لذلك، قام العديد من العلماء بإجراء دراسات لتوضيح تأثيراتها والملفات السمية المرتبطة بها (Casteel, 1987). تقوم الدراسة الحالية على معرفة الأثار الكيميائية الحيوية للمادتين على بعض مكونات الدم وهي أنزيمات القلب والكبد والكلية (أنزيم الفوسفوكينازالكرياتين CPK)، أنزيم الكرياتينين، أنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP)، الأنزيمات الناقلة للأمين (AST, ALT) وأنزيم (LDH) في فئران التجارب البيضاء.

1.1. أهداف البحث

الهدف العام لهذه الدراسة هو معرفة مدى سمية وأضرار حمض الفورميك والفورمالدهايد على الإنسان.

أما الأهداف الفرعية فهي كالتالي:

- تقييم حمض الفورميك والفورمالدهايد على فئران التجارب.
- تحديد التأثير الذي يحدثه حمض الفورميك والفورمالدهايد على أنزيمات (AST, ALT, ALP, CPK الكرياتينين) في الدم
- مقارنة نتائج حمض الفورميك والفورمالدهايد على ذكور وإناث الفئران السليمة.

2. الدراسات السابقة

تظهر التأثيرات الكيميائية الحيوية لحمض الفورميك والفورمالدهايد على نشاط الإنزيمات في الفئران المخبرية سمية كبيرة وتغيرات في العمليات الأيضية. كل من المركبين يظهران تأثيرات ضارة على مسارات كيميائية حيوية متنوعة، خاصة من خلال الإجهاد التأكسدي وتعديل البروتينات.

1.2. تأثيرات حمض الفورميك

يمكن أن يزيد حمض الفورميك، وهو ناتج استقلاب للفورمالدهايد، من السمية، مما يؤدي إلى تأثيرات نظامية قد تثبط وظيفة الإنزيمات وتساهم في اختلال الأيض (Eells et al, 1981).

1.1.2. دراسات السمية الحيوانية لحمض الفورميك:

أظهرت الفئران التي تعرضت لثلاثي كلور الإيثيلين، سواء عن طريق الحقن أو الاستنشاق، كميات كبيرة من حمض الفورميك في إفرازها البولي. وشملت النتائج الملحوظة ارتفاع مستويات إفراز حمض الفورميك والأمونيا، إلى جانب التغيرات في درجة حموضة البول. كان هناك نقص في الأدلة التي تشير إلى أي اختلال كبدي أو كلوي. تم التعرف على التعرض الطويل لحمض الفورميك كسبب محتمل لتلف الكلى، مما يعني أن حمض الفورميك قد يلعب دورًا في زيادة تكاثر الخلايا واختلال وظائف الكلى كما لوحظ في الدراسات الموسعة التي شملت ثلاثي كلورو الإيثيلي (Green et al, 1998). وقد أثبتت الأبحاث أن حمض الفورميك يمكن قياسه باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء للكشف الدقيق. ونظرًا لأن حمض الفورميك يعمل كمستقلب للميثانول فقد تم تحديده بعد تحقيق أجراه (Liu et al, 2015) بهدف تقييم تركيز وتوزيع حمض الفورميك داخل الدم والأنسجة بعد التسمم بالميثانول في نماذج الفئران، وخلص هذا البحث إلى أن حمض الفورميك يميل إلى التراكم داخل الجهاز الدوري وأنسجة الفئران بعد التعرض لتسمم الميثانول. وعلاوة على ذلك، لوحظ أن تركيز إن تراكم الأحماض داخل مختلف الأعضاء والأنسجة يفوق تراكم الأحماض الموجودة في مجرى الدم.

2.1.2. دراسات السمية البشرية لحمض الفورميك:

أشارت دراسة حالة شملت رجلاً يبلغ من العمر 39 عامًا، تعرض لحروق جزئية في الوجه بسبب رذاذ كيميائي ناتج عن التعرض لضباب حمضي (Yelon, 1996)، إلى أن استنشاق حمض الفورميك يؤدي إلى متلازمة خلل مجرى الهواء، وهي رد فعل متكرر الملاحظة لاستنشاق مهيج مبي. لقد حدد المؤتمر الأمريكي لأخصائيي الصحة الصناعية الحكوميين (2007)، والمعهد الوطني للسلامة والصحة المهنية (2005)، وإدارة السلامة والصحة المهنية حدود التعرض تتراوح من 8 إلى 10 ساعات في اليوم. تم تحديد حد التعرض المسموح به (PEL) لبخار الحمض داخل البيئات المهنية عند 5ppm.

2.2. سمية الفورمالدهايد

يؤدي التعرض للفورمالدهايد إلى زيادة مستويات المالدونديالدهايد (MDA) والكربونيلات البروتينية، مما يدل على تأكسد الدهون وأكسدة البروتينات (Im et al., 2006) (Sul et al., 2007). تظهر ملفات



التعبير الجيني أن الفورمالدهايد يغير تعبير الجينات المرتبطة بالأبيض، والموت المبرمج، وإرسال الإشارات، مما يمكن أن يؤثر على نشاط الإنزيمات (Sul et al., 2007).

1.2.2. دراسات السمية الحيوانية للفورمالدهايد:

أثبتت التحقيقات السمية المتعلقة بالفورمالدهايد أن الخصائص المسرطنة للفورمالدهايد تم توثيقها لأول مرة في 18 أكتوبر 1979، من قبل جامعة نيويورك (NYU)، مما يشير إلى قدرتها على التسبب في السرطان في نماذج الحيوانات المعملية. تم إجراء فحص منهجي للتعرض لبخار الفورمالدهايد في عام 1980 على الفئران وبالمثل في عام 1983 على كل من الفئران والجرذان. تم تحديد وجود سرطان الخلايا الحرشفية في تجاويف الأنف لـ 103 قوارض تعرضت لـ 14.3 ppm من غاز الفورمالدهايد. وعلاوة على ذلك، أظهر استنشاق الفورمالدهايد ارتباطاً ضعيفاً بارتفاع معدل الإصابة بالسلائل الغدية داخل تجويف الأنف لدى الفئران الذكور (Swenberg, 1980; Kerns, 1983).

