جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء ـ كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تأثير المستخلص المائي البارد للثوم (*Allium sativum*) على بعض المعايير الفسلجية والنسجية لذكور الأرانب المعاملة بالسايكلوفوسفومايد

رسالة مقدمة من قبل الطالب

علي حسين كاظم العكايشي

بكالوريوس تربية علوم حياة ـ جامعة كربلاء / 2010

إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة ـ علم الحيوان

إشراف

أ.د. ستار جاسم حتروش الراجحي

ربيع الثاني 1438هـ

كانون الثاني2017 م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

((. . . وَقُلْ رَّبِّ زِدْنِي عِلْماً))

صدق الله العلي العظيم

سورة طـه (الآية 114)

إقرار المقوم اللغوي

أشهد بأنَّ هذه الرسالة والموسومة بـ ((**تأثير المستخلص المائي البارد للثوم (*Allium sativum*) على بعض المعايير الفسلجية والنُسجية لذكور الأرانب المعاملة بالسايكلوفوسفومايد**)) قد تمت مراجعتها من الناحيتين اللّغوية والتعبيرية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء ، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الإسم: كريم عبد الواحد كريم النصراوي

المرتبة العلمية: مدرس مساعد

القسم - الكلية / الجامعة: قسم الكيمياء - كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2017

إقرار المشرف على الرسالة

أشهد بأنَّ إعداد هذه الرسالة قد جرى بإشرافي في قسم علوم الحياة - كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء ، وهي جزءٌ من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان.

التوقيع:

الإسم: د. ستار جاسم حتروش

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2017

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى الإقرار المبين أعلاه من قبل الأستاذ المشرف على الرسالة ، أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الإسم: د. ياسمين خضير خلف

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2017

الإهـــداء

إلى وطني الغالي .. أرض الرافدين .. بلد الحضارات والمقدسات

..... عراقي الجريح (حماه الله من كل شر)

إلى مدينتي الحبيبة .. حيث فيها ولادتي ونشأتي

..... كربلاء المقدسة (حفظها الله من كل مكروه)

إلى من أعتز بحمل إسمه .. قدوتي ومثلي الأعلى بالحياة

..... والدي العزيز (أطال الله في عمره)

إلى ينبوع الحنان وربيع الرحمة والأمان

..... والدتي الحبيبة (رحمها الله برحمته الواسعة)

إلى عوني وسندي في هذه الحياة

..... أخي وأختي (وفقهم الله لكل خير)

إلى كل من ساعدني وأنارني بنور معرفته

..... أساتذتي الكرام وزملائي الأعزاء

أهدي ثمرة جهدي العلمي المتواضع هذا

الباحث

شكر وتقدير

الحمد لله الواحد الأحد الفرد الصمد الذي لم يلد ولم يولد ولم يكن له كفواً أحد ، تعالى عن الصاحبة والولد ، واستغنى عن العدة والعدد ، والصلاة والسلام على أفضل أنبيائه وخيرة أصفيائه.. محمد المصطفى وعلى آله الطيبين الطاهرين أعلام الهدى والعروة الوثقى وأولي الحجة والنهى ، الحمد لله الذي جعل العلم ضياءً والقران نوراً ورفع الذين أوتوا العلم درجات عاليات كان ذلك في الكتاب مسطوراً ، إلهي ما بي من نعمة فمنك وحدك لا شريك لك ، فلك الحمد والشكر على نعمائك كلها.

وأنا أطوي الصفحات الأخيرة من بحثي هذا ، يطيب لي أن أتقدم بالشكر والإمتنان لمشرفي على هذه الرسالة أ.د. ستار جاسم حتروش الراجحي (تخصص فسلجة حيوانية) لما له من فضل كبير في إقتراح موضوع البحث ومتابعته وإغنائه بالتوصيات والإرشادات السديدة وإشرافه المباشر خلال مدة البحث وكتابة الرسالة لحين إتمام العمل بأفضل صورة ، فأسال الله العلي القدير أن يمُنَّ عليه بالصحة والعافية وأن يسدد خطاه لكل خير.

ويسرني أن أتقدم بالشكر الجزيل إلى رئاسة جامعة كربلاء لإتاحتها لي فرصة إكمال دراستي ، كما ويشرفني أن أتقدم بالشكر والعرفان لعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة ، وبالأخص أ.د. نجم عبد الحسين نجم (عميد الكلية) ، وكذلك الشكر موصول لكل من أ.د. عبدالأمير عودة إسماعيل (تخصص أمراض نسجية) و أ. حسين علي عبد اللطيف (تخصص فسلجة تناسل) و أ.م.د. نصير مرزا حمزة (تخصص تشريح مقارن) ، لتذليلهم الكثير من العقبات التي صادفتني خلال مدة البحث مستفيداً من إرشاداتهم وتوصياتهم القيمة وذلك لما يمتلكوه من خبرات علمية متراكمة في مجال تخصصهم.

كما ويطيب لي أن أتوجه بالشكر والإحترام لعمادة كلية الطب البيطري ، وبالأخص أ.د. وفاق جبوري البازي (عميد الكلية) لتسهيل إجراءات العمل في مختبرات الكلية ، وكذلك أشكر أ.م.د. عايد حميد حسن (رئيس فرع الفسلجة والأدوية) لوقفته المشرِّفة معي ومساعدتي قولاً وفعلاً أثناء تواجدي في مختبرات الكلية.

ولا أنسى أن أتقدم بخالص شكري لدائرة صحة كربلاء المقدسة وإدارة مستشفى الحسين (ع) التعليمي بالمحافظة على تسهيل مهمتي في التواجد والإطلاع على أحدث الأجهزة المختبرية مع أخذ المشورة العلمية من الكادر الطبي المتواجد داخل وحدات شعبة المختبر (بالأخص وحدات أمراض الدم والكيمياء السريرية والتقطيع النسيجي) ، لذا أود التعبير عن إمتناني لكل من ساعدني من المنتسبين العاملين بالوحدات المذكورة آنفاً.

وأخيراً ، تعجز الكلمات عن شكر الأكف البيض التي لطالما دفعتني للسير قدماً في طريق العلم والمعرفة.. أبي الغالي (أطال الله في عمره) وأمي الحنونة (رحمها الله بواسع رحمته) اللذان زرعا في نفسي روح المثابرة وصولاً لتحقيق الهدف المنشود ، وكذلك شكري وإمتناني لعوني وسندي في هذه الحياة .. أخي وأختي (العزيزين على قلبي) لمساعدتهم لي في تجاوز الكثير من الصعوبات التي ألمَّت بي خلال مدة الدراسة. ولا يفوتني أن أشكر زملائي وزميلاتي (طلبة الدراسات العليا) لتعاونهم معي خلال مسيرة دراستي. كما أقدم شكري وتقديري لكل من غاب إسمه وحضر فضله وخير عمله.. وفقهم الله جميعاً لما يحبه ويرضاه ولكل أعمال الخير إنهُ سميعٌ مجيبٌ...

الباحث

الخلاصــة

أُجريت هذه الدراسة في أماكن مختلفة ، كمختبرات قسم علوم الحياة في كليــة التربيــة للعلوم الصرفة - جامعـة كربــلاء ، ومختبرات كلية الطب البيطري - جامعة كربلاء ، بالإضـافة لمختبرات مستشفى الحسين (ع) التعليمي في محافظة كربلاء. إستغرقت الدراسة مدة ثمانية أشهر تقريبا إمتدت من شهر شباط 2016 لغاية شهر أيلول 2016 ، وذلك لمعرفة تأثير المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (***Allium sativum***) على بعض المعايير الفسيولوجية (بعض المعايير الدموية وعدد من المعايير الكيموحيوية) والمعايير النُسجية (أنسجة الكبد والكلى) لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (Cyclophosphamide) ، إذ تم إستخدام 25 ذكراً من الأرانب المحلية والتي تراوحت أعمارها من 6-7 أشهر تقريباً ، فيما تراوحت أوزانها من 1050-1080غم ، وقُسِّمت هذه الحيوانات عشوائياً إلى خمس مجموعات (بواقع خمسة حيوانات لكل مجموعة) وبحسب التوصيف الآتي:

المجموعة الأولى (G1) (السيطرة السالبة): أعطيت الماء والعليقة الغذائية (بلت) يومياً ولمدة 30 يوماً.
المجموعة الثانية (G2) (السيطرة الموجبة): جرعت فموياً بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) يومياً ولمدة 30 يوماً.
المجموعة الثالثة (G3): جرعت فموياً بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) يومياً ولمدة 30 يوماً قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) يومياً ولمدة 30 يوماً أخرى.
المجموعة الرابعة (G4): جرعت فموياً بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مع التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) في آنٍ واحد يومياً ولمدة 30 يوماً.
المجموعة الخامسة (G5): جرعت فموياً بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) يومياً ولمدة 30 يوماً بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) يومياً ولمدة 30 يوماً أيضاً.

تم تسجيل أوزان الحيوانات قبل وبعد إجراء التجربة ، ثم حُفظت عينات الدم بعد سحبه من القلب مباشرةً ، بعدها تم التضحية بالحيوانات بتشريحها وإستئصال الكبد والكلى مع تسجيل أوزانها ، ثم أجريت الفحوصات المختبرية اللازمة لمعرفة التغيرات المرضية الحاصلة في المعايير الفسيولوجية والنُسجية المدروسة. فأظهرت نتائج الدراسة الحالية حدوث إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) لجميع المعايير الوزنية المدروسة (أوزان الجسم وأوزان الكبد والكلى) لمجموعة السيطرة الموجبة مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة. أما عند إجراء التداخل (ثلاثة تداخلات) بين المستخلص النباتي والعقار المستخدم للمجموعات الثلاث الأخيرة (قبل ومع وبعد العقار) لإختبار فعالية المستخلص في الحد أو التقليل من التأثيرات السمية للعقار، فقد أظهرت النتائج حدوث إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) لجميع المعايير الوزنية المدروسة مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

كما تم قياس بعض المعايير الدموية وهي: عدد كريات الدم الحمر (R.B.Cs) وعدد خلايا الدم البيض (W.B.Cs) وحجم خلايا الدم المضغوطة (P.C.V) ومستوى الهيموغلوبين (Hb.) ، إذ أظهرت النتائج حدوث إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في جميع هذه المعايير لمجموعة السيطرة الموجبة مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة. أما عند إجراء التداخل

(ثلاثة تداخلات) بين المستخلص النباتي والعقار المستخدم للمجموعات الثلاث الأخيرة (قبل ومع وبعد العقار) لإختبار فعالية المستخلص في الحد أو التقليل من التأثيرات السمية للعقار، فقد أظهرت النتائج حدوث إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في جميع هذه المعايير للمجموعة المعاملة بالمستخلص مع العقار وبعده ، بينما لم تكن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في حالة المجموعة المعاملة بالمستخلص قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

وأيضاً تم قياس عدد من المعايير الكيموحيوية وهي: فعالية الإنزيمين الناقلين لمجموعة الأمين في مصل الدم (ALT وAST) وفعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) ومستوى البيليروبين الكلي (.T.Bil) ، ومستوى الكوليستيرول الكلي (.T.C) ومستوى الألبومين (Albumin) ومستوى اليوريا (Urea) ومستوى الكرياتنين (Creatinine) ، إذ أظهرت النتائج حدوث إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في جميع هذه المعايير عدا مستوى البيليروبين الكلي والألبومين ، فقد بينت النتائج وجود إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى الألبومين ، في حين لم تكن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي لمجموعة السيطرة الموجبة مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة. أما عند إجراء التداخل (ثلاثة تداخلات) بين المستخلص النباتي والعقار المستخدم للمجموعات الثلاث الأخيرة (قبل ومع وبعد العقار) لإختبار فعالية المستخلص في الحد أو التقليل من التأثيرات السمية للعقار، إذ أظهرت النتائج حدوث إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في جميع هذه المعايير عدا مستوى البيليروبين الكلي والألبومين ، فقد بينت النتائج وجود إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى الألبومين ، في حين لم تكن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) أيضا في مستوى البيليروبين الكلي مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

وفيما يتعلق بالجانب النسيجي من هذه الدراسة ، فقد تم فحص أنسجة كل من الكبد والكلى لمجموعات التجربة الخمس لغرض معرفة التغيرات النسجية المرضية الحاصلة مقارنة بالحالة الطبيعية ، فقد أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج الكبد التابع لمجموعة السيطرة الموجبة مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة وجود إحتقان دموي للوريد المركزي مع تنخر شديد للخلايا الكبدية من النوع التجلطي ، وكذلك إرتشاح للخلايا الإلتهابية من نوع العدلة حول الوريد المركزي المحتقن ، إضافةً لتفجي سايتوبلازم الخلايا الكبدية ممّا أدّى إلى تضخمها ، وكذلك حدوث تليّف واضح حول القنوات الصفراوية. في حين أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج الكلى التابع لمجموعة السيطرة الموجبة مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة وجود ضمور في اللمة الشعرية داخل الكبيبة الكلوية ممّا أدّى إلى كبر حجم فسحة بومان مع وجود تنخر شديد لخلايا النبيبات الملتوية ، كذلك وجود إحتقان دموي شديد للأوعية الدموية (الشرين الكلوي) ، كما لوحظ وجود تغيرات تنكسية متمثلة بتفجي سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية. أما عند إجراء التداخل (ثلاثة تداخلات) بين المستخلص النباتي والعقار المستخدم للمجموعات الثلاث الأخيرة (قبل ومع وبعد العقار) لإختبار فعالية المستخلص في الحد أو التقليل من التأثيرات السمية للعقار، فقد أظهرت نتائج الفحص المجهري حدوث تحسن نسبي واضح في أنسجة كل من الكبد والكلى للمجموعة المعاملة بالمستخلص مع العقار وبعده ، بينما لم تكن هناك فروقات كبيرة تذكر للتأثيرات المرضية على أنسجة الكبد والكلى في حالة المجموعة المعاملة بالمستخلص قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

ممّا تقدم نستنتج بأنَّ تجريع ذكور الأرانب المحلية فموياً بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) يومياً لمدة 30 يوماً ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) لهُ فعّالية جيدة في التقليل من التأثيرات السُمية للعقار المستخدم ، إذ تبيّن أنَّ التجريع بالمستخلص مع العقار كانت له الفعالية الأقوى ، بينما كان التجريع بالمستخلص بعد العقار أقل فعّالية من السابق ، في حين أنَّ التجريع بالمستخلص قبل العقار كان لهُ فعّالية ضعيفة في التقليل من تأثيرات عقار السايكلوفوسفومايد فيما يخص المعايير الفسيولوجية والنُسجية المدروسة.

قائمة بالمحتويات

الموضوع	الصفحة
الخلاصة باللغة العربية	**II-I**
قائمة بالمحتويات	**III**
قائمة بالجداول	**VII**
قائمة بالصور	**VIII**
قائمة بالمختصرات	**IX**
الفصل الأول: المقدمة (Introduction)	**3-1**
الفصل الثاني: إستعراض المراجع (Literature Review)	**19-4**
1.2 نبات الثوم *Allium sativum* :	4
1.1.2 نبذة عامة عن النبات	4
2.1.2 التصنيف العلمي للنبات	4
3.1.2 التركيب الكيميائي للنبات	5
4.1.2 أصل النبات وبعض أنواعه	7
5.1.2 آليات زراعة النبات	7
6.1.2 بعض فوائد وإستعمالات النبات	8
7.1.2 النبات وبعض طرائق تخزينه	9
8.1.2 النبات وأكثر دول إنتاجه	9
9.1.2 التأثيرات المختلفة للنبات على وظائف الجسم	10
2.2 عقار السايكلوفوسفومايد Cyclophosphamide:	12
1.2.2 نبذة عن العقار: تصنيفه ، إكتشافه وبعض إستعمالاته	12
2.2.2 بعض تأثيرات العقار	13
3.2.2 آلية عمل العقار	14
4.2.2 الخصائص الفيزيائية والكيميائية للعقار	14
5.2.2 طرق إعطاء العقار	15
6.2.2 الآثار الجانبية للعقار:	16
1.6.2.2 الآثار الجانبية على مكونات الدم	16
2.6.2.2 الآثار الجانبية على نسيج الكبد	17
3.6.2.2 الآثار الجانبية على نسيج الكلية	17
4.6.2.2 الآثار الجانبية على أعضاء الجسم الأخرى	18
5.6.2.2 السرطانات والأورام الثانوية التي يسببها العقار	19
الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل (Materials & Methods)	**55-20**
1.3 المواد Materials:	20

1.1.3 حيوانات التجربة	20
2.1.3 النبات المستعمل بالتجربة	22
3.1.3 العقار المستعمل بالتجربة	23
4.1.3 المتطلبات المستعملة في التجربة:	24
1.4.1.3 الأجهزة المستعملة	24
2.4.1.3 الأدوات المستعملة	25
3.4.1.3 المواد الكيميائية المستعملة	26
4.4.1.3 العُدد المستعملة	27
2.3 طرائق العمل Methods:	28
1.2.3 الجرعة المناسبة للمستخلص النباتي المستخدم	28
2.2.3 الجرعة المناسبة للعقار المستخدم	28
3.2.3 تحضير المستخلص النباتي المائي	28
4.2.3 تصميم التجربة:	29
مخطط تصميم التجربة	31
محاور الدراسة	31
5.2.3 الكشوفات الكيميائية النوعية:	32
1.5.2.3 الكشف عن الكربوهيدرات	32
2.5.2.3 الكشف عن الفلافونيدات	32
3.5.2.3 الكشف عن الكومارينات	32
4.5.2.3 الكشف عن القلويدات	33
5.5.2.3 الكشف عن الصابونينات	33
6.5.2.3 الكشف عن الفينولات	33
7.5.2.3 الكشف عن التربينات والستيرولات	33
8.5.2.3 الكشف عن الراتنجات	34
9.5.2.3 الكشف عن الزيوت الطيارة	34
10.5.2.3 الكشف عن التانينات	34
6.2.3 تحضير المحاليل:	35
1.6.2.3 محلول دارئ الفوسفات الفسيولوجي	35
2.6.2.3 محلول ملون الهيماتوكسلين	35
3.6.2.3 محلول ملون الآيوسين الكحولي	35
7.2.3 جمع عينات الدم	36
8.2.3 جمع عينات الكبد والكلى	36
9.2.3 الدراسة الفسيولوجية:	37
1.9.2.3 قياس مستوى بعض المعايير الدموية:	37
1.1.9.2.3 قياس عدد كريات الدم الحمر (R.B.Cs)	37
2.1.9.2.3 قياس عدد خلايا الدم البيض (W.B.Cs)	37
3.1.9.2.3 قياس حجم خلايا الدم المضغوطة (P.C.V)	38

4.1.9.2.3 قياس مستوى الهيموغلوبين (.Hb)	38
2.9.2.3 قياس مستوى عدد من المعايير الكيموحيوية:	39
1.2.9.2.3 قياس فعالية الإنزيمين الناقلين لمجموعة الأمين (ALT وAST) في مصل الدم	39
2.2.9.2.3 قياس فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) في مصل الدم	42
3.2.9.2.3 قياس مستوى البيليروبين الكلي (.T.Bil) في مصل الدم	44
4.2.9.2.3 قياس مستوى الكوليستيرول الكلي (.T.C) في مصل الدم	46
5.2.9.2.3 قياس مستوى الألبومين (Albumin) في مصل الدم	48
6.2.9.2.3 قياس مستوى اليوريا (Urea) في مصل الدم	49
7.2.9.2.3 قياس مستوى الكرياتنين (Creatinine) في مصل الدم	51
10.2.3 الدراسة النُسجية	53
11.2.3 التحليل الإحصائي	55
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة (Results & Discussion)	**99-56**
1.4 الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة للمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم	56
2.4 التغيرات السلوكية والمظهرية لذكور الأرانب المحلية	57
3.4 التغيرات الوزنية:	57
1.3.4 التغيرات في أوزان الجسم	57
2.3.4 التغيرات في أوزان الكبد والكلى	60
4.4 التغيرات الفسيولوجية:	62
1.4.4 التغيرات في مستويات بعض المعايير الدموية:	62
1.1.4.4 التغيرات في عدد كريات الدم الحمر (R.B.Cs)	62
2.1.4.4 التغيرات في عدد خلايا الدم البيض (W.B.Cs)	63
3.1.4.4 التغيرات في حجم خلايا الدم المضغوطة (P.C.V)	65
4.1.4.4 التغيرات في مستوى الهيموغلوبين (.Hb) بالدم	65
2.4.4 التغيرات في مستويات عدد من المعايير الكيموحيوية:	68
1.2.4.4 التغيرات في مستوى فعالية الإنزيم الناقل لمجموعة الأمين (ALT) في مصل الدم	68
2.2.4.4 التغيرات في مستوى فعالية الإنزيم الناقل لمجموعة الأمين (AST) في مصل الدم	69
3.2.4.4 التغيرات في مستوى فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) في مصل الدم	71
4.2.4.4 التغيرات في مستوى البيليروبين الكلي (.T.Bil) في مصل الدم	74
5.2.4.4 التغيرات في مستوى الكوليستيرول الكلي (.T.C) في مصل الدم	74
6.2.4.4 التغيرات في مستوى الألبومين (Albumin) في مصل الدم	76
7.2.4.4 التغيرات في مستوى اليوريا (Urea) في مصل الدم	77
8.2.4.4 التغيرات في مستوى الكرياتنين (Creatinine) في مصل الدم	78
5.4 التغيرات النُسجية:	80
1.5.4 نسيج الكبد:	81
1.1.5.4 مجموعة السيطرة السالبة لنسيج كبد ذكور الأرانب المحلية الطبيعية	81
2.1.5.4 مجموعة السيطرة الموجبة لنسيج كبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد	82

3.1.5.4 التغيرات النسجية المرضية لكبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد	83
4.1.5.4 التغيرات النسجية المرضية لكبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آنٍ واحد	84
5.1.5.4 التغيرات النسجية المرضية لكبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد	85
2.5.4 نسيج الكلية:	88
1.2.5.4 مجموعة السيطرة السالبة لنسيج كلية ذكور الأرانب المحلية الطبيعية	88
2.2.5.4 مجموعة السيطرة الموجبة لنسيج كلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد	89
3.2.5.4 التغيرات النسجية المرضية لكلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد	92
4.2.5.4 التغيرات النسجية المرضية لكلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آنٍ واحد	94
5.2.5.4 التغيرات النسجية المرضية لكلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد	96
الإستنتاجات والتوصيات: (Conclusions & Recommendations)	**101 -100**
• الإستنتاجات	100
• التوصيات	101
المصادر: (References)	**120 -102**
• المصادر العربية	102
• المصادر الأجنبية	103
الخلاصة باللغة الإنكليزية: (Summary)	**III-I**

قائمة بالجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1-3	الأجهـــزة المســـتعملة فـــي الإختبـــارات الخاصـــة بالدراســـة الحاليـــة بحسب الشركة المصنعة وبلد المنشأ	24
2-3	الأدوات المســـتعملة فـــي الإختبـــارات الخاصـــة بالدراســـة الحاليـــة بحسب الشركة المصنعة وبلد المنشأ	25
3-3	المـواد الكيميائيـة المسـتعملة فـي الإختبـارات الخاصـة بالدراسـة الحاليـة بحسب الشركة المصنعة وبلد المنشأ	26
4-3	العُـدد الجـاهزة والمسـتعملة فـي الإختبـارات الخاصـة بالدراسـة الحاليـة بحسب الشركة المصنعة وبلد المنشأ	27
1-4	بعض الكشوفات الكيميائية النوعية للمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم	56
2-4	تأثير المستخلص المائي للثوم على أوزان الجسم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد	59
3-4	تأثير المستخلص المائي للثوم على أوزان الكبد والكلى لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد	62
4-4	تأثير المستخلص المائي للثوم على مستويات بعض المعايير الدموية لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد	67
5-4	تأثير المستخلص المائي للثوم على مستوى فعالية بعض إنزيمات الكبد في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد	73
6-4	تأثير المستخلص المائي للثوم على مستويات البيليروبين الكلي والكوليستيرول الكلي والألبومين في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد	77
7-4	تأثير المستخلص المائي للثوم على مستويات اليوريا والكرياتنين في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد	80

قائمة بالصور

رقم الصورة	عنوان الصورة	الصفحة
1-3	نموذج لحيوانات التجربة (الأرانب المحلية)	20
2-3أ	فصوص نبات الثوم الجاف مغلفة بقشرة خارجية	22
2-3ب	فصوص نبات الثوم منزوعة القشرة الخارجية	22
3-3أ	عقار السايكلوفوسفومايد (Endoxan) بشكل فيال (Vial) وبسعة 200 ملغم	23
3-3ب	عقار السايكلوفوسفومايد (Endoxan) بشكل حبوب (Tablets) وبوزن 50 ملغم لكل حبة	23
1-4	مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب محلي طبيعي (السيطرة السالبة) (400X) (صبغة H.&E.)	81
2-4	مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب محلي معامل بعقار السايكلوفوسفومايد (السيطرة الموجبة) (400X) (صبغة H.&E.)	83
3-4	مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة H.&E.)	84
4-4	مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آنٍ واحد (400X) (صبغة H.&E.)	85
5-4	مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة H.&E.)	86
6-4	مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي طبيعي (السيطرة السالبة) (400X) (صبغة H.&E.)	89
7-4أ	مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بعقار السايكلوفوسفومايد (السيطرة الموجبة) (400X) (صبغة H.&E.)	90
7-4ب	مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بعقار السايكلوفوسفومايد (السيطرة الموجبة) (400X) (صبغة H.&E.)	91
7-4ج	مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بعقار السايكلوفوسفومايد (السيطرة الموجبة) (400X) (صبغة H.&E.)	92
8-4أ	مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة H.&E.)	93
8-4ب	مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة H.&E.)	94
9-4أ	مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آنٍ واحد (400X) (صبغة H.&E.)	95

4-9ب	مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آنٍ واحد (400X) (صبغة .H.&E)	96
4-10أ	مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E)	97
4-10ب	مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E)	98

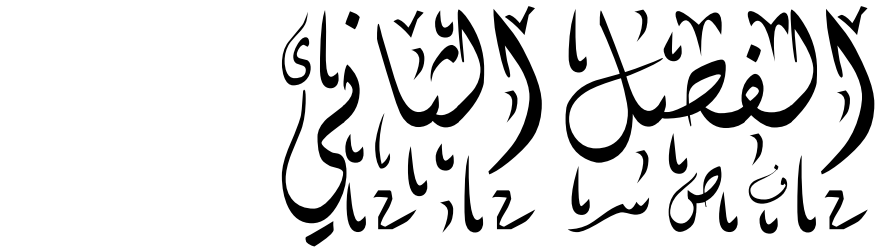
قائمة بالمختصرات

المختصر	المصطلح باللغتين العربية والإنكليزية
(ALP)	إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline Phosphatase)
(AST)	إنزيم ناقل لمجموعة الأمين في مصل الدم (Aspartate Transaminase)
(ALT)	إنزيم ناقل لمجموعة الأمين في مصل الدم (Alanine Transaminase)
(E.)	آيوسين (Eosin)
(T.Bil.)	بيليروبين كلي (Total Bilirubin)
(T3)	ثلاثي يوديد الثايرونين (Tri Iodo Thyronin)
(DNPH)	ثنائي نترو فنيل هايدرازين (Di Nitro Phenyl Hydrazine)
(P.C.V)	حجم خلايا الدم المضغوطة (Packed Cell Volume)
(W.B.Cs)	خلايا الدم البيض (White Blood Cells)
(T4)	رباعي يوديد الثايروكسين (Tetra Iodo Thyroxin)
(R.B.Cs)	كريات الدم الحمر (Red Blood Corpuscles)
(T.C.)	كوليستيرول كلي (Total Cholesterol)
(D.P.X)	مبدأ تلدين الزايلين (Doctrine Plasticizer Xylene)
(FAO)	منظمة الزراعة والأغذية (Food Agricultural Organization)
(WHO)	منظمة الصحة العالمية (World Health Organization)
(GH)	هرمون النمو (Growth Hormone)
(H.)	هيماتوكسلين (Hematoxylene)
(Hb.)	هيموغلوبين (Hemoglobin)

الفصل الأول

المقدمة

Introduction



الفصل الثاني

إستعراض المراجع

Literature Review

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials & Methods

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results & Discussion

الإستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommendations

المصادر

References

المقدمة

Introduction

إستُعملت النباتات الطبية ومستخلصاتها منذ القدم ، إذ كانت الشعوب القديمة تستعملها في علاج مختلف الأمراض التي كانت تصيبهم ، ممّا أدّى إلى إزدياد الإهتمام بالنباتات والأعشاب الطبية سواء بإستعمالها مباشرةً دون أي معاملة مثلما كانت تُستعمل سابقاً ، أو بفصل المركبات الفعالة طبياً منها ومن ثم الإستفادة منها في علاج العديد من الأمراض ، إذ تُشكل النباتات مصدراً مهما للمركبات التي تدخل في تحضير العقاقير الطبية المختلفة ، وتكمن أهميتها في أنها لا تحتوي غالباً على مواد ذات تأثير جانبي ضار، فقد أثبتت الدراسات الحديثة أنَّ العديد من العقاقير الطبية ذات المصدر الكيميائي لها تأثيرات جانبية خطيرة ، لذا إتّجه العلماء والباحثون في السنوات الأخيرة وبمختلف أنحاء العالم إلى دراسة النباتات الطبية ومعرفة تأثيراتها وفوائدها الوقائية والعلاجية نظرا لأهميتها الكبيرة من النواحي: العلمية ، الطبية ، الصناعية ، التجارية وغيرها (قبيعة،2011).

ولا يخفى دور العلماء العرب في هذا المجال ، إذ كان لهم الفضل الكبير في مجال المعالجة بالأعشاب النباتية ، فقد دوّن إبن سينا في كتابه " القانون " 760 دواءً في علاج أمراض مختلفة ، كما وضع إبن البيطار في كتابه " الجامع الكبير" ما يُقارب 2000 وصفة نباتية طبية ، فيما ألّف الرازي كتابه المعروف عن الأعشاب " الأبنية عن حقائق الأدوية " والذي وصف فيه ما يُقارب 500 عشبة طبية ، في حين ألّف داود الأنطاكي كتابه المعروف " تذكرة داود " والذي يُعد دستوراً في مجال العلاج والشفاء ومرجعا رئيساً ومهماً لكافة المشتغلين بالطب الشعبي (أكبر زادة،2008).

ويبرز من بين النباتات الطبية المهمة والتي لها فوائد عدة ، نبات مهم جداً ألا وهو نبات (الثوم) - الذي سيدور محور البحث حوله - المعروف بإسمه العلمي ***Allium sativum*** ، بينما إسمه الإنكليزي Garlic ، وهو أحد أجناس العائلة الثومية (Alliaceae) ، والجزء الذي يُستخدم منه عادة هو الفصوص (Cloves). تمتاز المستخلصات المختلفة لفصوص الثوم بأنَّ لها أعراضاً جانبيةً قليلةً جداً على جسم الكائن الحي ، ممّا أكسب هذا النبات أهميته الكبيرة المعروفة (Ried *et al.*,2013).

يُستعمل الثوم كمادة مضادة للأكسدة نظراً لكونه من الأطعمة الغنية بالسلينيوم ، والمعروف بأنَّ السلينيوم له تأثير مضاد للأكسدة ، ممّا يُساهم في بعض التفاعلات الحيوية التي تُساعد في حماية وتحصين خلايا الجسم من الإصابة ببعض الأمراض (سعد الدين وعبد الناصر،2014). من جانبٍ آخر، ومن خلال مشاهدات لدراسة الوبائيات في عام 2014 م ، تم التوصل إلى أنَّ تناول الثوم مرتبط بتقليل خطورة الإصابة بسرطان المعدة لدى الشعب الكوري (Woo *et al.*,2014).

وفيما يخص عقار السايكلوفوسفومايد (Cyclophosphamide) ، فإنه يُعد من العقاقير الكيمياوية المهمة والتي تُستخدم في تدمير الخلايا السرطانية في الجسم ، فالعلاج الكيمياوي هو علاج بإستخدام أدوية كيمياوية تُعرف بالعقاقير المضادة للسرطان والتي تقوم بالقضاء على الخلايا السرطانية وتدميرها. تأتي الميزة الرئيسية لهذا العلاج الكيمياوي من قدرته على معالجة الأورام المتنقلة والمنتشرة ، بينما يقتصر العلاج الإشعاعي أو التدخل الجراحي على معالجة الأورام المنحصرة بمواضع محددة ، كما وتعود فعّاليته المميزة إلى حقيقة كون الخلايا السرطانية - بطريقة ما- أكثر حساسية تجاه الكيمياويات من الخلايا الطبيعية. من ناحيةٍ أخرى ، فإنَّ أغلب الأدوية المضادة للتسرطن هي مواد ذات تأثيرات سمية خطيرة ، وأنَّ العديد من هذه الأدوية هي مواد مطفرة أو مسرطنة لخلايا جسم الكائن الحي (Harris,1976 ; Sieber & Adamsone,1975).

يتم إتخاذ القرار بشأن إستخدام هذا العلاج بالموازنة ما بين فعّاليته وآثاره الجانبية ومضاعفاته المستقبلية وبين خطورة مرض السرطان ، وبطبيعة الحال فإنَّ مضاعفاته وآثاره مقبولة إلى حدٍ ما مقارنةً بالمرض نفسه ، إضافةً إلى أنَّ المردود العلاجي إيجابي وبشكل كبير (Pignon *et al.*,2000).

وتُوجد الكثير من التعابير الطبية المستخدمة في وصف العلاج الكيمياوي مثل تعبير العلاج المضاد للنمو الشاذ (Antineoplastic Drug) وتعبير المسممات الخلوية (Cytotoxics) أي العقاقير الطبية القاتلة للخلايا ، وقد يُوصف أحياناً بالعلاج الجهازي (Systemic) ، أي أنه يشتمل بطبيعة الحال كل البنية الجسدية للكائن الحي ، إذ من المعروف أنَّ العقاقير الكيميائية تنتقل عبر الدورة الدموية إلى كل أعضاء الجسم فتستطيع بدورها القضاء على الخلايا السرطانية أينما تجدها ، بينما تكون أهم أسباب فشل العلاج الكيمياوي في معالجة بعض الأورام (Tumors) هو مقاومة الخلايا السرطانية للمادة العلاجية المستعملة ، نظراً لكون المادة الوراثية للخلية السرطانية غير ثابتة (McLeod & Evans,2001).

على ضوء ما تقدم ، وإنطلاقاً من فوائد الثوم الكثيرة ، ولغرض الحد أو التقليل من مخاطر سمية بعض المواد الكيميائية ، تم إختيار نبات الثوم في دراستنا الحالية لإختبار إمكانية نجاح المستخلص المائي لهذا النبات في الحد أو التقليل من التأثيرات السمية التي يُحدثها عقار السايكلوفوسفومايد ، فجاءت هذه الدراسة لتحقيق المحاور الآتية:

1. معرفة التغيرات في مستويات بعض المعايير الدموية مثل: R.B.Cs و W.B.Cs و P.C.V و Hb.
2. معرفة التغيرات في مستويات عدد من المعايير الكيموحيوية مثل: ALT و AST و ALP و T.Bil. و T.C. و Albumin و Urea و Creatinine.
3. معرفة التغيرات النُسجية المرضية لأنسجة كل من الكبد (Liver) والكلى (Kidneys).

إستعراض المراجع

Literature Review

1.2 نبات الثوم: *Allium sativum*

1.1.2 نبذة عامة عن النبات: General Brief about The Plant

يُعدُّ نبات الثوم من النباتات العشبية ثنائية الحول وتابع لجنس الثوم ضمن العائلة الثومية ، زراعته منتشرة في جميع مناطق العالم ، والنبات يتميز بوجود بصلة تحت أرضية تتكون من عدة فصوص (Cloves) ، تكون أوراقه شريطية غليظة لها رائحة مميزة نفّاذة ، والنبات ينمو بطول أربعة أقدام أي ما يُعادل 120سم ، وينتج الثوم أزهاراً خُنثى ، وبذلك فإنَّ عملية تلقيح الأزهار تتم عن طريق بعض الحشرات كالنحل مثلاً ، ومن النادر أن يزهر الثوم في الحقول ، لذلك فإنَّ زراعته تعتمد على التكاثر الخضري ، إذ أنَّ كل فص من فصوصه يعطي نباتاً جديداً ويتشابه كثيراً مع أنواع من نبات البصل والكراث ، وقد إستخدم الإنسان نبات الثوم منذ أكثرمن 7000 سنة ، ويعود موطنه الأصلي إلى آسيا الوسطى ، ويُعد غذاءً رئيساً لوقت طويل في منطقة الشرق الأوسط ، إذ كان معروفا عند قدماء المصريين ، واستُخدم هذا النبات لأغراض عديدة منها كطعام وعلاج ، كما أُستُعمل الثوم أيضاً كتوابل في بعض قارات العالم كقارات آسيا وأفريقيا واوربا .(Simonetti,1990 ; Ensminger,1994 ; Block,2010)

2.1.2 التصنيف العلمي للنبات: Scientific Classification of The Plant

Kingdom: Plantae المملكة النباتية

Phylum: Spermatopsida شعبة البذريات

Class: Magnoliidae صنف مغطاة البذور

Order: Asparagales رتبة الهليونيات

Family: Alliaceae العائلة الثومية

Genus: ***Allium***

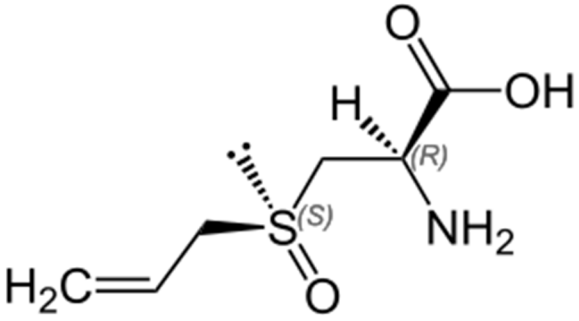
Species: ***sativum***

تم تصنيف النبات إعتماداً على مفتاح التصنيف النباتي / مركز التأريخ الطبيعي- بغداد.

3.1.2 التركيب الكيميائي للنبات: Chemical Structure of The Plant

كما هو معروف للجميع ، فإن الثوم من الخضر الغنية بالقيمة الغذائية والطبية ، إذ تحتوي فصوص الثوم على 31 % مواد كربوهيدراتية مع 6.2 % بروتينات على أساس الوزن الرطب ، وكذلك هي غنية بعناصر: الحديد ، الفسفور ، البوتاسيوم والمغنيسيوم إضافة لفيتامينات: الثيامين ، الرايبوفلافين ، النياسين وحامض الإسكوربيك (حسن،1994).