2.2.2. دراسات السمية البشرية للفورمالدهايد:

في ضوء التأثيرات المهيجة المرتبطة بالفورمالدهايد، نصح المعهد الوطني للسلامة والصحة المهنية في عام 1976 بأن التعرض المهني للفورمالدهايد يجب أن يقتصر على تركيز لا يتجاوز 1.2 ppm خلال أي فترة أخذ عينات مدتها 30 دقيقة في تلك المرحلة، لم يتم إثبات الإمكانات المسببة للسرطان للفورمالدهايد وبالتالي لم يتم أخذها في الاعتبار في التوصيات (Blackwell et al, 1981). وعلى الرغم من عدم وجود دليل قاطع بشأن قدرة الفورمالدهايد على التسبب في السرطان في ذلك الوقت، دعا المعهد الوطني للسلامة والصحة المهنية في عام 1981 إلى تصنيف حمض الفورميك كمادة مسرطنة محتملة وأوصى بتنفيذ تدابير للتخفيف من تعرض البشر (العمال)، وأشارت التقييمات السمية اللاحقة إلى أنه يسبب سرطان الخلايا الحرشفية في تجويف الأنف لدى الفئران. ومن الجدير بالذكر أنه في عام 1983، تم الإبلاغ عن حالة سرطان الخلايا الحرشفية في تجويف الأنف لدى رجل يبلغ من العمر 57 عامًا تعرض لمستويات منخفضة من الفورمالدهايد في عمله لمدة 25 عامًا أثناء عمله في قطاع المنسوجات (Halperin et al, 1983). أجريت دراسة لتحديد حدود التعرض المهني الموصى بها للفورمالدهايد بناءً على التهيج. وخلصت اللجنة إلى وجود أدلة كافية لإثبات أن الأفراد المصابين بالربو لا يظهرون استجابات تفاضلية مقارنة بالأشخاص الأصحاء بعد التعرض لتركيزات تصل إلى 3 ppm، وفي النهاية توصلت اللجنة إلى إجماع مع هيئات علمية أخرى، مؤكدة أن التركيزات الضئيلة من الفورمالدهايد المحمولة جواً لا تثير تهيجاً مزمناً (Paustenbach et al, 1997). وعلى العكس من ذلك، جريت دراسة تتضمن تحليل كثافة المعادن في العظام لتقييم التهيج الحسي المتعلق بالسرطان لدى المتطوعين من البشر الذين يستخدمون برنامج وكالة حماية البيئة الأمريكية لكثافة المعادن في العظام، مما أسفر عن نتائج من دراسة فردية



أفادت بتقييم تهيج العين على مقياس قياسي. وخلصت نتائج الدراسة إلى أنه عند مستويات التعرض التي تقل عن 1ppm يُعتبر خطر الإصابة بسرطان الجهاز التنفسي ضئيلاً بشكل كبير (Josje,2006).

3.2. علاقة الميثانول وسميته بحمض الفورميك والفورمالدهايد

أوضح بحث أن مستقبل الفورمات يلعب دورًا حاسمًا في سمية العصب البصري وشبكية العين بعد استهلاك كميات كبيرة من الميثانول. (Tong, 1982) وقد أظهرت دراسات (Yasugi et al, 1992; Boeniger, 1987) تركيزات حمض الفورميك البولي تباينًا كبيرًا، ومع ذلك ظلت عادة أقل من 20ppm بين الأفراد غير المتعرضين للتعرض المهني. يمكن تحديد كمية التعرض المهني للميثانول وأبخرة حمض الفورميك من خلال تقييم مستويات حمض الفورميك البولي. تعزى الآثار الضارة المرتبطة بسمية حمض الفورميك إلى الآليات التي تحفز نقص الأكسجة في الأنسجة (Liesivuori et al, 1991). وقد توصلت دراسة شاملة هدفت إلى تقييم التأثيرات الضارة الناجمة عن التعرض للميثانول، فضلاً عن توضيح تأثيرات فورمات الصوديوم وحمض الفورميك على أجنة القوارض بالكامل، بينت أن التعرض لفورمات الصوديوم أو حمض الفورميك لفترات مكافئة عند تركيزات محددة يؤدي إلى سمية جينية أقل بأربع مرات من تلك الموثقة للتعرض للميثانول (Andrews et al, 1995). وفي نتيجة ذات صلة، أظهرت الفئران المعرضة لتركيزات فورمات تتراوح بين (6-4mmol) لمدة 48 ساعة مؤشرات على ضعف الشبكية. وتشير هذه الملاحظات إلى أن حمض الفورميك الناتج عن أكسدة الميثانول يعمل كعامل سام مباشر للشبكية، وأن الخلل الوظيفي الشبكي الناجم عن الفورمات يمكن أن يتجلى في الفئران المصابة بالميثانول من خلال مستويات مرتفعة من الفورمات. والجدير بالذكر أن هذا الخلل الوظيفي يمكن أن ينشأ أيضًا من التعرض المطول لتركيزات منخفضة من الفورمات (TEells, 1996). وقد أشارت التحقيقات التي أجريت على البشر أيضًا إلى أن ضعف البصر الناتج عن سمية الميثانول بعد التعرض لفترات طويلة (أكثر من 24 ساعة) يرتبط بمستويات فورمات الدم التي تتجاوز 7 مليمول، في حين كشفت التحليلات النسيجية المرضية عن حدوث خلل في الظهارة الصبغية الشبكية والأجزاء الداخلية من المستقبلات الضوئية (TEells, 1996). وقد صاغ (Nihlen et al, 2000) نموذجًا للسمية يتعلق بالتعرض البشري لفورمات الميثيل المستنشقي، والذي شمل المناطق المتأثرة بفورمات الميثيل، ومستقبلاته، والميثانول وحمض الفورميك، إلى جانب حجرة بولية تسهل إعادة امتصاص حمض الفورميك. وأشارت نتائجهم إلى أن الجهاز البولي أصبح مشبعًا بالمركب، وزاد إفراز البول بشكل أكبر بعد التعرض الكبير. أجرى Hanzlik et al (2005) تحقيقًا حول امتصاص وإخراج فورمات الكالسيوم لدى الإناث البالغات، مع ملاحظة ارتفاع ملحوظ في تركيزات فورمات البلازما بعد حوالي 60 دقيقة من تناول 3900ppm من فورمات الكالسيوم.