يمتلك الثوم الطازج أو المطحون مركبات تحتوي على الكبريت ومركبات أخرى لا تحتوي على الكبريت ، فالمركبات التي تحتوي على الكبريت مثل: أليلين ، أجوين ، ثنائي الاليل عديد الكبريتيد ، فينيلدايثيين واليل سيسيتين ، بينما المركبات التي لا تحتوي على الكبريت مثل: إنزيمات ، صابونين ، فلافونويد ونواتج تفاعل ميلارد. لب الثوم يتكون وبشكل تقريبي من: 85.09% ماء ، 13.38% مواد عضوية و1.53% مواد غير عضوية ، أما أوراق النبات فتحتوي تقريبا على: 87.14% ماء ، 11.27% مواد عضوية و1.59% مواد غير عضوية. إن السبب الكيميائي النباتي وراء النكهة القوية للثوم ناتج عن المركبات الكيميائية الحاوية على الكبريت ، فحين تتحطم الخلية بالتقطيع أو المضغ أو الطحن فأن العديد من الإنزيمات الموجودة في الفجوات العصارية تؤدي الى تكسير العديد من المركبات المحتوية على الكبريت الموجودة في سائل الخلية أو ما يعرف بالعصارة الخلوية ، وتكون المركبات الناتجة هي المسؤولة عن الطعم الحار أو الحاد وكذلك الرائحة القوية للثوم. تكون بعض المركبات غير مستقرة لذلك فإنها تواصل تفاعلاتها مع مرور الوقت. إن الثوم يمتلك تراكيز من المركبات الأولية للتفاعل أكثر من أجناس عائلة البصل ، مما يجعله أكثر فعالية من البصل والكراث. على الرغم من أن العديد من الأشخاص يستمتعون بمذاق الثوم ، فإن ما يحويه من المركبات لها علاقة بالعمليات الدفاعية الرادعة للحيوانات مثل الطيور، الحشرات والديدان حتى لا تأكل الحيوانات هذا النبات ، لهذا فإن الناس على مر التاريخ إستخدموا الثوم لمنع الحشرات كالبعوض وغيرها من الإقتراب للنبات (Macpherson *et al.*,2005).



أليلين ، مركب عضوي محتوٍ على الكبريت (S) موجود في الثوم

يحتوي الثوم على زيوت طيارة وقلويات بالإضافة إلى فيتامينات A و B1 و B2 ، كما ويدخل ضمن تركيبه كل من: النشا والألبومين والسكر والمواد الصابونية إضافةً إلى مادة الأليسين (Allicin) ، وهي مادة تستخدم لتسكين الآلام الموضعية (سعد وآخرون،1988). من جهةٍ أخرى ، فإنَّ مركب الأليسين يُعد من أهم المركبات التي تقضي على عدد كبير من الأحياء المجهرية المسببة للكثير من الأمراض مثل: الفايروسات والبكتريا والفطريات وغيرها (Ankri & Mirelman,1999 ; Saniewska,1996).

وكما هو معروف بأن تلك المركبات المحتوية على الكبريت لها علاقة برائحة وطعم الثوم ، إلا أن مادة الأليسين أكثرها مسؤولية عن الإحساس الحار للثوم النيء ، إذ أن هذه المادة تفتح القنوات المعروفة بـ Thermo-Transient Receptor Potential Channels وهي القنوات المسؤولة عن الاحساس الحارق للطعام ، من جهة اخرى فان عملية طهي الثوم تزيل الأليسين مما يقلل من طعمه الحاد ، والأليسين بالإضافة لنواتج تكسره مثل: ثنائي الاليل ثنائي الكبريت وثنائي الاليل ثلاثي الكبريت تقع عليهم بشكل رئيسي مسؤولية الرائحة المميزة للثوم مع عدد من المركبات الأخرى المشتقة من الأليسين مثل: فنلدايثين (Vinyldithins) وأجوين (Ajoene) ، وبسبب رائحته القوية فإنه يدعى أحيانا ذو الرائحة الكريهة (Stinking Rose) ، وعندما يؤكل الثوم بكميات كبيرة فإنه يظهر بشكل واضح بالنفس والعرق في اليوم التالي ، وهذا بسبب أن المركبات الكبريتية في الثوم يتم إستقلابها منتجة مركب أليل مثيل الكبريت Allyl Methyl Sulfide ، وهذا المركب لا يتم هضمه فيصل للدم ومنه إلى الرئتين فيخرج مع هواء الزفير وكذلك إلى الجلد فيفرز هناك مع العرق ، وبما أن الهضم يتطلب عدة ساعات ، كما وأن إفراز المركب أليل مثيل الكبريت يتطلب ساعات أكثر ، لذا فان أثر أكل الثوم يمكن أن يظهر لوقت طويل ، كما أن الرائحة الكريهة للثوم من الممكن أن تُزال بأكل أوراق طازجة من البقدونس. إنَّ وجود مركبات الكبريت في الثوم بكثرة فإنها تكون مسؤولة عن تحول لونه إلى أزرق أو أخضر خلال الطهي أو التخليل. فعليه ، وتحت هذه الظروف الحامضية والحرارة ، يتفاعل إنزيم الأليناز (Allinase) - وهو إنزيم يحتوي على عنصر الكبريت - مع الأحماض الأمينية لينتج بيرول (تراكم من حلقات النيتروجين والكربون) ، وهذه الحلقات من الممكن أن ترتبط معا لتنتج جزيئات عديدة البيرول ، وعندما تمتص هذه الحلقات الضوء على طول موجي معين يظهر هذا اللون ، إذ أن جزيئتان من البيرول تظهران باللون الأحمر، بينما ثلاث جزيئات تظهر باللون الأرزق ، وأربع جزيئات تظهر باللون الأخضر مثل الكلوروفيل ورباعي البيرول. إن صبغات البيرول مثل الكلوروفيل تكون آمنة وصالحة للأكل أيضاً (McGee,2006).

4.1.2 أصل النبات وبعض أنواعه: The Plant Origin & Its Some Types

من الصعوبة معرفة أو تحديد سلف نبات الثوم وذلك بسبب عقم أصنافه ، ولكن ساد الإعتقاد بأن الثوم ينحدر من نوع ***Allium longicuspis*** الذي ينمو بريّاً في وسط وجنوب شرق قارة آسيا (Zohary & Hopf,2000).

يمتاز نبات الثوم بتعدد أنواعه ، فبالإضافة للنوع قيد الدراسة وهو: ***Allium sativum*** والذي ينمو بريّاً في مناطق خارج موطنه الأصلي ، هناك أنواعاً أخرى للثوم مثل: الثوم البري (***Allium ursinum***) ، الثوم الكرمي (***Allium vineale***) ، وكذلك البصل البريطاني (***Allium oleraceum***) ، كما يوجد نوع آخر معروف أيضا يدعى بالثوم المتفيّل Elephant Garlic وإسمه العلمي ***Allium ampeloprasum*** لكنه لا يعد ثوماً حقيقياً ، وهناك الثوم وحيد اللب أو الفص (Single Clove Garlic) والذي يتواجد في كل من الصين واليونان ، كما توجد أنواع وأصناف أخرى للثوم أشهرها ما يعرف بالثوم ذات العنق القاسي والثوم ذات العنق اللين (Salunkhe & Kadam,1998).

5.1.2 آليات زراعة النبات: Mechanics of Cultivation The Plant

الثوم من النباتات سهلة الزراعة ، يمكن أن ينمو النبات بالمناخات المعتدلة طوال السنة ، التكاثر الجنسي ممكن حدوثه بالثوم ولكن على الاغلب يتكاثر النبات لاجنسيا عن طريق زراعة فصوص من الثوم مباشرة بالتربة ، يزرع الثوم بالمناخات الباردة في فصل الخريف ويحصد في نهاية فصل الربيع. يعد الثوم من النباتات التي تمتلك مقاومة جيدة للأمراض والآفات الزراعية ، لكن أحياناً قد يُصاب الثوم ببعض الأمراض كالديدان الاسطوانية والعفن الأبيض ، وأحياناً يُصاب النبات بمرض غير مدمر له ولكن يسبب تحويلاً للون الجذر إلى اللون الزهري أو الأحمر ، ويمكن زراعة الثوم بشكل متقارب ولكن بترك مسافة كافية للفصوص حتى تنمو بشكل طبيعي. الثوم ينمو في التربة المفككة الجافة التي لا يتجمع فيها الماء ويفضل المناطق المشمسة. من المهم جداً إختيار الفصوص الكبيرة المفصولة عن الأزهار في حالة زراعة الثوم ، إذ أن الفصوص الكبيرة إضافة إلى وجود مساحة كافية لتنمو فيها النبتة سيحسن كثيراً من حجم اللب أو الفص. تفضل نبتة الثوم النمو في التربة ذات المحتوي العضوي العالي ، ولكنها أيضا بإمكانها النمو في التربة بإختلاف حالاتها وأنواعها ونسبة حموضتها. إن مكان نمو الثوم حسب خط العرض يؤثر على إختيار النوع حيث تتأثر النبتة بطول اليوم. الثوم ذات العنق القاسي تنمو في المناخات الباردة في حين أن الثوم ذات العنق اللين تنمو

بالقرب من خط الاستواء. يتم إزالة السويقات الجذرية من النبات لكي تتركز طاقة النبتة في نمو اللب ، وبالتالي الحصول على افضل انتاج للنبات (New York Times,2010).

6.1.2 بعض فوائد وإستعمالات النبات: The Plant Benefits & Its Uses

لنبات الثوم فوائد واستعمالات عديدة ، إذ يستخدم الثوم في جميع أرجاء العالم وذلك نظراً لنكهته المميزة كبهار أو توابل ، وأكثر جزء مُستخدم هو لب النبتة ، باستثناء الأنواع ذات الفص الواحدة ، يقسم اللب في الثوم إلى عدة قطع لحمية تُسمى فصوص ، تستهلك فصوص الثوم إما نيئة أو مطبوخة أو لأغراض طبية مهمة ، إذ أن لها خاصية مميزة. الأجزاء الأخرى من نبتة الثوم صالحة للأكل أيضاً مثل الأوراق والأزهار التي تؤكل أحياناً ، ولكن نكهتها أقل من الفص نفسه ، وتستهلك بالعادة قبل النضج حيث لا تزال طرية. يُباع الثوم غير الناضج مثل البصل الأخضر ويسمى في هذه الحالة " الثوم الأخضر" ، إذ يسمح للثوم الأخضر بالنمو متخطيا مرحلة البصل الأخضر وقبل أن يصل للنضج الكامل ، فإنه ينتج ثوم مدور بلُب يشبه البصل ولكن من دون أن ينفصل إلى فصوص كاللُب الناضج. الثوم الأخضر غالبا ما يُفرم ويقلى سريعا أو يطهى مع الحساء أو بطريقة الوعاء الساخن في دول جنوب شرق آسيا كدول فيتنام وتايلاند وغيرها. ويُعدُّ الثوم مكوناً أساسياً في العديد من الأطباق بمختلف المناطق ، منها آسيا الجنوبية ، آسيا الشرقية ، جنوب شرق آسيا ، الشرق الأوسط ، أفريقيا الشمالية ، أوروبا الجنوبية وأجزاء من جنوب ووسط أمريكا. الثوم يمكن إضافته إلى عدة أنواع من الخبز، باستخدام وسط من الزبدة أو الزيت ، لإنتاج العديد من الأطباق الكلاسيكية مثل خبز الثوم وغيرها ، يمتاز مسحوق الثوم بطعم مغاير عن الثوم الطازج ، وإذا استخدم المسحوق كمكافئ أو عوضا عن الثوم الطازج فإن ما يعادل ثمن (1\8) ملعقة صغيرة منه تكافئ فصا واحدا من الثوم. (FAO,2015 ; Katzer,2009 ; Thompson,1995).

إستُعمل نبات الثوم سابقاً كمصدر قوة للإنسان لكل أعمال الخير والشر، إذ أن العديد من الحضارات إستخدمت الثوم للحماية من المخاطر أو للسحر، ربما نظرا لسمعة النبات كدواء وقائي قوي. من الجانب الديني أو الروحي وبالأخص في تقاليد أوروبا الوسطى ، فإن الثوم يُعد مصدراً قوة للحماية من الشياطين والذئاب ، إذ كان الناس يرتدون الثوم أو يعلقونه على النوافذ أو يضعونه على المداخن وثقوب المفاتيح وذلك لدرء مخاطر الشياطين بحسب معتقداتهم المتوارثة (Pickering,2003 ; McNally,1994).

يُستعمل أحياناً عصير الثوم والذي يمتاز بلزوجته كمادة لاصقة في إصلاح الزجاج والبورسلان (Anwar *et al.*,2009).

إستخدمت المنتجات عديدة الكبريتيد المشتقة من نبات الثوم بعد موافقة الإتحاد الأوربي وبريطانيا كمبيد جيد للحشرات ، من ضمنها مقاومة ذبابة جذر نبات الملفوف (***Delia radicum***) والسوس الأحمر. من الممكن إستعمال الثوم مع القرفة لحفظ السمك واللحوم ، إذ أنَّ له خاصية مضادة للميكروبات في درجات حرارة تصل إلى 120 درجة مئوية ، وهذا الخليط يمكن إستخدامه أيضا كمادة حافظة للطعام المقلي ، كما يمكن إستعماله في المستقبل ضمن الطبقة الداخلية لمادة البلاستيك المعروفة (Deein *et al.*,2013 ; Ranjan,2012 ; Verma,2012 ; Rakshit,2012).

7.1.2 النبات وبعض طرائق تخزينه: The Plant & Its Storage Methods

غالباً ما يتم حفظ الثوم في مكان جاف ودافئ بدرجة حرارة أكثر من 18 درجة مئوية وذلك للمحافظة عليه وخزنه لأطول مدة ممكنة. يمكن حفظ فصوص الثوم المقشرة في الخل داخل الثلاجة. أما بالنسبة للأغراض التجارية ، فإن الثوم يحفظ في درجة حرارة صفر درجة مئوية في مكان جاف قليل الرطوبة. الثوم أحيانا ما يحفظ بالزيت لإنتاج زيت بنكهة الثوم ولكن بحاجة لنوع من القياسات للحيلولة دون تلف الثوم. يساعد الثوم غير المعالج والمحفوظ بالزيت في تحفيز نمو بكتريا ***Clostridium botulinum*** ، والتي تسبب مرض التسمم الغذائي (Botulism) ، وحفظها في الثلاجة لن يضمن سلامة الثوم المحفوظ بالزيت ، ولغرض تقليل المخاطر يوصى بحفظ الزيت في الثلاجة وإستخدامه خلال أسبوع واحد ، فيما اشارت بعض الدراسات بأن الثوم المغموس بالزيت يجب أن يحفظ في المجمدة وليس في الثلاجة. إن الزيت المحضر تجاريا متوفر بشكل واسع ، حيث يعمد المصنعون على اضافة الأحماض وبعض الكيماويات له وذلك لإزالة خطورة مرض التسمم السجقي. ينبغي أن يكون لب الثوم نظيفا وأبيضا إضافة إلى عنق جاف وقشرة خارجية جافة ايضا. ويجب التخلص من فصوص الثوم فوراً في حالة كونها طرية أو إسفنجية أو فيها أي علامة من علامات التعفن مما يجعل النبات غير صالح للإستهلاك البشري وعرضة للإصابة بأمراض خطيرة (UCANR,2014 ; wikiHow,2011 ; CSU Safe Food Newsletter,2005).

8.1.2 النبات وأكثر دول إنتاجه: The Plant & More Producing Countries

يُعد نبات الثوم ثاني أهم محاصيل الخضر بعد البصل ، ويُعتقد أنَّ موطنه الأصلي وسط قارة آسيا (حسن،1994). يُزرع الثوم في العراق كمحصول شتوي وتُعد محافظات بابل والبصرة ونينوى من أهم مناطق زراعته بالقطر (طه،1995).

تصدرت دولة الصين قائمة دول العالم أجمع في كمية انتاجها للثوم ، بينما إحتلت دولة أوكرانيا المرتبة العاشرة عالميا بكمية الإنتاج ، وذلك بحسب تقرير منظمة الأغذية والزراعة (FAO) لأعلى عشرة دول بإنتاج الثوم في العالم عام 2010م ، إذ بلغ الإنتاج التقريبي للصين بحدود 13.6 مليون طن ، وتليها في ذلك دولة الهند بإنتاج يقدر بحوالي 833 ألف طن ، ثم دولة كوريا الجنوبية 271 ألف طن ، بعدها دولة جمهورية مصر العربية 244 ألف طن ، ثم دولة روسيا 213 ألف طن ، بعدها تأتي دولة بورما 185 ألف طن ، تليها دولة أثيوبيا 180 ألف طن ، ثم دولة الولايات المتحدة الأمريكية 169 ألف طن ، بعدها دولة بنغلادش 164 ألف طن ، ثم دولة أوكرانيا بإنتاج يقدر بـ 157 ألف طن (FAO,2012).

9.1.2 التأثيرات المختلفة للنبات على وظائف الجسم: Influences of The Plant

وجدت دراسات عديدة تحدثت عن حروق يسببها الثوم حين تم إستخدامه موضعياً - ولأسباب مختلفة - كعلاج في حالة الإعتلالات العصبية وحب الشباب أيضا ، لذلك وجب الحذر عند إستخدام الثوم لهذه الأغراض مع تفضيل إختبار مساحة قليلة من الجلد بإستخدام تركيز منخفض من الثوم (Baruchin *et al.*,2001). بعض التقارير أشارت لحدوث حروق عند الأطفال سببها الإستخدام الموضعي للثوم النيئ وكذلك عند إضافته إلى تجاويف الجسم ، إذ أن إضافة الثوم موضعياً للأطفال الصغار لا ينصح به على الإطلاق (Garty,1993).

كما وأثبتت دراسات كثيرة بأن لنبات الثوم تأثيراً واضحاً على كمية الكوليستيرول الكلي (Total Cholesterol) في مصل الدم ، إذ يقلل نسبته ، وأيضاً له دور فعال في معالجة الخلايا المصابة بالسرطان ، إذ يحث الخلايا على تكوين مناعة ضد السرطان عند معاملتها بمستخلص هذا النبات (الجبوري،1994).

وقد أشارت البحوث العلمية إلى أنَّ نبات الثوم يقلل من تراكم الصفيحات الدموية (Platelets) بالدم ، لذا فإنَّ الذين يستعملون مضادات التخثر يجب عليهم أن يحذروا من تناول نبات الثوم وذلك حفاظاً على صحتهم وحياتهم (Borrelli *et al.*,2007 ; Rahman,2007). في حين بيّنت الدراسات وبتجارب عملية أجريت في عام 2012م ، إلى أنَّ أثر مستخلصات الثوم على ضغط الدم غير واضحة ، ولا يُوجد مثال واضح يُحدد فيما إذا كانت هذه المستخلصات تقلل الوفاة - بسبب أمراض القلب والشرايين عند المصابين بمرض ضغط الدم المرتفع- أم لا (Stabler *et al.*,2012).

بينما توصلت الدراسات العلمية حديثاً في عام 2013م ، إلى أنَّ مستخلصات الثوم إذا أُخذت لأكثر من شهرين قد تكون فعالة في تقليل كمية الكوليسترول بما يعادل 11-23 ملغم\ديسيلتر، وكذلك البروتين الدهني منخفض الكثافة (LDL) بما يعادل 3-15 ملغم\ديسيلتر في البالغين الذين يعانون من إرتفاع الكوليسترول ، وفي هذه الدراسة أيضا تم التوصل إلى أنَّ الثوم له فعالية إيجابية على البروتين الدهني عالي الكثافة (HDL) ، بينما أشارت بعدم وجود تأثير على ثلاثي الكليسيريد (TG) بالدم ، كما أنَّ مستحضرات الثوم تمتاز أيضاً بأعراض جانبية (Side Effects) قليلة جداً (Ried *et al.*,2013).

في حين تم إجراء تجربة عام 2013م لدراسة التعرض للكيمياويات فيما يخص بعض الحالات والشواهد ، فقد وجد الباحثون دليلاً محدوداً يقترح إرتباط إستهلاك الثوم العالي بتقليل خطورة الإصابة بسرطان البروستات ، ومهما يكن فإنَّ هذه الدراسة كانت واضحة فقط بالنسبة للحالات والشواهد (Zhou *et al.*,2013).

إنَّ الأعراض الجانبية من إستخدام الثوم لفترات طويلة غير معروفة ، ولكن من الأعراض الجانبية المحتملة: مغص معوي وتعرق وحساسية ونزف وإضطرابات الطمث. من جانبٍ آخر، فإنَّ بعض الأمهات المرضعات وجدن بعد تناول الثوم أنَّ أبناءهن يتغذون بشكل أبطأ ، وكذلك لاحظن رائحة الثوم تفوح منهم (Hogg,2002). من الممكن أن يتسبب الثوم بزيادة إحتمالية حدوث النزف (Bleeding) إذا تمَّ إستهلاكه بكميات كبيرة مع عدد من الأدوية كالأدوية المضادة للتخثر، حيث يتفاعل مع الورافرين (من مضادات تجمع الصفائح الدموية) ، كذلك دواء مضاد الفيروسات المعروف بـ Saquinavir وخافضات الضغط، وعائلة المضادات الحيوية المعروفة بالكوينولون مثل سيبروفلوكزاسين وخافضات السكر وأدوية أخرى (Brown *et al.*,2015).

2.2 عقار السايكلوفوسفومايد: Cyclophosphamide Drug

1.2.2 نبذة عن العقار: تصنيفه ، إكتشافه وبعض إستعمالاته Brief about The Drug

مـن المعـروف أن عقــار السايكلوفوسـفومايد يصـنف ضـمن مجموعــة العوامـل المؤلكلـة (Alkylating Agents) ، وذلك وفقاً لجدول تصنيـف الأدويـة المضـادة للسرطـان ، إذ تتداخـل هذه الأدوية مع عمليـات إستنسـاخ الأحمـاض النوويـة في الخـليـة وترجمتهـا ، وبالتـالي تـتداخـل مـع عمليـات إنقسـام الخلية الحية ، وكذلك تعمل علـى تقطيـع هيكل الحامـض النــووي DNA فـي كـل مرحلة من مراحـل دورة حيـاة الخليـة الحية (Haskell,1977 ; Boesen & Davis,1969 ; Hasiett *et al*.,1999 ; Davidson *et al*.,1990).

أوضحت الدراسات العلمية بأن عقار السايكلوفوسفومايد تصدر قائمـة المواد الكيمياويـة المضـرة بالصحة ، إذ يؤدي التعرض له الى حدوث أنواع مختلفة من السرطانات المميتة ، ويتواجد هذا العقار بأسماء تجارية مختلفة مثل: Endoxan ، Cytoxan و Procytox (Larc,1975).

لقـد تـم إكتشـاف هـذا العقـار خـلال عمليـة تحـوير المركـب Mechlorethamine ، وعمليـة التحـوير هذه سمحت بإختبـار هذا العقـار الكيميـاوي لمعالجـة الانسـجة المصـابة بـالأورام السرطانية عوضاً عن إستخدام عوامل المعالجة الكيمياوية المختلفة الأخرى (Anderson,2002).

يـتم إسـتخدام عقـار السايكلوفوسـفومايد علـى وجـه التحديـد فـي عـلاج العديـد مـن الأمـراض السرطانية الشائعة مثل: سرطان الدم (Leukemia) ، السرطان النخـاعي (Myeloma) ، سرطان الغـدد اللمفاويـة (Lymphoma) ، وكـذلك معالجـة مـرض سـرطان الثـدي (Breast Cancer) ، وغيرهــا (Bristol-Myers,2003). كمــا يُســتعمل كمثــبط منــاعي بعــد زراعــة الأعضــاء (Transplantation) بالجسم ، وأيضاً تمت الإستفادة منه في علاج أمراض المناعة الذاتية كمرض الروماتزم (Rheumatoid Arthritis) ومتلازمـة الإلتهـاب الكلـوي (Nephritic Syndrome) المعروف في الأطفال (Chabner *et al*.,2001).

وبصورة شائعة ، فإنَّ عقار السايكلوفوسفومايد يُستعمل في علـم المـداواة الكيميائــي علـى نطـاق واسـع ، وأيضاً كعامـل مفيد في إعطاء حصانة للعديـد مـن الطرائـق العلاجيـة ، كمـا وأستخدم ضـد أمـراض الأورام الخبيثـة (Anti-Tumors) وبعض أمـراض المناعـة المكتسبة ، وهذا كـان بفضـل تزايـد فـرص النجـاح فـي الطرائـق العلاجيـة ضـد مـرض السرطــان (Cancer) وخاصـة الطرائـق الهجوميـة بالجرعـات العلاجيـة العاليـة والمخلوطـة مـع عدد مـن العلاجـات الدوائيـة الشـافية الأخـرى (Rodjer *et al*.,1990 ; Sutton *et al*.,1990).

والعقار يعطى كعلاج مساعد مع عقار 5-florouracil وعقار Methotrexate خصوصاً بعد إجراء العملية الجراحية لاستئصال سرطان الثدي ، كما أنه أظهر نتائج جيدة عند إستعماله لمعالجة مرض إبيضاض الدم وكذلك علاج مرض سرطان عنق الرحم وسرطان المبيض ، كذلك يُستخدم العقار في علاج أمراض الكلى والأورام السرطانية لدى الأطفال ، بالإضافة إلى الأمراض غير السرطانية المرتبطة بالإختلالات المناعية وبضمنها الأورام الحبيبية (Michael,2004 ; Hardman *et al.*,1996).

بينت الدراسات العلمية أنَّ إستعمال الجرع العالية من عقار السايكلوفوسفومايد يؤدي إلى النقص المناعي في حالة إستعماله كدواء مضاد للسرطان أو في حالات نقل نخاع العظم (Bone Marrow). إذ تسبب المعالجة بهذا العقار ضرراً حاداً للأنسجة اللمفاوية والمكونات الدموية المختلفة وربما يسبب اللوكيميا (مرض إبيضاض الدم) ، وفي دراسة عن العقار وجد أنَّ إستعمال العقار كعامل منفرد -أي لوحده- فإنَّ شفاء مكونات الدم تحدث عادةً وحتى في الجرع العالية من العقار (Parkman & Weinberg,1997 ; Siena *et al.*,1985 ; Botnick *et al.*,1976 ; Guillaume *et al.*,1998 ; Qian *et al.*,1997).

2.2.2 بعض تأثيرات العقار: Some Influences of The Drug

يعمل عقار السايكلوفوسفومايد على قتل الخلايا الدفاعية الطبيعية في جسم المريض ، وبذلك يلاحظ هبوط بالجهاز المناعي لدى المرضى بالإضافة إلى الأضرار الجانبية التي يسببها لهم هذا العقار مثل: تساقط الشعر والإضطرابات الهضمية المزعجة وكذلك فقدان الشهية للطعام (Ackerblom *et al.*,1986).

من التأثيرات الواضحة لعقار السايكلوفوسفومايد أنه يعمل على خفض مستويات كل من الهرمونات التالية: هرمون رباعي يوديد الثايروكسين (T4) وهرمون ثلاثي يوديد الثايرونين (T3) وهرمون الشحمون الخصوي (Testosterone) وهرمون النمو (GH) في مصل الدم (Salido *et al.*,2003 ; Steinberg & Steinberg,1991) ، بينما على العكس من ذلك تماماً ، فإنَّ العقار يعمل على رفع مستوى هرمون LH في مصل الدم (Jequier,2000).

أما فيما يخص بعض المعايير الكيموحيوية المهمة ، فإنَّ عقار السايكلوفوسفومايد يُزيد من مستويات إنزيمات الكبد (Liver Enzymes) في المصل (Vandenberghe,1995). من جانبٍ آخر، فإنَّ العقار يعمل على خفض مستوى بروتين الألبومين (Albumin) ، كما أنَّ العقار يُؤدي إلى الزيادة في مستوى البيليروبين الكلي (Total Bilirubin) بالمصل ، كذلك فإنَّ تأثير العقار يظهر

واضحاً في إرتفاع مستوى الكولسترول الكلي (Total Cholesterol) في مصل الدم ، ويؤدي العقار أيضاً إلى إرتفاع مستوى إنزيم LDH ، ورفع مستوى اليوريا (Urea) بالمصل (Nagi *et al*.,2010 ; Ikizler *et al*.,2007 ; Kanellis & Kang,2005).

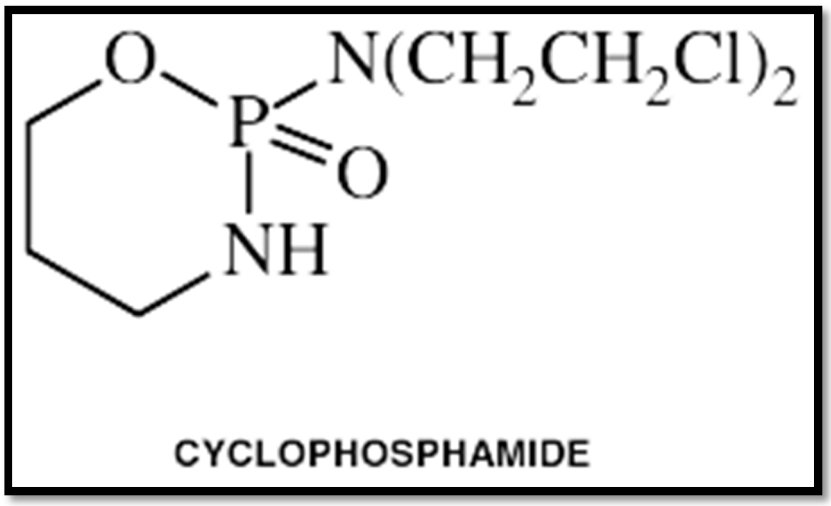
3.2.2 آلية عمل العقار: Mechanism of Use The Drug

يعمل عقار السايكلوفوسفومايد بآلية خاصة ، وذلك عن طريق إلتصاقه مع أشرطة الحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين (DNA) للخلايا الحية ، مما يمنع الخلايا من الانقسام أو النمو الطبيعي ، وربما هذا الشيء يؤدي إلى موت الخلية الحية ، ومن أكثر الخلايا المستهدفة بالجسم هي الخلايا المناعية مثل: خلايا الدم البيض. إنَّ DNA هو الشفرة الجينية الموجودة في كل الخلايا الحية سواء الحيوانية أو النباتية ، وهو الذي يسيطر على كل عمل تقوم به الخلية ، ومن دونه لا تستطيع الخلايا الحية أن تنقسم طبيعيا إلى خليتين جديدتين. لا يتواجد عقار السايكلوفوسفومايد بصورة حرة في الطبيعة (Larc,1975) ، وهو أستر فوسفامايد حلقي للميكلوريثامين A cyclic Phosphamide Ester of Mechlorethamine (Haskell,1990). وقد أوضحت الدراسات بأنَّ هذا العقار مع العديد من العوامل العلاجية الكيميائية الأخرى تسبب حدوث طفرات جينية وكسور كروموسومية مع إعادة ترتيب الكروموسومات في الخلايا الجسدية ، إضافةً إلى زيادة تردد الأورام الثانوية المرتبطة بالمعالجة في حالات المرضى المصابين بالأمراض السرطانية (Povirk & Shuker,1994 ; Sandoval *et al*., 1993 ; Ben-Yehuda *et al*.,1996).

4.2.2 الخصائص الفيزيائية والكيميائية للعقار: The Drug Characteristics

عقار السايكلوفوسفومايد عبارة عن بلورات صلبة بيضاء اللون ، عديمة الرائحة ، ذات طعم مُر لاذع نوعاً ما ، يمتاز بأنه يتميع عند فقدانه لماء التبلور، ودرجة إنصهاره تتراوح بين 49.5-53 درجة مئوية ، ذو حساسية عالية للرطوبة والأكسدة ، ويذوب في الماء المقطر بنسبة 25:1 ، لكنه يذوب في الكحول بنسبة 1:1 ، في حين أنه يكون قليل الذوبانية في كل من البنزين والكلوروفورم ، بينما تكون ذوبانيته قليلة جداً في الإيثر والأسيتون (Osol,1980 ; Lewis,1997 ; Lewis,1993 ; Larc,1987 ; Reynolds & Prassad,1982).

يُقدر الوزن الجزيئي للعقار بـ 261.10 دالتون ، بينما الصيغة الجزيئية له هي: C_7-H_{15}-Cl_2-N_2-O_2-P (Budavari,1989 ; Merck,1983). يتأيض عقار السايكلوفوسفومايد في الكبد (Liver) ، ويتم تنشيطه بواسطة عملية الأكسدة متعددة الوظائف (Hepatic Microsomal Mixed Function Oxidase Cytochrome P450) 4-OHCP ويتحول إلى الشكل 4-Hydroxycyclophosphamide ، هذا الأخير بدوره يتحول إلى 4-Ketocyclophosphamide ، وهو مركب غير مستقر ينشطر فيما بعد إلى مركبين Phosphamide (PM) (Berkram,1989).



التركيب الكيميائي لعقار السايكلوفوسفومايد (Saly,2002)

5.2.2 طرق إعطاء العقار: Routes of Giving The Drug

هنالك عدة طرق لتناول عقار السايكلوفوسفومايد ، منها ما يُؤخذ عن طريق الفم بشكل حبوب (Tablets) صغيرة بيضاء اللون تزن على الأغلب 50 ملغم ، أو عن طريق الحقن داخل الوريد بشكل إبر (Vials) (باودر أبيض اللون يتواجد بأوزان مختلفة مثل: 100 و 200 و 500 و 1000 و 2000 ملغم) ، إذ تمزج الجرعة في هذه الحالة مع ماء مقطر معقم أو محلول ملحي فسيولوجي (Normal Saline). على الرغم من كون العقار معروف جيداً كدواء ويُعطى بصورة شائعة كعلاج ، إلا أن له آثاراً جانبية عديدة ومختلفة ، إذ تُسبب الجرعات الزائدة منه حالات تسرطن في موقع ما من الجسم ، هذا وقد أثبتت الدراسات العلمية والتجارب العملية (بهذا الصدد) وبالإعتماد على وقت الحقن وموقعه بأنَّ المعالجة بعقار السايكلوفوسفومايد يُؤثر تأثيراً واضحاً في القدرة المناعية للمضيف ، إضافةً لإمتلاكه تأثيراً مباشراً على الورم (Yu *et al.*,1980).

6.2.2 الآثار الجانبية للعقار: Side Effects of The Drug

1.6.2.2 الآثار الجانبية على مكونات الدم: Side Effects on The Blood Components

أشارت دراسات عديدة بأنَّ من أهم التأثيرات المصاحبة للعلاج الكيمياوي هي حدوث إنخفاضاً في قدرة الجسم على إنتاج الكمية اللازمة من خلايا الدم المختلفة ، وهذا ما يُعرف إصطلاحاً بإحباط النخاع العظمي (Bone Marrow) ، والنخاع : هو النسيج الاسفنجي اللّين الموجود داخل العظام والذي يقوم بإنتاج خلايا الدم المختلفة بشكل دوري ومتواصل ، الأمر الذي يُؤدي بدوره إلى تراجع معدلات كريات وخلايا الدم المختلفة ، ممّا قد يُعرض المريض لعدة مخاطر، منها خطر ضعف الجهاز المناعي نتيجة تدني معدل خلايا الدم البيض ، ممّا يُؤدي إلى سهولة إلتقاط مختلف أنواع العدوى ، مع وجود خطر سرعة النزف وفقدان القدرة على رتق الجروح أو القطوع أو التمزقات بأي موضع بالجسم نتيجة إنخفاض معدل الصفيحات الدموية (Ackerblom *et al.*,1986).

وإشارة لما سبق ، فعندما يكون النخاع العظمي محبطاً نتيجةً للعلاج الكيمياوي ، تنخفض مقدرته على إنتاج خلايا الدم البيض (W.B.Cs) بالأعداد اللازمة لإستبدال الخلايا الهرمة والتي تكون قد إنتهت مدة حياتها بالدورة الدموية ، ممّا يُؤدي إلى إنخفاض معدلاتها بالدم وتراجع تعداد خلاياها الفعالة وخصوصاً الخلايا المتعادلة (Neutrophils) النشطة في مكافحة أنواع العدوى المختلفة ، ممّا يُؤدي بالنتيجة إلى فقدان الجسم لمناعته ضد الأمراض (Larc,1975).

لا يخفى عن أحد ، بأنَّ كريات الدم الحمر (R.B.Cs) من العناصر الأساسية في الدم ، وتمثل حوالي نصف حجمه ، وتحتوي على بروتين الهيموغلوبين (Hemoglobin) والذي يقوم بحمل الأوكسجين (O_2) من الرئة إلى مختلف أنسجة أعضاء الجسم ، وعند إحباط النخاع بعد تلقي العلاج الكيمياوي والمتمثل هنا بعقار السايكلوفوسفومايد ، تنخفض معدلات هذه الكريات ويهبط مستوى بروتين الهيموغلوبين بالدم ، ممّا يُؤدي إلى نشوء ما يعرف بمرض فقر الدم المعروف علمياً بالأنيميا (Anemia) ، فتقل لزوجة الدم في هذه الحالة ويصبح خفيفاً.

من جانبٍ آخر، فإنَّ للصفيحات الدموية (Platelets) أهمية بالغة الأثر، وذلك من خلال فعاليتها في حماية الأنسجة المختلفة من النزف برتقها وإغلاقها لمواضع الجروح أو القطوع والتمزقات بالجسم ، نظراً لدورها الرئيس في تكوين تجلطات الدم. إنَّ إنخفاض معدل هذه الصفيحات بالدم يُعرض المريض لمخاطر كبيرة ، منها سهولة النزف (Bleeding) وفقدان الدم لخاصية التجلط ، لذا يلزم مراقبة تعدادها والتحسب لإنخفاض معدلاتها أثناء وبعد العلاج بالعقاقير الكيمياوية المختلفة.

2.6.2.2 الآثار الجانبية على نسيج الكبد: Side Effects on The Liver Tissue

أثبتت الدراسات الخاصة بعقار السايكلوفوسفومايد ، أنَّ العقار له تأثيرات كبيرة على أنسجة الجسم ، مسبباً تغيرات نسجية مرضية واضحة في أعضاء عديدة بالجسم منها: الكبد والكلية والمثانة وغيرها (Anton,1997 ; Demin *et al*.,1996 ; Waldeck,1972).

وكانت البحوث قد أشارت إلى أنَّ عقار السايكلوفوسفومايد سبب ظهور تغيرات نسجية مرضية في كبد وكلية العلجوم (Saber & Dahlawi,1998) ، وعند المعاملة بالعقار يحدث تسمم للكبد ، وتتمثل هذه الحالة بحدوث تنخر وتغيرات دهنية وتليف وتلف للأوعية الدموية ، كما يسبب حدوث إضطراب في وظيفة الكبد ، وبالتالي يُؤدي إلى تغير أيض الدواء داخل الكبد. وفي دراسةٍ أخرى بهذا الصدد ، سُجلت ظاهرة تسمم الكبد وزيادة في مستوى البيليروبين مع زيادة في مستوى الفوسفات القاعدي وذلك عند إعطاء عقار السايكلوفوسفومايد وعقار Doxorubicin (Adriamycin) لمرضى إبيضاض الدم (Leukemia) ، وعند إجراء الفحص النسيجي لعينة من الكبد ، ثبت حدوث تنخر لخلايا الكبد وترشح الخلايا الدموية البيض إضافة لحدوث تغيرات دهنية في الكبد. ويعتقد العلماء بأنَّ تجمع عقار Doxorubicin داخل الخلايا الكبدية (Hepatocytes) ربما يكون فعالاً في إحداث التأثير السُّمي الضار للكبد إضافةً للتأثير الذي يُسببه عقار السايكلوفوسفومايد (Paul & Michael,2001).

3.6.2.2 الآثار الجانبية على نسيج الكلية: Side Effects on The Kidney Tissue

إنَّ لعقار السايكلوفوسفومايد - حسب إعتقاد بعض الباحثين- تأثيراً مباشراً على الأنابيب الكلوية القريبة والبعيدة وكذلك القنوات الجامعة أيضاً (Schilsky,1982). كما أنه من الممكن أن يُؤدي إلى تطور الإلتهابات وتولد خلايا ظهارية رقيقة وتشكيل أوعية دموية جديدة. من تأثيرات العلاجات الكيميائية الواضحة أنها تُسبب تسمم كلوي مباشر وغير مباشر. تُستعمل العلاجات الكيميائية لمعالجة الأورام السرطانية (Cancer Tumors) ، وكثيراً ما تسبب سمية حادة للمرضى ، على الرغم من أنَّ أكبر نسبة سمية تحدث - بمعظم الأحيان- في نخاع العظم والجلد والجهاز الهضمي والأنسجة ، لكنه كثيراً ما يرتبط بعضها مع سمية كلوية ، إذ أنَّ الآثار غير المباشرة تحدث بالدرجة الأولى نتيجة تحلل الخلايا السرطانية وتحرير كميات كبيرة من الأيونات داخل الخلايا (Philips *et al*.,1961).

إنَّ من النادر حدوث أورام خبيثة للجهاز التناسلي للمرأة ، كما أنَّ تحرير حامض اليوريك (Uric Acid) بكميات كبيرة يمكن أن يُؤدي إلى حدوث إعتلال كلوي نتيجة ترسب بلورات حامض

اليوريك في الأنابيب الكلوية البعيدة والقنوات الجامعة (Barton,1989). هذا وقد تمَّ وصف السمية الكلوية من قبل المختصين في العلاج الكيميائي ، إذ يُعتقد أنَّ سبب حدوثها يرتبط في معظم الحالات بإستخدام العلاجات الكيميائية الخاصة بالأورام الخبيثة للجهاز التناسلي للمرأة ومن تلك العلاجات المستعملة : Cyclophosphamide و Mitomycin-C و Cisplatin و Methotrexate (Thigpen,1990). وقد وجد أنَّ الجرع الكيميائية المحددة غالباً ما تسبب سمية كلوية وفشل كلوي وتنخر كلوي أنبوبي مع وذمة خلالية وإنحطاط. ويُعتقد أنَّ النبيب الكلوي الداني أو القريب (Proximal Tubule) هو الموقع الأساسي للتأثير السمي الضار لعقار السايكلوفوسفومايد (Rainey *et al*.,1978 ; Hayes *et al*.,1977).

وأشارت البحوث إلى أنَّ سبب موت الخلايا الكلوية الناجم عن تعاطي عقار Cisplatin غير معروف ، فيما تم التوصل إلى أنَّ إستخدام كل من : Furosemide و Mannitol و Hydration يُعد فعالاً للوقاية من السُّمية الكلوية (Safirstein *et al*.,1986).

4.6.2.2 الآثار الجانبية على أعضاء الجسم الأخرى: Other Side Effects

لعقار السايكلوفوسفومايد آثار جانبية أخرى على أنسجة وأعضاء الجسم المختلفة ، منها ما قد يسببه العقار من خلال تكون المرض المعروف بإلتهاب المثانة النزفي (Hemorrhagic Cystitis) ومن أعراضه أنه يظهر كحرقة وإلتهاب بالمثانة أو حرقة عند التبول مع ظهور دم بالبول ، كما ويمكن أن يتسبب هذا العقار في إصابة المثانة بإعتلالات مختلفة تتضمن تقلصها (Shrinkage) ورُبما تليّفها (Fibrosis) ، إضافةً إلى تضرر الكلية مع حصول فقدان للأملاح والمعادن بالبول (Urine) من جرّاء تعاطي هذا العقار الكيمياوي.

وتزيد العقاقير الكيمياوية من إحتمال حصول مشاكل بالقلب (Heart) بعد تناول جرعات عالية منها (Bristol-Myers,2003). وقد أشارت بعض الدراسات العلمية إلى أنَّ عقار السايكلوفوسفومايد من الممكن أن يسبب إحتشاء عضلة القلب عند التعرض إلى جرعات عالية منه (Anderson,2002).

أما فيما يخص الرئتين (Lungs) ، فتظهر إصابتها بشكل ملحوظ وبصفة أكثر شيوعاً عند الأطفال المعالجين ببعض العقاقير الكيمياوية مثل: عقار السايكلوفوسفومايد وكارموستين وفلودارابين ، ومن أشهر أعراض تضرر الرئة حصول صعوبة بالتنفس ، وتزداد هذه الحالة حدة وبشكل خاص عند إجراء بعض النشاطات الحركية أو عند وجود سُعال جاف ملازم للمريض.

5.6.2.2 السرطانات والأورام الثانوية التي يُسببها العقار:

Cancers & Secondary Tumors Caused by the Drug

وجد ومن خلال التجارب العملية السابقة أنَّ معاملة الحيوانات المختبرية مثلاً بعقار السايكلوفوسفومايد يُؤدي إلى تطور السرطانات الحميدة والخبيثة في كل من الثدي والمثانة مع تطور سرطان الدم (Leukemia) وسرطان الغدد اللمفاوية (Lymphoma) ، فعلى هذا الأساس تم تصنيف عقار السايكلوفوسفومايد ضمن العقاقير أو العوامل المسرطنة للإنسان (Larc,1987 ; Larc,1981).

إنَّ ظهور الأورام الثانوية الخبيثة يُعد مؤشراً لتأثيرات جانبية متأخرة لمختلف عوامل المعالجة الكيميائية على الرغم من أنَّ سبب حدوثها غير واضح تماماً فيما إذا كان بالفعل التطفيري لهذه العوامل أو بسبب عملها الكابح للمناعة ، إضافةً إلى أنَّ تأثير مقدار الجرع ومدة العلاج غير معروف في إحداث الأورام (Tumors) ، ولكن يُعتقد أنَّ السبب في ذلك ممكن أن يعود إلى أنَّ الإستعمال طويل المدى لهذه العوامل العلاجية من الممكن أن يزيد من فرص تكوين أورام ثانوية خبيثة. بالرغم من قلة الدراسات في هذا المجال ، إلا أنه وجدت حالات لحدوث السرطان (Cancer) في الإنسان والحيوانات أيضاً ، منها سرطان الأنسجة المكونة للدم وسرطان الأنسجة اللمفاوية وسرطان المثانة (بالأخص في حالة الإصابة بنزف المثانة) ، وذلك عند إستعمالهم لعقار السايكلوفوسفومايد بعد عدة سنوات من المعالجة بهذا العقار (Larc,1987).

وقد أكدت عدة دراسات علمية على أنَّ الأدوية المضادة للسرطان (Anti-Cancer Drugs) تقوم بعرقلة العمليات الأيضية لخلايا الجسم خصوصاً تلك الخلايا التي تنقسم بصورة سريعة كخلايا نخاع العظم (Bone Marrow Cells) والخلايا المولدة الجرثومية (Germ Cells) وكذلك الخلايا الجذعية (Stem Cells) ، كما وتسبب ضرراً للمادة الوراثية التابعة للخلايا الطبيعية ، ممّا يُساعد في إحداث طفرات جديدة منتجةً أنواعاً أخرى من السرطانات.

هذا ويظهر تأثير عقار السايكلوفوسفومايد واضحاً من خلال حثه على حدوث التشوهات الكروموسومية وتبادل الكروماتيدات الشقيقة للكروموسومات ، إضافةً لحدوث طفرات (Mutations) في الخلايا الجنسية (Sexual Cells) أيضاً (Ben-Yehuda *et al.*,1996).

المواد وطرائق العمل

Materials & Methods

1.3 المواد: Materials

1.1.3 حيوانات التجربة: Experiment's Animals

إستُعملت في هذه الدراسة ذكور الأرانب المحلية (Domestic Rabbits) بعمر 6-7 أشهر، وبأوزان تراوحت من 1050 - 1080 غم ، فقد تم الحصول عليها من الأسواق المحلية المنتشرة في العاصمة العراقية بغداد ومحافظة كربلاء. تم إيواء الحيوانات في بيت حيواني مصغر تم إعداده في منزل الباحث - كون البيت الحيواني الخاص بكلية التربية للعلوم الصرفة ما يزال قيد الإنشاء - وكان بمواصفات وظروف مختبرية ملائمة لإجراء التجربة من تهوية وإضاءة وتدفئة وتبريد .. إلخ ، فقد وُضعت الحيوانات في أقفاص مصنوعة من الخشب وأخرى من الألمنيوم ، وفرشت الأرضية بالكرتون مع وضع كمية من نشارة الخشب عليه والتي تستبدل بين مدة وأخرى وذلك للمحافظة على نظافة المكان والحيوانات ، كما أعطيت العليقة الغذائية (بلت) والماء اللازم لها بصورة حرة. تُركت الحيوانات مدة أسبوعين للتأكد من خلوها من الأمراض المختلفة ولكي تتأقلم مع ظروف التجربة قبل إخضاعها للدراسة (صورة 3-1).

صورة (3-1): نموذج لحيوانات التجربة (الأرانب المحلية)

أمـا فيمـا يخـص التصـنيف العلمـي لحيوانـات التجربـة (الأرانـب المحليـة) ، فقـد وُجـد بـأن الأرنب المحلي ينحدر من الأرنب الأوربي ***Oryctolagus cuniculus*** والمثبت تصنيفه أدناه ، إذ تتواجد هذه الأرانب بشكل عام في شبه جزيرة إيبريا الإسبانية وكذلك في جنوب فرنسا (Harcourt & Nigel,2002). تعود الأرانب إلى المملكة الحيوانية (Sharp *et al*.,2007).

والتصنيف العلمي الكامل له كما يأتي:

Kingdom: Animalia المملكة الحيوانية

Phylum: Chordata شعبة الحبليات

Super-Class: Tetrapoda فوق صنف رباعيات الأقدام

Class: Mammalia صنف اللبائن (الثديات)

Order: Lagomorpha رتبة أرنبيات الشكل

Family: Leporidae عائلة الأرانب

Genus: ***Oryctolagus***

Species: ***cuniculus***

2.1.3 النبات المستعمل بالتجربة: Experiment's Plant

إستعملت في هذه الدراسة الفصوص الجافة لنبات الثوم ، والمتوفرة في السوق المحلية لمحافظة كربلاء ، كما في الصورة (3-2أ) والصورة (3-2ب). فقد إستعمل في تجربة هذه الدراسة بالتحديد المستخلص المائي لفصوص هذا النبات وبتركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان ، إذ جُرعت حيوانات التجربة فموياً بالمستخلص بعد خلط الوزن المطلوب منه مع الماء المقطر (Distilled Water) ، وقد عدَّ الماء المقطر في هذه الحالة وسطاً ناقلاً للمستخلص النباتي. تم تصنيف النبات إعتماداً على مفتاح التصنيف النباتي / مركز التأريخ الطبيعي- بغداد.

صورة (3-2أ): فصوص نبات الثوم الجاف مغلفة بقشرة خارجية

صورة (3-2ب): فصوص نبات الثوم منزوعة القشرة الخارجية

3.1.3 العقار المستعمل بالتجربة: Experiment's Drug

إستعمل في هذه الدراسة عقار السايكلوفوسفومايد (Cyclophosphamide) ، والمتوفر في الصيدليات والمذاخر الدوائية لمحافظة كربلاء ، ويحمل هذا العقار أسماءً تجارية عديدة أبرزها الإسم التجاري إندوكسان (Endoxan) ، ويكون إما بشكل فيالات (Vials) خاصة بالحقن كما في الصورة (3-3أ) ، أو بشكل حبوب (Tablets) خاصة بالتجريع كما في الصورة (3-3ب). فقد أستعمل في تجربة هذه الدراسة بالتحديد الحبوب من صناعة شركة Baxter الدوائية ذات المنشأ الهندي (India) لغرض التجريع وبتركيز 20 ملغم \كغم من وزن الجسم للحيوان ، إذ جُرعت حيوانات التجربة فموياً بالعقار بعد خلط الوزن المطلوب منه مع الماء المقطر، وقد عدَّ الماء المقطر في هذه الحالة وسطاً ناقلاً للعقار الكيمياوي.

صورة (3-3أ): عقار السايكلوفوسفومايد (Endoxan) بشكل فيال (Vial) وبسعة 200 ملغم

صورة (3-3ب): عقار السايكلوفوسفومايد (Endoxan) بشكل حبوب (Tablets) وبوزن 50 ملغم لكل حبة

4.1.3 المتطلبات المستعملة في التجربة: Experiment's Requirements

إستُعملت في هذه الدراسة أجهزة مختلفة (جدول 3-1) ، إضافةً إلى إستخدام أدوات عديدة كما في الجدول (3-2) ، كما وإستُخدمت مواد كيميائية متنوعة (جدول 3-3) ، بينما تم إستعمال عُدد جاهزة تم الحصول عليها بشكل عُدد قياسية (Standard Kits) كما هو موضح بالجدول (3-4).

1.4.1.3 الأجهزة المستعملة:

جدول (3-1): الأجهزة المستعملة في الإختبارات الخاصة بالدراسة الحالية بحسب الشركة المصنعة وبلد المنشأ

ت	الجهاز (Equipment)	الشركة المصنعة (Company)	بلد المنشأ (Country)
1	ثلاجة (Refrigerator)	Concord	فرنسا (France)
2	ثلاجة خاصة بعمل التقطيع النسيجي (Refrigerator)	Leica EG1150C	تركيا (Turkey)
3	جهاز التقطيع النسيجي (Microtome)	Leica RM2245	تركيا (Turkey)
4	جهاز الخلاط الكهربائي (Electrical Blender)	Glassco	الهند (India)
5	جهاز الطرد المركزي (Centrifuge)	Heraeus	ألمانيا (Germany)
6	جهاز الطرد المركزي لمكداس الدم (Hematocrit Centrifuge)	Hermile	ألمانيا (Germany)
7	جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer)	Apple 203	اليابان (Japan)
8	جهاز تصبيغ الشرائح (Slides Staining Set)	Leica Auto-Stainer XL	تركيا (Turkey)
9	جهاز صب القوالب (Pouring Equipment)	Leica EG1150H	تركيا (Turkey)
10	جهاز عد كريات الدم (Hemocytometer)	Hermile	ألمانيا (Germany)
11	جهاز قياس التألق بالأشعة فوق البنفسجية (U.V.)	Clever Scientific	المملكة المتحدة (United Kingdom)
12	جهاز معالجة عينات الأنسجة (Processing Equipment)	Leica	تركيا (Turkey)
13	حاضنة رقمية (Digital Incubator)	Daihan Labtech	كوريا (Korea)

14	حمام مائي (Water Bath)	Leica	تركيا (Turkey)
15	صفيحة ساخنة (Hot Plate)	Glassco	الهند (India)
16	فرن كهربائي (Electrical Oven)	Memmert	ألمانيا (Germany)
17	كاميرا رقمية (Digital Camera)	Canon	اليابان (Japan)
18	ماكنة طحن كهربائية (Electrical Grinding Machine)	Hermile	ألمانيا (Germany)
19	مجهر ضوئي مجهز بكاميرا (Light Microscope with Camera)	MEIJI	اليابان (Japan)
20	مقطر الماء (Water Distiller)	Gellen Kamp	إنكلترا (England)
21	ميزان حساس كهربائي (Electrical Sensitive Balance)	Sartorius	ألمانيا (Germany)
22	ميزان كهربائي (Electrical Balance)	Sartorius	ألمانيا (Germany)

2.4.1.3 الأدوات المستعملة:

جدول (3-2): الأدوات المستعملة في الإختبارات الخاصة بالدراسة الحالية بحسب الشركة المصنعة وبلد المنشأ

ت	الأداة (Tool)	الشركة المصنعة (Company)	بلد المنشأ (Country)
1	أغطية الشرائح الزجاجية (Cover Slides)	Mheco	الصين (China)
2	أنابيب إختبار إعتيادية فارغة (Plain Tubes)	Mheco	الصين (China)
3	أنابيب إختبار حاوية على مادة مانعة للتخثر (EDTA Tubes)	Mheco	الصين (China)
4	أنابيب إختبار حاوية على مادة هلامية (Gel Tubes)	Mheco	الصين (China)
5	أنابيب بلاستيكية صغيرة الحجم (Eppendorf Tubes)	Mheco	الصين (China)
6	أنابيب شعرية (Capillary Tubes)	Mheco	الصين (China)
7	أواني تلوين زجاجية (Glass Staining Utensils)	S.I.E.	باكستان (Pakistan)

8	أوعية زجاجية مختلفة الأحجام (Pyrex)	Volac	إنكلترا (England)
9	تبات الماصات (Pipettes Tips)	Mheco	الصين (China)
10	سلة الشرائح الزجاجية (Slides Basket)	Mheco	الصين (China)
11	شرائح زجاجية (Slides)	Mheco	الصين (China)
12	عدة تشريح (Dissecting Set)	S.I.E.	باكستان (Pakistan)
13	مازج زجاجي (Glass Vortex)	Rom	إيطاليا (Italy)
14	محاقن طبية نبيذة (Disposable Medical Syringes)	--	الأردن (Jordan)

3.4.1.3 المواد الكيميائية المستعملة:

جدول (3-3): المواد الكيميائية المستعملة في الإختبارات الخاصة بالدراسة الحالية بحسب الشركة المصنعة وبلد المنشأ

ت	المادة الكيمائية (Chemical Material)	الشركة المصنعة (Company)	بلد المنشأ (Country)
1	أوكزالات البوتاسيوم (Potassium Oxalate)	BDH	إنكلترا (England)
2	حامض الخليك ثلاثي الكلور (Trichloro Acetic Acid TCA)	Hopkin & Williams	إنكلترا (England)
3	حامض الهيدروكلوريك (Hydrochloric Acid HCl)	BDH	إنكلترا (England)
4	زايلين (Xylene)	Scharlau	إسبانيا (Spain)
5	شمع البارافين (Paraffin Wax)	Merck	ألمانيا (Germany)
6	صبغة الآيوسين (Eosin Stain)	BHD	الهند (India)
7	صبغة الهيماتوكسلين (Hematoxylene Stain)	BHD	الهند (India)
8	عقار السايكلوفوسفومايد (Cyclophosphamide Drug)	Baxter	الهند (India)
9	فورمالديهايد (Formalin)	BDH	إنكلترا (England)
10	فوسفات البوتاسيوم الهيدروجينية اللامائية K_2HPO_4 Anhydrous	BDH	إنكلترا (England)

11	فوسفات الصوديوم الهيدروجينية اللامائية Na_2HPO_4 Anhydrous	BDH	إنكلترا (England)
12	كحول الإيثانول المطلق (Absolute Ethanol)	Scharlau	إسبانيا (Spain)
13	كلوروفورم (Chloroform CCl_4)	BDH	إنكلترا (England)
14	كلوريد البوتاسيوم (Potassium Chloride KCl)	BDH	إنكلترا (England)
15	كلوريد الصوديوم (Sodium Chloride NaCl)	BDH	إنكلترا (England)
16	مادة لاصقة للتحميل (D.P.X)	BHD	الهند (India)

4.4.1.3 العُدد المستعملة:

جدول (3-4): العُدد الجاهزة والمستعملة في الإختبارات الخاصة بالدراسة الحالية بحسب الشركة المصنعة وبلد المنشأ

ت	العُدة الجاهزة (Kit)	الشركة المصنعة (Company)	بلد المنشأ (Country)
1	عدة قياس إنزيم الكبد ALT (ALT Kit)	Randox	المملكة المتحدة (United Kingdom)
2	عدة قياس إنزيم الكبد AST (AST Kit)	Randox	المملكة المتحدة (United Kingdom)
3	عدة قياس إنزيم الكبد ALP (ALP Kit)	Biomerieux	فرنسا (France)
4	عدة قياس البيليروبين الكلي (T.Bil. Kit)	Linear Chemicals S.L.	إسبانيا (Spain)
5	عدة قياس الكوليسترول الكلي (T.C. Kit)	Atlas	الولايات المتحدة الأمريكية (U.S.A)
6	عدة قياس الألبومين (Albumin Kit)	Linear Chemicals S.L.	إسبانيا (Spain)
7	عدة قياس اليوريا (Urea Kit)	Randox	المملكة المتحدة (United Kingdom)
8	عدة قياس الكرياتنين (Creatinine Kit)	Spectrum	ألمانيا (Germany)

2.3 طرائق العمل: Methods

1.2.3 الجُرعة المناسبة للمستخلص النباتي المستخدم: Appropriate Dose for The Plant's Extract

حُددت في هذه الدراسة الجرعة المناسبة من المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم والبالغة 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان والتي تمتلك الفعالية المؤثرة لتأدية الغرض الذي إستُعمل النبات من أجله (الربيعي،2001) ، إذ أعطيت هذه الجرعة لحيوانات التجربة (الأرانب المحلية) فموياً وبشكل يومي ، بعد أخذ الوزن المطلوب من مسحوق المستخلص النباتي (المحضر مسبقاً) قياساً بوزن الحيوان ، ثم خلطه بالماء المقطر، إذ عُدّ الماء المقطر هنا كوسيلة ناقلة للمستخلص من أجل توفير طريقة سهلة ومستساغة عند تجريع الحيوان.

2.2.3 الجُرعة المناسبة للعقار المستخدم: Appropriate Dose for The Drug

حُددت في هذه الدراسة الجرعة المناسبة من عقار السايكلوفوسفومايد والبالغة 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان والتي تمتلك الفعالية السُّمية المؤثرة بحيث لاتصل إلى الحد المميت للحيوان (الربيعي،2001) ، تم إعطاء هذه الجرعة لحيوانات التجربة (الأرانب المحلية) فموياً وبشكل يومي ، عن طريق جلب حبوب العقار وطحنها جيداً ، ثم أخذ الوزن المطلوب من مسحوق العقار قياساً بوزن الحيوان وخلطه بالماء المقطر، وهنا عُدّ الماء المقطر كوسيلة حاملة للعقار الكيمياوي وذلك لضمان الحصول على طريقة سهلة وناجحة عند تجريع الحيوان.

3.2.3 تحضير المستخلص النباتي المائي: Preparation of The Watery Plant's Extract

تم تحضير المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم بإستعمال الماء المقطر، وبحسب طريقة Sato *et al.*,(1990) مع بعض التحويرات عليها وكما يأتي:

تم أخذ وزن معين من فصوص نبات الثوم وتقشيرها ثم غسلها بالماء المقطر جيداً ، بعد ذلك قُطعت الفصوص إلى قطع صغيرة لتسهيل عملية جفافها ، ثم تُركت في الهواء الطلق لتجف ، وبعد جفافها جيداً طُحنت قطع الفصوص الجافة لنبات الثوم بالمطحنة الكهربائية إلى مسحوق جاف ، إذ تم أخذ وزن معين منه ، ثم خُلط مع المذيب وهو (في هذه الدراسة) الماء المقطر ، تمت مجانسة الخليط جيداً في خلاط كهربائي لمدة 30 دقيقة ، بعدها رُشح المحلول الناتج بإستخدام قطعة قماش ، ثم وُضع الراشح في فرن كهربائي بدرجة حرارة 45 درجة مئوية لمدة 24 ساعة للحصول على

المستخلص الجاف ، بعدها تم جمع المسحوق الجاف للثوم وحُفظ في الثلاجة داخل قنينة معتمة ومعقمة بدرجة حرارة أربع درجات مئوية لحين الإستخدام.

4.2.3 تصميم التجربة: Experiment's Design

أجريت هذه الدراسة في مختبرات قسم علوم الحياة التابع لكلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة كربلاء ومختبرات كلية الطب البيطري في نفس الجامعة ، بالإضافة لبعض مختبرات شعبة المختبر التابعة لمستشفى الحسين (ع) التعليمي في محافظة كربلاء ، مع تهيئة بيت حيواني مُصغر أعدّ خصيصاً لهذه الدراسة في منزل الباحث. إستمرت الدراسة الحالية قرابة ثمانية أشهر إبتداءً من شهر شباط ولغاية شهر أيلول من عام 2016م ، وذلك لمعرفة تأثير المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم على مستويات بعض المعايير الفسيولوجية (بعض معايير الدم وعدد من المعايير الكيموحيوية) والنُسجية (أنسجة الكبد والكلى) لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد.

ولدراسة الآلية التي يعمل بها المستخلص النباتي ، أجريت ثلاثة تداخلات بين المستخلص النباتي وعقار السايكلوفوسفومايد وهي: قبل (Before) وأثناء أو مع (With) وبعد (After) ، فقد قُسمت حيوانات التجربة (ذكور الأرانب المحلية) بصورة عشوائية إلى خمس مجموعات وبواقع خمسة أرانب لكل مجموعة ، أي أنَّ المجموع الكلي لحيوانات التجربة يصبح 25 أرنباً وحسب التوصيف الآتي:

1. <u>المجموعة الأولى G1 (بدون تجريع):</u>

تُعرف بالسيطرة السالبة (Negative Control) ، وهي التي يتم مقارنة المجموعة الثانية بها ، وأعطيت حيوانات التجربة الماء والغذاء الطبيعي المعروف بالعليقة الغذائية (بلت) والمكون - على الأغلب - من طحين وصويا وبروتين مع نسبة من الماء وبدون أي مواد مضافة أخرى لمدة 30 يوماً.

2. <u>المجموعة الثانية G2 (التجريع بالعقار):</u>

وتُعرف بالسيطرة الموجبة (Positive Control) ، وهي التي يتم مقارنتها بالمجموعة الأولى وكذلك مقارنة المجموعات الثلاث الأخيرة بها ، وجُرعت حيوانات التجربة فموياً بعقار السايكلوفوسفومايد يومياً ، وكانت جُرع العقار بتركيز 20 ملغم\كلغم من وزن الجسم للحيوان ولمدة 30 يوماً.

3. المجموعة الثالثة G3 (التجريع بالمستخلص قبل العقار):

في هذه المجموعة ، جُرعت حيوانات التجربة بالمستخلص المائي للثوم (جرعة يومية بتركيز 100 ملغم\كلغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوماً ، بعدها جُرعت الحيوانات بعقار السايكلوفوسفومايد (جرعة يومية بتركيز 20 ملغم\كلغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوماً أخرى.

4. المجموعة الرابعة G4 (التجريع بالمستخلص مع العقار):

في هذه المجموعة ، جُرعت حيوانات التجربة بالمستخلص المائي للثوم (جرعة يومية بتركيز 100 ملغم\كلغم من وزن الجسم للحيوان) مع عقار السايكلوفوسفومايد (جرعة يومية بتركيز 20 ملغم\كلغم من وزن الجسم للحيوان) في آنٍ واحد ولمدة 30 يوماً.

5. المجموعة الخامسة G5 (التجريع بالمستخلص بعد العقار):

في هذه المجموعة ، جُرعت حيوانات التجربة بالمستخلص المائي للثوم (جرعة يومية بتركيز 100 ملغم\كلغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوماً بعد أن تم تجريع الحيوانات بعقار السايكلوفوسفومايد (جرعة يومية بتركيز 20 ملغم\كلغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوماً أيضاً.

تم تسجيل أوزان حيوانات التجربة قبل وبعد مدة التجريع بإستخدام ميزان ذي مرتبة عشرية واحدة نوع Sartorius ، كما تمت عملية سحب الدم من قلب الحيوانات مباشرةً بإستعمال محاقن طبية نبيذة (Disposable Syringes) ، ثم التضحية بها بتشريحها بعد تخديرها بمادة الكلوروفورم (Chloroform) وبإستعمال العُدة الخاصة بالتشريح. وزنت الأعضاء المستأصلة (الكبد والكلى) من الحيوانات بإستعمال ميزان حساس ذي أربع مراتب عشرية نوع Sartorius أيضاً ، وتم إجراء الفحوصات الخاصة بقياس مستويات بعض المعايير الدموية وعدد من المعايير الكيموحيوية بالإضافة لعمل المقاطع النسجية لأنسجة كل من الكبد والكلى.

5.2.3 الكشوفات الكيميائية النوعية: The Chemical Detections

1.5.2.3 الكشف عن الكربوهيدرات: Detection of Carbohydrates

- **كشف مولش Molish Test:**

تمت إذابة 0.01 غم من المستخلص في 5 مل من الماء المقطر، بعدها وضع 1 مل من المحلول الناتج في أنبوبة إختبار وأضيف اليها خمس قطرات من محلول ألفا- نفثول الكحولي بتركيز1% ، ثم رجت الانبوبة جيداً وأضيف إليها 0.5 مل من حامض الكبريتيك المركز(H_2SO_4). دلّ ظهور الحلقة البنفسجية اللون على إيجابية الكشف (Saadalla,1980).

- **كشف الفينول مع حامض الكبريتيك المركز(H_2SO_4):**

تم تحضير كاشف الفينول وذلك بإذابة 25غم من بلورات الفينول في 500 مل من الماء المقطر، ثم أضيف 0.5 مل من هذا الكاشف إلى 0.5 مل من المستخلص في أنبوبة إختبار، بعدها رجت جيداً ثم أضيف 2.5 مل من حامض الكبريتيك المركز إلى المحلول. دلّ ظهور اللون الأحمر البني على وجود الكربوهيدرات (Meyer & Walther,1988).

2.5.2.3 الكشف عن الفلافونيدات: Detection of flavonoids

وضع 1 مل من المستخلص النباتي في أنبوبة إختبار وأضيف له قطرات من حامض الكبريتيك المركز(H_2SO_4). دلّ ظهور اللون البني المحمر على إيجابية الكشف (Cannell,1998).

3.5.2.3 الكشف عن الكومارينات: Detection of Cuomarins

وضعت كمية قليلة من المستخلص المائي لنبات الثوم في أنبوبة إختبار (Test Tube) ، بعدها غطيت الأنبوبة بورق ترشيح (Filter Paper) مرطبة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) ، ثم وضعت في حمام مائي (Water Bath) بدرجة الغليان لبضع دقائق ، بعدها عرضت ورقة التشريح إلى مصدر للأشعة فوق البنفسجية (U.V.). إنَّ ظهور اللون الأزرق يُعد دليلاً على إيجابية الكشف (الإسماعيل،2009).

4.5.2.3 الكشف عن القلويدات: Detection of Alkaloids

تم إتباع طريقة Smolensk *et al.*,(1972) في الكشف عن القلويدات ، وذلك بوضع 10غم من المستخلص النباتي في 5 مل من الماء المقطر المحمض بحامض الهيدروكلوريك (HCl) بتركيز 4 % ، ترك المحلول يغلي لمدة 10 دقائق ، رشح بعدها ، ثم وضع 0.5 مل من الراشح في زجاجة ساعة بإستخدام الكواشف الآتية:

- **كاشف واكنر:**

حُضر هذا الكاشف بإذابة 1.3 غم من اليود I مع 2 غم من يوديد البوتاسيوم (KI) في 100 مل من الماء المقطر. دلّ الراسب البني المتكون على إيجابية الكشف.

- **كاشف ماير:**

حُضر هذا الكاشف بإذابة 1.3غم من كلوريد الزئبقوز ($HgCl_2$) في 60 مل من الماء المقطر، وكذلك إذابة 5غم من يوديد البوتاسيوم (KI) في 10 مل من الماء المقطر، ثم مزج المحلولين معا وأكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر. دلّ ظهور الراسب الأبيض المسمر على إيجابية الكشف.

5.5.2.3 الكشف عن الصابونينات: Detection of Saponins

تم الكشف بإستخدام كاشف كلوريد الزئبقيك ($HgCl_3$) ، وبوساطة كشف الرغوة (Silva *et al.*,1998 ; Harborne,1984). إن ظهور الرغوة يُعد دليلاً على إيجابية الكشف.

6.5.2.3 الكشف عن الفينولات: Detection of Phenols

تم الكشف عن الفينولات وذلك بإستعمال كاشف خلات الرصاص (Lead Acetate Test) وكلوريد الحديديك ($FeCl_3$) (Adedays *et al.*,2001 ; Jawad,1997).

7.5.2.3 الكشف عن التربينات والستيرولات: Detection of Terpenoids & Sterols

تم الكشف عنها بوساطة كاشف يُعرف بكاشف ليبرمان- بورخارد (Lieberman-Burchard) (Silva *et al.*,1998).

8.5.2.3 الكشف عن الراتنجات: Detection of Resins

إعتُمدت طريقة Shihata,(1951) في الكشف عن الراتنجات ، وذلك بإضافة 50 مل من الإيثانول 95 % إلى 10 غم من المستخلص النباتي ، ثم وضع المزيج في حمام مائي بدرجة حرارة 50 درجة مئوية ، بعدها ترك يغلي لمدة من الزمن ، بعدها رشح المحلول وأضيف إليه 100 مل من الماء المقطر المحمض بحامض الهيدروكلوريك (HCl) بتركيز 4 %. دلّ ظهور العكورة (Turbidity) على إيجابية الكشف.

9.5.2.3 الكشف عن الزيوت الطيارة: Detection of Volatile Oils

تم الكشف عن الزيوت الطيارة وذلك بحسب ما ورد في Indian Herbal Pharmacopeias ،(1998) ، إذ عُرضت ورقة ترشيح مشبعة بالمستخلص النباتي إلى الأشعة فوق البنفسجية (U.V.). دلّ ظهور اللون الوردي البرّاق على إيجابية الكشف.

10.5.2.3 الكشف عن التانينات: Detection of Tannins

تم الكشف عن التانينات بإستعمال كاشف خلات الرصاص (CH_3COOPb) بتركيز 1%. دلّ ظهور الراسب الهلامي القوام على إيجابية الكشف (دلالي والحكيم،1987).

6.2.3 تحضير المحاليل: Preparation of Solutions

1.6.2.3 محلول دارىء الفوسفات الفسيولوجي: Phosphate Buffer Solution (P.B.S)

حُضر المحلول بإذابة 8 غم من (NaCl) ، 0.0015 ملغم من (Na_2HPO_4) ، 0.2 ملغم من (KCl) و 0.2 ملغم من (KH_2PO_4). عُدل PH المحلول إلى 7.3 ، بعدها تم تعقيمه بالمؤصدة ، ثم حُفظ بدرجة أربع درجات مئوية (Sambrook *et al*.,2001).

2.6.2.3 محلول ملون الهيماتوكسلين: Hematoxylene Stain Solution

إستُعملت هذه الصبغة بشكل عام لإظهار البنيان النسيجي للمقاطع المنتخبة (Luna,1968) ، وحُضرت الصبغة بمزج المواد الآتية:

- 2.5 غم من مسحوق الهيماتوكسلين.
- 25 مل من الكحول الأثيلي المطلق.
- 50 غم من شب البوتاسيوم $Al\ K(SO_4)_2.12H_2O$ ، أو من الممكن إستخدام شب الأمونيا $NH_4Al(SO_4)_2.12H_2O$.
- 500 مل ماء مقطر دافئ.
- 1.25 غم من أوكسيد الزئبقيك الأحمر (Red Mercuric Oxide).

تمت إذابة مسحوق الهيماتوكسلين بالكحول المطلق ، ثم أضيف إلى الشب المذاب بالماء المقطر الدافئ ، بعدها وضع المزيج على النار حتى درجة الغليان ، ثم أضيف إليه أوكسيد الزئبقيك الأحمر، بعدها بُرد بالماء البارد مباشرةً وأضيف إليه حامض الخليك الثلجي ، ورُشح الخليط قبل الإستعمال.

3.6.2.3 محلول ملون الآيوسين الكحولي: Alcoholic Eosin Stain Solution

حُضرت هذه الصبغة عن طريق مزج المواد الآتية:

- 1 غم من مسحوق الآيوسين.
- 99 مل من الكحول الأثيلي بتركيز 70%.
- 1 مل من حامض الخليك الثلجي (Glacial Acetic Acid).

أذيب مسحوق الآيوسين في الكحول المخفف بشكل جيد ، ثم أضيف إليه حامض الخليك الثلجي ، بعدها رُشح الخليط قبل الإستعمال باليوم التالي.

7.2.3 جمع عينات الدم: Collection of The Blood's Samples

تم سحب عينات الدم من قلب الحيوان مباشرة بإستخدام محاقن طبية نظيفة ومعقمة سعة 5 مل ، إذ وضع مقدار 3 مل من الدم المسحوب في أنابيب إختبار بلاستيكية معلمة خالية من مانع التخثر وحاوية على مادة الجل الهلامية (Gel Tubes) ، لغرض الحصول على الكمية الكافية والصافية من المصل (Serum) بغية التوصل لأفضل النتائج ، بعدها تم فصل المصل بوساطة جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بسرعة 4000 دورة في الدقيقة ولمدة 10 دقائق مع إستخدام أنابيب بلاستيكية إعتيادية (Plain Tubes) أحياناً ، إذ يوضع بها ماء لغرض معايرة جهاز الطرد المركزي. تم سحب المصل الصافي والخالي من بقية مكونات الدم بوساطة ماصة دقيقة (Micropipette) ، ثم وضع المصل المفصول بأنابيب بلاستيكية صغيرة (Eppendorf Tubes) معلمة جافة ونظيفة ، بعدها حفظت أنابيب المصل هذه في حالة التجميد عند درجة حرارة منخفضة تقدر بـ 20- درجة مئوية لغرض إجراء الإختبارات الفسيولوجية (عدد من المعايير الكيموحيوية) عليها لاحقا. أما فيما يخص القسم الآخر من الإختبارات الفسيولوجية (بعض المعايير الدموية) ، فقد تم وضع 2 مل من الدم المسحوب في أنابيب إختبار خاصة سعة 3 مل حاوية على مادة مانعة للتخثر(EDTA Tubes) ، ثم أجريت الإختبارات المطلوبة عليها مباشرة من أجل الحصول على أفضل النتائج ، كون عينات الدم هذه معرضة للتحلل (Hemolysis) والتلف بسرعة عند تركها مدة من الزمن.