تلخص العديد من التقارير السياق السريري والأدلة التجريبية في مواضيع غير بشرية، مما يدل على أن الضرر غير القابل للإصلاح في العصب البصري وشبكية العين يحدث عندما تتجاوز تركيزات فورمات الدم 7mmol لمدة لا تقل عن 24 ساعة (Kavet et al , 1990;TEells, 1996).

4.2. تداعيات نشاط الإنزيمات

تشير التأثيرات المشتركة لهذه المركبات إلى إمكانية حدوث تثبيط كبير في الأنشطة الإنزيمية الحيوية للعمليات الأيضية، مما يبرز الحاجة إلى مزيد من البحث حول تأثيراتها الطويلة الأمد على الصحة (Im et al., 2006) و (Bolt, 1987). بينما كان التركيز على التأثيرات السامة، فإنه من الضروري أيضاً مراعاة أن بعض الإنزيمات قد تتكيف أو تظهر نشاطاً متغيراً استجابةً لهذه العوامل الضاغطة، مما يدل على تفاعل معقد بين التعرض والمرونة الكيميائية الحيوية.

3. المنهجية وطرق العمل

تعتمد هذه الدراسة على مادتين كيميائيتين تقوم الدراسة عليهما وهما حمض الفورميك والفورمالدهايد وسيتم تجربتهما على فئران التجارب حتى نتمكن من معرفة تأثير أضرارهما عليها ومقارنة نتائج المادتين مع بعض.

1.3. المواد

- حمض الفورميك المعمل Formic acid ، بتركيز 0.5% و1% وهو سائل عديم اللون ذو رائحة نفاذة وصيغته الكيميائية (HCOOH)، وزنه الجزيئي (46.03)، وقد تم حفظه في درجة الغرفة العادية.
- الفورمالدهايد المعمل Formaldehyde، بتركيز 0.5% و1% وهو عبارة على شكل غاز عديم اللون في درجة حرارة الغرفة، وله رائحة نفاذة وقوية، سريع الذوبان في الماء بكميات كبيرة ومحلول الماء الناتج يعرف بالفورمالين وصيغته الكيميائية (CH₂O) وزنه الجزيئي (30.03).
- الفورمالدهايد الطبي Formaldehyde (CH₂O)، بتركيز 0.5% و1%.
- الماء المقطر.

2.3. الأجهزة:

- جهاز الطرد المركزي لفصل بلازما الدم قوته في الدقيقة 1500. كما في الشكل (1).
- جهاز مقياس الضوء البيوكيميائي القابل للبرمجة. (photometer biochemical programmable (HUMEN HUMALYZER Junior (Germany). كما في الشكل (2).



شكل 2. جهاز مقياس الضوء البيوكيميائي



شكل 1. جهاز الطرد المركزي

3.3. تحضير المحاليل

- تحضير المحلول الأول من حمض الفورميك المعملية بتركيز 0.5%: حيث سيتم السحب بواسطة الماصة 0.5ml من حمض الفورميك النقي ووضع في 100ml من الماء المقطر وسيحضر المحلول الثاني بسحب 1ml من الحمض بالماصة ووضعها في 100ml من الماء المقطر، ثم حفظه في قنينة شفافة مصنوعة من الزجاج ذات غطاء محكم الإغلاق.
- محلول الفورمالدهايد المعملية والطبي: سيتم السحب بواسطة الماصة 0.5ml من الفورمالدهايد المعملية النقي والفورمالدهايد الطبي النقي ووضعها في 100ml من الماء المقطر، وسحب بالماصة 1ml من كلاهما ووضعها في 100ml من الماء المقطر ثم حفظها في قنينة شفافة مصنوعة من الزجاج ذات غطاء محكم الإغلاق.

4.3. حيوانات التجربة

في هذه التجربة سيستخدم (200) فأر من ذكور وإناث الفئران البيضاء البالغة متوسط أوزانها 19g، أعمارها من 6-7 أشهر، سيتم إحضارها من قسم الحيوان بكلية العلوم التابعة لجامعة طرابلس ووضعهم في مكان جيد التهوية وذو حرارة مناسبة وتقديم لها التغذية والإضاءة المناسبة، مع مراعاة تركها مدة أسبوع حتى تستطيع التكيف مع البيئة الجديدة قبل بدء التجربة (الشكل 3).

5.3. التجارب Experiments

سيتم القيام بالجزء العملي على أساس تجربة قام بها (Sporn et al., 1962) بإعطاء حمض الفورميك في مياه الشرب بتركيزات 0 للمجموعة الضابطة و 0.5 و 1% لمدة 3 أشهر للذكور والإناث في الجرذان البيضاء البالغة، بناء على ذلك، تم تقسيم الفئران إلى عدة مجموعات كما يلي:
أ) المجموعة الضابطة: تتكون من 20 فأر نصفهم من الذكور والنصف الآخر من الإناث تم إعطاءها من نفس الماء المقطر الذي استخدم في تخفيف المحاليل.



ب) المجموعة المعاملة بحمض الفورميك: 60 فأر نصفهم من الذكور والآخر من الإناث وتم تقسيمهم إلى مجموعتين (30 فأر لكل مجموعة)

– المجموعة الأولى: تم إعطاؤها 0.5% من حمض الفورميك بدلا من مياه الشرب.

– المجموعة الثانية: تم إعطاؤها 1% من حمض الفورميك بدلا من مياه الشرب كما في (ج-1).

ج) المجموعة المعاملة بالفورمالدهايد

60 فأر نصفهم من الذكور والآخر من الإناث وتم تقسيمهم إلى مجموعتين (30 فأر لكل مجموعة):

– المجموعة الأولى: تم إعطاؤها 0.5% من الفورمالدهايد المعمل بدلا من مياه الشرب.