8.2.3 جمع عينات الكبد والكلى: Collection The Samples of The Liver & Kidneys

بعد إنتهاء التجربة مباشرةً ، تم التضحية بالحيوانات بعد تخديرها بالكلوروفورم ، شُرِّحت الحيوانات لإستئصال الأعضاء المطلوبة ، تم عزل الكبد والكلى منها وتنظيفها بغسلها بالماء لإزالة الدم المتبقي عليها ، بعدها تم تنشيف الأعضاء بوضعها على ورقة ترشيح (Filter Paper) ، وبعد تثبيت أوزان الأعضاء كاملة ، تم تقطيعها إلى قطع أصغر بشكل طولي وعرضي لسهولة حفظها مع ضمان وصول المادة الحافظة إليها ، ثم حُفظت العينات المقطعة في عبوات زجاجية معلمة جافة ونظيفة ذات غطاء محكم وحاوية على مادة حافظة هي الفورمالين (Formalin) المخففة بماء الحنفية الجاري إلى تركيز 10% ، بعدها تركت هذه العبوات لحين إجراء التقطيع النسيجي عليها لاحقاً.

9.2.3 الدراسة الفسيولوجية: Physiological Study

1.9.2.3 قياس مستوى بعض المعايير الدموية: Hematological Criteria

في هذه الدراسة ، تم قياس أربعة معايير دموية هي: R.B.Cs و W.B.Cs و P.C.V و Hb.

1.1.9.2.3 قياس عدد كريات الدم الحمر: Estimation of Red Blood Corpuscles (R.B.Cs) Count

بعد عملية سحب الدم ووضعه في أنابيب إختبار حاوية على مادة EDTA المانعة للتخثر، خُفف الدم بواسطة محلول Formal Citrate (المتكون من إذابة مادة ثلاثي سترات الصوديوم (Tri-Sodium Citrate) بمقدار 38 غم\لتر من الفرمالين بتركيز1%) بمزج 20 مايكروليتر من الدم مع 0.4 مل من محلول Formal Citrate المحضر مسبقاً ، ثم يُحرك الدم المخفف بتحريك الأنبوب تحريكاً ميكانيكياً ، بعدها يُملأ جهاز العد (Counting Chamber) بالدم المخفف بإستعمال Pasteur Pipette ، ثم يتم الفحص بالعدسة العينية للمجهر الضوئي (Light Microscope) تحت القوة 10x و 40x (Dacie & Lewis,1995).

وبحسب المعادلة الآتية:

عدد R.B.Cs = n (عدد R.B.C المحسوبة في خمسة مربعات) * 10000

بوحدة المليمتر المكعب

2.1.9.2.3 قياس عدد خلايا الدم البيض: Estimation of White Blood Cells (W.B.Cs) Count

بعد عملية سحب الدم ووضعه في أنابيب إختبار حاوية على مادة EDTA المانعة للتخثر، تم حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض وذلك بإستعمال جهاز عد الكريات (Hemocytometer) من نوع Improved Neubauer (Dacie & Lewis,1995).

وبحسب المعادلة الآتية:

عدد W.B.Cs = n (عدد W.B.C المحسوبة في أربعة مربعات) * 50

بوحدة المليمتر المكعب

3.1.9.2.3 قياس حجم خلايا الدم المضغوطة: Estimation of Packed Cells Volume (P.C.V)

لغرض حساب النسب المئوية الخاصة بحجم خلايا الدم المضغوطة لحيوانات التجربة (الأرانب المحلية) ، فقد تم إستعمال أنابيب شعرية (Capillary Tubes) مع إستخدام جهاز الطرد المركزي الدقيق الخاص بمكداس الدم (Micro Hematocrit Centrifuge) ، كذلك مقياس حساب مكداس الدم (Hematocrit Reader) (Brown,1976).

تتلخص طريقة العمل بإنسياب الدم في الأنبوبة الشعرية عن طريق الخاصية الشعرية مع ترك ما يُقارب 15 ملم من الأنبوبة غير مملوء ، ثم أغلقت إحدى نهايتيها بالطين الإصطناعي ، بعدها وُضعت في جهاز الطرد المركزي الدقيق ، إذ شُغل الجهاز لمدة خمس دقائق بسرعة 11000 دورة\دقيقة ، ثم أستخرجت الأنابيب من جهاز الطرد المركزي الدقيق وقُرئت النسبة المئوية لمكداس الدم (P.C.V) بوحدة النسبة المئوية (Percentage %).

4.1.9.2.3 قياس مستوى الهيموغلوبين: Estimation of Hemoglobin (Hb.)

بعد عملية سحب الدم ووضعه في أنابيب إختبار حاوية على مادة EDTA المانعة للتخثر، تم قياس مستوى الهيموغلوبين (Hb.) ، وذلك بقسمة قيمة حجم خلايا الدم المضغوطة (P.C.V) - المحسوبة مسبقاً كما في الفقرة أعلاه - على العدد الثابت 3.3 ، بإعتبار أنَّ الهيموغلوبين يمثل 3\1 حجم كريات الدم الحمراء (R.B.Cs) ، وبحسب القانون الآتي (Rodac,2002):

$$\text{مستوى الهيموغلوبين (Hb.)} = \frac{\text{قيمة P.C.V}}{3.3}$$

بوحدة غم\ديسيلتر

2.9.2.3 قياس مستوى عدد من المعايير الكيموحيوية: Biochemical Criteria

في هذه الدراسة ، تم قياس ثمانية معايير كيموحيوية هي: ALT و AST و ALP و T.Bil. و T.C. و Albumin و Urea و Creatinine.

1.2.9.2.3 قياس فعالية الإنزيمين الناقلين لمجموعة الأمين في مصل الدم:

Alanine Transaminase (ALT) & Aspartate Transaminase (AST)

تم حساب فعالية الإنزيمين ALT وAST في مصل الدم بإستخدام عدد التقدير الجاهزة (Kits) وعلى أساس التفاعلين الآتين:

$$\alpha\text{-oxoglutarate} + \text{L-alanine} \xrightarrow{ALT} \text{L-glutamate} + \text{Pyruvate}$$

$$\alpha\text{-aspartate} + \text{L-oxoglutarate} \xrightarrow{AST} \text{L-glutamate oxoglutarate}$$

إذ يعتمد تقدير فعالية الإنزيم ALT على البايروفيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة تفاعل الأنزيم مع ثنائي فنيل هايدرازين.

وكذلك تم تقدير فعالية الإنزيم AST من الأوكزالوأسيتيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة الأنزيم مع ثنائي فنيل هايدرازين.

المبدأ الأساسي للعمل:

تعمل إنزيمات ALT وAST على تحفيز نقل مجموعة الأمين من حامض Glutamic Acid إلى حامض أوكزالو- أستك (Oxalo-Acetic Acid) وحامض البايروفيك (Pyruvic Acid) في تفاعلات كيميائية عكسية.

تكون فعالية الترانس أمينيز (Transaminase) متناسبة مع كمية أوكزالوأسيتيت (Oxaloacetate) والبايروفيت (Pyruvate) المتكونة خلال مدة محددة من الوقت ، وتُقاس من خلال التفاعل مع 4.2- ثنائي نايتروفنيل هايدرازين (2.4 Di Nitro Phenyl Hydrazine DNPH) في محلول قاعدي.

طريقة العمل:

أجريت خطوات العمل كما في الجدول أدناه وبحسب طريقة Reitman & Frankel,(1957) و Schmidt,(1963). كانت جميع الحجوم محسوبة بالملي لتر.

أنواع وحجوم المحاليل المستخدمة في تفاعلات طريقة العمل

المحاليل	العينة	المحلول الكفء
العينة (المصل) **محلول الفوسفات الدارئ**	0.1 مل 0.5 مل	- 0.5 مل
مزجت محتويات الأنابيب جيداً وحضنت لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية		
محلول ثنائي فنيل الهايدرازين **العينة (المصل)**	0.5 مل	0.5 مل
مزجت محتويات الأنابيب جيدا وحضنت لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة 20-25 درجة مئوية		
محلول هيدروكسيد الصوديوم	5.0 مل	5.0 مل

بعد مزج محتويات الأنابيب جيداً ، تترك مدة خمس دقائق في درجة حرارة الغرفة ، وبعدها يتم قياس الإمتصاص لها بجهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 546 نانوميتر.

وبحسب الجدول السابق أعلاه ، فقد إستُخدمت في هذه الطريقة المحاليل الآتية:

1. محلول الفوسفات الدارئ:

أ- إنزيم ALT: ويتكون من الألنين (200 مايكروليتر) والفاكيتوكلوتاريت (2.0 مايكروليتر) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (PH=7.4).

ب- إنزيم AST: ويتكون من حامض الأسبارتيك (100 مايكروليتر) والفاكيتوكلوتاريت (2.0 مايكروليتر) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (PH=7.4).

2. محلول 4.2- ثنائي نايتروفنيل هايدرازين (2.0 مايكروليتر).

3. محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.4 نورمالي):

تم تخفيف هذا المحلول 10 مرات بالماء المقطر قبل إستعماله.

4. محلول البايروفيت القياسي (2.0 مايكروليتر).

الحسابات:

من الممكن وبسهولة حساب فعالية الإنزيمين ALT وAST وبحسب ما مُبين في الجدول الآتـي (Reitman & Frankel,1957):

طريقة حساب فعالية الإنزيمين ALT وAST مقدراً بالوحدة العالمية\التر (U/L) إعتماداً على درجة الإمتصاصية

الإمتصاصية لـ ALT			الإمتصاصية لـ AST	
ALT (U/L)	Abs		AST (U/L)	Abs
04	0.025		07	0.020
08	0.050		10	0.030
12	0.750		13	0.040
17	0.100		16	0.050
21	0.125		19	0.060
25	0.150		23	0.070
29	0.157		27	0.080
34	200.000		31	0.090
39	0.225		36	0.100
43	0.250		41	0.110
48	0.275		47	0.120
52	0.300		52	0.130
57	0.325		59	0.140
62	0.350		67	0.150
67	0.750		76	0.160
72	0.400		89	0.170
77	0.425			
83	0.450			
88	0.750			
94	0.500			

Abs up 0.500 Calculated by: **X = Abs × 188.0**		Abs up 0.170 Calculated by: **X = Abs × 523.5**

2.2.9.2.3 قياس فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل الدم:

Alkaline Phosphatase (ALP)

تم تقدير فعالية إنزيم ALP بإستخدام طريقة إنزيمية ، وذلك عن طريق إستعمال العُدد الجاهزة من شركة Biomerieux الفرنسية وبحسب طريقة Belfield & Goldberg,(1971) ، وهي طريقة لونية تستند على إستخدام المادة الأساس (Substrate) التي يعمل عليها إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline Phosphatase) ، إذ أضيف محلول Phenyl Phosphate للمادة الاساس إلى مصل الدم (Serum) ، وحُضن التفاعل لمدة ربع ساعة في درجة حرارة 37 درجة مئوية ، فيقوم الإنزيم بتحويل المادة الأساس إلى الفينول ، الذي يُمكن الكشف عنه وتقديره كمياً وذلك بإضافة محلول 4-Amino-Anti Pyrine والذي يكون معقداً أحمر اللون يُعرف بالكيتون ، ذو شدة تتناسب طردياً مع فعالية الإنزيم في مصل الدم. تمت قراءة الإمتصاصية لمركب الكيتون عند طول موجي قدره 510 نانوميتر بإستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer). ويمكن توضيح هذا التفاعل بالمعادلات الآتية:

$$\text{Phenyl Phosphate} \xrightarrow[pH_{10}\ 37^{o}C]{\text{Alkaline Phosphate}} \text{Phenol + Phosphate Ion}$$

$$\text{Phenol + 4-Amino-Anti Pyrine} \xrightarrow[NaHCO_3]{K_3Fe(CN)_6} \text{Red Quinone (Color Complex)}$$

طريقة العمل:

تتضمن طريقة العمل وضع 2 مل من المحلول المنظم كاربونات - بيكاربونات الصوديوم بتركيز 50 ملي مول\التر وبدالة قاعدية = 10 والمحتوي على المادة الأساس فوسفات الفنيل ثنائية الصوديوم بتركيز 5 ملي مول\التر في أنبوبة إختبار ، ثم في حمام مائي بدرجة حرارة 37 درجة مئوية مدة خمس دقائق ، بعد ذلك يُضاف إليها 50 مايكروليتر من مصل الدم (Serum) ، ثم تُمزج

وتُترك في الحمام المائي (Water Bath) مدة 15 دقيقة ، بعدها أضيف 0.5 مل من كاشف 4- أمينو أنتيبايرين بتركيز 6 ملي مول\التر وصوديوم أرسينت بتركيز 70 غم\التر ويمزجان جيداً. أما بالنسبة لمحلول الكفء فيُضاف 50 مايكروليتر من الماء المقطر بدل المصل ثم تُوضع جميع الأنابيب في مكان مظلم ولمدة 10 دقائق ، إذ يتكون لون وردي يميل إلى الإحمرار ذو شدة تتناسب طردياً مع فعالية الإنزيم في مصل الدم. تُقاس شدة اللون بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجي قدره 510 نانوميتر مقابل محلول كفء و500 مايكروليتر من المحلول القياسي.

الحسابات:

تم حساب فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) في عينة المصل وفق القانون الآتي :(Demetrious,1974)

$$\text{فعالية إنزيم ALP للنموذج (U/L) وحدة دولية\التر} = \frac{\text{الإمتصاصية غير المعروفة}}{\text{إمتصاصية المحلول القياسي}} * 50$$

3.2.9.2.3 قياس مستوى البيليروبين الكلي في مصل الدم: Total Bilirubin (T.Bil.)

في الدراسة الحالية ، تم حساب مستوى البيليروبين الكلي بالمصل وذلك إعتماداً على الطريقة الموصوفة من قبل Burtis *et al.*,(1994).

المبدأ الأساسي للعمل:

تم تحديد مقياس الطيف الضوئي الخاص بالبيليروبين الكلي ، إذ يقترن البيليروبين مع حامض Sulfanilic Diazotized بوجود مادة الكافيين وذلك لإعطاء صبغة الآزو (Azo) ، تُقاس درجة الإمتصاصية (شدة اللّون) بوساطة جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer).

الكواشف:

إستُخدمت في طريقة العمل الكواشف (Reagents) الموضحة بالجدول أدناه ، علماً أنَّ جميع الكواشف كانت جاهزة للإستخدام.

أنواع وتراكيز كواشف العمل المستخدمة

نوع الكاشف المستخدم ومكوناته (Reagents)	التركيز (Concentration)
الكاشف الأول(R_1): Sulfanilic Acid Solution	--
Sulfanilic Acid	29 ملي مول\لتر
HCl	0.17 نورمالي
الكاشف الثاني(R_2): Sodium Nitrite Solution	--
Sodium Nitrite	25 ملي مول\لتر
الكاشف الثالث(R_3): Caffeine Solution	--
Caffeine	0.26 مول\لتر
Sodium Benzoate	0.52 مول\لتر
الكاشف الرابع(R_4): Tartrate Solution	--
Tartrate	0.93 مول\لتر
NaOH	1.90 نورمالي

طريقة العمل:

أجريت طريقة العمل وفقاً للخطوات الملخصة والموضحة بالجدول الآتي:

خطوات طريقة العمل المستخدمة

المحاليل المستخدمة (Solutions)	أنبوبة محلول الكفء (Blank)	أنبوبة محلول العينة (Sample)
الكاشف الأول (R_1)	200 مايكروليتر	200 مايكروليتر
الكاشف الثاني (R_2)	--	50 مايكروليتر
الكاشف الثالث (R_3)	1000 مايكروليتر	1000 مايكروليتر
محلول العينة	200 مايكروليتر	200 مايكروليتر
مُزجت المحاليل السابقة جيداً ، ثم حُضنت بالحاضنة لمدة 10- 60 دقيقة وبدرجة حرارة تراوحت بين 20-25 درجة مئوية.		
الكاشف الرابع (R_4)	1000 مايكروليتر	1000 مايكروليتر
تم المزج جيداً ، ثم بعد ذلك حُضنت بالحاضنة لمدة 5 - 30 دقيقة وبدرجة حرارة تراوحت بين 20-25 درجة مئوية.		

بعدها تمت قراءة درجة الإمتصاصية (Absorbance) لعينة المصل مقابل محلول الكفء (Blank) بإستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) وعلى طول موجي (Wave Length) مقداره 578 نانوميتر.

الحسابات:

تم حساب مستوى البيليروبين الكلي (T.Bil.) في عينة المصل وفقاً للقوانين الآتية:

مستوى البيليروبين الكلي (T.Bil.) = $A._{T.Bil.}$ * 10.8

بوحدة ملغم\ديسيلتر

مستوى البيليروبين الكلي (T.Bil.) = $A._{T.Bil.}$ * 185

بوحدة مايكرو مول\لتر

إذ أنَّ:

$A._{T.Bil.}$: تُمثل الإمتصاصية الضوئية (Absorbance) لعينة المصل المُراد حساب مستوى البيليروبين الكلي لها.

4.2.9.2.3 قياس مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم: Total Cholesterol (T.C.)

وفقاً لطريقة Allain,(1974) فقد تم تقدير مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم بالطريقة الإنزيمية ، إذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل إنزيم Cholesterol Esterase بوجود الأوكسجين (O_2) وإنزيم Cholesterol Oxidase اللذان يعملان على أكسدة الكوليستيرول الحر المُتكون نتيجة التفاعل الأول إلى : Cholest-4-en-3-one و Hydrogen Peroxide ، وهذا الأخير (H_2O_2) يتفاعل مع كل من : الفينول (Phenol) و 4-Amino-Anti Pyrine وبوجود إنزيم Peroxidase ليكوِّن كوينون أمين (Quinoneamine) وردي اللّون ، وكما هو مُوضح في المعادلات الآتية:

$$2H_2O_2 + \text{Phenol} + \text{4-Amino-Anti Pyrine} \xrightarrow{\textit{Peroxidase}} \text{Quinoneamine} + 4H_2O$$

$$\text{Cholesterol Ester} \xrightarrow{\textit{Cholesterol Esterase}} \text{Fatty Acids} + \text{Cholesterol}$$

$$\text{Cholesterol} \xrightarrow{\textit{Cholesterol Oxidase}} \text{Cholest-4-en-3-one} + H_2O_2$$

طريقة العمل:

تـم إسـتعمال ثـلاث أنابيـب إختبـار تحـوي مـا يلـي: محلـول العينـة (Sample) والمحلـول القياسي (Standard) ومحلول الكفء (Blank) على التوالي ، كما في الجدول الآتي:

حجوم المحاليل الثلاثة المستخدمة في طريقة العمل مع الكاشف (Reagent)

نوع المحلول المستخدم	أنبوبة محلول العينة	أنبوبة المحلول القياسي	أنبوبة المحلول الكفء
محلول العينة (Serum)	10 مايكروليتر	--	--
المحلول القياسي (Standard)	--	10 مايكروليتر	--
المحلول الكفء (Blank)	--	--	10 مايكروليتر
كاشف العمل (Reagent)	01 مل	01 مل	01 مل

تم مزج الأنابيب جيداً ، ثم تُركت في الحاضنة (Incubator) لمدة خمس دقائق عند درجة حرارة 37 درجة مئوية أو 10 دقائق عند درجة حرارة 16-25 درجة مئوية ، بعدها قُرئت الإمتصاصية الضوئية بإستعمال جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) وعند طول موجي مقداره 500 نانوميتر.

الحسابات:

تم حساب مستوى الكوليستيرول الكلي (T.C.) وفقاً للقانون الآتي:

$$\text{مستوى الكوليستيرول الكلي (T.C.)} = \frac{\text{A. Sample}}{\text{A. Standard}} * n$$

بوحدة ملغم\ديسيلتر

إذ أنَّ:

n: 200 وهو تركيز المحلول القياسي.

A. Sample: الإمتصاصية الضوئية للعينة.

A. Standard: الإمتصاصية الضوئية للمحلول القياسي.

5.2.9.2.3 قياس مستوى الألبومين (Albumin) في مصل الدم:

تم قياس مستوى بروتين الألبومين (Albumin) في مصل الدم وذلك بالإعتماد على طريقة Friedman & Young,(2001) ، ويتضح ذلك في خطوات طريقة العمل الآتية:

طريقة العمل:

أنواع وحجوم المحاليل والكواشف المستخدمة في طريقة العمل

نوع المحلول المستخدم	أنبوبة محلول العينة (Sample)	أنبوبة المحلول القياسي (Standard)
محلول العينة (Sample)	10 مايكروليتر	--
المحلول القياسي (Standard)	--	10 مايكروليتر
الكاشف (Reagent)	02 مل	02 مل

بعد ذلك ، تم وضع الأنابيب في الحاضنة (Incubator) لمدة 5 دقائق في درجة حرارة تراوحت من 20-25 درجة مئوية ، ثم قراءة درجة الإمتصاصية بإستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) وعلى طول موجي (Wave Length) مقداره 628 نانوميتر.

الحسابات:

تم حساب مستوى بروتين الألبومين (Albumin) في المصل بالإعتماد على المعادلة الآتية:

إمتصاصية العينة

مستوى الألبومين (Albumin) = ---------- * 50 (تركيز المحلول القياسي)

بوحدة غم\لتر إمتصاصية المحلول القياسي

6.2.9.2.3 قياس مستوى اليوريا (Urea) في مصل الدم:

في الدراسة الحالية ، تم تقدير مستوى اليوريا في عينة المصل بحسب الطريقة الموصوفة من قبل Elena & John,(2001).

المبدأ الأساسي للعمل:

$$Urea + H_2O \xrightarrow{\textit{Urease}} CO_2 + 2NH_3$$

يتفاعل في هذه الطريقة كل من: Hypochlorite و Salicylate المتواجدة في المادة الفعالة مع أيون الصوديوم ليكوِّن مركب 2.2-Dicarboxy Indophenols ، والتقدير الكمي لهذا المركب (الأخضر اللون) يُحدد مستوى اليوريا في عينة المصل.

طريقة العمل:

تم إستعمال ثلاث أنابيب إختبار تحوي الآتي: محلول العينة (Sample) والمحلول القياسي (Standard) ومحلول الكفء (Blank) على التوالي ، كما في الجدول الآتي:

حجوم المحاليل الثلاثة المستخدمة في طريقة العمل مع الكاشف (Reagent)

نوع المحلول المستخدم	أنبوبة محلول العينة	أنبوبة المحلول القياسي	أنبوبة المحلول الكفء
محلول العينة (Serum)	10 مايكروليتر	--	--
المحلول القياسي (Standard)	--	10 مايكروليتر	--
المحلول الكفء (Blank)	--	--	10 مايكروليتر
كاشف العمل (Reagent)	01 مل	01 مل	01 مل

مُزجت العينة جيداً وبعدها تُركت في الحاضنة لمدة 5 دقائق أو 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة وهي 20-25 درجة مئوية ، ثم قُرئت الإمتصاصية لها بوساطة جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) عند طول موجي مقداره 500 نانوميتر وذلك بعد تصفير الجهاز بإستعمال محلول الكفء (Blank).

الحسابات:

تم حساب مستوى اليوريا (Urea) في المصل وفقاً للقانون الآتي:

إمتصاصية العينة

مستوى اليوريا (Urea) = ---------- * تركيز المحلول القياسي

بوحدة ملغم\ديسيلتر إمتصاصية المحلول القياسي

7.2.9.2.3 قياس مستوى الكرياتنين (Creatinine) في مصل الدم:

في الدراسة الحالية ، تم حساب مستوى الكرياتنين وذلك بحسب طريقة Tietz,(1986) اللونية مع ترسيب البروتين.

مبدأ طريقة العمل:

يتفاعل الكرياتنين مع حامض البكريك (Picric Acid) في محلول قاعدي ، ليكوِّن معقد ملون ، وذلك بحسب المعادلة الآتية:

$$\text{Creatinine} + \text{Picrate} \xrightarrow{NaOH} \text{Yellow-Red Complex}$$

الكواشف:

- الكرياتنين القياسي: تركيز 2 ملغم\ديسيلتر أو 177 ملي مول\التر.
- الكاشف الأول (R1): حامض البكريك بتركيز 38 ملي مول\التر.
- الكاشف الثاني (R2): هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1.6 ملي مول\التر.

الكواشف الإضافية:

حامض الخليك ثلاثي الكلور (TCA) بتركيز 1.2 مول\التر.

طريقة العمل:

1. أضيف 0.5 مل من TCA إلى أنابيب الطرد المركزي.
2. أضيف 0.5 مل من مصل الدم إلى الأنابيب.
3. لنشر الراسب خُلطت جيداً بقضيب زجاجي.
4. فُصل الراشح بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة\دقيقة لمدة 10 دقائق.
5. أخذ حجم 1.0 مل من الراشح ووضع في أنبوبة إختبار نظيفة وأهمل الراسب.
6. أخذ حجم 1.0 مل من الكواشف R1 و R2 ، تم خلطهما معاً لعمل الخليط ، ثم أخذ 1.0 مل من الخليط وتمت إضافته إلى أنابيب العينات ، بعدها خُلط جيداً وتُرك لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة ، وتم بعد ذلك قياس درجة الإمتصاصية بجهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) على طول موجي مقداره 546 نانوميتر.

حجوم المحاليل المستخدمة في طريقة العمل مع الكواشف (Reagents)

نوع المحلول المستخدم	أنبوبة الكاشف	أنبوبة المحلول القياسي	أنبوبة العينة
ماء مقطر	0.5 مل	--	--
المحلول القياسي	--	0.5 مل	--
كاشف TCA	0.5 مل	0.5 مل	--
المحلول الراشح	--	--	1.0 مل
خليط التفاعل	1.0 مل	1.0 مل	1.0 مل

الحسابات:

تم حساب مستوى الكرياتنين (Creatinine) في المصل وفقاً للمعادلة الآتية:

إمتصاصية العينة

مستوى الكرياتنين (Creatinine) = ---------- * 2 (تركيز المحلول القياسي)

بوحدة ملغم\ديسيلتر إمتصاصية المحلول القياسي

10.2.3 الدراسة النُسجية: Histological Study

حُضِّرت المقاطع النُسجية إعتماداً على الطريقة الموصى بها من قبل (1979),Humason. تمت إزالة المثبت عن طريق غسل العينات جيداً بكحول أثيلي تركيزه 70% لعدة مرات حتى زوال اللون الأصفر من العينات ، بعدها أجريت الخطوات المتسلسلة الآتية:

1. الإنكاز (Dehydration):

مُررت العينات بتراكيز تصاعدية من الكحول الأثيلي هي: 70% ، 80% ، 90% و 100% مدة ساعتين لكل تركيز، وذلك لغرض سحب الماء الموجود داخل النسيج.

2. الترويق (Clearing):

تم الترويق بوضع العينات في محلول الزايلين (Xylene) لمدة ساعتين ، وذلك لجعل العينات أكثر شفافية.

3. الإرتشاح (Infiltration):

بعد الإنتهاء من الترويق ، نقلت العينات إلى قناني حاوية على شمع البارافين (Paraffin Wax) ذي درجة إنصهار 55 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة في فرن كهربائي درجة حرارته 59-60 درجة مئوية ، بعدها نُقلت إلى قناني أخرى حاوية أيضاً على شمع البارافين المنصهر داخل الفرن.

4. الطمر (Embedding):

تم طمر العينات بنفس نوع الشمع المستعمل في عملية الإرتشاح ، إذ سُكب الشمع المنصهر في قالب خاص كان قد نُقلت العينات إليه لغرض تقطيعها فيما بعد إلى مقاطع نسجية رقيقة ، إذ ثُبتت العينات بالمكان الصحيح داخل القالب ، فبعد صب الشمع ، بُرِّد القالب بسرعة بثلاجة خاصة تحضيراً لعملية التقطيع.

5. التقطيع (Sectioning):

تم تثبيت القالب في جهاز التقطيع ، وتم تحضير شرائح زجاجية نظيفة تحتوي في أطرافها على مكان خاص لتعليمها ، وقد حملت أشرطة المقاطع على هذه الشرائح بعد أن وضعت في حمام مائي (Water Bath) بدرجة حرارة 50 درجة مئوية لغرض فرش النسيج ولمدة دقيقتين ، بعد ذلك تُركت الشرائح لتجف على صفيحة ساخنة (Hot Plate) وبدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة تحضيراً لعملية التصبيغ.

6. التصبيغ (Staining):

وُضعت الشرائح الزجاجية والمرتبة في سلة خاصة بالشرائح (Slides Basket) في محلول التولوين (Toluene) لمدة نصف ساعة لإزالة شمع البارافين من العينات ، ثم مُررت الشرائح بسلسلة تنازلية من الكحول الأثيلي وبتراكيز 100% ، 90% ، 80% و 70% لمدة 10 دقائق ، بعدها مُررت في الماء المقطر لمدة خمس دقائق ، ثم وُضعت في محلول صبغة الهيماتوكسلين لمدة 5-10 دقائق ، بعد ذلك غطست بالماء المقطر أربع مرات ومن ثم بالكحول الحامضي مرتين ، بعدها غسلت بماء الحنفية الجاري ولمدة خمس دقائق ، ثم وُضعت في محلول صبغة الآيوسين الكحولي لمدة 15-30 ثانية ، بعدها غُطست بماء الحنفية الجاري أيضاً 5-7 مرات ، مُررت الشرائح بعد ذلك بسلسلة تصاعدية من الكحول الأثيلي وبتراكيز 70% ، 80% ، 90% و 100% ، ثم وُضعت في محلول الزايلين (Xylene) لغرض الترويق.

7. التحميل (Mounting):

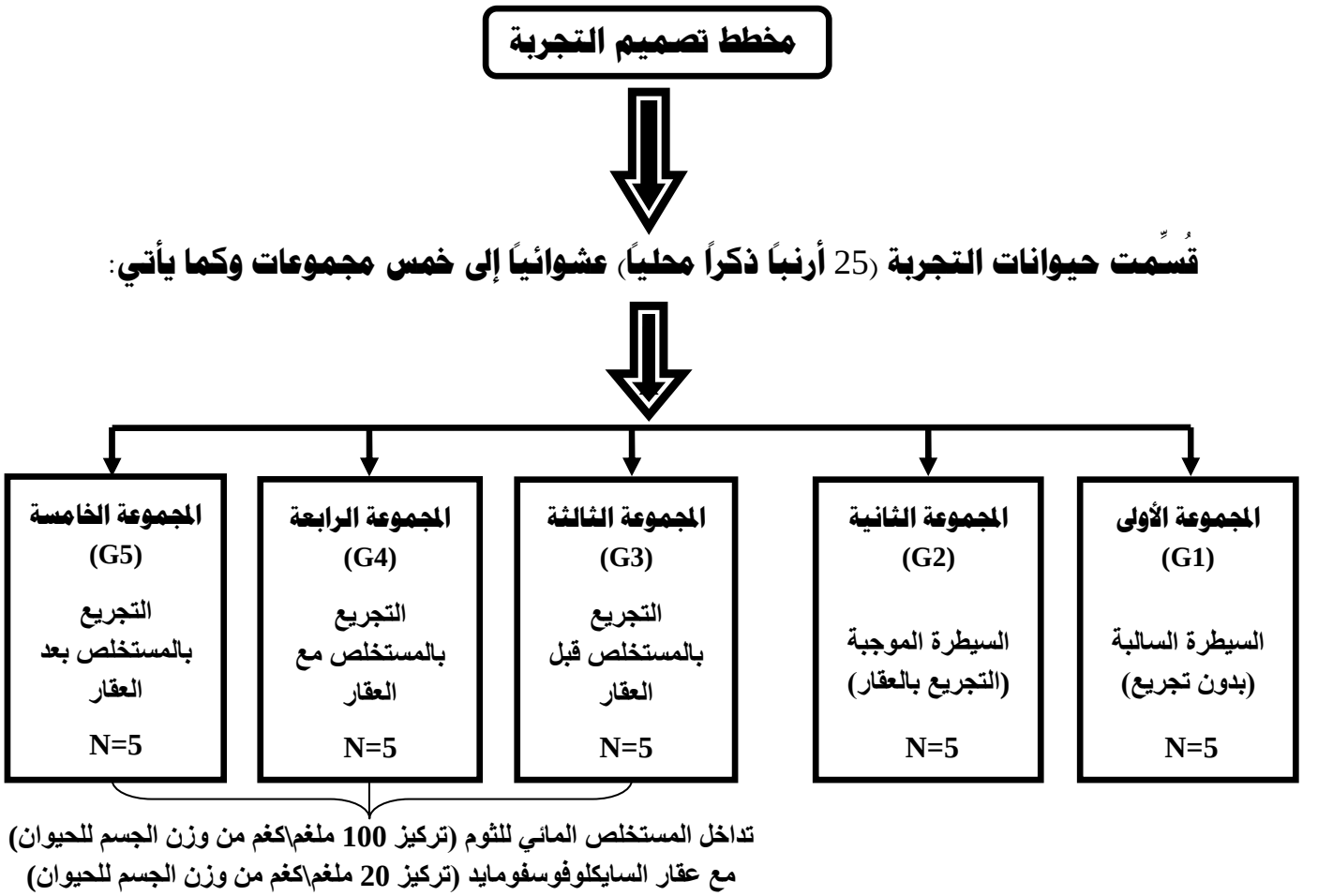
بعد إنتهاء مرحلة التصبيغ ، وُضعت الشرائح الزجاجية على صفيحة ساخنة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة لغرض التجفيف ، بعدها تم إستخدام وسط التحميل D.P.X ، ثم وُضعت أغطية الشرائح (Cover Slides) على الشرائح الزجاجية ، بعدها تُركت هذه الشرائح مدة قصيرة من الزمن بدرجة حرارة الغرفة ليجف وسط التحميل ، وبذلك أصبحت الشرائح الزجاجية جاهزة للمرحلة الأخيرة وهي مرحلة الفحص والتصوير المجهري.

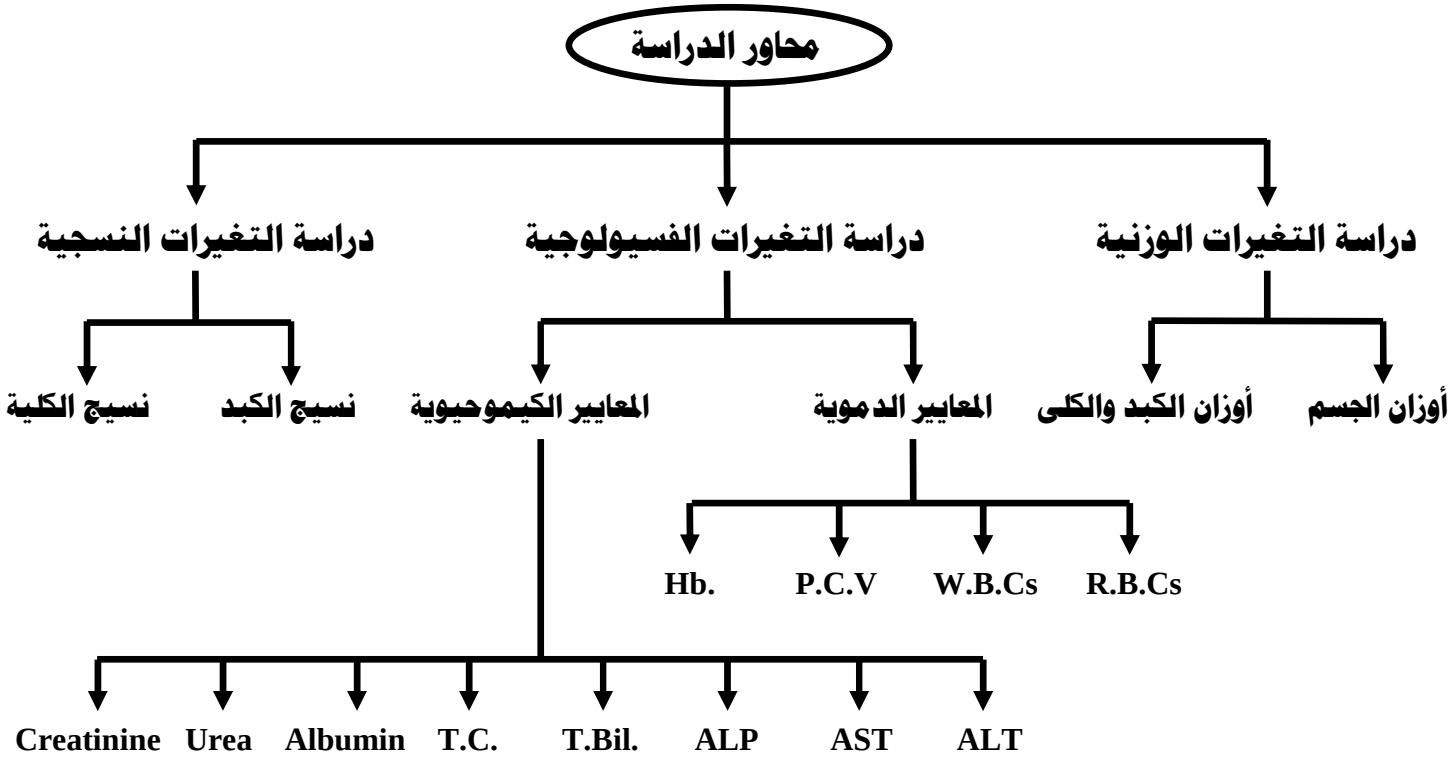
8. الفحص والتصوير المجهري (Examination & Microphotography):

تمت عملية فحص وتصوير المقاطع النُسجية لعينات الكبد والكلى (المُحضَّرة بالمراحل المتسلسلة أعلاه) وذلك بإستخدام مجهر ضوئي (Light Microscope) نوع MEIJI ، مزود بكاميرا رقمية (Digital Camera) نوع كانون (Canon) عالية الدقة.

11.2.3 التحليل الإحصائي: Statistical Analysis

حُلّلت نتائج الدراسة الحالية من خلال إجراء جدول تحليل التباين (Anova Table) وبإستخدام التصميم تام العشوائية (Completely Randomized Design C.R.D.) ، وكان ذلك لجدول واحد كانت فيه التجربة عاملية (جدول متوسط أوزان الجسم للحيوانات قبل وبعد إجراء التجربة) ، أمّا الجداول الأخرى فكانت التجارب فيها بسيطة ، وكان ذلك لغرض معرفة تأثير المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (***Allium sativum***) في بعض المعايير الفسيولوجية والنُسجية لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (Cyclophosphamide) ، وقد تم إستخدام أحد إختبارات المعنوية ألا وهو إختبار أقل فرق معنوي (Least Significant Difference L.S.D.) وذلك لإختبار معنوية الفروقات بين متوسطات (معدلات) المعاملات وتحت مستوى إحتمال P=0.05 (الساهوكي و وهيب،1990).


مخطط تصميم التجربة
قُسِّمت حيوانات التجربة (25 أرنباً ذكراً محلياً) عشوائياً إلى خمس مجموعات وكما يأتي:
المجموعة الأولى (G1)
السيطرة السالبة (بدون تجريع)
N=5
المجموعة الثانية (G2)
السيطرة الموجبة (التجريع بالعقار)
N=5
المجموعة الثالثة (G3)
التجريع بالمستخلص قبل العقار
N=5
المجموعة الرابعة (G4)
التجريع بالمستخلص مع العقار
N=5
المجموعة الخامسة (G5)
التجريع بالمستخلص بعد العقار
N=5
تداخل المستخلص المائي للثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان)
مع عقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان)


محاور الدراسة
دراسة التغيرات الوزنية
دراسة التغيرات الفسيولوجية
دراسة التغيرات النسجية
أوزان الجسم
أوزان الكبد والكلى
المعايير الدموية
المعايير الكيموحيوية
نسيج الكبد
نسيج الكلية
Hb.
P.C.V
W.B.Cs
R.B.Cs
Creatinine
Urea
Albumin
T.C.
T.Bil.
ALP
AST
ALT

النتائج والمناقشة

Results & Discussion

1.4 الكشف عن المركبات الكيميائية الفعّالة للمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم: Detection of Chemical Compounds of Aquatic Garlic Extract

بعد عمل عدد من الكشوفات الكيميائية النوعية للمستخلص النباتي ، وجد أنَّ المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم يتكون من عدة مركبات كيميائية فعالة فيما يخلو من بعضها ، وكما هو موضح في الجدول (4-1) الآتي:

جدول (4-1): بعض الكشوفات الكيميائية النوعية للمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم

ت	إسم المادة الكيميائية المُراد الكشف عنها	نوع الكشف أو الكاشف المستخدم	نتيجة الكشف
1	الكربوهيدرات	كشف مولش / كشف الفينول مع حامض الكبريتيك المركز (H_2SO_4)	+/+
2	الفلافونيدات	حامض الكبريتيك المركز (H_2SO_4)	+
3	الكومارينات	NaOH + الأشعة فوق البنفسجية (U.V.)	+
4	القلويدات	كاشف واكنر/ كاشف ماير	–/–
5	الصابونينات	كاشف كلوريد الزئبقيك ($HgCl_3$) + كشف الرغوة	+
6	الفينولات	كاشف خلات الرصاص + كلوريد الحديديك ($FeCl_3$)	+
7	التربينات والستيرولات	كاشف ليبرمان- بورخارد (Lieberman-Burchard)	+
8	الراتنجات	كحول الإيثانول 95 % + الماء المقطر المحمض بحامض الهيدروكلوريك (HCl) بتركيز 4 %	–
9	الزيوت الطيارة	الأشعة فوق البنفسجية (U.V.)	+
10	التانينات	كاشف خلات الرصاص (CH_3COOPb) بتركيز 1 %	+

- **(+): الكشف موجب أي حصول تفاعل كيميائي بمعنى وجود مواد فعالة بالمستخلص النباتي.**
- **(–): الكشف سالب أي عدم حصول تفاعل كيميائي بمعنى عدم وجود مواد فعالة بالمستخلص النباتي.**

يُظهر الجدول (4-1) أعلاه نتائج الكشوفات الكيمياوية النوعية الخاصة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم ، إذ تبين أنَّ المستخلص يحتوي على عدد من المركبات الكيميائية الفعّالة وهي: الكربوهيدرات ، الفلافونيدات ، الكومارينات ، الصابونينات ، الفينولات ، التربينات والستيرولات ، الزيوت الطيارة والتانينات ، فيما يخلو من القلويدات والراتنجات.

ويُعزى سبب عدم وجود القلويدات في المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم لكونها لا تذوب في الماء ، ولها القابلية على الذوبان في الكحول (قطب،1981) ، وكذلك ينطبق الحال على الراتنجات ، إذ أنَّ المستخلص يخلو منها أيضاً لأنَّ لها القابلية على الذوبان في الكحول ولا تذوب في الماء (الشحات،1986).

2.4 التغيرات السلوكية والمظهرية في ذكور الأرانب المحلية:

The Phenotypic & Behavioral Changes

أدّت المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد إلى حدوث تغيرات ملحوظة في سلوكية ذكور الأرانب المحلية المستخدمة كفقدان الشهية نتيجة تأثير العقار، كذلك حصول تغيرات مظهرية للحيوانات مثل تحول لون الجلد الأبيض إلى اللون الأصفر الشاحب وتساقط الشعر بمرور الوقت مع تحول لون الإدرار إلى اللون البني الغامق ، وهذا يتفق مع ما أشار إليه Ackerblom *et al.*,(1986). بينما على العكس من ذلك تماماً ، فعند المعاملة بمستخلص فصوص نبات الثوم ولمدة 30 يوماً ، لُوحظ تحول لون إدرار الحيوانات من اللون البني الغامق عند المعاملة بالعقار إلى اللون الأصفر الطبيعي في حالة المعاملة بالمستخلص النباتي ، كما عادت من جديد شهية الحيوانات لتناول العليقة الغذائية المخصصة لها مقارنةً مع حالة المعاملة بالعقار الكيمياوي.

3.4 التغيرات الوزنية: The Gravimetric Changes

1.3.4 التغيرات في أوزان الجسم:

The Changes of The Body's Weights

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي للدراسة الحالية عدم وجود فروقات معنوية ($P>0.05$) بين متوسطات أوزان الحيوانات المستخدمة لجميع المجموعات المدروسة قبل إجراء التجربة عليها ، فيما كانت هناك فروقات معنوية ($P\leq0.05$) بين متوسطات أوزان الحيوانات للمجموعات الخمس المدروسة بعد إجراء التجربة عليها ، وينطبق الحال كذلك على متوسطات المجموعات الخاصة بأوزان الحيوانات للمدتين (قبل وبعد إجراء التجربة) ، إذ لُوحظ أيضاً وجود فروقات معنوية

($P\leq0.05$) بين متوسطات المجموعات لهاتين المدتين كما هو موضح بالحروف الكبيرة وبالإتجاه العمودي في الجدول (4-2).

أمّا بخصوص المقارنة بين أوزان الحيوانات (لكل مجموعة على حده) بعد إجراء التجربة مع أوزانها الأولية قبل إجراء التجربة ، فقد وجد ومن خلال نتائج التحليل الإحصائي أنَّ هناك إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في متوسط أوزان الحيوانات بعد إنتهاء مدة التجربة مقارنةً بمتوسط أوزانها الأولية لمجموعة السيطرة السالبة. في حين كان هناك إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في متوسط أوزان الحيوانات بعد إنتهاء مدة التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمتوسط أوزانها قبل التجريع بالعقار لمجموعة السيطرة الموجبة. وفيما يخص التداخل بالتجريع بين المستخلص والعقار، فقد تبين أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولتداخلين (قبل وبعد العقار) أدّى إلى حصول إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في متوسط أوزان الحيوانات بعد التجريع مقارنةً بمتوسط أوزانها قبل التجريع ، بينما لُوحظ وجود إنخفاض غير معنوي ($P>0.05$) في متوسط أوزان الحيوانات بعد التجريع مقارنةً بمتوسط أوزانها قبل التجريع في حالة المعاملة بالمستخلص النباتي مع العقار، وينطبق الحال كذلك على متوسطي المدتين (قبل وبعد إجراء التجربة) الخاصة بأوزان الحيوانات للمجموعات الخمس المدروسة ، إذ لُوحظ أيضاً وجود إنخفاض غير معنوي ($P>0.05$) بين متوسطي المدتين لهذه المجموعات الخمس كما هو موضح بالحروف الصغيرة وبالإتجاه الأفقي (جدول 4-2).

ويُعزى سبب الإنخفاض الحاصل في متوسط أوزان الحيوانات في حالة التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة إلى حصول حالة إختزال وتنخر للأنسجة الحية وخاصةً الأنسجة الدهنية منها ، وكذلك نتيجة فقدان الشهية للحيوانات تجاه الغذاء المخصص لها ، ممّا أدّى إلى حصول تناقص واضح في أوزانها نهاية مدة التجريع ، فقد توصل الباحثون Lal *et al.*,(1991) و Lynda *et al.*,(1998) و Suradkar *et al.*,(2010) إلى حصول إنخفاض في أوزان الجرذان المُجرعة بمركب خلات الرصاص السّام نهاية مدة التجريع عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

بينما يُعزى سبب الإرتفاع المُلاحظ في متوسط أوزان الحيوانات في حالة التجريع بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة إلى فعّالية المستخلص في زيادة سرعة جريان الدم بالأغشية المخاطية

للقناة الهضمية ، وكذلك إحتواء المستخلص على مادة الستيرولات الفاتحة للشهية ممّا يُساعد على إستهلاك كمية أكبر من المواد الغذائية ، وبالتالي زيادة وزن الجسم (Goso *et al.*,1996).

جدول (4-2): تأثير المستخلص المائي للثوم على أوزان الجسم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد

ت	نوع المجموعة (الرمز)	متوسط وزن الجسم قبل إجراء التجربة (غم) M ± SE	متوسط وزن الجسم بعد إجراء التجربة (غم) M ± SE	متوسط وزن الجسم لكل مجموعة (غم) M ± SE
1	السيطرة السالبة (G1)	a 1065 ± 16.33 A	b 1150 ± 19.62 A	1107.50 ± 21.93 A
2	السيطرة الموجبة (G2)	a 1070 ± 17.18 A	b 1025 ± 14.74 B	1047.50 ± 18.10 BD
3	التجريع بالمستخلص قبل العقار (G3)	a 1060 ± 15.09 A	b 1020 ± 12.49 B	1040.00 ± 17.23 B
4	التجريع بالمستخلص مع العقار (G4)	a 1065 ± 16.71 A	a 1055 ± 15.08 C	1060.00 ± 13.42 C
5	التجريع بالمستخلص بعد العقار (G5)	a 1060 ± 15.50 A	b 1045 ± 13.05 C	1052.50 ± 12.60 CD
	متوسط وزن الجسم لقبل وبعد إجراء التجربة (غم) M ± SE	a 1064 ± 17.44	a 1059 ± 15.13	

- **n = 5**
- **M: المعدل.**
- **SE: الخطأ القياسي.**
- **L.S.D= 10.18 أقل فرق معنوي بين متوسطات المجموعات لجميع الحالات (أستخدمت الحروف الكبيرة).**
- **الحروف الكبيرة المختلفة بالإتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية بين متوسطات المجموعات تحت مستوى إحتمال 0.05 .**
- **L.S.D= 13.63 أقل فرق معنوي بين متوسطي المجموعة الواحدة للحالتين قبل وبعد إجراء التجربة (أستخدمت الحروف الصغيرة).**
- **الحروف الصغيرة المختلفة بالإتجاه الأفقي تدل على وجود فروقات معنوية بين متوسطي المجموعة الواحدة للحالتين قبل وبعد إجراء التجربة تحت مستوى إحتمال 0.05 .**

2.3.4 التغيرات في أوزان الكبد والكلى:
The Changes of The Liver & Kidneys Weights

أوزان الكبد:

أظهرت النتائج وجود إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في أوزان الكبد لمجموعة ذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

بينما تبين أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) أدّت إلى حصول إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في أوزان الكبد مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (جدول 4-3).

إنَّ الإنخفاض الحاصل في متوسط أوزان الكبد لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة ، يرجع سببه إلى حصول إنكماش وتنخر في أنسجة الكبد نتيجة سُمية عقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم ، فقد بيَّن الباحثان Paul & Michael,(2001) بأنه عند إعطاء جرع عالية من هذا العقار عن طريق الحقن داخل الصفاق لمدة ستة أيام متتالية ، فإنَّ ذلك سيؤدي إلى حدوث إنخفاض في الوزن الكلي للكبد ، وكذلك حصول نقصان في محتوى الإنزيمات الموجودة في الميكروسوم الكبدي كالسايتوكروم P450 والسايتوكروم b5 ، كما وتقل فعّالية المركب Aminopurin N-demethylase و Aniline P-hydroxylase ، إذ ظهرت نفس التغيرات عند إعطاء العقار نفسه لمدة خمسة أيام متتالية بدلاً من ستة أيام. وفي دراسةٍ أخرى ، فقد وُجد إختزال في وظيفة الميكروسوم الكبدي بعد تجريع ذكور الجرذان بجرعة مفردة من عقار السايكلوفوسفومايد بتركيز 200 ملغم\كغم من وزن الجسم للجرذان ، وتشريحها بعد مُدد زمنية مختلفة (4 ، 7 ، 10 و14 يوماً) من تجريعها بالعقار (Laslett,1995).

أمّا الإرتفاع المُلاحظ في متوسط أوزان الكبد لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة وحسب ما جاء به Bin-Hafeez *et al.*,(2003) و Raju & Bird,(2006) فإنَّ سببه يعود إلى مركبات الصابونين الموجودة في المستخلص والتي تعمل على خفض تركيز الكلوكوز (Glucose) في الدم ممّا يُساعد على زيادة بناء الكلوكوز للتعويض عن النقص الحاصل ، ومن ثم خزن الفائض منه في الخلايا الكبدية بشكل كلايكوجين (Glycogen) ، وبالتالي زيادة وزن الكبد. من جهته يُرجِّح الباحث سبب إرتفاع وزن الكبد في الحالات المذكورة أعلاه إلى فعّالية مستخلص الثوم ودوره المهم في

التقليل من سُّمية عقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم والتخفيف من تأثيراته الضارة بالكبد من خلال إعادة الخلايا الكبدية ومكوناتها إلى ما يُقارب حالتها الطبيعية.

أوزان الكلى:

أظهرت نتائج الدراسة وجود إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في معدل أوزان الكلى لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

بينما تبين أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) أدّت إلى حصول إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في معدل أوزان الكلى مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

فيما لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في معدل أوزان الكلى بين حالتي المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار وبعده (جدول 4-3).

إنَّ الإنخفاض الحاصل في متوسط أوزان الكلى لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة ، من المُرجَّح أن يُعزى سببه إلى حدوث حالة إنكماش وتنخر في أنسجة الكلى نتيجة سُّمية عقار السايكلوفوسفومايد المستخدم (Paul & Michael,2001).

أمّا الإرتفاع المُلاحظ في متوسط أوزان الكلى لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة فإنه يتفق مع ما توصل إليه Francis *et al.*,(2002) في أنَّ هذه الإرتفاع قد يعود سببه إلى مركبات الصابونين الموجودة في المستخلص والتي ثبت أنها تعمل على زيادة معدل الإنقسام الخلوي للخلايا وبالتالي زيادة أوزان الكلى. في حين يعزو الباحث سبب إرتفاع أوزان الكلى في الحالات المذكورة أعلاه إلى فعّالية مستخلص الثوم ودوره المهم في التقليل من سُّمية عقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم والتخفيف من تأثيراته الضارة بالكلى من خلال إعادة خلايا النبيبات الكلوية ومكوناتها إلى ما يُقارب حالتها الطبيعية.

جدول (4-3): تأثير المستخلص المائي للثوم على أوزان الكبد والكلى لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد

ت	نوع المجموعة (الرمز)	متوسط أوزان الكبد M ± SE (غم)	متوسط أوزان الكلى M ± SE (غم)
1	السيطرة السالبة (G1)	42.70 ± 0.16 A	3.62 ± 0.01 A
2	السيطرة الموجبة (G2)	38.20 ± 0.12 B	3.06 ± 0.01 B
3	التجريع بالمستخلص قبل العقار (G3)	39.27 ± 0.15 C	3.20 ± 0.04 C
4	التجريع بالمستخلص مع العقار (G4)	41.50 ± 0.13 D	3.46 ± 0.04 D
5	التجريع بالمستخلص بعد العقار (G5)	40.75 ± 0.08 E	3.32 ± 0.06 EC
-	L.S.D	0.40	0.13

- **n = 5**
- **M: المعدل.**
- **SE: الخطأ القياسي.**
- **الحروف الكبيرة المختلفة بالإتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية بين متوسطات المجموعات تحت مستوى إحتمال 0.05 .**

4.4 التغيرات الفسيولوجية: Physiological Changes

1.4.4 التغيرات في مستويات بعض المعايير الدموية: Hematological Criteria

1.1.4.4 التغيرات في عدد كريات الدم الحمر (R.B.Cs):

دلّت نتائج الدراسة على وجود إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في عدد كريات الدم الحمر لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

في حين تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولتداخلين (مع العقار وبعده) أدّت إلى حصول إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في عدد كريات الدم الحمر مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

فيما لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في عدد كريات الدم الحمر في حالة المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (جدول 4-4).

إنَّ الإنخفاض الحاصل في متوسط عدد كريات الدم الحمر لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة ، قد يعود ذلك إلى حصول خلل أيضي وظيفي لهذه الكريات والذي يرافقه قصر في عمرها ، وهذا ما أشار إليه الدوري،(2004) خلال دراسته على الأرانب. من جانبٍ آخر، فقد بيّن Kowluru *et al.*,(1989) أنَّ الإنخفاض في عدد كريات الدم الحمر قد يعود إلى إنخفاض نشاط إنزيم Na-K-ATPase في أغلفة تلك الكريات ، وهذا يقود إلى زيادة في حجم الكريات الحمر علاوةً على زيادة هشاشتها الأوزموزية (Osmotic Fragility) ، وكذلك إنخفاض في قابليتها الترشيحية (Filterability) ممّا يُؤدي ذلك إلى حدوث إضطرابات في الدوران الشعيري ، وبالتالي ينجم عنه تحلل عدد من الكريات وحدوث مرض الأنيميا (Anemia). إضافةً إلى ذلك ، فإنَّ التغيرات في مكونات الدهون الغشائية تُؤدي إلى تغيير مرونة (Flexibility) كريات الدم الحمر مسببةً تحللها بسهولة وهذا ما أوضحه الباحثون Ishimura *et al.*,(1998). من جهةٍ أخرى ، فقد أشار Vlassara *et al.*,(1987) إلى أنَّ إنخفاض أعداد كريات الدم الحمر قد يعود سببه إلى كونها تتبلعم بسهولة (Phagocytosis) بوساطة البلعم الكبير (Macrophage) ممّا يُقصِّر من عمرها نتيجة سرعة هلاكها.

أمّا الإرتفاع الملاحظ في متوسط عدد كريات الدم الحمر لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة ، قد يُعزى سببه إلى إحتواء مستخلص الثوم لعدد من المواد والمركبات الفعّالة (التي تمتاز بتأثيراتها الكيميائية والبايولوجية) مثل: الزيوت الطيارة والفيتامينات ومضادات الأكسدة المختلفة ، والتي من الممكن أن تشترك في عملية تكوين كريات الدم الحمر(Erythropoiesis) في النسيج المكون للدم (Hemopoietic Tissue) والمُسيطر عليها من قبل هرمون Erythropoietin الذي يفرز من الكلية ، والذي قد تُؤثر في تحريره المكونات الفعّالة للمستخلص النباتي (قيد الدراسة) من خلال نشاطها الإنزيمي (Burdock & Carabin,2008).

2.1.4.4 التغيرات في عدد خلايا الدم البيض (W.B.Cs):

أشارت النتائج إلى وجود إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في عدد خلايا الدم البيض لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

بينما تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولتداخلين (مع العقار وبعده) أدّت إلى حصول إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في عدد خلايا الدم البيض مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

في حين لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في عدد خلايا الدم البيض عند المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

وأيضاً لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في عدد خلايا الدم البيض بين حالتي المعاملة بالمستخلص النباتي مع العقار وبعده (جدول 4-4).

إنَّ الإنخفاض الحاصل في متوسط عدد خلايا الدم البيض لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة ، قد يُعزى سببه إلى قدرة عقار السايكلوفوسفومايد بالعمل على قتل الخلايا الدفاعية الطبيعية (المتمثلة بخلايا الدم البيض) المتواجدة في جسم الحيوان ، وبالتالي يحصل هبوط بالجهاز المناعي للجسم نتيجة قلة عدد هذه الخلايا الدفاعية ، فيكون الكائن بهذه الحالة معرضاً للإصابة بأمراض عديدة وخطرة (Ackerblom *et al.*,1986). كما أنَّ الأدوية الكيمياوية المستخدمة في علاج مرضى السرطان (عقار السايكلوفوسفومايد واحداً منها) تقوم من جانبها بعرقلة العمليات الأيضية للخلايا خاصةً تلك الخلايا التي تنقسم بشكل سريع كخلايا نخاع العظم (Bone Marrow Cells) والخلايا المولدة الجرثومية (Germ Cells) وكذلك الخلايا الجذعية (Stem Cells) ، فتقل سرعة إنقسامات تلك الخلايا ممّا يُساعد على تقليل أعداد الخلايا الدموية الناتجة ومنها خلايا الدم البيض ، فتقل بذلك مناعة مرضى السرطان ويكونون أكثر عرضة من غيرهم للإصابة بالأمراض ، وهذا ما بيّنته وأكدته دراسات عديدة سابقة منها دراسة Rang *et al.*,(1991) وكذلك دراسة Skeel,(1999) بخصوص تأثيرات الأدوية المضادة للسرطان (Anti-Cancer Drugs). من جانبٍ آخر، فإنَّ إنخفاض عدد خلايا الدم البيض قد يكون بسبب موت العديد من هذه الخلايا نتيجةً لآلية عمل عقار السايكلوفوسفومايد المستخدم ، إذ أنَّ هذا العقار يلتصق بأشرطة الحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين (DNA) التابع للخلايا الحية ، وكما هو معروف ، فإنَّ DNA هو الشفرة الجينية المتواجدة في جميع الخلايا الحية (الحيوانية والنباتية) ، والذي يقوم بالسيطرة على جميع أعمال الخلية الحية ، وبغيابه لا تتمكن تلك الخلايا من الإنقسام بشكل طبيعي إلى خليتين جديدتين ، وبالتالي يتم منع هذه الخلايا من الإنقسام أو النمو الطبيعي ، كما وجد بأنَّ أكثر الخلايا المستهدفة في جسم الكائن الحي من قبل هذا العقار هي الخلايا المناعية كخلايا الدم البيض. لقد أشار Ackerblom *et al.*,(1986) أيضاً إلى ما يُعرف إصطلاحاً بإحباط النخاع العظمي

(ونخاع العظم كما هو معروف عبارة عن نسيج إسفنجي ليِّن متواجد داخل العظم يقوم بإنتاج خلايا الدم المختلفة بشكل دوري متواصل) ، ممّا يُؤدي إلى تراجع أعداد خلايا الدم المنتجة كخلايا الدم البيض وغيرها ، وهذا يُؤكد ما توصَّل إليه الباحث Larc,(1975) بخصوص تراجع أعداد الخلايا البيض نتيجة تعاطي العقار، وخاصةً الخلايا الحبيبية العدلة (Neutrophils) النشطة في مكافحة العدوى والإلتهابات التي تُصيب الجسم.

أمّا الإرتفاع الملاحظ في متوسط عدد خلايا الدم البيض لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة ، فقد عزاهُ الباحث لتحسن حالة النخاع العظمي نتيجة التجريع بمستخلص الثوم ، وذلك لإحتواء المستخلص على العديد من المركبات الفعّالة كيميائياً ، ممّا جعل نخاع العظم يعود تدريجياً لوظيفته المهمة في إنتاج خلايا الدم المختلفة وبصورة مُقاربة للحالة الطبيعية ، وهذا بدوره يشير لأهمية مستخلص الثوم في التقليل من سُمية عقار السايكلوفوسفومايد المستخدم في تجربة الدراسة الحالية.

3.1.4.4 التغيرات في حجم خلايا الدم المضغوطة (P.C.V):

دلّت النتائج على وجود إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في حجم خلايا الدم المضغوطة لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

في حين تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولتداخلين (مع العقار وبعده) أدّت إلى حصول إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في حجم خلايا الدم المضغوطة مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

فيما لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في حجم خلايا الدم المضغوطة عند المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (جدول 4-4).

4.1.4.4 التغيرات في مستوى الهيموغلوبين (.Hb) بالدم:

أشارت النتائج إلى وجود إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى الهيموغلوبين بالدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

بينما تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولتداخلين (مع العقار وبعده) أدّت إلى حصول إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى الهيموغلوبين بالدم مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

في حين لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الهيموغلوبين بالدم عند المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

كذلك لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الهيموغلوبين بالدم بين حالتي المعاملة بالمستخلص النباتي مع العقار وبعده (جدول 4-4).

إنَّ الإنخفاض الحاصل في متوسط مستوى الهيموغلوبين بالدم لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة ، قد يرجع سببه إلى حدوث ضعف في عملية أيض سكر الكلوكوز (Metabolism of Glucose) ، والتي تُساهم مساهمة كبيرة وفعّالة في عملية تصنيع بروتينات الدم ومنها بروتين الكلوبيولين (Globulin) ، وهذا ما أشار إليه كل من: Schmidt *et al.*,(1998) و Bronk,(1999) ، فقد ذكرا أنه عند إنخفاض كمية السكر المستهلك من قبل الخلايا تنخفض كفاءة الخلايا في عملية بناء البروتينات ، ممّا ينعكس ذلك على حصول إنخفاض في تصنيع هيموغلوبين الدم ، وبالتالي تنخفض كميته في الدم. كما يُمكن أن يكون السبب في إنخفاض مستوى الهيموغلوبين بالدم راجع إلى نقص بعض الفيتامينات منها فيتامين B_{12} وحامض الفوليك (Folic acid) الأساسيان في بناء الحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين (DNA) المكون للثايميدين ثلاثي الفوسفات (Thymidine Tri-Phosphate) ، والذي يُعد من أهم الوحدات البنائية الأساسية لحامض DNA ، إذ أنَّ نقص هذه الفيتامينات يُؤدي إلى إنخفاض تكوين DNA ، وبالتالي حصول قصور في نضج نواة الخلية وقابليتها على الإنقسام ، علاوةً على حدوث عجز في تكاثر الأرومة الحمراء (Erythroblast) وبذلك يقل عددها ممّا يُؤدي إلى قلة عدد كريات الدم الحمر (R.B.Cs) الناضجة والحاوية على الهيموغلوبين (Hemoglobin) في تركيبها (Guyton & Hall,2001 ; Howard,1999).

أمّا الإرتفاع المُلاحظ في متوسط مستوى الهيموغلوبين بالدم لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة ، قد يُعزى إلى إرتفاع الفعاليات الأيضية للجسم وخاصةً للحيوانات الكبيرة ممّا يُزيد من حاجتها إلى كميات كبيرة من الأوكسجين (O_2) والذي يكون الهيموغلوبين مسؤولاً عن نقله (بعد الإتحاد بـ O_2) إلى أنسجة أعضاء الجسم المختلفة ، وقد تكون نتيجة التأثيرات الهرمونية

والفسيولوجية للمستخلص النباتي في النشاط الإنزيمي وتأثيره في تحفيز إنتاج أحماض الصفراء ، وبذلك يكون التأثير في التمثيل الغذائي للكائن الحي ، فينتج عنه زيادة في حجم كريات الدم المضغوطة (P.C.V) بسبب زيادة الصفات الدموية الأخرى مثل زيادة عدد كريات الدم الحمر (R.B.Cs) الحاوية في تركيبها على الهيموغلوبين ، وبالتالي زيادة مستوى الهيموغلوبين بالدم ، ويكون ذلك نتيجة إرتباط الصفات الدموية مع بعضها البعض خلال تقدم العمر .(Chowdhury *et al*.,2008 ; Magid,2000 ; Chitra & Leelamma,1997)

جدول (4-4): تأثير المستخلص المائي للثوم على مستويات بعض المعايير الدموية لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد

ت	نوع المجموعة (الرمز)	متوسط عدد كريات الدم الحمر (مليون كريةإمليمتر مكعب) M ± SE	متوسط عدد خلايا الدم البيض (ألف خليةإمليمتر مكعب) M ± SE	متوسط حجم خلايا الدم المضغوطة (%) M ± SE	متوسط مستوى الهيموغلوبين (غمإديسيلتر) M ± SE
1	السيطرة السالبة (G1)	4.50 ± 0.23 A	8.51 ± 0.14 A	36.20 ± 0.55 A	10.97 ± 0.77 A
2	السيطرة الموجبة (G2)	3.18 ± 0.13 B	5.59 ± 0.10 B	20.12 ± 0.87 B	6.10 ± 0.28 B
3	التجريع بالمستخلص قبل العقار (G3)	3.35 ± 0.10 B	5.90 ± 0.08 B	21.20 ± 0.20 B	6.42 ± 0.28 B
4	التجريع بالمستخلص مع العقار (G4)	4.10 ± 0.06 C	8.01 ± 0.18 C	32.32 ± 1.04 C	9.79 ± 0.25 CA
5	التجريع بالمستخلص بعد العقار (G5)	3.82 ± 0.04 C	7.64 ± 0.18 C	28.36 ± 0.31 D	8.59 ± 0.22 C
-	L.S.D	0.40	0.42	1.99	1.21

- **n = 5**
- **M: المعدل.**
- **SE: الخطأ القياسي.**
- **الحروف الكبيرة المختلفة بالإتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية بين متوسطات المجموعات تحت مستوى إحتمال 0.05 .**

2.4.4 التغيرات في مستويات عدد من المعايير الكيموحيوية: Biochemical Criteria

1.2.4.4 التغيرات في مستوى فعالية الإنزيم الناقل لمجموعة الأمين (ALT) في مصل الدم:

دلّت نتائج الدراسة الحالية على وجود إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في فعالية إنزيم ALT في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

في حين تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولتداخلين (مع العقار وبعده) أدّت إلى حصول إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في فعالية إنزيم ALT في مصل الدم مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

بينما لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في فعالية إنزيم ALT في مصل الدم عند المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (جدول 4-5).

يُعد الإنزيم الناقل لمجموعة الأمين (ALT) في مصل الدم من الإنزيمات التي لها علاقة بوظائف الكبد ، وعليه فإنَّ تركيزه بالدم يُعطي صورة واضحة عن مدى فعّالية أعضاء الجسم وخصوصاً الكبد. يتواجد هذا الإنزيم بتراكيز عالية في الكبد وبنسب أقل في كل من البنكرياس والعضلات الهيكلية (Martein *et al.*,1985).

إنَّ الإرتفاع الحاصل في فعالية إنزيم ALT لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة لم يتفق مع ما جاء به Piton *et al.*,(1998) والذين أشاروا إلى أنَّ المعاملة بالعقار الكيمياوي يُخفض فعالية إنزيم ALT بالدم ، وذلك لأن بعض السموم التي تدخل الجسم فوق الحد الطبيعي تعمل على خفض مستويات هذا الإنزيم في مصل الدم. لكن نتائج الدراسة الحالية أتت مُتفقة مع ما توصلت إليه دراسة Vandenberghe,(1995) ، إذ من المرجح أن يكون السبب في إرتفاع مستوى إنزيم ALT في المصل راجع إلى حدوث حالات تليُّف وإلتهاب في الكبد. من جانبٍ آخر، فقد يُعزى سبب إرتفاع مستويات هذا الإنزيم إلى تكوّن الجذور الحرة (Free Radicals) ، إذ أنَّ لهذه الجذور دوراً كبيراً في تحطيم ونخر خلايا الكبد وبالتالي تعمل على تحرير هذا الإنزيم إلى المجرى الدموي ، ومن ثم زيادة تركيزه في الدم ، كما قد تُسبب هذه الجذور تشمُّع وتلف نسيج الكبد ، وبالتالي تُفقد مستقبلات الإنزيم الموجودة على الخلايا الظهارية المبطنة لقناة الصفراء وحول الوعاء الدموي المركزي للكبد ، ممّا يتسبب في زيادة تحرّر الإنزيم إلى خارج الخلايا (Al-Wabel *et al.*,2008 ; Prakasam *et al.*,2004). إنَّ أي خلل يحدث في

التركيب الخلوي للكبد من الممكن أن يرفع مستوى هذا الإنزيم خصوصاً عند حصول حالة تنخّر (Necrosis) للخلايا الكبدية (Tchounwou *et al*.,2004). من جهةٍ أخرى ، فإنَّ زيادة مستوى هذا الإنزيم قد تحصل نتيجةً لضعف الكبد وتسرُّب الإنزيم من الأنسجة ثم الهجرة إلى مجرى الدم (Prince & Menon,1999) ، كما أنَّ زيادة نسبة الدهون في الكبد وبالأخص الكوليستيرول (Cholesterol) والذي يُكوِّن ما يُعرف بظاهرة إلتهاب الكبد الدهني ، وكذلك تجمُّع الأحماض الدهنية نتيجة إرتفاع مستوى سكر الكلوكوز بالدم ممكن أن يُعزى إليها سبب إرتفاع مستوى إنزيم ALT في مصل الدم (Kim *et al*.,2006).

أمّا الإنخفاض المُلاحظ في فعالية إنزيم ALT لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة قد يُعزى سببه إلى قدرة مستخلص الثوم على كبح عمل الجذور الحرة والتقليل من بيروكسدة الدهون وذلك بسبب إحتوائه على المواد المضادة للأكسدة مثل الفلافونيدات ، وعليه فإنَّ ذلك يعمل في المحافظة على أغشية الخلايا الكبدية من التحطيم وتقليل خروج الإنزيمات إلى مصل الدم ، ويُعتقد أنَّ المكونات الفعالة والموجودة في المستخلص لها دور مهم في تحرير الطاقة من الدهون وتقليل الضرر الحاصل في الكبد نتيجة التأثير السام للعقار (Cai *et al*.,2004). وإتفقت الدراسة الحالية (من حيث المبدأ) مع نتائج الدراسة التي توصل إليها Abdel-Wahhab & Aly,(2005) ، والتي أوضحت بأنَّ المعاملة بالمستخلصات النباتية تُؤدي إلى خفض مستويات إنزيمات الكبد في مصل الدم ومنها إنزيم ALT ، إذ يُعزى سبب هذه الفعالية للمستخلصات إلى إحتوائها على مضادات الأكسدة ، ومستخلص الثوم - حسب ما تم التوصل إليه في مقدمة هذا الفصل- يحتوي على مركبات فينولية مُضادة للأكسدة ، والتي بدورها تعمل ككوابح للجذور الحرة المتكونة في الجسم والناجمة عن التأثير السام لعقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم.

2.2.4.4 التغيرات في مستوى فعالية الإنزيم الناقل لمجموعة الأمين (AST) في مصل الدم:

بيّنت نتائج الدراسة وجود إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في فعالية إنزيم AST في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

كما تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) بعد العقار أدّت إلى حصول إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في فعالية إنزيم AST في مصل الدم مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

بينما لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في فعالية إنزيم AST في مصل الدم عند المعاملة بالمستخلص النباتي مع العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

كذلك لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في فعالية إنزيم AST في مصل الدم عند المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (جدول 4-5).

يُعد الإنزيم الناقل لمجموعة الأمين (AST) في مصل الدم من الإنزيمات التي لها علاقة بوظائف الكبد ، وعليه فإنَّ تركيزه بالدم يُعطي صورةً واضحةً عن مدى فعّالية أعضاء الجسم وبالأخص الكبد. يتواجد هذا الإنزيم في كل من: الكبد بالدرجة الأولى والقلب والعضلات الهيكلية وكريات الدم الحمر والكليتين (Bennett & Plum,1996).

إنَّ الإرتفاع الحاصل في فعالية إنزيم AST لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة ، قد يرجع سببه إلى تأثير سمية عقار السايكلوفوسفومايد على الكبد ، من خلال إحداث التنخر والإلتهاب في الخلايا الكبدية (Hepatocytes) ، ممّا يُؤدي إلى زيادة مستوى هذا الإنزيم في مصل الدم. من جانبٍ آخر، فقد أشارت بعض الدراسات إلى حصول زيادة شديدة بفعّالية إنزيم AST في حالات الإصابة بأمراض مختلفة منها أمراض سرطان الكلية وإعتلال الكلية السكري ، فيما أشارت دراسات أخرى إلى حدوث زيادة طفيفة بفعّالية هذا الإنزيم في حالات الإصابة بأمراض أخرى كأمراض حالات الزرع الكلوي ، وقد يُعزى سبب زيادة مستوى إنزيم AST أيضاً إلى تناول بعض الأدوية كالمضادات الحيوية مثل Sulfisaxazole أو مشتقات البنسلين (Compbell *et al.*,1984). من جهةٍ أخرى ، فإنَّ الإرتفاع المُلاحظ في فعالية إنزيم AST قد يعود سببه لزيادة تخليق هذا الإنزيم من أجل إعادة إصلاح ما تحطّم من الأنسجة بفعل سُمية العقار المستخدم (SeongGill & Juchan,2006). وبذلك فإنَّ نتائج الدراسة الحالية بخصوص هذا الإنزيم قد جاءت مُتفقةً مع ما أكدته الدراسة التي قام بها Vandenberghe,(1995) بأنَّ هذا الإرتفاع في مستوى إنزيم AST بمصل الدم قد يعود سببه إلى حصول حالات تليُّف وإلتهاب في الكبد. من جانبٍ آخر، فقد يُعزى سبب إرتفاع مستويات هذا الإنزيم إلى تكوّن الجذور الحرة ، إذ أنَّ لهذه الجذور دوراً كبيراً في تحطيم ونخر خلايا الكبد ، وبالتالي تعمل على تحرير هذا الإنزيم إلى المجرى الدموي ، ومن ثم زيادة تركيزه في الدم ، كما قد تُسبب هذه الجذور تشمُّع وتلف نسيج الكبد ، وبالتالي تُفقد مستقبلات الإنزيم الموجودة على الخلايا الظهارية المبطنة لقناة الصفراء وحول الوعاء الدموي المركزي للكبد ، ممّا يتسبب في زيادة تحرر الإنزيم إلى خارج الخلايا (Al-Wabel *et al.*,2008 ; Prakasam *et al.*,2004) ، كما ويزداد مستوى هذا الإنزيم أيضاً في حالات حصول تلف في كريات الدم الحمر والكليتين ،

وأن أي خلل يحدث في التركيب الخلوي للكبد من الممكن أن يرفع مستوى هذا الإنزيم خصوصاً عند حصول حالة تنخّر للخلايا الكبدية (Tchounwou *et al.*,2004). من جهةٍ أخرى ، فإنَّ زيادة مستوى هذا الإنزيم قد تحصل نتيجةً لضعف الكبد وتسُّرب الإنزيم من الأنسجة ثم الهجرة إلى مجرى الدم (Prince & Menon,1999) ، كما أنَّ زيادة نسبة الدهون في الكبد وبالأخص الكوليستيرول والذي يُكوِّن ما يُعرف بظاهرة إلتهاب الكبد الدهني ، وكذلك تجمُّع الأحماض الدهنية نتيجة إرتفاع مستوى سكر الكلوكوز بالدم ممكن أن يُعزى إليها سبب إرتفاع مستوى إنزيم AST في مصل الدم (Kim *et al.*,2006).