– المجموعة الثانية: تم إعطاؤها 1% من الفورمالدهايد المعمل بدلا من مياه الشرب كما في (ج-1).

د) المجموعة المعاملة بالفورمالدهايد الطبي: 60 فأر نصفهم من الذكور والآخر من الإناث وتم تقسيمهم إلى مجموعتين (30 فأر لكل مجموعة):

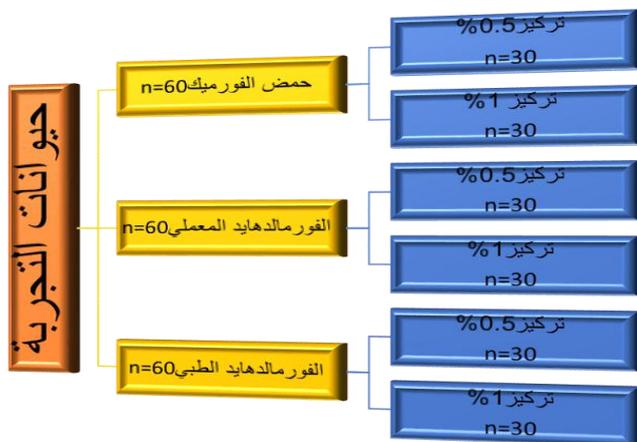
– المجموعة الأولى: تم إعطاؤها 0.5% من الفورمالدهايد الطبي بدلا من مياه الشرب.

– المجموعة الثانية: تم إعطاؤها 1% من الفورمالدهايد الطبي بدلا من مياه الشرب كما في (الجدول 1).

سيتم إعطاء جميع المجموعات النسب المختلفة من هذه المواد في مياه الشرب لمدة 7 أيام متتالية.

جدول 1. يوضح تقسيم حيوانات التجربة

المجموعة	المركب المعاملة به	الجرعة	العدد
أ	المجموع الضابطة لجميع مجموعات الدراسة		20
ب	حمض الفورميك	0.5	30
		1	30
ج	الفورمالدهايد المعمل	0.5	30
		1	30
د	الفورمالدهايد الطبي	0.5	30
		1	30
	المجموع		200



شكل 3. يوضح تقسيم حيوانات التجربة

6.3. جمع وإعداد العينات Collection of Samples:

- سيتم ذبح الفئران في نهاية التجربة وجمع عينات الدم التي تقدر كميتها بحوالي 2ml ووضع الدم في أنابيب الطرد المركزي تحتوي على مواد مانعة للتجلط.
- وضع الأنابيب المحتوية على الدم في جهاز الطرد المركزي لفصل مصل الدم (Serum) عن الصفائح الدموية وكرات الدم.
- أخذ المصل وخفف (400 في 100)، ثم وضع العينات بعد التخفيف في الجهاز لقياس الإنزيمات. القياسات المراد الكشف عنها في دم حيوانات التجربة: أنزيم AST/GOT، أنزيم ALT/GPT، أنزيم ALP، أنزيم LDH، أنزيم CPK، الكرياتينين. سيتم قياس هذه المكونات بواسطة مجموعات الكواشف الجاهزة (Kits) الخاصة بهم.

7.3. تقدير نشاط الإنزيمات: Determination the activity of some Enzymes:

1.7.3. تقدير نشاط إنزيمات نقل مجموعة الأمين Determination of Amino transferase Activity:

هناك نوعان من إنزيمات نقل مجموعة الأمين في الدم هما AST اسبارتيت امينو ترانسفيراز Aspartate amino transferase، و ALT ألانين امينو ترانسفيراز Alanin amino transferase. ويتم تقدير نشاط هاذين الإنزيمين بالطريقة التالية:

إسبارتات امينو ترانسفيراز (AST) (AST):

التفاعل الأساسي: يتم التقدير الضوئي لنشاط أنزيم AST وفقا للتفاعل الآتي:



الأنين امينوترانسفيراز (ALT) Alanine Aminotransferase :

التفاعل الأساسي: يتم التقدير الضوئي لنشاط أنزيم ALT وفقاً للتفاعل الآتي:



خطوات العمل:

1- أضف بواسطة الماصة في انبوبة اختبار 1ml من الكاشف 100µL من العينة.

2- امزج ثم خذ قراءة الامتصاصية بعد دقيقة ودقيقتين وثلاثة دقائق.

3- تحسب التغير في الامتصاصية (ΔA) لكل دقيقة.

الحسابات: Calculations

تحسب فعالية AST، ALT حسب المعادلة:

$$\text{Enzyme activity U/L} = 1746 \times \Delta A$$

حيث U/L وحدة قياس فعالية الأنزيم الدولية وحدة/لتر، و ΔA معدل تغير الامتصاص/دقيقة وهي سرعة تفاعل الأنزيم.

2.7.3. إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP (Alkaline phosphatase :

تم تقدير نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP عند طول موجي 405nm بواسطة جهاز Spectrophotometer.

التفاعل الأساسي: التقدير الضوئي لإنزيم ALP وفقاً للتفاعل الآتي:



خطوات العمل:

1- أضف بواسطة الماصة في انبوبة اختبار 2.5ml من الكاشف 50µL من العينة.

2- امزج وخذ قراءة الامتصاصية بعد دقيقة ودقيقتين وثلاثة دقائق.

3- تحسب التغير في الامتصاصية لكل دقيقة (ΔA).

الحسابات:

يقدر نشاط ALP باستخدام المعادلة الآتية:



$$\text{Enzyme activity U/L} = 2757 \times \Delta A$$

3.7.3. أنزيم لالكتات دي هيدروجينيز (LDH):

يتم تقدير نشاط أنزيم اللاكتات دي هيدروجينيز عند طول موجي 340nm بواسطة جهاز Spectrophotometer.

التفاعل الأساسي: التقدير الضوئي لنشاط أنزيم اللاكتات دي هيدروجينيز وفقاً للتفاعل الآتي:



خطوات العمل:

- 1- أضف بواسطة الماصة في انبوبة اختبار 1ml من الكاشف 20µL من العينة.
- 2- امزج وخذ قراءة الامتصاصية بعد دقيقة ودقيقتين وثلاثة دقائق.
- 3- تحسب التغير في الامتصاصية لكل دقيقة (ΔA).

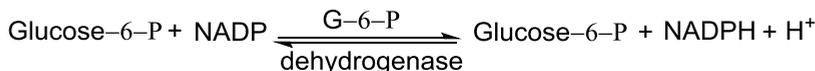
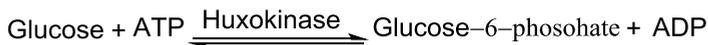
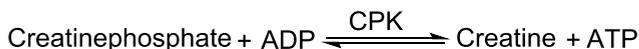
الحسابات Calculations:

تقاس فعالية LDH باستخدام المعادلة الآتية:

$$\text{Enzyme activity U/L} = 8095 \times \Delta A \text{ at } 30^\circ\text{C}.$$

4.7.3. أنزيم كرياتين فوسفوكينيز (CPK):

التفاعل الأساسي: يتم تقدير فعالية إنزيم الكرياتين كينيز وفقاً للتفاعل الآتي:



خطوات العمل:

- 1- أضف بواسطة الماصة في انبوبة اختبار 2.5ml من الكاشف 100µL من العينة.
- 2- امزج وخذ قراءة الامتصاصية بعد دقيقة ودقيقتين وثلاثة دقائق.
- 3- تحسب التغير في الامتصاصية لكل دقيقة (ΔA).



الحسابات Calculations:

تقاس فعالية CPK باستخدام المعادلة الآتية:

$$\text{Enzyme activity U/L} = 4130 \times \Delta A.$$

5.7.3. الكرياتينين / الكرياتينين Creatinine / Creatine:

التفاعل الأساسي: يتفاعل الكرياتينين Creatinine مع أملاح حامض البكريك في محلول قلوي ليكون مركبات ملونة، ويتناسب معدل تكون هذه المركبات الملونة مع تركيز الكرياتينين وبالتالي يمكن قياسه بمقارنته بمحلول قياسي.

خطوات العمل:

- 1- أضف بواسطة الماصة في أنبوبة اختبار 1ml من الكاشف 100µL من العينة. وفي أنبوبة أخرى 100µL من المحلول القياسي و100µL من الماء المقطر.
- 2- امزج وخذ قراءة الامتصاصية بعد 30 ثانية ودقيقتين.
- 3- تحسب التغير في الامتصاصية مع الزمن (ΔA).

الحسابات Calculations:

$$\text{تركيز الكرياتينين} = \text{تركيز المحلول القياسي} \times \frac{\text{للعينة (A2-A1)}}{\text{للمحلول القياسي (A2-A1)}}$$

حيث ان: A1 / الامتصاص بعد 30 ثانية للعينة أو المحلول القياسي.

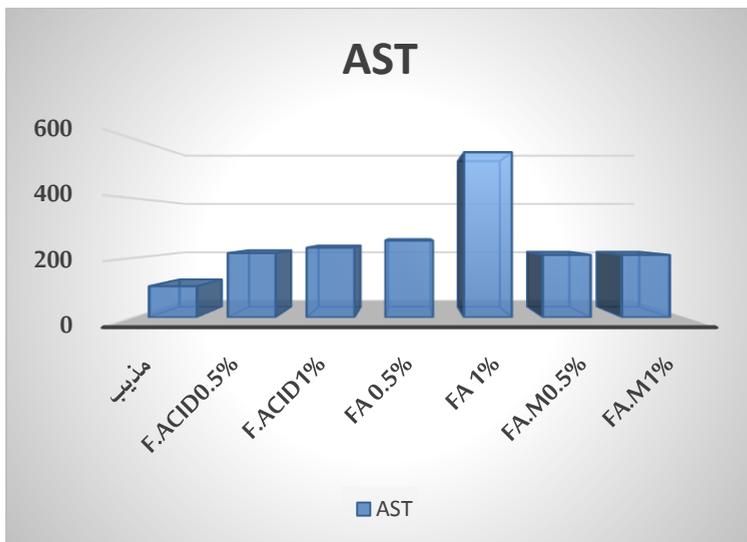
A2 / الامتصاص بعد دقيقتين للعينة أو المحلول القياسي.

تركيز المحلول القياسي = 2mg/dl أو 177µmol / L (Bartels & Boehner,1971).