أمّا الإنخفاض المُلاحظ في فعالية إنزيم AST لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة فإنه يتفق (من حيث المبدأ) مع نتائج الدراسة التي أشار إليها (Abdel-Wahhab & Aly,(2005 ، والتي أكَّدت على أنَّ المعاملة بالمستخلصات النباتية تُؤدي إلى خفض مستويات إنزيمات الكبد في مصل الدم ومنها إنزيم AST ، ويرجع سبب هذه الفعّالية للمستخلصات إلى إحتوائها على مضادات الأكسدة ، ومستخلص الثوم- مثلما تم التوصل إليه في مقدمة هذا الفصل- يحتوي على مركبات فينولية مضادة للأكسدة ، وهذه بدورها تعمل ككوابح للجذور الحرة المتكونة في الجسم والناجمة عن التأثير السام لعقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم. في حين أنَّ الدراسة الحالية لم تتفق مع ما توصلت إليه دراسة Jagadeesan & Kavitha,(2006) في أنَّ الشدة التأكسدية للمستخلص النباتي تعمل على تثبيط مضادات الأكسدة الطبيعية وبالأخص الكلوتاثيون الكبدي ، والذي بإنخفاضه سيرتفع معه مستوى إنزيم AST في مصل الدم.

3.2.4.4 التغيرات في مستوى فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) في مصل الدم:

أشارت النتائج إلى وجود إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في فعالية إنزيم ALP في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

في حين تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) أدّت إلى حصول إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في فعالية إنزيم ALP في مصل الدم مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (جدول 4-5).

يُعد إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) بمصل الدم من الإنزيمات التي لها علاقة بوظائف الكبد ، وعليهِ فإنَّ تركيزه بالدم يعطي صورةً واضحةً عن مدى فعالية أعضاء الجسم وخصوصاً الكبد. يتواجد هذا الإنزيم بشكل طبيعي في القنوات الصفراوية الصغيرة للكبد ، كما يوجد أيضاً في العظم والمشيمة. إنَّ التراكيز المرتفعة من هذا الإنزيم رُبما تُؤدي لحدوث مشاكل خارج الكبد كمرض السرطان (Longmore *et al.*,2004 ; Braunwald *et al.*,2001).

إنَّ الإرتفاع الحاصل في فعالية إنزيم ALP لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة قد يُعزى سببه إلى زيادة فعّالية الجسيمات الحالة (Lysosomes) بسبب موت الخلية (Cellular Death) نتيجة تأثير عوامل عديدة منها سُمية العقار المُستخدم ، أو لربما بسبب تدفق الصفراء (Bile) إلى داخل أو خارج الخلايا الكبدية ، ممّا يُؤدي إلى حصول زيادة في مستويات إنزيم ALP في مصل الدم (Sastry & Agrawal,1997). كذلك ممكن أن يكون الإرتفاع الملحوظ في مستوى إنزيم ALP في عدد من الحالات والتي ليس لها علاقة بأمراض الكبد والعظام مثل الأورام : كأورام العصبات والورم الكلوي وكذلك ورم النخاع المضاعف. من جانبٍ آخر، فإنَّ تناول بعض الأدوية المُسكنة كالأسبرين والباراسيتامول لمدة طويلة وبجرع عالية ، وكذلك أدوية المُدرِّرات التي يتناولها ذوو الضغط المرتفع ، فإنه يُساهم بشكل كبير في إرتفاع مستوى هذا الإنزيم بمصل الدم (Choen & Leman,1991). كما وتزداد فعّالية إنزيم ALP في حالات أمراض الكبد وقناة الصفراء كإنسداد هذه القناة بسبب التضيق أو الحصاة أو حدوث ورم سرطاني أو رُبما تليُّف خلايا قناة الصفراء ، وكل هذه الحالات ترفع مستوى فعالية هذا الإنزيم من 10-12 مرة تقريباً أكثر من المستوى الطبيعي ، وقد أشارت بعض الدراسات إلى أنَّ هذا الإنسداد ممكن أن يُحفز الكبد لتكوين كميات أخرى من هذا الإنزيم والتي بطبيعة الحال تدخل المجرى الدموي ، ممّا تُؤدي إلى رفع مستواه وفعّاليته بالدم (Arrick & Nathan,1974). نتائج الدراسة الحالية إتفقت مع ما توصل إليه Vandenberghe,(1995). كما أشارت دراسة Samir & El-Kholy,(1999) وكذلك دراسة McDonald & Frieze,(2008) إلى أنَّ إرتفاع مستوى إنزيم ALP يُعد دليلاً مهماً على حدوث تلف للكبد. وقد يرجع سبب الزيادة في مستوى هذا الإنزيم بالمصل أيضاً إلى تحطم بعض الأنسجة كنسيج الكبد مثلاً ، نتيجة الإختلال الوظيفي في عملية تمثيل المواد الغذائية ، أو لقلة تدفق الإفراز الصفراوي ، أو لزيادة محتوى الإنزيم في بعض الأنسجة (Gopal & Rosen,2000). وقد يكون لإصابة البنكرياس أحياناً دوراً مهماً في إرتفاع فعالية إنزيم ALP بالدم وذلك نتيجة تأثر قناة الصفراء الناقلة له ، إذ من المعلوم أنَّ هذه القناة والتي يُطرح من خلالها هذا الإنزيم تمر عبر البنكرياس (Hanley *et al.*,2004 ; Hanna *et al.*,1997).

أمّا الإنخفاض المُلاحظ في فعالية إنزيم ALP لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة فإنه يتفق (من حيث المبدأ) مع نتائج الدراسة التي قام بها Abdel-Wahhab & Aly,(2005) ، والتي أشارت إلى أنَّ المعاملة بالمستخلصات النباتية تُؤدي إلى خفض مستويات إنزيمات الكبد في مصل الدم ومنها إنزيم ALP ، ويعود سبب هذه الفعّالية للمستخلصات إلى وجود مضادات الأكسدة فيها ، ومستخلص الثوم - كما تم التوصل إليه في مقدمة هذا الفصل- يحتوي على مركبات فينولية مضادة للأكسدة ، والتي بدورها تعمل ككوابح للجذور الحرة المتكونة في الجسم والناجمة عن التأثير السام لعقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم. إنَّ حصول هذا الإنخفاض في مستوى إنزيم ALP وإنزيمات الكبد الأخرى (سابقة الذكر) في حالة التجريع بالمستخلص النباتي يُعد دليلاً مهماً على سلامة وظائف الكبد المتنوعة (Adaramoye *et al.*,2008) بعد أن إرتفعت تلك الإنزيمات نتيجة الضرر الخلوي الناجم عن تسمُّم الكبد الحاد أو المُعتدل (Jens & Hanne,2002).

جدول (4-5): تأثير المستخلص المائي للثوم على مستوى فعالية بعض إنزيمات الكبد في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد

ت	نوع المجموعة (الرمز)	متوسط فعالية إنزيم ALT في مصل الدم (وحدة عالمية/التر) M ± SE	متوسط فعالية إنزيم AST في مصل الدم (وحدة عالمية/التر) M ± SE	متوسط فعالية إنزيم ALP في مصل الدم (وحدة عالمية/التر) M ± SE
1	السيطرة السالبة (G1)	29.78 ± 0.75 A	073.36 ± 1.63 A	071.71 ± 0.98 A
2	السيطرة الموجبة (G2)	51.29 ± 0.75 B	103.27 ± 2.18 B	113.26 ± 1.62 B
3	التجريع بالمستخلص قبل العقار (G3)	49.32 ± 1.25 B	099.83 ± 2.56 B	108.90 ± 0.44 C
4	التجريع بالمستخلص مع العقار (G4)	36.77 ± 1.30 C	079.26 ± 3.10 A	077.88 ± 0.93 D
5	التجريع بالمستخلص بعد العقار (G5)	45.65 ± 0.66 D	091.35 ± 3.46 C	092.99 ± 1.38 E
-	L.S.D	2.91	7.88	3.39

- **n = 5**
- **M: المعدل.**
- **SE: الخطأ القياسي.**
- **الحروف الكبيرة المختلفة بالإتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية بين متوسطات المجموعات تحت مستوى إحتمال 0.05 .**

4.2.4.4 التغيرات في مستوى البيليروبين الكلي (.T.Bil) في مصل الدم:

دلّت نتائج الدراسة الحالية على وجود إرتفاع غير معنوي ($P>0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

بينما تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) أدّت إلى حصول إنخفاض غير معنوي ($P>0.05$) في مستوى البيليروبين الكلي في مصل الدم مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (جدول 4-6).

إنَّ الإرتفاع الحاصل (بغض النظر عن كونه غير معنوي) في مستوى البيليروبين الكلي لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة يُعد مؤشراً مهماً لحدوث إلتهاب في الكبد حسب ما أشارت إليه دراسة Oboh,(2006). وفي دراسةٍ أخرى كانت قد أجريت على العقار قيد الدراسة الحالية ، إذ سُجلت ظاهرة تسمم الكبد وزيادة في مستوى البيليروبين الكلي عند إعطاء عقار السايكلوفوسفومايد (Paul & Michael,2001).

أمّا الإنخفاض المُلاحظ (بغض النظر عن كونه غير معنوي) في مستوى البيليروبين الكلي لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) لمدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة فإنه يتفق (من حيث المبدأ) مع النتائج التي توصّلت إليها دراسة Abdel-Rahman & Abd El-Megeid,(2006) بالنسبة لنبات الرُّمان. كما جاءت نتيجة الدراسة الحالية مُتفقةً (من حيث المبدأ أيضاً) مع دراسة Abdel-Wahhab & Aly,(2005) بالنسبة للحبة السوداء ، في أنَّ المكونات الكيميائية الفعّالة والمتواجدة في مستخلصات النباتات الطبية من الممكن أن تُؤدي إلى خفض مستويات البيليروبين الكلي في مصل الدم.

5.2.4.4 التغيرات في مستوى الكوليستيرول الكلي (.T.C) في مصل الدم:

بيّنت النتائج وجود إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

في حين تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولتداخلين (مع العقار وبعده) أدّت إلى حصول إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

بينما لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم عند المعاملة بالمستخلص النباتي مع العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

كما لا تُوجد هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم عند المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

كذلك لا تُوجد فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم بين حالتي المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار وبعده.

وأيضاً لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم بين حالتي المعاملة بالمستخلص النباتي مع العقار وبعده (جدول 4-6).

إنَّ الإرتفاع الحاصل في مستوى الكوليستيرول الكلي لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة قد يُعزى سببه إلى الخلل المحتمل في أيض الدهون ومن ضمنها الكوليستيرول ، كذلك الإضطراب في نشاط إنزيم Cholesterol Acyl-Transferase المسؤول عن إمتصاص الكوليستيرول من الأمعاء ، أو نتيجةً لخلل حاصل أثناء إستعمال الدهون في عمليات الأكسدة وإنتاج الطاقة ، إذ أنَّ هذا الإختلال في أيض الدهون قد يرجع سببه إلى الإضطراب المتوقع في عملية إفراز هرمون الإنسولين من البنكرياس ، فبإنخفاض مستوى الإنسولين في الدم فإنَّ تركيز الحوامض الدهنية الحرة (Free Fatty Acid = F.F.A.) يرتفع في البلازما نتيجةً لزيادة هدم الدهون بالجسم (Kusmoki *et al*.,2007 ; Hori *et al*.,2004).

أمّا الإنخفاض المُلاحظ في مستوى الكوليستيرول الكلي لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) لمدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة فقد يعود سببه إلى حصول زيادة في نشاط الإنزيمين Beta-Hydroxy Methyl Glutaryl Co-A Reductase و Plasma Lecithin Cholesterol Acyl-Transferase والتي تُعزز من صنع حوامض الصفراء في الكبد ، وكذلك زيادة تحلل الكوليستيرول إلى أحماض صفراوية برازية وستيرولات متعادلة (محمد،1998 ; عبد والحصري،2006). كما يُمكن أن يُعزى

سبب إنخفاض مستوى الكوليستيرول إلى تحفيز إفراز الإنسولين من قبل خلايا بيتا بواسطة نشاط المركبات الكيميائية الفعّالة والمتواجدة في مستخلص الثوم (Gray & Flatt,1999).

6.2.4.4 التغيرات في مستوى الألبومين (Albumin) في مصل الدم:

أشارت النتائج إلى وجود إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى الألبومين في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

فيما تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولتداخلين (مع العقار وبعده) أدّت إلى حصول إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى الألبومين في مصل الدم مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

في حين لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الألبومين في مصل الدم بين حالتي المعاملة بالمستخلص النباتي مع العقار وبعده ، وكذلك عدم وجود فروقات معنوية ($P>0.05$) عند مقارنة هاتين الحالتين بمجموعة السيطرة السالبة.

كذلك لا تُوجد هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الألبومين في مصل الدم عند المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (جدول 4-6).

إنَّ الإنخفاض الحاصل في مستوى الألبومين لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة ، قد يعزو الباحث سببه إلى إصابة الكبد بإلتهاب حاد (Acute Infection) ، ممّا جعله يفقد القدرة على تصنيع بروتين الألبومين بالشكل المعتاد ، وهذا أدّى - بطبيعة الحال- إلى إنخفاض مستواه في مصل الدم.

أمّا الإرتفاع المُلاحظ في مستوى الألبومين لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة ، قد يرى الباحث سببه رُبما يكون عائداً إلى تحسن حالة الكبد تدريجياً نتيجة المعاملة بالمستخلص النباتي (قيد الدراسة) الحاوي على المركبات الكيميائية الفعّالة والتي من شأنها أن تُؤدي إلى إرتفاع مستوى بروتين الألبومين في مصل الدم. بمعنىً آخر، فإنَّ مستخلص الثوم قد أدّى دوراً فعالاً في التقليل من سُمية عقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم ، وإصلاح ما تضرر من نسيج الكبد نتيجة التجريع بالعقار، ممّا جعل الكبد يعود لتصنيع بروتين الألبومين بشكل إعتيادي ومُقارب للحالة الطبيعية.

جدول (4-6): تأثير المستخلص المائي للثوم على مستويات البيليروبين الكلي والكوليستيرول الكلي والألبومين في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد

ت	نوع المجموعة (الرمز)	متوسط مستوى البيليروبين الكلي في مصل الدم (ملغم\اديسيلتر) M ± SE	متوسط مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم (ملغم\اديسيلتر) M ± SE	متوسط مستوى الألبومين في مصل الدم (غم\اديسيلتر) M ± SE
1	السيطرة السالبة (G1)	0.09 ± 0.01 A	55.38 ± 3.20 A	3.86 ± 0.08 A
2	السيطرة الموجبة (G2)	0.19 ± 0.02 A	71.31 ± 2.71 B	2.95 ± 0.08 B
3	التجريع بالمستخلص قبل العقار (G3)	0.17 ± 0.04 A	69.39 ± 1.14 BD	3.04 ± 0.09 B
4	التجريع بالمستخلص مع العقار (G4)	0.11 ± 0.02 A	60.54 ± 1.44 CA	3.75 ± 0.08 A
5	التجريع بالمستخلص بعد العقار (G5)	0.13 ± 0.04 A	63.24 ± 1.43 CD	3.67 ± 0.13 A
-	L.S.D	-	6.33	0.27

- **n = 5**
- **M: المعدل.**
- **SE: الخطأ القياسي.**
- **الحروف الكبيرة المختلفة بالإتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية بين متوسطات المجموعات تحت مستوى إحتمال 0.05 .**

7.2.4.4 التغيرات في مستوى اليوريا (Urea) في مصل الدم:

دلّت نتائج الدراسة الحالية على وجود إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى اليوريا في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

في حين تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) أدّت إلى حصول إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى اليوريا في مصل الدم مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (جدول 4-7).

إنَّ الإرتفاع الحاصل في مستوى اليوريا لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة قد يُعزى سببه إلى حصول حالة قصور كلوي (Akkasilpa *et al.*,2004). من ناحيةٍ أخرى ، فإنَّ إرتفاع مستوى اليوريا في الدم مرتبط بأمراض الجهاز القلبي الوعائي كأمراض الأوعية الدموية وإرتفاع ضغط الدم (Kanellis & Kang,2005). ويعود أيضاً سبب هذا الإرتفاع الواضح في مستوى اليوريا بالدم إلى فقدان المصدر المباشر للطاقة في الجسم ألا وهو سكر الكلوكوز (Glucose) ، أمّا لغياب هرمون الإنسولين (Insulin) ، أو لقلة تغذية حيوانات التجربة نتيجة فقدان شهيتها للطعام بسبب تأثير عقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم ، وبالتالي لجوء هذه الحيوانات إلى إستغلال البروتين (Protein) كمصدر بديل للطاقة عن الكلوكوز خلال عملية التمثيل الغذائي ، وبذلك ينجم عنه تكوين كميات كبيرة من اليوريا بالجسم كنوع من الفضلات الأيضية المتكونة ، ممّا يُؤدي إلى إرتفاع تركيزها بالدم (عداي و حنا،1987). من جانبهِ ، يرى الباحث أنَّ هذا الإرتفاع في مستوى اليوريا بالدم قد يعود لحدوث خلل وظيفي وتلف بالكلى نتيجة تسممها الناجم عن تأثير عقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم في تجربة الدراسة الحالية.

أمّا الإنخفاض المُلاحظ في مستوى اليوريا لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة فإنه لم يتفق مع ما أشارت إليه دراسة Shyamala *et al.*,(2003). فيما إتفقت هذه النتيجة مع ما توصلت إليه دراسة Haggag,(2011) بفكرة متشابهة (من حيث المبدأ) مع الدراسة الحالية ، إذ بيّنت تلك الدراسة أنَّ تجريع ذكور الجرذان (المصابة بالتسمم الكلوي) بمستخلص بذور الكزبرة قد سبب إنخفاضاً معنوياً في مستويات اليوريا والكرياتنين بمصل الدم مقارنةً مع مستواهما في دم تلك الجرذان المصابة والتي لم تخضع للتجريع بالمستخلص ، وهذا ينطبق بدوره على مستخلص نبات الثوم ، إذ أنَّ المستخلصين المذكورين آنفاً يحتويان على المركبات الكيميائية الفعّالة نفسها تقريباً ، والتي لها دورٌ مهم في التقليل من سُمية العقاقير الكيمياوية. كما قد يعزو الباحث من جانبه سبب هذا الإنخفاض في مستوى اليوريا بالدم لتحسن حالة الكلى تدريجياً بعد التجريع بمستخلص الثوم ، وذلك من خلال إصلاح التلف والخلل الحاصل في وظيفة الكلى جرّاء تجريع الحيوانات بعقار السايكلوفوسفومايد ، لما يحتويه هذا المستخلص من مركبات فعّالة عديدة (كما جاء ذكره في مقدمة هذا الفصل).

8.2.4.4 التغيرات في مستوى الكرياتنين (Creatinine) في مصل الدم:

بيّنت النتائج وجود إرتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى الكرياتنين في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

فيما تبيّن أنَّ المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولتداخلين (مع العقار وبعده) أدّت إلى حصول إنخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى الكرياتنين في مصل الدم مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

في حين لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الكرياتنين في مصل الدم عند المعاملة بالمستخلص النباتي قبل العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة.

كذلك لم تكُن هناك فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الكرياتنين في مصل الدم عند المعاملة بالمستخلص النباتي مع العقار مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة.

وأيضاً لا تُوجد فروقات معنوية ($P>0.05$) في مستوى الكرياتنين في مصل الدم بين حالتي المعاملة بالمستخلص النباتي مع العقار وبعده (جدول 4-7).

إنَّ الإرتفاع الحاصل في مستوى الكرياتنين لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالعقار لمدة 30 يوماً مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة قد يرجع سببه إلى حصول حالة قصور كلوي (Akkasilpa *et al.*,2004). من ناحيتهِ ، يعزو الباحث سبب هذا الإرتفاع في مستوى الكرياتنين بالدم إلى حدوث خلل وظيفي وتلف بالكلى نتيجة تسممها الناجم عن تأثير عقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم في تجربة هذه الدراسة ، ممّا يحول ذلك دون تأدية الكلى لوظيفتها المهمة في تخليص الجسم من الفضلات الضارة (كالكرياتنين) والناتجة عن عمليات الأيض الخلوي (Metabolism) في أجسام حيوانات التجربة ، وبالتالي إرتفاع مستوى الكرياتنين في الدم.

أمّا الإنخفاض المُلاحظ في مستوى الكرياتنين لحيوانات التجربة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) مدة 30 يوماً أيضاً مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة فإنه يتفق مع ما أكّدت عليه دراسة Haggag,(2011) بفكرة متشابهة (من حيث المبدأ) مع الدراسة الحالية ، إذ أوضحت تلك الدراسة بأنَّ تجريع ذكور الجرذان (المصابة بالتسمم الكلوي) بمستخلص بذور الكزبرة قد سبب إنخفاضاً معنوياً في مستويات اليوريا والكرياتنين في مصل الدم مقارنةً مع مستواهما في دم تلك الجرذان المصابة والتي لم تخضع للتجريع بالمستخلص ، وهذا ينطبق بدوره على مستخلص نبات الثوم ، إذ أنَّ المستخلصين المذكورين آنفاً يحتويان على المركبات الكيميائية الفعّالة نفسها تقريباً ، والتي لها دورٌ مهم في التقليل من سُمية العقاقير الكيمياوية. من جانبهِ ، فقد يعزو الباحث سبب هذا الإنخفاض في مستوى الكرياتنين بالدم إلى تحسُّن حالة الكلى تدريجياً بعد التجريع بمستخلص الثوم ، من خلال إصلاح التلف والخلل الحاصل في وظيفة الكلى جرّاء تجريع حيوانات التجربة بعقار

السايكلوفوسفومايد ، وذلك لما يحتويه هذا المستخلص من مركبات فعّالة عديدة (كما جاء ذكره في مقدمة هذا الفصل).

جدول (4-7): تأثير المستخلص المائي للثوم على مستويات اليوريا والكرياتنين في مصل الدم لذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد

ت	نوع المجموعة (الرمز)	متوسط مستوى اليوريا في مصل الدم (ملغم\ديسيلتر) M ± SE	متوسط مستوى الكرياتنين في مصل الدم (ملغم\ديسيلتر) M ± SE
1	السيطرة السالبة (G1)	30.32 ± 0.76 A	0.95 ± 0.02 A
2	السيطرة الموجبة (G2)	43.62 ± 0.77 B	1.72 ± 0.04 B
3	التجريع بالمستخلص قبل العقار (G3)	41.52 ± 0.56 C	1.68 ± 0.15 B
4	التجريع بالمستخلص مع العقار (G4)	33.16 ± 0.71 D	1.12 ± 0.02 CA
5	التجريع بالمستخلص بعد العقار (G5)	36.21 ± 0.71 E	1.25 ± 0.02 C
-	L.S.D	2.09	0.19

- **n = 5**
- **M: المعدل.**
- **SE: الخطأ القياسي.**
- **الحروف الكبيرة المختلفة بالإتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية بين متوسطات المجموعات تحت مستوى إحتمال 0.05 .**

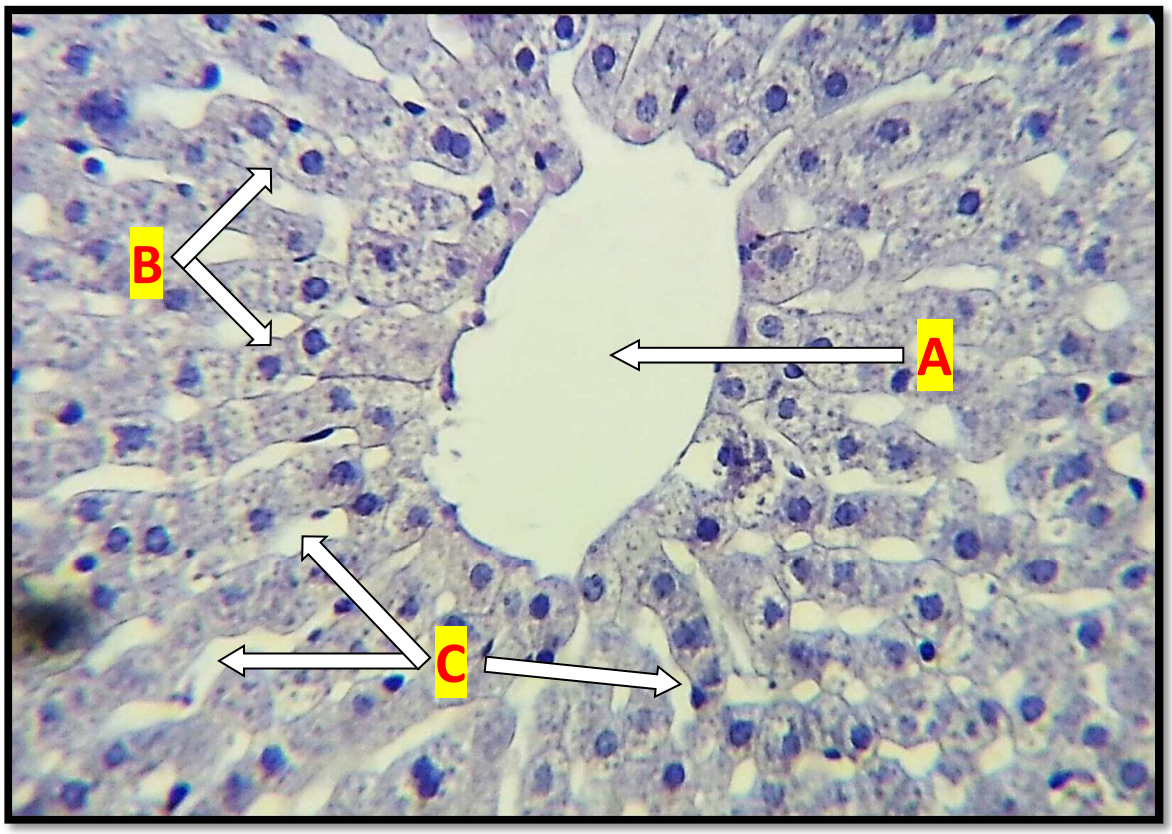
5.4 التغيرات النُسجية: Histological Changes

في الدراسة الحالية ، عُملت مقاطع نُسجية عديدة لعضوين مهمين جداً في جسم الكائن الحي هما الكبد (Liver) والكلية (Kidney) ، وقد تم إجراء الفحص والتصوير المجهري لجميع الحالات المدروسة مع تفسير للنتائج ومناقشتها ، فقد وجد من خلال الفحوصات المجهرية حدوث تغيرات نُسجية مرضية متفاوتة الشدة بين تلك الحالات المدروسة لأنسجة العضوين ، وعلى النحو الآتي:

1.5.4 نسيج الكبد: The Liver's Tissue

1.1.5.4 مجموعة السيطرة السالبة لنسيج كبد ذكور الأرانب المحلية الطبيعية:

أوضحت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المحلية الطبيعية وجود وريد الكبد المركزي (Central Vein) ، والذي يُعد فرعاً من الوريد البابي الكبدي ، إذ لا يظهر فيه أي إحتقان دموي (Blood Congestion) على الإطلاق ، كما لُوحظت أيضاً حبالٌ من الخلايا الكبدية (Cords of Hepatocytes) تتضمن العديد من الخلايا الكبدية (Hepatocytes) ، وتنحصر بين هذه الحبال فسحات بينية واضحة تُعرف بالجيبانيات الكبدية (Hepatic Sinusoids) ، فيما إمتازت هذه الخلايا وكذلك الجيبانيات بأشكالها الطبيعية (صورة 4-1).

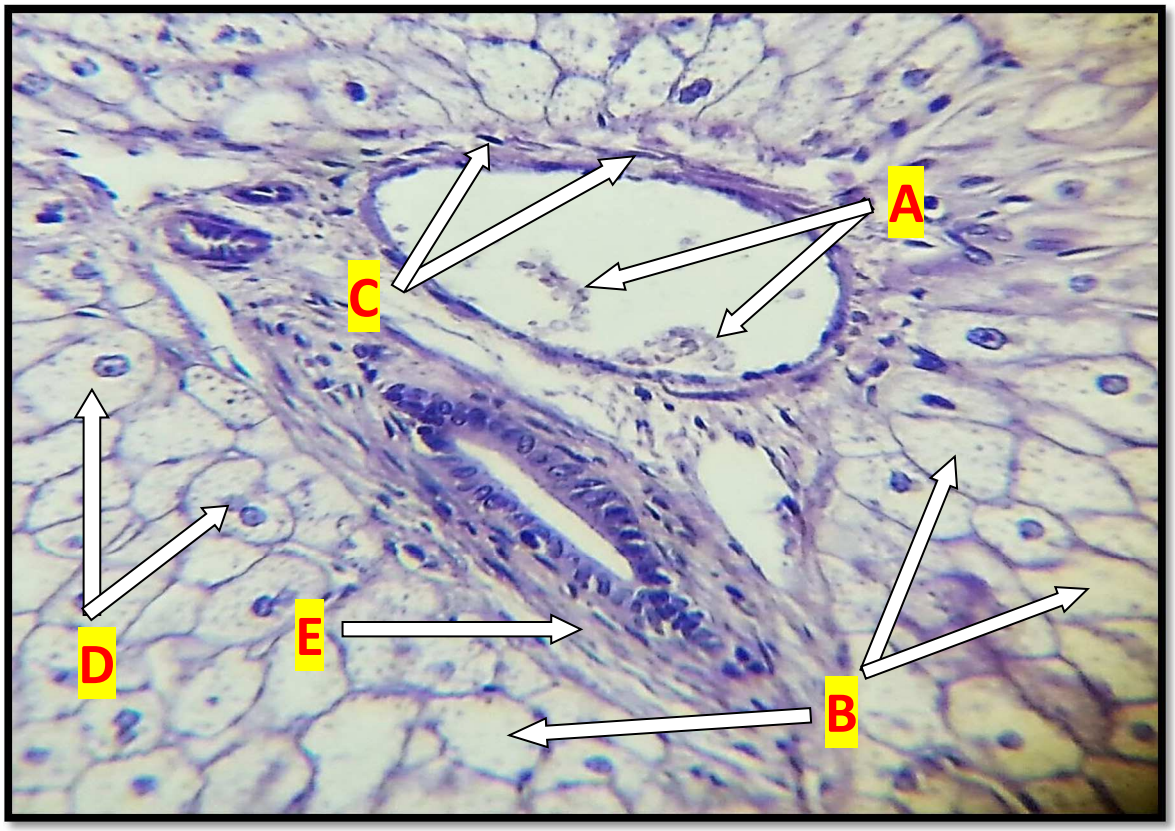


صورة (4-1): مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب محلي طبيعي (السيطرة السالبة) (صبغة H.&E.) (400X) يتضح فيه ما يأتي:

A- وريد مركزي (Central Vein) غير محتقن.
B- حبال من الخلايا الكبدية (Cords of Hepatocytes).
C- جيبانيات (Sinusoids) واضحة بين الحبال الكبدية.

2.1.5.4 مجموعة السيطرة الموجبة لنسيج كبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوماً بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (الطبيعية) حدوث تغيرات نُسجية مرضية واضحة تمثلت بوجود إحتقان دموي في الوريد المركزي ، مع وجود تنخُّر شديد للخلايا الكبدية وهذا التنخُّر من النوع التجلطي (Coagulative Necrosis) ، إضافةً إلى حدوث إرتشاح للخلايا الإلتهابية من نوع العدلة (Neutrophils) حول الوريد المركزي المحتقن ، كذلك حدوث ظاهرة التفجي (Vacuolization) في سايتوبلازم الخلايا الكبدية ، ويتضح ذلك من خلال تضخم الخلايا الكبدية نتيجة إصابتها بالإستسقاء (Hydropic Degeneration) وذلك لترسب كميات من الماء داخل هذه الخلايا ممّا أدّى إلى إختفاء الجيبانيات بينها ، كما لُوحظ أيضاً وجود تليُّف (Fibrosis) واضح حول القنوات الصفراوية (Bile Ducts) (صورة 4-2).



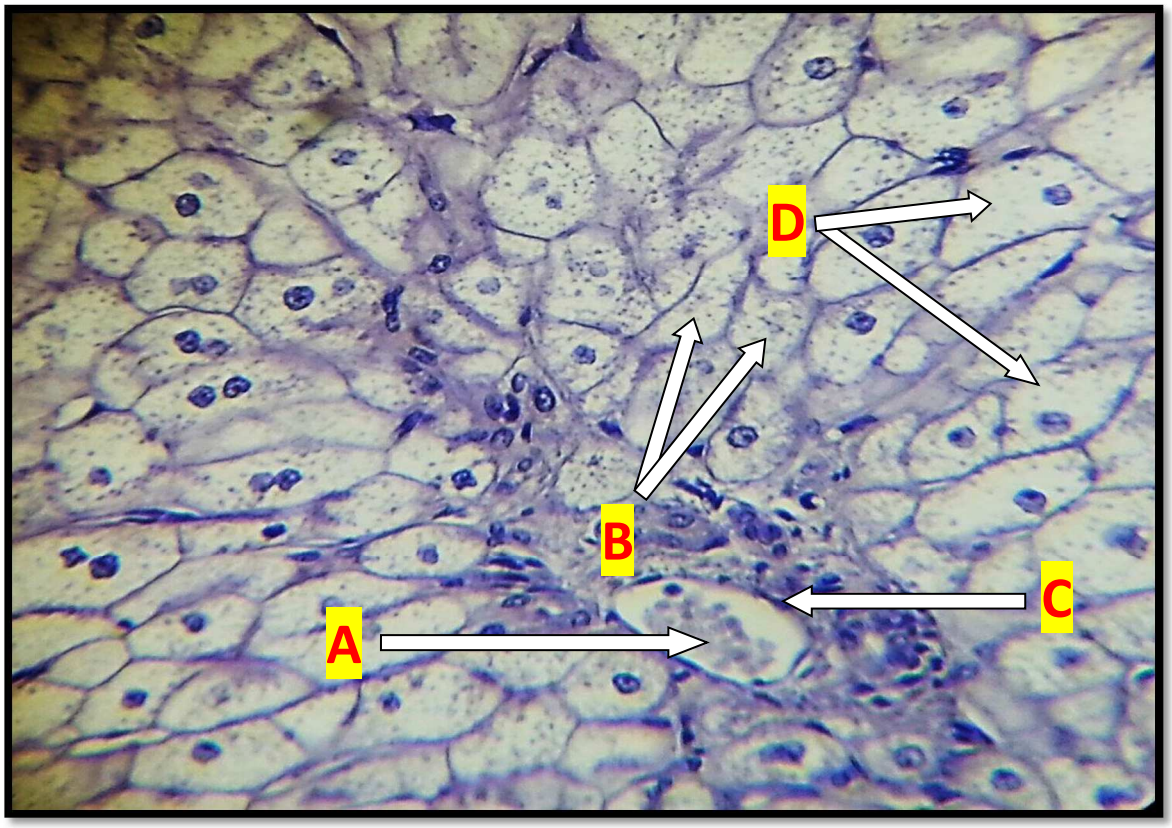
صورة (4-2): مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب محلي معامل بعقار السايكلوفوسفومايد (السيطرة الموجبة) (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- إحتقان دموي (Blood Congestion) في الوريد المركزي (Central Vein).
B- تنخُّر شديد للخلايا الكبدية من النوع التجلطي (Coagulative Necrosis).
C- إرتشاح للخلايا الإلتهابية من نوع العدلة (Neutrophils) حول الوريد المركزي المحتقن.
D- ظاهرة التفجي (Vacuolization) في سايتوبلازم الخلايا الكبدية.
E- تليُّف (Fibrosis) حول القنوات الصفراوية (Bile Ducts).

3.1.5.4 التغيرات النُسجية المرضية لكبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوماً قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوماً أخرى حدوث تغيرات نُسجية مرضية تمثلت بوجود إحتقان دموي في الوريد المركزي ، مع وجود تنخّر متوسط الشدة لبعض الخلايا الكبدية وهذا التنخّر من النوع التجلطي ، إضافةً إلى حدوث إرتشاح للخلايا الإلتهابية من نوع العدلة حول الوريد المركزي المحتقن ، كذلك حدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم

الخلايا الكبدية ، ويتضح ذلك من خلال تضخم الخلايا الكبدية نتيجة إصابتها بالإستسقاء وذلك لترسب كميات من الماء داخل هذه الخلايا ممّا أدّى إلى إختفاء الجيبانيات بينها (صورة 4-3).



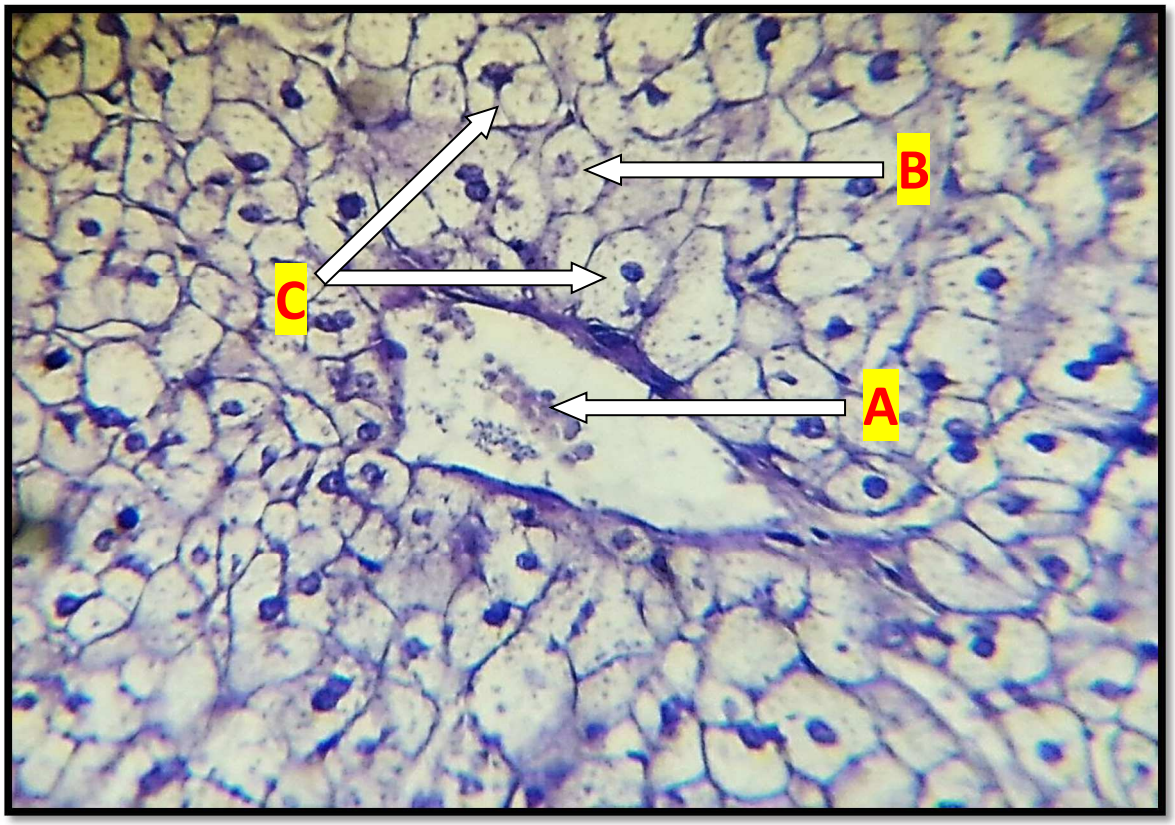
صورة (4-3): مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- إحتقان دموي (Blood Congestion) في الوريد المركزي (Central Vein).
B- تنخُّر متوسط الشدة لبعض الخلايا الكبدية من النوع التجلطي (Coagulative Necrosis).
C- إرتشاح أقل للخلايا الإلتهابية نوع العدلة (Neutrophils) حول الوريد المركزي المحتقن.
D- ظاهرة التفجي (Vacuolization) في سايتوبلازم الخلايا الكبدية.