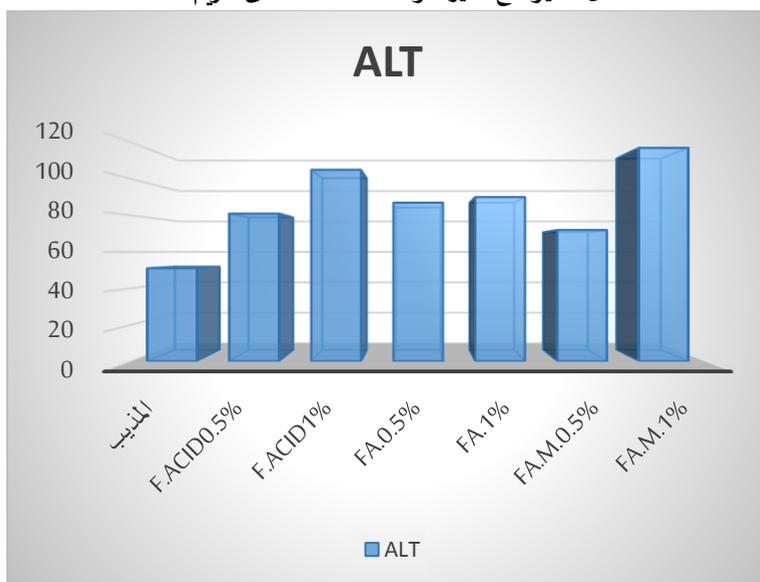
4. النتائج والمناقشة

جدول 2. تأثير المواد المستخدمة على الأنزيمات المقاسة

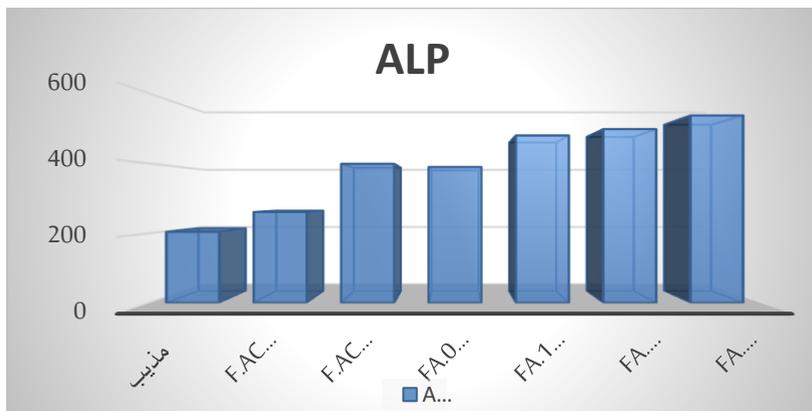
الإنزيمات	AST	ALT	ALP	CPK	الكرياتين
المجموعة الضابطة (المذيب)	105	51	204	549	0.9
حمض الفورميك 0.5%	216	81	261	4290	1.2
حمض الفورميك 1%	234	105	399	4770	1.2
الفورمالدهايد 0.5%	258	87	390	2439	0.9
الفورمالدهايد 1%	555	90	480	3381	0.9
الفورمالدهايد الطي 0.5%	210	72	498	2397	0.9
الفورمالدهايد الطي 1%	210	117	537	2550	0.9



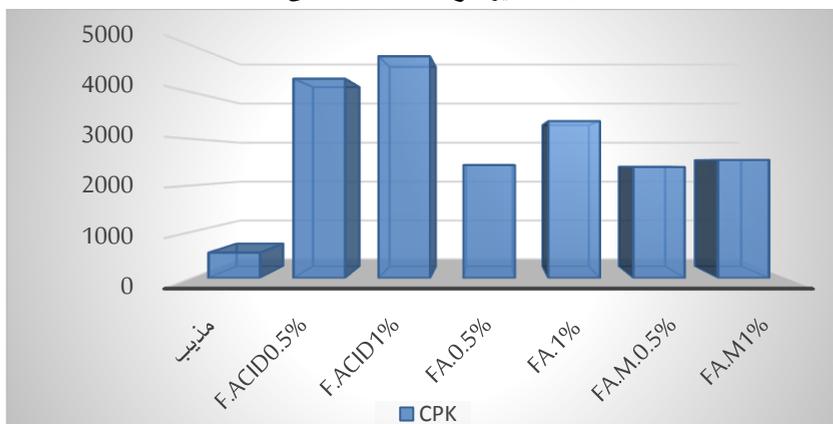
شكل 4. يوضح تأثير المواد المستخدمة على أنزيم AST



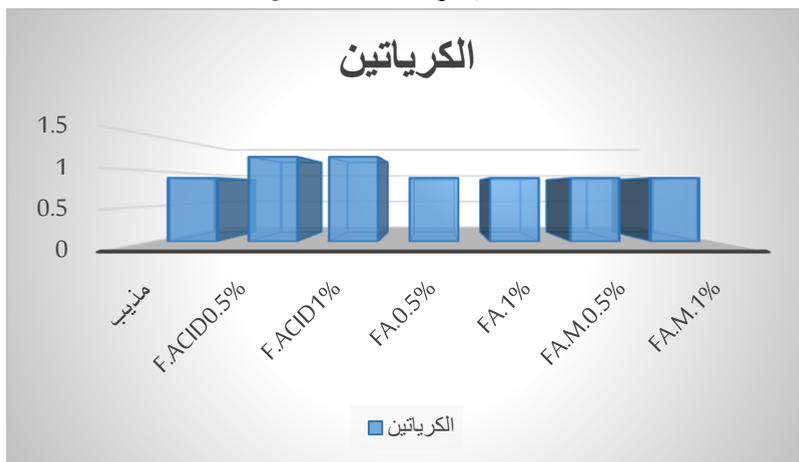
شكل 5. تأثير المواد المستخدمة على ALT



شكل 6. تأثير المواد المستخدمة على ALP



شكل 7. تأثير المواد المستخدمة على CPK



شكل 8. تأثير المواد المستخدمة على الكرياتين

5. المناقشة

توضح هذه الدراسة تأثير المواد الكيميائية مثل حمض الفورميك والفورمالدهايد (المعملي والطبي) على مجموعة من الإنزيمات الحيوية في ذكور وإناث الفئران. تُعتبر هذه الإنزيمات مؤشرات رئيسية على وظائف الأعضاء المختلفة مثل الكبد، الكلى، والعضلات. تم ملاحظة تغييرات ملحوظة في مستويات هذه الإنزيمات بالمقارنة مع القيم الطبيعية، مما يشير إلى وجود تأثيرات سامة على الأنسجة المستهدفة.

1.5. إنزيمات الناقله للأمين (AST) و(ALT)

Aspartate Aminotransferase (AST): الزيادة الملحوظة في AST لدى الفئران التي تعرضت للفورمالدهايد المعملي بتركيز (1%، 0.5%) تعكس وجود تلف كبير في خلايا الكبد. إن زيادة AST تُعد علامة موثوقة على تلف الخلايا، حيث يتسرب الإنزيم إلى مجرى الدم عندما تتعرض الخلايا لضرر أو تموت. يتسبب الفورمالدهايد في إنتاج الجذور الحرة وزيادة الإجهاد التأكسدي، مما يؤدي إلى تلف الأغشية الخلوية في الكبد (Guengerich, 2019) حمض الفورميك أيضًا له تأثير مشابه ولكن بدرجة أقل مقارنةً بالفورمالدهايد، وهو ما يتوافق مع تأثيره الخفيف على أنسجة الكبد. يُظهر أن الفورمالدهايد المعملي أكثر سمية للكبد من الفورمالدهايد الطبي، ما يشير إلى احتمالية اختلاف في تفاعلات الجسم مع الأنواع المختلفة من الفورمالدهايد.