4.1.5.4 التغيرات النُسجية المرضية لكبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آن واحد:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مع عقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) في آنٍ واحد لمدة 30 يوماً حدوث تغيرات نُسجية مرضية بسيطة تمثلت بوجود إحتقان دموي قليل في الوريد المركزي ، مع وجود تنخّر خفيف لبعض الخلايا الكبدية وهذه الخلايا أقرب للحالة الطبيعية ، كذلك حدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا

الكبدية ، ويتضح ذلك من خلال تضخم الخلايا الكبدية نتيجة إصابتها بالإستسقاء وذلك لترسب كميات من الماء داخل هذه الخلايا ممّا أدّى إلى إختفاء الجيبانيات بينها (صورة 4-4).



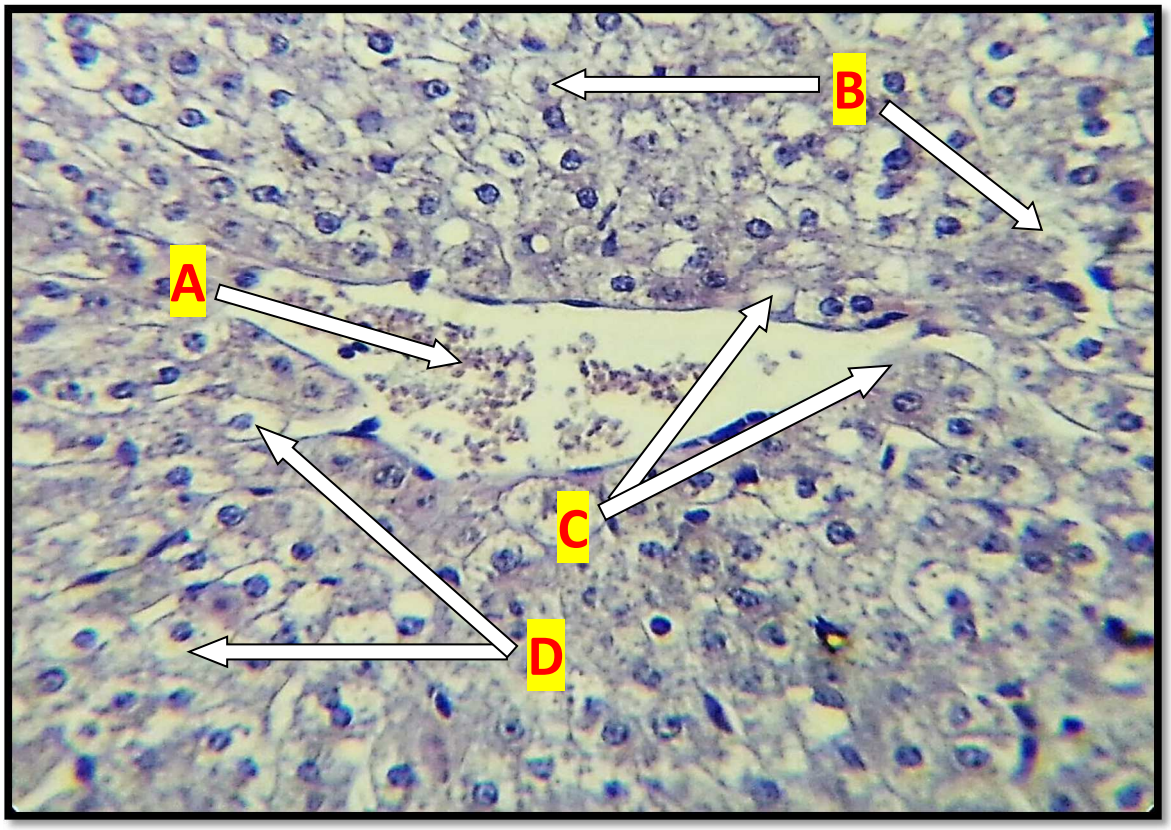
صورة (4-4): مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آنٍ واحد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- إحتقان دموي (Blood Congestion) قليل في الوريد المركزي (Central Vein).
B- تنخُّر (Necrosis) خفيف لبعض الخلايا الكبدية وهذه الخلايا أقرب للحالة الطبيعية.
C- ظاهرة التفجي (Vacuolization) في سايتوبلازم الخلايا الكبدية.

5.1.5.4 التغيرات النُسجية المرضية لكبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوماً بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوماً أيضاً حدوث تغيرات نُسجية مرضية تمثلت بوجود إحتقان دموي في الوريد المركزي ، مع وجود تنخّر قليل الشدة لبعض الخلايا الكبدية وهذه الخلايا قريبة للحالة الطبيعية ، إضافةً إلى حدوث تغيرات تنكُّسية متمثلةً بالتورم الغيمي (Cloudy Swelling) ، كذلك حدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية ،

ويتضح ذلك من خلال التضخم البسيط للخلايا الكبدية نتيجة إصابتها بالإستسقاء وذلك لترسب كميات قليلة من الماء داخل هذه الخلايا ممّا أدّى إلى إختفاء أغلب الجيبانيات بينها (صورة 4-5).



صورة (4-5): مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- إحتقان دموي (Blood Congestion) في الوريد المركزي (Central Vein).
B- تنخُّر (Necrosis) قليل الشدة لبعض الخلايا الكبدية وهذه الخلايا قريبة للحالة الطبيعية.
C- تغيرات تنكُّسية متمثلة بالتورم الغيمي (Cloudy Swelling).
D- ظاهرة التفجي (Vacuolization) في سايتوبلازم الخلايا الكبدية.

إنَّ التغيرات المرضية الحاصلة في نسيج الكبد لذكور الأرانب المحلية والمذكورة أعلاه ، ظهرت بدرجات متفاوتة من ناحية الشدة ، إذ كانت أكثرُها شدةً في حالة التجريع بالعقار (مجموعة السيطرة الموجبة) ، وأقلُّها شدةً في حالة التجريع بالمستخلص النباتي مع العقار في آنٍ واحد (الحالة الوقائية) ، بينما كان هناك تحسُّن نسبي لنسيج الكبد في حالة المعاملة بالمستخلص النباتي بعد التجريع بالعقار (الحالة العلاجية) ، في حين كان التأثر بالعقار المستخدم مُقارب في شدته بالنسبة لحالة المعاملة بالمستخلص النباتي قبل التجريع بالعقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (المعاملة بالعقار).

أمّا تلك التغيرات المرضية الملاحظة في نسيج الكبد مثل حالات الإحتقان الدموي في الوريد المركزي والتنخّر التجلطي للخلايا الكبدية وكذلك إرتشاح الخلايا الإلتهابية من نوع العدلة ، فإنها تحدث بسبب الإجهاد التأكسدي الذي يُسببه العقار المستخدم ، وذلك نتيجة تولد الجذور الحرة ، فهناك عدة إنزيمات مختزلة (Reductase Enzymes) يمكن أن تحفز إختزال عقار السايكلوفوسفومايد إلى مواد أيضية سامة في الخلايا الكبدية ومنها إنزيم NADH Cytochrome-b5 Reductase ، وهو الإنزيم السائد في المايتوكوندريا والقادر على تحويل العقار إلى عامل ألكيلي للحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين (DNA) وتكوين الجذور الأوكسجينية ، فيما تعمل هذه الجذور على تضرّر الأنسجة وباقي الأنظمة الحياتية لجسم الكائن الحي (Holtz *et al.*,2003). فقد توصلت دراسة Al-Rawi,(2007) إلى أنَّ هذا التنخُّر الحاصل للخلايا الكبدية رُبما يحدث بسبب ضعف التجهيز الدموي للكبد نتيجةً لإنسداد شرياني (Arterial Thrombosis Occlusion) ، وكذلك لحصول حالة تخثّر في الشريان الكبدي (Hepatic Artery) ، والذي يُسبب بدوره حدوث نقصٍ في الأوكسجين الواصل لنسيج الكبد (Hypoxia) ، وهذا النقص غالباً ما يُسبب تحرّر إنزيمات الجسيمات الحالّة (Lysosomal Enzymes) ، وكذلك تحرّر مواد إفرازية أخرى (Secretary Products) إلى الدم وهذا ما يُفسِّر حدوث حالات التنخُّر والتلف للخلايا الكبدية (Macsween & Whaley,1992). إنَّ حالات الإحتقان الدموي الحاصلة في الوريد المركزي للكبد قد يُعزى سببها إلى حدوث ضعف في التصريف الدموي نتيجةً لإنسداد وريدي كبدي ، ممّا يتسبب بتوقف أو تعطيل للإنسياب الدموي خلال الخلايا البرنكيمية الكبدية ، وهذا ما أشارت إليه دراسة Al-Rawi,(2007) و Mir *et al.*,(2008) خلال دراستهم لنسيج الكبد.

في حين أنَّ حدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية جاءت كنتيجة لإستعمال عقار السايكلوفوسفومايد ، فقد بيّن Robbins & Angell,(1970) بأنَّ ظهور الفجوات وبوضوح في السايتوبلازم هي إحدى علامات الإستجابة الأولية المهمة للماء الداخل كماءٍ كافٍ متجمع داخل هذه الخلايا ، ممّا يُؤدي إلى تضخم الخلايا وإزاحة أنويتها إلى الجوانب. كما أنَّ تفجي السايتوبلازم من المرجَّح أن يكون سببه حصول تلف (Damage) للخلايا الكبدية ، وهذا يحدث نتيجةً لأسبابٍ مناعية (Immunologic) ، أو نتيجةً للتأثير السُّمي لعقار السايكلوفوسفومايد ، إذ أنَّ الإجهاد التأكسدي الناتج عن تجمع الجذور الحرة في الكبد يُسبب تحطم الخلايا الكبدية ، بالإضافة إلى أكسدة الدهون (Lipids Peroxidation) المتواجدة ضمن غشاء الخلية أو أغشية المايتوكوندريا ، ممّا يُسبب ظهور الإستجابة الإلتهابية والمناعية (Majumdar *et al.*,2008).

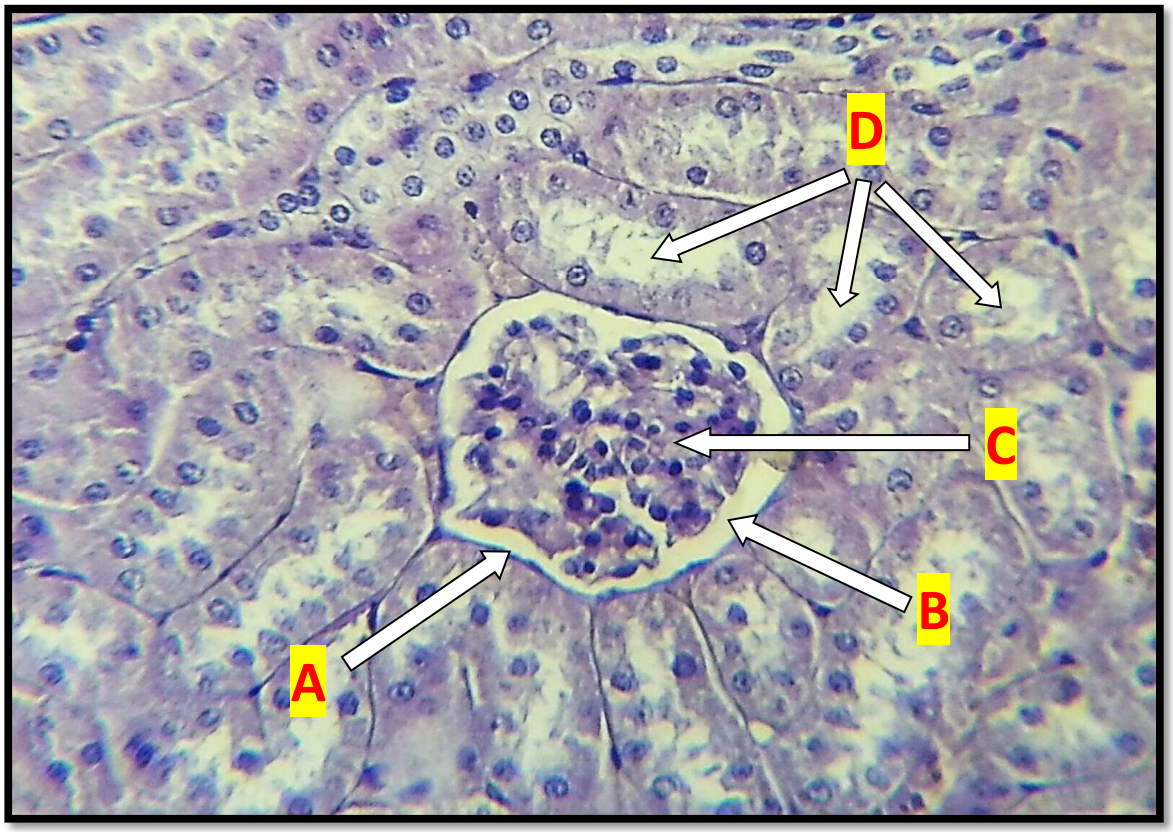
إنَّ التحسُّن المُلاحظ في أنسجة الكبد جرّاء التجريع بالمستخلص النباتي قيد الدراسة ، يُثبت كفاءة المستخلص في حماية هذه الأنسجة من التغيرات المرضية الناجمة جرّاء التجريع بالعقار، وخاصةً تلك التغيرات المتسببة عن الجهد التأكسدي ، فقد أثبت Hamza,(2007) في دراسة أجراها على نبات عرق السوس ، بأنَّ إستخدام هذا النبات قلّل من تنخُّر أنسجة الكبد الحاصل بسبب الجهد التأكسدي المُستحث في الجرذان. وعليهِ ، فإنَّ الدراسة الحالية تُثبت أنَّ المستخلص يمتلك خواص مُضادة للأكسدة ، كما أنَّ للمركبات الفعّالة المتواجدة في مستخلص الثوم وخاصةً الفلافونيدات ، لها دورٌ مهم في حماية أنسجة الكبد من تأثيرات المركبات الكيميائية السّامة كرباعي كلوريد الكربون (CCl_4) والأفلاتوكسينات (Jeong *et al.*,2002) ، كما قد أشار Lee *et al.*,(2007) إلى ذلك من خلال تجريع الجرذان فموياً بالمستخلص المائي لنبات عرق السوس (تركيز 50 و 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) كجرعة علاجية ولمدة ثلاثة أيام متتالية ، إذ كانت الجرذان هنا مُحدث فيها تسمم كبدي بواسطة الكادميوم ، فقد أدّى ذلك إلى تقليل الإحتقان الدموي والتنخُّر الكبدي ، مؤكدين بذلك الدور العلاجي لنبات عرق السوس وأمثاله من النباتات ، وذلك لإحتوائه على مادة الفلافونيدات الفعّالة (الموجودة في مستخلص الثوم أيضاً) ومن ضمنها Liquiritigenin ، بالإضافة لوجود الكليسيرايزين والذي يمتلك تأثيراً وقائياً وعلاجياً لنسيج الكبد. جاءت هذه النتائج مُتفقةً (من حيث المبدأ) مع ما توصلت إليه دراسة Dashti & Morshedi,(2009) ، والتي بيّنت بأنَّ وجود مسحوق نبات القرنفل (الحاوي على أغلب المركبات الفعّالة كيميائياً والمتواجدة أيضاً في مستخلص نبات الثوم قيد الدراسة) في طعام الفئران المعاملة برباعي كلوريد الكاربون (CCl_4) ، قد قلَّل من التغيرات المرضية الحاصلة لأنسجة الكبد وأعادها تدريجياً إلى الحالة الطبيعية. إنَّ وجود مادة الفلافونيدات في المستخلص المائي للثوم قد يكون السبب وراء التحسُّن التدريجي لنسيج الكبد في حالة التجريع بهذا المستخلص ، إذ تُعد الفلافونيدات من مضادات الأكسدة المهمة والتي تكون بمثابة آلية الحماية الوقائية للكبد من التأثيرات السّامة للعقار المُستخدم ، فبوساطة هذه المواد الفعّالة كيميائياً يتم إكتساح الجذور الحرة المتكونة بفعل العقار، وبذلك يتم حماية الكبد من خلال إصلاح الأضرار التي لحقت به ، وبالتالي يعود الكبد من جديد لأداء وظائفه الحيوية المهمة (Wenger & Fintelman,1999).

2.5.4 نسيج الكلية: The Kidney's Tissue

1.2.5.4 مجموعة السيطرة السالبة لنسيج كلية ذكور الأرانب المحلية الطبيعية:

أوضحت نتائج الفحص المجهري لنسيج كلية ذكور الأرانب المحلية الطبيعية وجود الكبيبة الكلوية (Glomeruli) ، والمتكونة من: محفظة بومان (Bowman Capsule) وفسحة بومان

(Bowman Space) مع مجموعة من الشعيرات الدموية (Blood Capillaries) في المركز، كذلك وجود عدد كبير من النبيبات الملتوية (Convoluted Tubules) والمتناثرة بشكلٍ ملحوظ حول الكبيبة الكلوية ، وقد إمتازت الكبيبة وكذلك النبيبات بأشكالها الطبيعية (صورة 4-6).



صورة (4-6): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي طبيعي (السيطرة السالبة) (400X) (صبغة H.&E.) يتضح فيه ما يأتي:

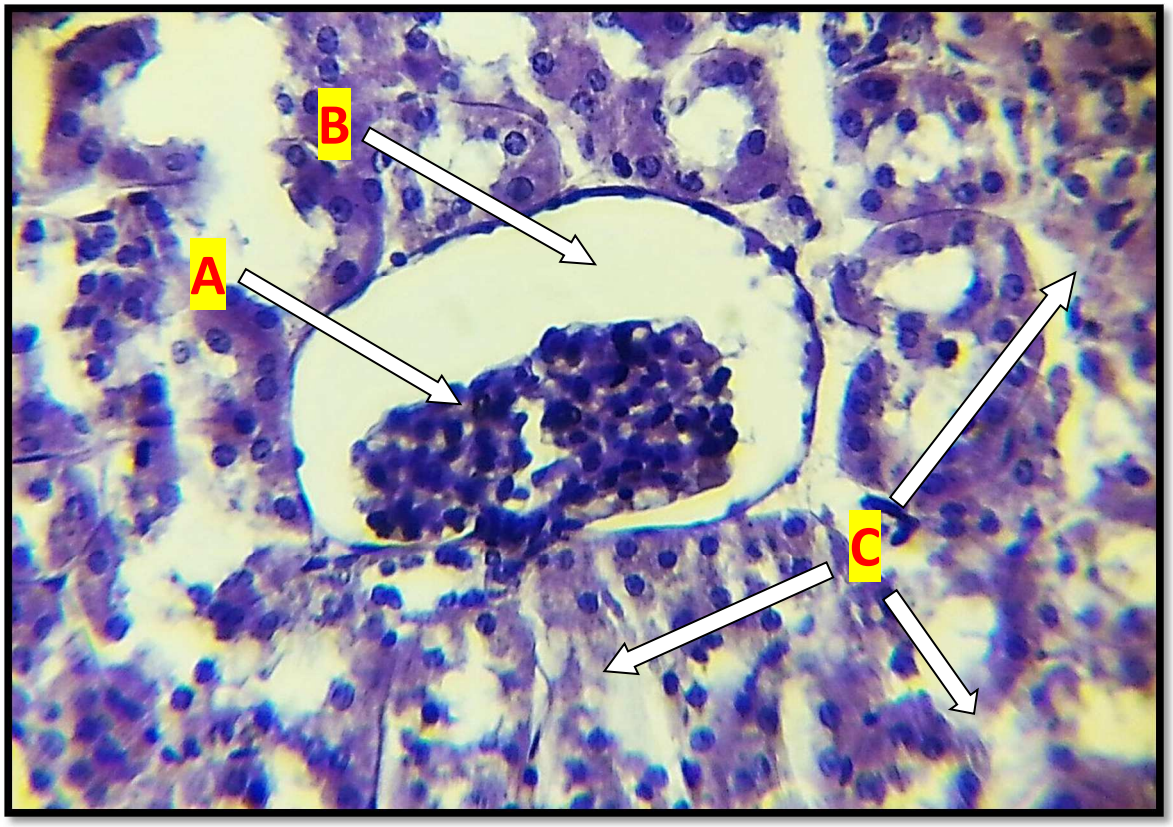
A- محفظة بومان (Bowman Capsule).
B- فسحة بومان (Bowman Space).
C- مجموعة من الشعيرات الدموية (Blood Capillaries).
D- النبيبات الملتوية (Convoluted Tubules).

2.2.5.4 مجموعة السيطرة الموجبة لنسيج كلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوماً بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (الطبيعية) حدوث تغيرات نُسجية مرضية واضحة تمثلت بحصول ضُمور للشعيرات الدموية داخل الكبيبة الكلوية ممّا أدّى إلى كبر حجم فسحة بومان ، كذلك وجود حالة تنخّر شديد لعددٍ من خلايا النبيبات الملتوية (Cells of Convoluted Tubules) (صورة 4-7أ).

فيما أوضحت الصورة (4-7ب) وجود إحتقان دموي شديد للأوعية الدموية (الشرين الكلوي Renal Arteriole).

في حين بيّنت الصورة (4-7ج) وجود تغيرات تنكُّسية متمثلةً بحدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية (Cells of Renal Tubules) ، ويتضح ذلك من خلال تضخم هذه الخلايا نتيجة إصابتها بالإستسقاء ، وذلك لترسب كميات من الماء داخل هذه الخلايا ، ممّا أدّى إلى إزاحة الأنوية إلى الجوانب.

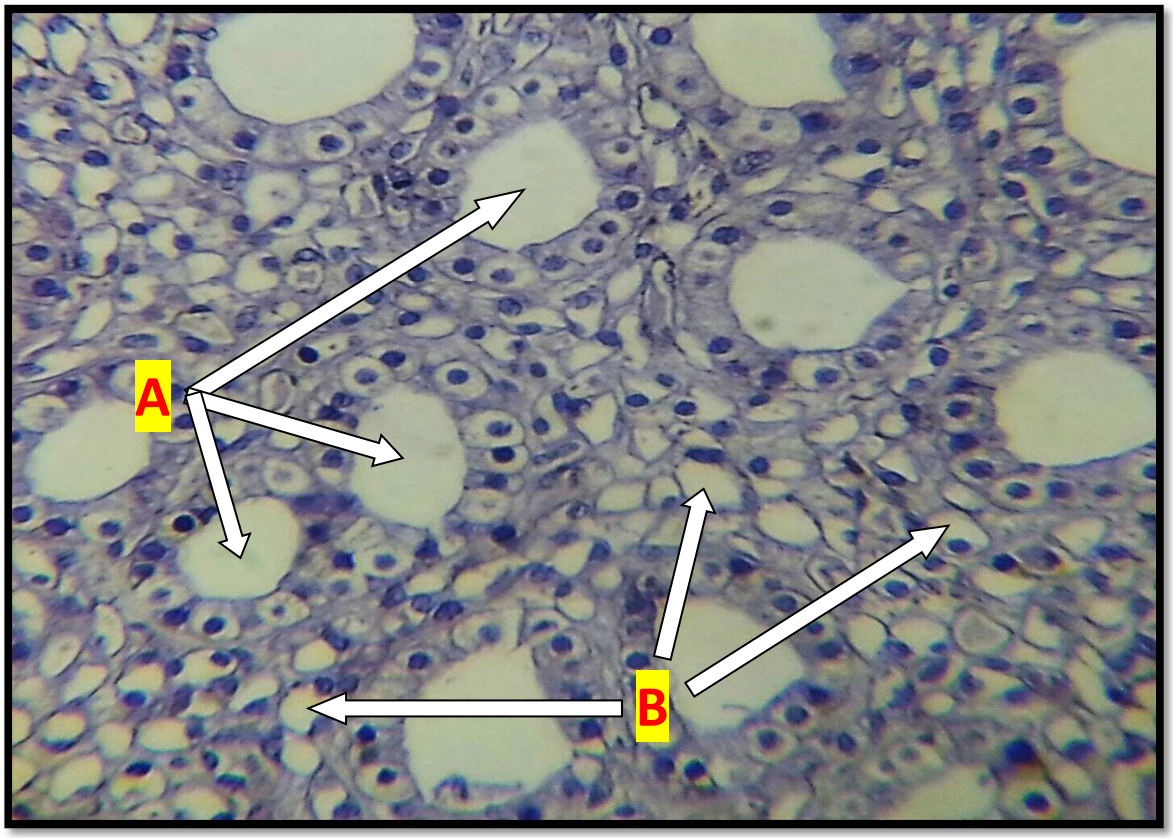


صورة (4-7أ): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بعقار السايكلوفوسفومايد (السيطرة الموجبة) (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- الشعيرات الدموية (Blood Capillaries) تعاني حالة ضمور داخل الكبيبة الكلوية (Glomeruli).
B- فسحة بومان (Bowman Space) كبيرة الحجم.
C- تنخُّر (Necrosis) شديد لخلايا النبيبات الملتوية (Cells of Convoluted Tubules).

صورة (4-7ب): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بعقار السايكلوفوسفومايد (السيطرة الموجبة) (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- إحتقان دموي (Blood Congestion) شديد للشرين الكلوي (Renal Arteriole).
B- تجويف الشرين الكلوي (Lumen of Renal Arteriole).



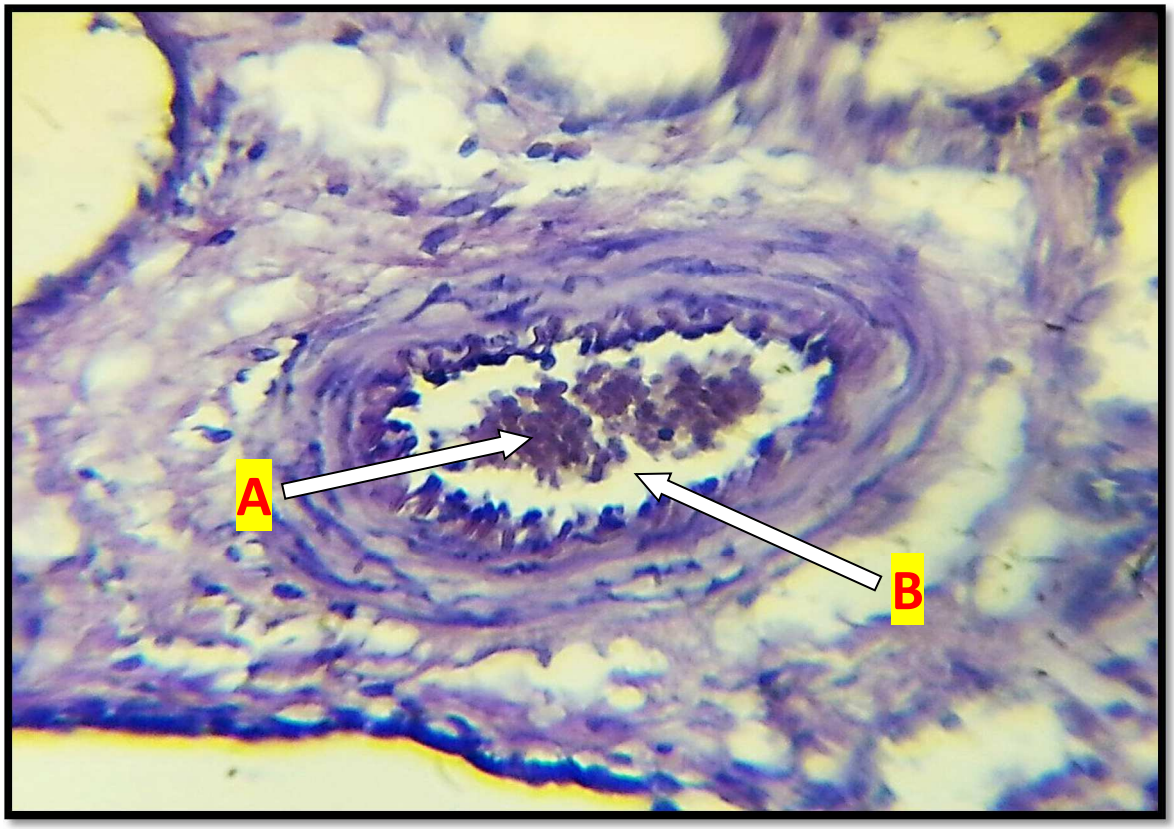
صورة (4-7ج): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بعقار السايكلوفوسفومايد (السيطرة الموجبة) (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- تجاويف النبيبات الكلوية (Lumens of Renal Tubules).
B- تغيرات تنكُّسية متمثلة بتفجي سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية (Cells of Renal Tubules).

3.2.5.4 التغيرات النُسجية المرضية لكلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوماً قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوماً أخرى حدوث تغيرات نُسجية مرضية تمثلت بوجود إحتقان دموي للأوعية الدموية (الشرين الكلوي) (صورة 4-8أ).

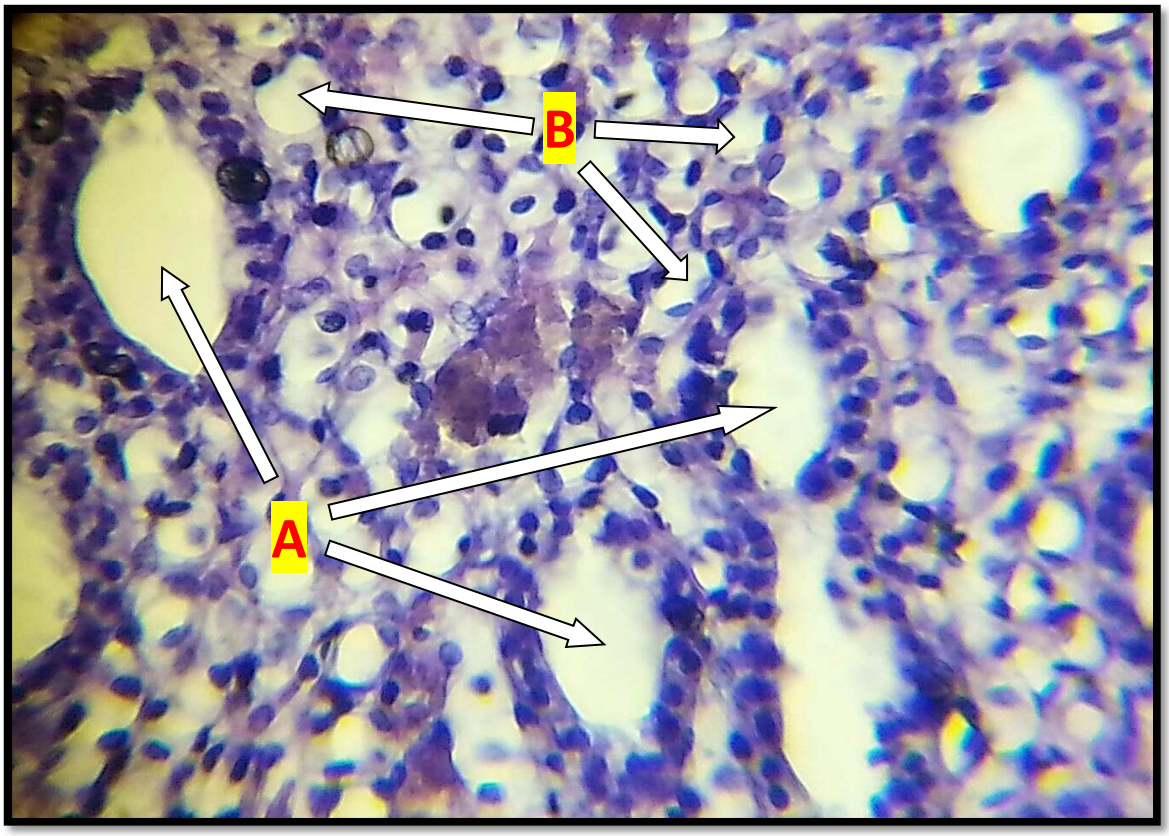
فيما أوضحت الصورة (4-8ب) وجود تغيرات تنكُّسية متمثلةً بحدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية.



صورة (4-8أ): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- إحتقان دموي (Blood Congestion) للشرين الكلوي (Renal Arteriole).

B- تجويف الشرين الكلوي (Lumen of Renal Arteriole).



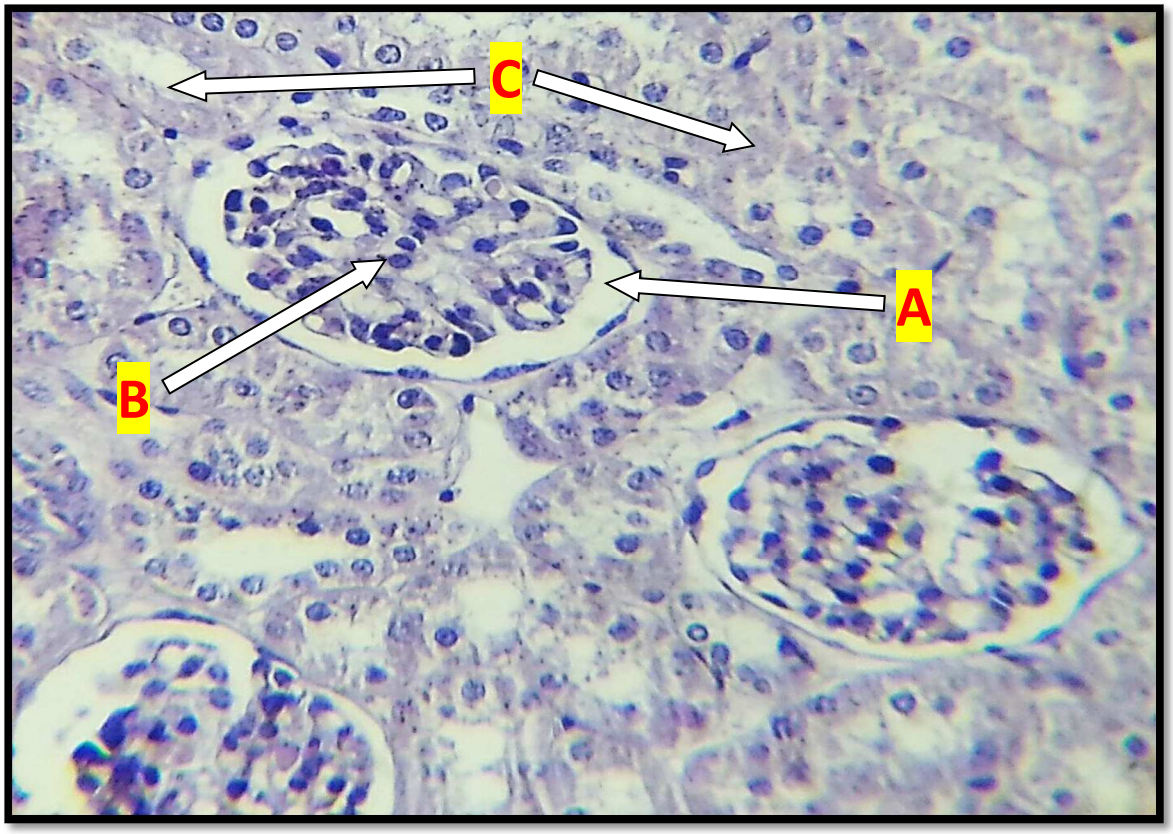
صورة (4-8ب): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- تجاويف النبيبات الكلوية (Lumens of Renal Tubules).
B- تغيرات تنكُّسية متمثلة بتفجي سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية (Cells of Renal Tubules).

4.2.5.4 التغيرات النُسجية المرضية لكلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آن واحد:

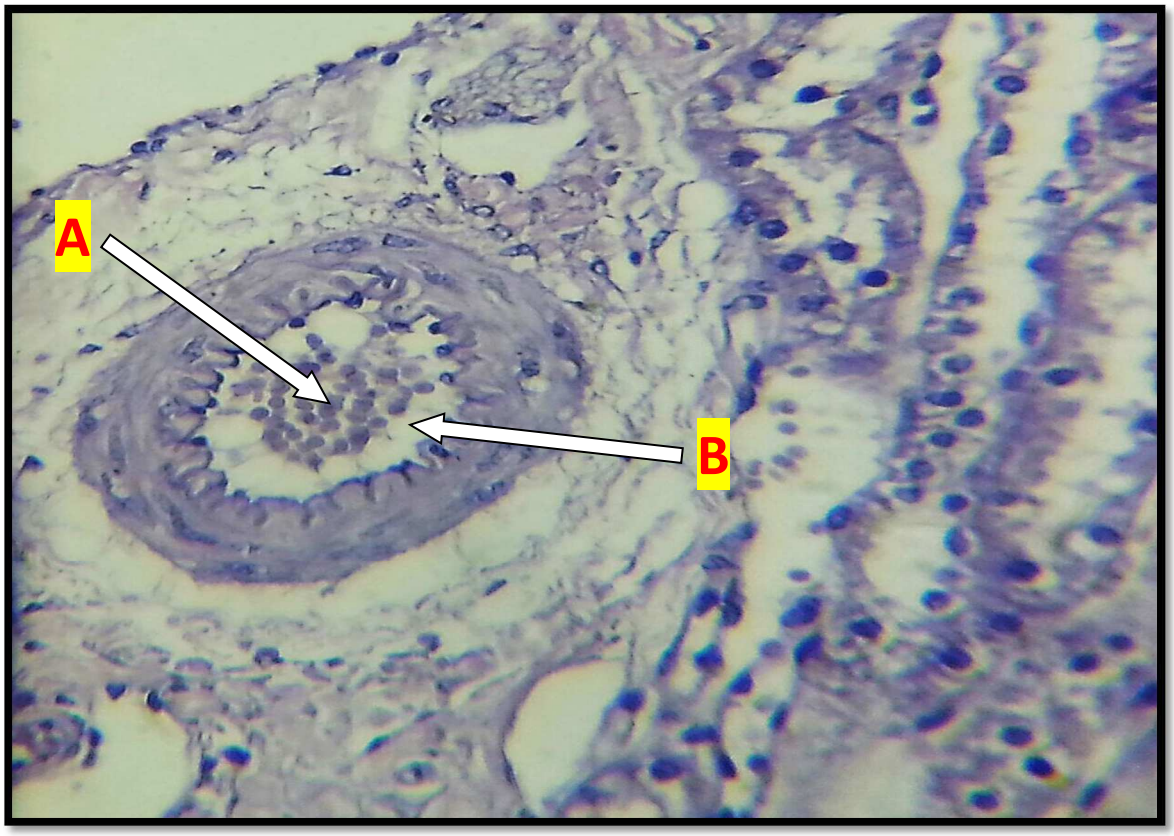
أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مع عقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) في آنٍ واحد لمدة 30 يوماً حدوث تغيرات نُسجية مرضية بسيطة تمثلت بوجود تنخُّر لبعض خلايا النبيبات الملتوية ، بينما كانت الكبيبة الكلوية بما فيها من فسحة بومان والشعيرات الدموية أقرب إلى الحالة الطبيعية (صورة 4-9أ).