Alanine Aminotransferase (ALT) إنزيم ALT هو إنزيم يُستخدم كمؤشر على تلف الكبد بشكل أكثر تخصصًا. أظهرت النتائج أن الفورمالدهايد الطبي بتركيز 1% كان له تأثير كبير على زيادة ALT. هذه الزيادة تشير إلى تلف مباشر في خلايا الكبد، حيث أن ALT يتواجد أساسًا داخل الكبد وعند حدوث أي ضرر، يتسرب إلى الدم (Klaassen, 2013). النتائج تشير إلى أن الفورمالدهايد الطبي له تأثير أكثر قوة على الكبد مقارنةً بالفورمالدهايد المعملي وحمض الفورميك ما قد يعود إلى اختلافات في التركيب أو درجة النقاء الكيميائي لهذه المركبات.

2.5. الفوسفاتيز القاعدي (ALP)

أظهرت الدراسة زيادة في مستويات ALP لدى جميع المجموعات التي تعرضت للفورمالدهايد وحمض الفورميك ALP. يُعد مؤشرًا على صحة الكبد والقنوات الصفراوية، وارتفاع مستوياته يرتبط بتلف القناة الصفراوية أو العظام. التأثير الأكبر للفورمالدهايد بتركيز 1% و0.5% يعكس حدوث تلف في الكبد أو القنوات الصفراوية. حمض الفورميك كان له تأثير أقل مقارنةً بالفورمالدهايد، ولكنه لا يزال يسبب



ارتفاعاً في مستويات ALP، مما يشير إلى وجود تأثير سمي على الكبد وإن كان بدرجة أقل (Lee & Niemela, 2016).

3.5. الفوسفوكيناز الكريتين (CPK)

أظهرت الدراسة أن جميع المواد الكيميائية المدروسة أثرت على مستويات CPK بشكل كبير، خاصةً حمض الفورميك. يُعتبر CPK إنزيمًا مهمًا في العضلات وعضلة القلب، وزيادته تُعد مؤشرًا على تلف العضلات أو نسيج القلب. تشير هذه الزيادة إلى أن الفورمالدهايد وحمض الفورميك يسببان ضررًا ملحوظًا للأنسجة العضلية. تسرب CPK إلى الدم يحدث عادةً نتيجة تحلل العضلات أو تضررها. الزيادة الملحوظة في مستويات CPK قد تكون نتيجة للإجهاد التأكسدي الذي يحدث في العضلات نتيجة تعرض الجسم للمواد الكيميائية السامة مثل الفورمالدهايد وحمض الفورميك (Borlak & Zwadlo, 2003).

4.5. مستوى الكرياتين

أظهرت النتائج زيادة بسيطة في مستوى الكرياتين في الفئران التي تعرضت لحمض الفورميك، مما يشير إلى خلل في وظائف الكلى. تُستخدم مستويات الكرياتين كمؤشر على صحة الكلى، حيث أن زيادته تعكس انخفاض الكفاءة الكلوية في تصفية الفضلات من الدم. من اللافت للنظر أن الفورمالدهايد، سواء كان المعملية أو الطبي لم يظهر تأثيرًا كبيرًا على مستويات الكرياتين، مما قد يشير إلى أن الفورمالدهايد لا يؤثر بنفس القدر على الكلى مقارنةً بالكبد والعضلات.

5.5. دور الإجهاد التأكسدي

تشير الدراسات إلى أن المواد الكيميائية مثل الفورمالدهايد وحمض الفورميك تزيد من إنتاج الجذور الحرة في الجسم، مما يسبب إجهادًا تأكسديًا يؤدي إلى تلف الأنسجة. يتسبب الإجهاد التأكسدي في تدمير المكونات الخلوية مثل البروتينات والدهون، مما يؤدي إلى تسرب الإنزيمات الحيوية من الخلايا المصابة إلى مجرى الدم. يُعتبر هذا الآلية الأساسية التي تسبب الزيادة في مستويات الإنزيمات المدروسة.

6. الاستنتاجات

تظهر هذه الدراسة بوضوح أن الفورمالدهايد وحمض الفورميك لهما تأثيرات سامة واضحة على أعضاء مختلفة في الفئران، بما في ذلك الكبد والعضلات والكلى. تركز التأثيرات الأكثر وضوحًا على الكبد حيث أدت جميع المواد الكيميائية إلى زيادة مستويات AST وALT، ما يشير إلى حدوث تلف في أنسجة الكبد. بالإضافة إلى ذلك، تشير الزيادة في CPK إلى تأثير سام على العضلات. تشير النتائج إلى أهمية مراقبة التعرض لهذه المواد الكيميائية في البيئات التي تستخدم فيها هذه المركبات.



- يمكن استخدام البيانات المتعلقة بتأثير الفورمالدهايد وحمض الفورميك على الإنزيمات المختلفة كجزء من إنشاء نموذج للتنبؤ بالأداء الأكاديمي. يعتمد هذا النموذج على مؤشرات بيولوجية وصحية قد تؤثر على الوظائف العقلية والبدنية، مما يعزز الفهم الشامل للطلبة في البيئة الأكاديمية. ستكون هذه البيانات مفيدة في تحديد عوامل الخطر التي تؤثر على الأداء الدراسي.
- يمكن تطوير توصيات للمقررات الدراسية بناءً على التحليلات الصحية والسمية التي أظهرتها الدراسة. المقررات التي تركز على تأثير المواد الكيميائية على الأعضاء الحيوية، مثل مقررات علم السموم والبيولوجيا الخلوية، يمكن أن تعزز من فهم الطلبة لمثل هذه التأثيرات. إضافة إلى ذلك، يمكن اقتراح مقررات في الصحة العامة والسلامة المهنية لتوعية الطلبة بأهمية الوقاية من التعرض للمواد السامة في البيئات العملية.

الشكر والتقدير

أتقدم بجزيل الشكر والتقدير لكل من ساهم في إنجاز هذا البحث، من الأساتذة التابعين لقسم الكيمياء كلية العلوم الجامعة الأسمرية الإسلامية، الذين قدموا لنا الدعم والمساندة، سواء بالمعلومة أو بالتوجيه أو بالتشجيع.

المراجع

- Barceloux, D. G., Bond, G. R., Krenzelok, E. P., Cooper, H., & Vale, J. A. (2002). American Academy of Clinical Toxicology practice guidelines on the treatment of methanol poisoning. In: *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 40(4), 415-446.
- Bernstein, R. S. (1984). Inhalation exposure to formaldehyde: An overview of its toxicology, epidemiology, monitoring, and control. In: *American Industrial Hygiene Association Journal*, 45(11), 778-785.
- Blackwell, M., & Kang, H. (1981). Formaldehyde: Evidence of carcinogenicity. In: *American Industrial Hygiene Association Journal*, 42(7), A34, A36, A38, passim.
- Boeniger, M. F. (1987). Formate in urine as a biological indicator of formaldehyde exposure: A review. In: *American Industrial Hygiene Association Journal*, 48(11), 900-908.
- Borlak, J., & Zwadlo, C. (2003). Toxicogenomics in liver injury. In: *International Journal of Toxicology*, 22(1), 29-35.
- Casteel, S. W. (1987). Formaldehyde: Toxicology and hazards. In: *Veterinary and Human Toxicology*, 29(1), 31-33.
- Donggeun, S., Kim, H. S., Oh, E., Phark, S., Cho, E., Choi, S., ... Jung, W. W. (2007). Gene expression profiling in lung tissues from rats exposed to formaldehyde. In: *Archives of Toxicology*, 81(8), 589-597.



- Green, T., Dow, J., Foster, J. R., & Hext, P. M. (1998). Formic acid excretion in rats exposed to trichloroethylene: A possible explanation for renal toxicity in long-term studies. In: *Toxicology*, 127(1-3), 39-47.
- Guengerich, F. P. (2019). Mechanisms of activation and detoxication of toxic chemicals. In: *The Toxicologist as a Risk Assessor*, 1(1), 15-35.
- Halperin, W. E., Goodman, M., Stayner, L., Elliott, L. J., & Keenlyside, R. A. (1983). Nasal cancer in a worker exposed to formaldehyde. In: *JAMA*, 249(4), 510-512.
- Hanzlik, R. P., Fowler, S. C., & Eells, J. T. (2005). Absorption and elimination of formate following oral administration of calcium formate in female human subjects. In: *Drug Metabolism and Disposition*, 33(2), 282-286.
- Hietala, J., Vuori, A., Johnsson, P., Pollar, I., Reutemann, W., & Kieczka, H. (2016). *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.
- Hosub, I., Oh, E., Mun, J., Khim, J. Y., Lee, E., Kang, H. S., ... Sul, D. (2006). Evaluation of toxicological monitoring markers using proteomic analysis in rats exposed to formaldehyde. In: *Journal of Proteome Research*, 5(6), 1354-1366.
- Inci, M. (2013). Toxic effects of formaldehyde on the urinary system. In: *Turkish Journal of Urology*, 39(1), 48-52.
- Janis, T. E., McMartin, K. E., Black, K. A., Virayotha, V., Tisdell, R. H., & Tephly, T. R. (1981). Formaldehyde poisoning: Rapid metabolism to formic acid. In: *JAMA*, 246(11), 1237-1238.
- Josje, H. E., Rennen, M., & Heer, C. D. (2006). Inhaled formaldehyde: Evaluation of sensory irritation in relation to carcinogenicity. In: *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 44(2), 144-160.
- Kavet, R., & Nauss, K. M. (1990). The toxicity of inhaled methanol vapors. In: *Critical Reviews in Toxicology*, 21(1), 21-50.
- Kerns, W. D., Pavkov, K. L., Donofrio, D. J., Gralla, E. J., & Swenberg, J. A. (1983). Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure. In: *Cancer Research*, 43(9), 4382-4392.
- Klaassen, C. D. (2013). *Casarett & Doull's toxicology: The basic science of poisons*. McGraw-Hill.
- Liesivuori, J., & Savolainen, H. (1991). Methanol and formic acid toxicity: Biochemical mechanisms. In: *Pharmacology & Toxicology*, 69(3), 157-163.
- Liu, D.-M., Zhou, S., Chen, J., & Xia, W. (2015). Distribution of formic acid after methanol intoxication in rats. In: *Fa Yi Xue Za Zhi*, 31(6), 450-453.
- Nihlen, A., & Droz, P.-O. (2000). Toxicokinetic modelling of methyl formate exposure and implications for biological monitoring. In: *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 73(7), 479-487.
- Paustenbach, D., Alarie, Y., Kulle, T., & Schachter, N. (1997). A recommended occupational exposure limit for formaldehyde based on irritation. In: *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 50(3), 217-263.
- Sigurdsson, J., Björnsson, A., & Gudmundsson, S. T. (1983). Formic acid burn—local and systemic effects: Report of a case. In: *Burns*, 9(5), 358-361.
- Skrzydłowska, E. (2003). Toxicological and metabolic consequences of methanol poisoning. In: *Toxicology Mechanisms and Methods*, 13(4), 277-293.



- Swenberg, J. A., & Kerns, W. D. (1980). Induction of squamous cell carcinomas of the rat nasal cavity by inhalation exposure to formaldehyde vapor. In: *Cancer Research*, 40(9), 3398-3402.
- Tells, J. (1996). Formate-induced alterations in retinal function in methanol-intoxicated rats. In: *Toxicology and Applied Pharmacology*, 140(1), 58-69.
- Tong, T. G. (1982). The alcohols. In: *Critical Care Nursing Quarterly*, 4(4), 75-87.
- Verstraete, A. G., Vogelaers, D. P., Bogaerde, J. F. V. D., Colardyn, F. A., Ackerman, C. M., & Buylaert, W. A. (1989). Formic acid poisoning: Case report and in vitro study of the hemolytic activity. In: *The American Journal of Emergency Medicine*, 7(3), 286-290.
- Yasugi, T., Kawai, T., & Mizunuma, K. (1992). Formic acid excretion in comparison with methanol excretion in urine of workers occupationally exposed to methanol. In: *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 64(5), 329-337.
- Yelon, J. A., Simpson, R. L., & Gudjonsson, O. (1996). Formic acid inhalation injury: A case report. In: *Journal of Burn Care Research*, 17(3), 241-242.