فيما أوضحت الصورة (4-9ب) وجود حالة إحتقان دموي قليل للأوعية الدموية (الشرين الكلوي).



صورة (4-9أ): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آنٍ واحد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- فسحة بومان (Bowman Space) أقرب إلى الحالة الطبيعية.
B- الشعيرات الدموية (Blood Capillaries) أقرب إلى الحالة الطبيعية.
C- تنخُّر (Necrosis) لبعض خلايا النبيبات الملتوية (Cells of Convoluted Tubules).



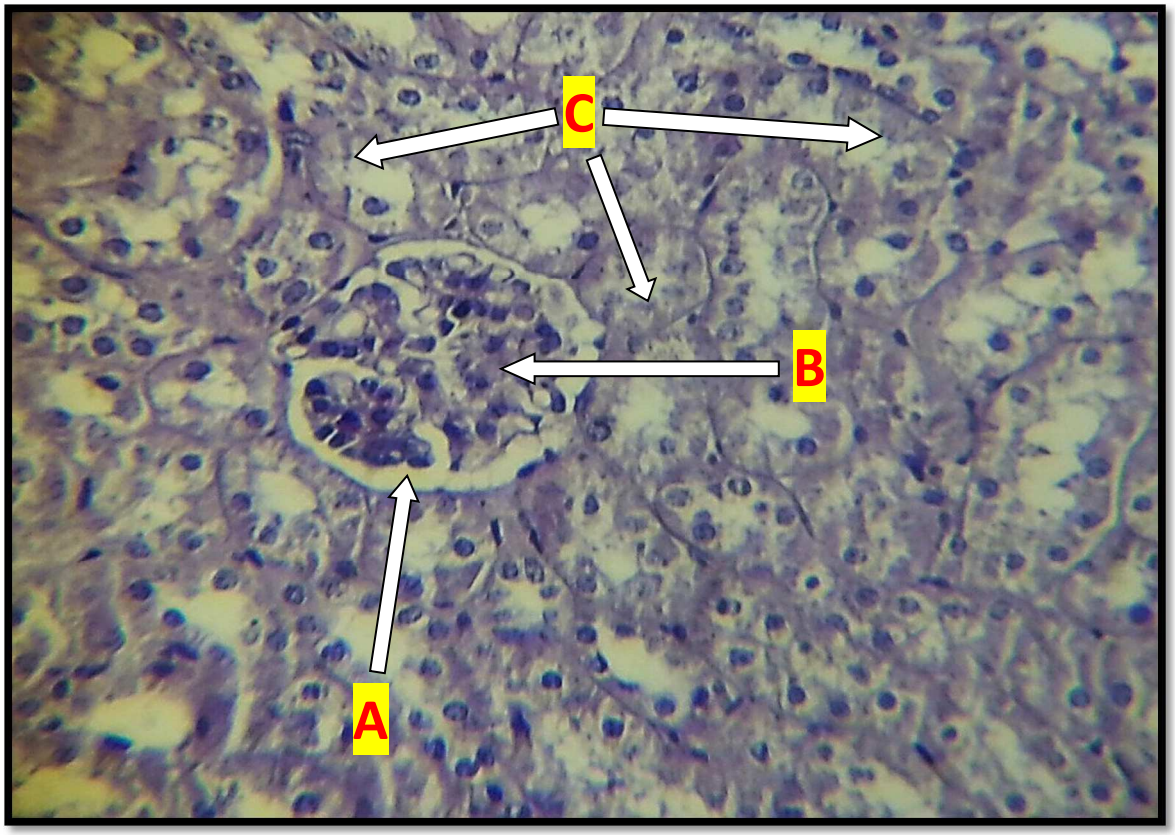
صورة (4-9ب): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آنٍ واحد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- إحتقان دموي (Blood Congestion) قليل للشرين الكلوي (Renal Arteriole).
B- تجويف الشرين الكلوي (Lumen of Renal Arteriole).

5.2.5.4 التغيرات النُسجية المرضية لكلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كلية ذكور الأرانب المحلية المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوماً بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوماً أيضاً حدوث تغيرات نُسجية مرضية تمثلت بوجود تنخُّر لعدد من خلايا النبيبات الملتوية ، بينما كانت الكبيبة الكلوية بما فيها من فسحة بومان والشعيرات الدموية قريبة للحالة الطبيعية (صورة 4-10أ).

فيما أوضحت الصورة (4-10ب) وجود إحتقان دموي للأوعية الدموية (الشرين الكلوي).

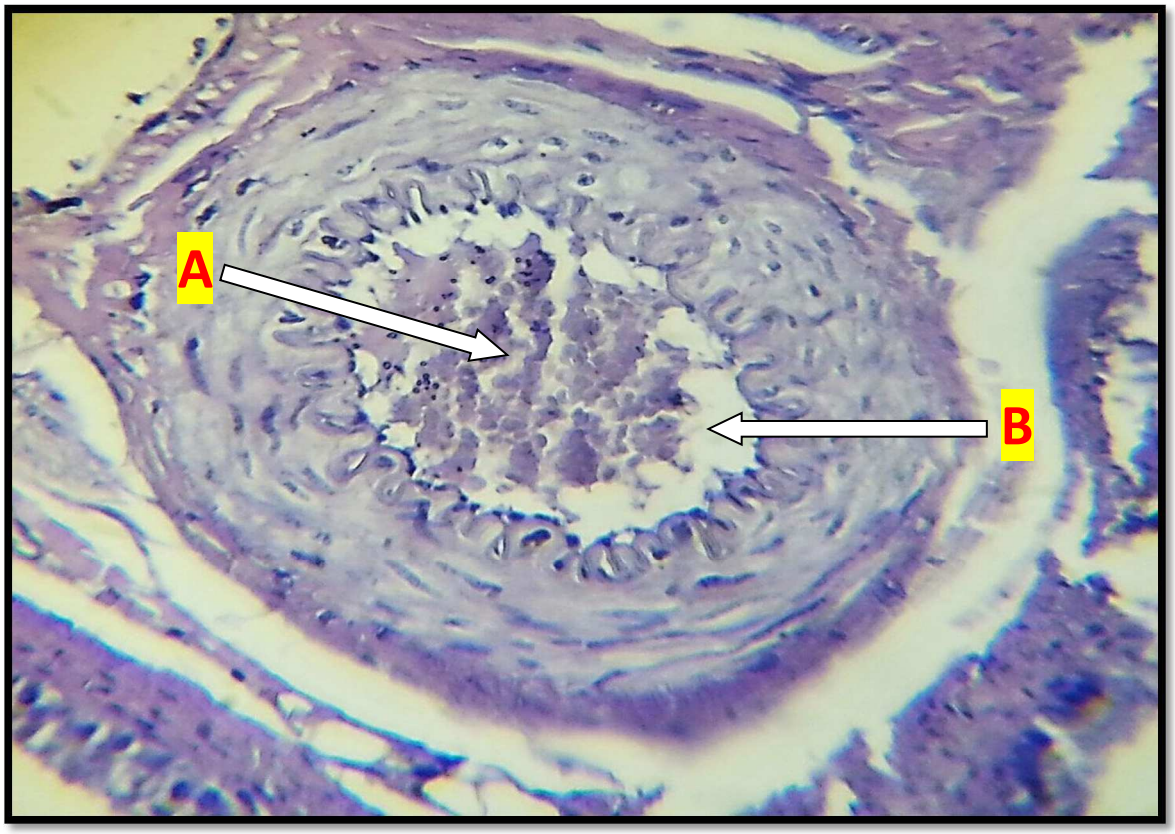


صورة (4-10أ): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- فسحة بومان (Bowman Space) قريبة للحالة الطبيعية.

B- الشعيرات الدموية (Blood Capillaries) قريبة للحالة الطبيعية.

C- تنخُّر (Necrosis) لعدد من خلايا النبيبات الملتوية (Cells of Convoluted Tubules).



صورة (4-10ب): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب محلي معامل بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه ما يأتي:

A- إحتقان دموي (Blood Congestion) للشرين الكلوي (Renal Arteriole).
B- تجويف الشرين الكلوي (Lumen of Renal Arteriole).

إنَّ التغيرات المرضية الحاصلة في أنسجة الكلى لذكور الأرانب المحلية والمذكورة أعلاه ، ظهرت أيضاً بدرجات متفاوتة من ناحية الشدة ، وبتأثيرات مشابهة في شدتها (فيما يخص الحالات المدروسة) للتغيرات المرضية الملاحظة في نسيج الكبد سابق الذكر، إذ كانت هذه التغيرات أكثرُها شدةً في حالة التجريع بالعقار (مجموعة السيطرة الموجبة) ، وأقلُّها شدةً في حالة التجريع بالمستخلص النباتي مع العقار في آنٍ واحد (الحالة الوقائية) ، بينما كان هناك تحسُّن نسبي لأنسجة الكلى في حالة المعاملة بالمستخلص النباتي بعد التجريع بالعقار(الحالة العلاجية) ، في حين كان التأثر بالعقار المستخدم مُقارب في شدته بالنسبة لحالة المعاملة بالمستخلص النباتي قبل التجريع بالعقار مقارنةً بمجموعة السيطرة الموجبة (المعاملة بالعقار).

أمّا تلك التغيرات المرضية الملاحظة في أنسجة الكلى مثل حالات الضُّمور الواضح للشعيرات الدموية والتنخُّر لخلايا النبيبات الملتوية وكذلك حالات الإحتقان للشرينات الكلوية مع حدوث تغيرات

تنكُّسية متمثلةً بظاهرة التفجي في سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية ، فإنها تحدث نتيجة التأثيرات المباشرة والسّامة لعقار السايكلوفوسفومايد المُستخدم ، وهذا يتفق مع ما أشار إليه (1982),Schilsky والذي أكَّد بأنَّ العقار(قيد الدراسة الحالية) له تأثير مباشر على النبيبات الكلوية الملتوية القريبة والبعيدة وكذلك الأنابيب الجامعة للبول. من جهةٍ أخرى ، فإنَّ تحرير حامض اليوريك بكميات كبيرة من الممكن أن يُؤدي إلى حصول خلل في وظيفة الكلى ، وذلك لترسب بلورات هذا الحامض في النبيبات الكلوية المختلفة ، وهذا ما أوضحه (1989),Barton. لقد تم وصف التأثيرات السُّمية الحاصلة للكلى من قبل المختصين بالعلاج الكيمياوي ، والذين إعتقدوا بأنَّ سبب حدوث هذا التسمم للكلى قد يكون راجعاً إلى إستعمال الأدوية الكيمياوية (عقار السايكلوفوسفومايد واحداً منها) الخاصة بالأورام السرطانية ، إذ وجد بأنَّ الجرع الكيمياوية المحددة للمرضى المصابين بالسرطان غالباً ما تُسبب سُّمية كلوية وفشل كلوي وتنخّر كلوي أنبوبي (Thigpen,1990).

إنَّ التحسُّن المُلاحظ في أنسجة الكلى جرّاء التجريع بالمستخلص النباتي قيد الدراسة ، يُثبت كفاءة هذا المستخلص في حماية أنسجة الكلى من التغيرات المرضية المتسببة عن التجريع بالعقار، لكن هذا التحسُّن كان تحسناً طفيفاً ، وقد يُعزى سبب ذلك إلى أنَّ الكلية تُعد العضو المهم في تخليص الجسم من المواد السّامة الناتجة عن الفعاليات الأيضية لجسم الكائن الحي ، وكذلك فهي حساسة جداً للعوامل السّامة والتي تُسبب تلفاً كبيراً في القشرة (Cortex) (تحديدا محافظ بومان والنبيبات الكلوية الملتوية) واللُّب (Medulla) (تحديداً عروات هنلي والنبيبات الكلوية الجامعة) ، أو قد تُسبب أضراراً كلويةً أخرى ، وهذا ما أشار إليه (1989),Herber *et al.* في دراستهم للتأثر المبكر للكلية عند التعرض للمعادن الثقيلة المتواجدة في البيئة. أمّا (1981),Pistacor *et al.* فقد أشاروا إلى أنَّ المناطق النُسجية الأكثر تأثراً في الكلية هي القشرة ، إذ تُعد قشرة الكلية إحدى المواقع الحساسة فيها ، وأنَّ أول خلل ممكن أن يحدث للكلية يتمركز بالتحديد في النبيبات الكلوية القريبة من القشرة.

الإستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommendations

- **الإستنتاجات: Conclusions**

1. المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد لها تأثيرات واضحة على الخصائص السلوكية والمظهرية ، بالإضافة لتأثيرها على أوزان الجسم والأعضاء (الكبد والكلى) لذكور الأرانب المحلية.

2. تجريع ذكور الأرانب المحلية بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوماً ، أدّى إلى حدوث تغيرات في مستويات بعض المعايير الدموية المدروسة مثل: عدد كريات الدم الحمر (R.B.Cs) وعدد خلايا الدم البيض (W.B.Cs) وحجم خلايا الدم المضغوطة (P.C.V) ومستوى الهيموغلوبين (.Hb).

3. تجريع ذكور الأرانب المحلية بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوماً ، أدّى إلى حدوث تغيرات في مستويات عدد من المعايير الكيموحيوية المدروسة مثل: فعّالية إنزيمات الكبد (ALT وAST وALP) ومستوى البيليروبين الكلي (.T.Bil) ومستوى الكوليستيرول الكلي (.T.C) ومستوى بروتين الألبومين (Albumin) ومستوى اليوريا (Urea) ومستوى الكرياتنين (Creatinine).

4. تجريع ذكور الأرانب المحلية بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوماً ، أدّى إلى حدوث تغيرات نُسجية مرضية واضحة في الكبد والكلى لهذه الحيوانات.

5. إنَّ تجريع ذكور الأرانب المحلية بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مدة 30 يوماً ولثلاثة تداخلات (قبل ومع وبعد العقار) لهُ فعّالية جيدة في التقليل من التأثيرات السُمية للعقار المُستخدم ، إذ تبيّن أنَّ التجريع بالمستخلص مع العقار كانت له الفعّالية الأقوى ، بينما كان التجريع بالمستخلص بعد العقار أقل فعّالية من السابق ، في حين أنَّ التجريع بالمستخلص قبل العقار كان لهُ فعّالية ضعيفة في التقليل من تأثيرات عقار السايكلوفوسفومايد فيما يخص المعايير الفسيولوجية والنُسجية المدروسة.

- **التوصيات: Recommendations**

1. إستعمال مستخلص نبات الثوم لخفض تراكيز إنزيمات الكبد وكذلك خفض كميات اليوريا والكرياتنين في دم الحيوانات اللّبونة ، وذلك لما لهُ من دورٍ كبير ومهم في إصلاح أنسجة الكبد والكلى المصابة جرّاء إستعمال الأدوية الكيمياوية المُعالِجة لمرض السرطان.

2. إجراء دراسات لبيان تأثير عقار السايكلوفوسفومايد في أنسجة كل من القلب والرئتين للأرانب المحلية.

3. إجراء دراسات وراثية خلوية بإستخدام التقنيات الحديثة كتقنية PCR وغيرها ، لمعرفة التغيرات الوراثية من الطفرات والتشوهات (للخلايا الجسمية والجنسية) الناجمة عن إستخدام عقار السايكلوفوسفومايد في الأرانب المحلية.

4. إجراء دراسات هرمونية لمعرفة تأثيرات عقار السايكلوفوسفومايد على مستويات الهرمونات المختلفة والغدد الفارزة لها في حالة الأرانب المحلية وغيرها من الحيوانات الثديّة.

5. دراسة فعّالية مستخلص نبات الثوم تجاه أنواع أخرى من العقاقير الكيمياوية ، وكذلك دراسة فعّالية مستخلصات أنواع أخرى من النباتات تجاه عقار السايكلوفوسفومايد الكيمياوي.

المصادر

References

- **المصادر العربية:**

اكبر زادة ، مرتضى (2008). موسوعة الأعشاب والنباتات. مؤسسة الأعلمي للمطبوعات. بيروت. لبنان. ص. 310-311.

الإسماعيل ، وفيق ناصر حسن (2009). عزل وتشخيص بعض المركبات الفعالة من النبات الطبي عنب الذيب *Solanum nigrum* ودراسة تأثيرها في بعض الأعضاء الحيوية للجرذان المختبرية *Rattus noruigicus*. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة البصرة. البصرة. العراق.

الجبوري ، علي عواد (1994). علم الأدوية الطبيعية. كلية الصيدلة. جامعة بغداد. بغداد. العراق.

الدوري ، أنس ياسين محمود (2004). تأثير عدد من المستخلصات النباتية في مستوى سكر الدم وعدد من الجوانب الكيميائية الحياتية ومكونات الدم في الأرانب المحلية السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة تكريت. صلاح الدين. العراق. ص.87.

الربيعي ، عباس حسين مغير (2001). دراسة تأثير مستخلصات الثوم في تثبيط الأثر التطفيري لعقار السايكلوفوسفومايد في الفئران البيضاء *Mus musculus*. كلية التربية الأساسية. جامعة بابل. بابل. العراق. مجلة جامعة بابل. 6(3):747-754.

الساهوكي ، مدحت و وهيب ، كريمة محمد (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. مطبعة جامعة بغداد. بغداد. العراق.

الشحات ، نصر أبو زيد (1986). النباتات والأعشاب الطبية. دار البحار. بيروت. لبنان.

حسن ، أحمد عبد المنعم (1994). إنتاج خضر المواسم المعتدلة والباردة في الأراضي الصحراوية. سلسلة العلوم والممارسة لإنتاج الخضر في الأراضي الصحراوية. الطبعة الأولى. الدار العربية للنشر والتوزيع.

دلالي ، باسل كامل والحكيم ، صادق حسن (1987). تحليل الأغذية. مطبعة دار الكتب. جامعة الموصل. الموصل. العراق.

سعد الدين ، آية جلال و عبد الناصر ، إيمان محمد (2014). الثوم وفوائده الصحية. معهد بحوث صحة الحيوان. مجلة أسيوط للدراسات البيئية. جمهورية مصر العربية. العدد الأربعون.

سعد ، شكري إبراهيم ؛ القاضي ، عبد الله ؛ صالح ، عبد الكريم محمد و خلف الله ، عبد العزيز محمد (1988). النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي. جامعة الدول العربية للتنمية الزراعية.

طه ، الآء جبار (1995). تأثير التسميد البوتاسي والكالسيوم ودرجات الحرارة في تحسين القابلية الخزنية للثوم. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. بغداد. العراق.

عبد ، مطاع عبد المطلب و الحصري ، نبيل أحمد جرجيس (2006). تأثير الكزبرة على مستويات الكلوكوز والشحوم في الجرذان السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالألوكسان. المؤتمر العلمي الرابع. كلية الطب البيطري. جامعة الموصل. الموصل. العراق.

عداي ، محيسن حسن و حنا ، فؤاد شمعون (1987). علم الفسلجة. الجزء الثاني. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. الموصل. العراق. (مترجم). ص.346.

قبيعة ، محمد جمال (2011). النباتات الطبية. الطبعة الأولى. دار الراتب الجامعية. بيروت. لبنان.

قطب ، فوزي طه (1981). النباتات الطبية ، زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر. الرياض. المملكة العربية السعودية.

محمد ، إسماعيل حسن (1998). تأثير الأنسولين والباراسيتامول والأوكسي تتراسايكليين على بعض الجوانب الكيميائية الحياتية في الجرذان السليمة والمصابة بالسكري المحدث بالألوكسان. رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري. جامعة الموصل. الموصل. العراق.

- **المصادر الأجنبية:**

"How to Store Fresh Garlic: 12 Steps". **wikiHow**. March 18, 2011. Retrieved February 28, **(2014)**.

"Major Food And Agricultural Commodities And Producers-Countries By Commodity". **FAO**. Org. Retrieved Jan 24, **(2015)**.

"Major Food And Agricultural Commodities And Producers – Countries By Commodity". **FAO**. Org. **(2012)**.

"The Culture of the Cloves". **New York Times**. September 29, **(2010)**. Retrieved October 5, 2010. You sow it in fall, not spring. The plant often forms strange curling stalks, or 'scapes', with odd nodules called umbels. These rococo growths contain their own mini cloves called bulbils.

Abdel-Rahman, M. K. & Abd El-Megeid, A. A. (2006). Hepato-protective effect of soapworts (*Saponaria officinalis*). Pomegranate peel (*Punica granatum*) and cloves (*Syzygium aromaticum*) on mice with CCl_4 hepatic intoxication. World. J. Chem. 1(1):41-46.

Abdel-Wahhab, M. A. & Aly, S. E. (2005). Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. J. Appl. Toxicol., 25:218-23.

Ackerblom, L. ; Ehrenberg, A. ; Grasi, U. A. ; Lankinen, H. ; Reichard, P. & Lander, L. (1986). Overproductoin of the free radicals of ribo-nucleotide reductase in hydroxyl Urea-resi Stant of mouse fibroblast. Proc. Nat. Acad. Sci. USA pp.21-59.

Adaramoye, O. A. ; Osaimoje, D. O. ; Akinsanya, M. A. ; Nneji, C. M. ; Fafunso, M. A. ; Ademowo, O. G. (2008). Changes in antioxidant status and biochemical indices after acute administration of artemether, artemether-lumefantrine and halofantrine in rats. Authors. J. Compilation: Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 102:412-418.

Adedays, O. ; Anderson, W. ; Moo-young, M. ; Sneickus, V. ; Patil, P. & Kolawole, D. (2001). Phytochemical and antibacterial activity of *Senna alata* flower. Pharmacist. Biol. 39:1-5.

Akkasilpa, S. ; Avihingsanon, Y. ; Hanvivadhanakul, P. & Wonchinsri, J. (2004). Clinical manifestations of patients with hyperuricemia. J. Med. Assoc. Thai. 87(Suppl.2):S41-4.

Allain, (1974). Measurement of cholesterol.Clin.Chem. 20:470-475.

Al-Rawi, M. M. (2007). Effect of Trifoliumsp. Flowers extracts on the Status of Liver Histology of Streptozotocin-induced Diabetic Rats. Saudi. J. Biol. Sci. 14(1):21-28.

AL-Wabel, N. A. ; Mousa, H. M. ; Omer, O. H. & Abdel-Salam, A. M. (2008). Biological evaluation of aqueous herbal extracts and stirred yoghurt fillrate mixture against alloxan-induced oxidative stress and diabetes in rats. Int. J. Pharmacol. 98:1-5.

Anderson, S. (2002). Alkylating agents Adopted from Medicinal-chemistry topics Anti-cancer alkylating-agents Can. Res.

Ankri, S. & Mirelman, D. (1999). Antimicrobial Properties of Allicin from Garlic. Microbes Infect. 2:125-129.

Anton, E. (1997). Ultrastructural changes of stromal cells of bone marrow and liver after cyclophosphamide treatment in mice. Tissue cell. 29:1-19.

Anwar, A. ; Groom, M. & Sadler-Bridge, D. (2009). "Garlic: from nature's ancient food to nematicide" (PDF). Pesticide News 84(June): 18-20.

Arrick, B. A. & Nathan, C. F. (1974).Cancer Res. 44:422.

Barton, J. C. (1989). Tumor lysis syndrome in nonhematopoietic neoplasms. Cancer. 64:738.

Baruchin, A. M. ; Sagi, A. ; Yoffe, B. & Ronen, M. (2001). "Garlic burns". Burns. 27(7):781-2.

Belfield, A. & Golderg, G. M. (1971). Revised assay for serum phenyl phosphatase activity using 4-amino-antipyrine-Enzyme.12:561-573.

Bennett, J. C. & plum, F. (1996). Textbook of Medicine. 20th Ed., 1, W. B. Saunders company Philadelphia. P. 610.

Ben-Yehuda, D. ; Krichersky, S. & Caspi, O. (1996). Microsatellite instability and P53 mutations in therapy related leukemia suggest mutator phenotype. Blood. 88:4296-4303.

Berkman, G. (1989). Basic and clinical pharmacology 5th ed. Hall Inc. London.

Bin-Hafeez, B. ; Haque, R. ; Parvez, S. ; Pandey, S. ; Sayeed, I. & Raisuddin, S. (2003). Immunomodulatory effects of fenugreek (*Trigonella foenum graesum*) extract in mice. Int. Immunopharmacol. 3(2):257-65.

Block, E. (2010). Garlic and Other Alliums: The Lore and the Science. Royal Society of Chemistry.

Boesen, E. & Davis, W. (1969).Cytotoxic drugs in the treatment of cancer. London. pp. 234-19.

Borrelli, F. ; Capasso, R. & Izzo, A. A. (2007). "Garlic (Allium sativum). adverse effects and drug interactions in humans". Mol. Nutri. Food Res. 51(11):1386-97.

Botnick, L. E. ; Hannon, E. C. & Hellman, S. (1976). Limited proliferation of stem cells surviving alkylating agents. Nature. 262:68-70.

Braunwald, K. ; Fauci, H. ; Kasper, L. ; Hauser, S. & Longo R. (2001). Jameson. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th Edition. McGraw-Hill, New York.

Bristol-Myers, S. (2003). Cytoxan Package insert. Bristol-Myers squibb company. Princeton. Natio. J.

Bronk, R. (1999). Human metabolism functional diversity and integration. Addison Wesley Longman Limited. p.228.

Brown, D. G. ; Wilkerson, E. C. & Love, W. E. (2015). "A review of traditional and novel oral anticoagulant and antiplatelet therapy for dermatologists and dermatologic surgeons". Journal of the American Academy of Dermatology. 72(3):524-34.

Budavari, S. (1989). The Merck index – Encyclopedia of chemicals, Drugs and Biologicals. Rahway. NewJersey. Merck and Co. Inc. 429.

Burdock, G. A. & Carabin, I. G. (2008). Safety assessment of coriander (*Corandrum sutivum*) essential oil as a food ingredient. Food. Chem. Toxicol. J. 47(1):22-34.

Burtis, C. A. & Ashwood, E. R. (1994). Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Philadelphia. PA: WB Saunders. pp.1466-8.

Cai, Y. Z. ; Luo, Q. ; Sun, M. & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci. 74:2184.

Cannell, B. (1998). How to approach the isolation of natural products. 1stedn. Human Press. Inc.

Chabner, B. A. ; Ryand, P. D. P. ; Garcis, C. & Calaresi, P. (2001). Antineoplastic Agents (cited by) Goodman and Gilmans the pharmacological Bssis of therapeutics. 10th Ed. J. G. Harnan a Libmirde. Eds. New York. NY: Mc Graw Hill.

Chitra, V. & Leelamma, S. (1997). Hypolipidemic Effect of Coriander Seeds (*Coriandrum sativum*). Mechanism of Action. Plant. Foods Hum. Nutri., 51(2):167-172.

Choen, E. P. & Leman, J. (1991). Clin. Chem. 37:785.

Chowdhury, B. R. ; Chkraborty, R. & Raychhaudhuri, U. (2008). Study on Beta-galactosidase enzymatic activity of herbal yogurt. Int. J. Food. Sci. Nutri. Mar. 59(2):116-122.

Compbell, E. ; Dickinson, C. & Stater, J. (1984). Clinical physiology 5th Ed. Black Well. Scientific publication. P. 651.

CSU Safe Food Newsletter, Summer **(2005)**. Botulinum Toxin: Friend or Foe. 9(4).

Dacie, V. & Lewis , S. M. (1995). Practical Hematology.2 Ed. Philadelphia. Tokyo. P. 352-354.

Dashti, M. H. & Morshedi, A. (2009). The effects of *Syzygium aromaticum* (clove) on learning and memory in mice. Asian J. Trad. Med. 4(4):128-133.

Davidson, N.; Khanna, S.; Kirwan, P. & Naftalin, N. (1990). Long term Survival after chemotherapy with cisplatinum Adriamycin and cyclophosphamide for carcinoma of the ovary: Clin. Oncol. Radiol.2:pp.206- 209.

Deein, W. ; Thepsithar, C. ; Thongpukdee, A. & Tippornwong, S. (2013). "Growth of Chrysanthemum Explants on MS Medium Sterilized by Disinfectants and Essential Oils". International Journal of Bioscience. Biochemistry and Bioinformatics. P. 609.

Deiana, M. ; Assunta-Dessi, M. ; Ke, B. ; Liang, Y. F. ; Higa, T. ; Gilmour, P. S. ; Jen, L. S. ; Rahman, I. & Aruoma, O. I. (2002). The antioxidant cocktail effective microorganism (EM) inhibits oxidant induced interleukin-8 release and the peroxidation of phospholipids in vitro. Biochem. Biophys. Res. Commun. 296:1148-1151.

Demetrious, J. A. (1974). Enzymes in clinical chemistry principles and technics. 2nd Edition. Hagerstown (MD.). Harper and Row. P. 927.

Demin, A. ; Sentiakova, T. ; Smirnov, V. ; Derminal & Maminal (1996). Synchronizing therapy with plasma pheresis and cyclophosphamide in rapidly progressing systemic lupus erythematosis with kidney involvement. (5):27-30.

Elena, N. H. & John, B. H. (2001). Metabolic intermediates. In: Henry J. B. "Clinical diagnosis and management by Lab. Methods. (20th Ed.). Philadelphia. W. B. Saunders Company.

Ensminger, A. H. (1994). Foods & nutrition encyclopedia. Volume 1. CRC Press. P. 750.

Friedman & Young (2001). Effects of disease on clinical laboratory tests. 4th Ed. AACC press.

Garty, B. Z. (1993). "Garlic burns". Pediatrics. 91(3):658-9.

Gopal, D. V. & Rosen, H. R. (2000). Abnormal findings on liver function tests. Interpreting results to narrow the diagnosis and establish a prognosis. J. Postgrad Med. 107(2):100-105.

Goso, Y. ; Ogata, Y. ; Ishihara, K. & Hotta, K. (1996). Effects of traditional herbal medicine on gastric mucin against ethanol-induced gastric injury in rats. Comp. Biochem. Physiol. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. 113:17-21.

Gray, A. M. & Flatt, P. R. (1999). Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional anti-diabetic plant *Coriandrum sativum* (coriander). Br. J. Nutri. 81:203-209.

Guillaume, T. ; Rubinstein, D. B. & Symann, M. (1998). Immune reconstitution and immunotherapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation. Blood. 92: 1471-1490.

Guyton, A. C. & Hall, J. E. (2001). Textbook of Medical Physiology. 10th Ed. W. B. Saunders Company. Philadelphia. PP. 781-789, 858-868.

Haggag, M. H. (2011). The 6th Arab and 3rd International Annual Scientific Conference on: Development of Higher Specific Education Programs in Egypt and the Arab World in the Light of Knowledge Era Requirements. Faculty of Specific Education Mansoura University-Egypt. April. P. 13-14.

Hamza, A. A. (2007). *Curcuma longa* , *Glycyrrihza glabra & Moringa oleifera* Ameliorate Diclofenac-induced Hepatoxityin rat. Ame. J. of pharm. and toxo. 2:80-88.

Hanley, A. J. ; Williams, K. ; Festa, A. ; Wagenknecht, L. E. & Agostino, R. B. (2004). Elevations in markers of liver injury and risk of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. J. Diabetes. 53:2623-2632.

Hanna, A. N. ; Waisman, W. J. ; Lott, J. A. & Koesters, S. C. (1997). Increased alkalin phosphatase isoform in autoimmune disease. J. Clin. Chem. 43:1357-1364.

Harborne, J. B. (1984). Physiochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis, 2nd Ed. Chapman and Hall. London. New York. P. 288.

Harcourt, F. & Nigel, H. (2002). Texbook of rabbit Medicine. P. 347-348.

Hardman, J. ; Limbrid, L. ; Molinoff, P. ; Ruddon, R. & Goodman, A. (1996). Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 4th Ed. New York. NY: McGraw-Hill. P. 1396.

Harris, C. C. (1976). The carcinogenicity of anticancer drugs, Ahazard in mam. Cancer. 37:1014-1032.

Hasiet, C. ; Chilvers, E. ; Hunter, J. & Boon, N. (1999). "Davidson's Principle and Practice of Medicine. Sydney. 18th Ed. P. 1057-1061.

Haskell, C. (1990). Cancer Treatment, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders CO.

Haskell, C. (1977). Immunologic aspects of cancer chemotherapy. Ann-Rev. Pharmacol. Toxicol. 2(17):179-195.

Hayes, D. M. ; Cvitkovic, E. & Golbey, R. B. (1977). High dose cis-platinum diammine dichloride: amelioration of renal toxicity by mannitol diuresis. Cancer. 39:1372.

Herber, R. F. M. ; Verplanke, A. J. W. & Verschoor, M. A. (1989). Early kidney effect by exposure to xenobiotics. In "International Conference Heavy Metals in the Environment". J. P. Verent (Ed.). Geneva, P. 314-317.

Hogg, J. (2002). "Garlic Supplements" (PDF). Complementary Medicines Summary. UK Medicines Information, National Health Service. Retrieved July 7, 2007.

Holtz, K. H. ; Rockwell, S. ; Tomasz, M. & Sartorelli, A. C. (2003). Nuclear over expression of NADH: cytochrome b5 reductase activity increases the cytotoxicity of Mitomycin-C and the total number of MC-DNA adducts in Chinese hamster ovary cells. J. Bio. Chem. 278(7):5029-5034.

Hori, M. ; Satoh, M. ; Furukawa, K. ; Sakamoto, Y. ; Hakamata, H. ; Komohara, Y. ; Takeya, M. ; Sasaki, Y. ; Miyazaki, A. & Horiuchi, S. (2004). Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase-2 (ACAT-2) is responsible for elevated intestinal ACAT activity in diabetic rats. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 24(9):1689-95.

Howard, B. V. (1999). Insulin resistance and lipid metabolism. Am. J. Cardiology. 84(1A):28J-32J.

Humason, G. L. (1979). Animal tissue technique, (4th Ed). W. H. Freeman Co. San Fran. Cisco. P. 661.

Ikizler, M. ; Erkasap, N. & Dernek, S. (2007). Dietary polyphenol quercetin protects rat hearts during reperfusion: enhanced antioxidantcapacity with chronic treatment. Anadolu Kardiyol. Derg. **7**:404-10.

Indian Herbal Pharmacopeias (1998). A joint publication of regional research labrotary. conical of scientific and industrial. Res. Jammutawi. 1:1-10.

Ishimura, Y. ; Nishizawa, S. ; Okuno, S. ; Matsumoto, N. ; Emoto, M. ; Inaba, M. ; Kawagishi, T. ; Kim, C. & Morii, H. (1998). Diabetes Mellitus increase the severity of anemia in non-dialyzed patients with renal failure. J. Nephrology. 11(2):88-91.

Jagadeesan, G. & Kavitha, A. V. (2006). Recovery of Phosphatase and mercury in toxicated *Mus musculus* liver tissue by *Tribulus terrestris* (Zygohyllaceae) extract. Tropical Biomed. 23(1):45-51.

Jawad, A. A. (1997). Ethological studies in assessing the anti-aggressive effect of some Iraqi medicinal plants in laboratory mice, A Thesis in Physiology. College of Education. University of Basrah.

Jens, J. J. & Hanne, H. (2002). A Review on liver Function Test. The Danish Hepatitis. C: website http://home3.inet.tele.dk/omni/hemochromatosis_iron.htm.

Jeong, H. ; You, H. J. ; Park, S. J. & Chun, A. K. (2002). Hepatoprotective effects of 18 β-Glycyrrhetinic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury: inhibition of cytochrome P450 2 E1 Expression. Pharmaco. Res. 46:221-227.

Jequier, A. M. (2000). Primary testicular Disease. a Common Cause of Male Infertility. In: Male Infertility. London. Blackwell Science Co. P. 121-124.

Kanellis, J. & Kang, D. H. (2005). Uric acid as a mediator of endothelial dysfunction inflammation and vascular disease. Semin. Nephrol. 25:39-42.

Katzer, G. (2009). "Garlic (Allium sativum L.)". Retrieved December 2, 2012.

Kim, J. M. ; Chung, J. Y. ; Lee, S. Y. ; Choi, E. W. ; Kim, M. K. ; Hwang, C. Y. & Young, H. Y. (2006). Hypoglycemic effect of vanadium on Alloxan monohydrate induced diabetic dogs. J. Vet. Sci. 7:391-395.

Kowluru, R. ; Bitensky, M. ; Kowluru, A. ; Dembo, M. ; Keaton, P. & Buican, T. (1989). Reversible sodium pump defect and swelling in the diabetic rat erythrocytes: effect of filterability and implications for microangiopathy. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86:3327-3331.

Kusunoki, M. ; Tsutsum, K. ; Nakayama, M. ; Kurokawa, T. ; Nakamura, T. ; Ogawa, H. ; Fukuzawa, Y. ; Morishita, M. ; Koide, T. & Miyata, T. (2007). Relationship between Serum concern of Saturated fatty acids and unsaturated fatty acids and the homeostasis model insulin resistance index in Japanese Patients with type 2 diabetes mellitus. J. Med. Investig. 54:243-247.

Lal, B. ; Murthy, R. C. ; Anand, M. ; Kumar, R. ; Chanfra, S. V. ; Tripthi, O. & Srimal, R. C. (1991). Cardio toxicity and Hypertension rat after oral lead exposure. Drug. Chem. Toxicol. 14:305-318.

Larc, (1975). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man. Geneva, Switzerland. World Health Organization J. Inter-Agency for Research on Cancer. 5(121):135-156.

Larc, (1981). Some Antineoplastic and Immunosuppressive Agents. Larc. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to human. 26. Lyon. France. Inter. Agency for Res. of Cancer. P. 411.

Larc, (1987). Overall Evaluation of carcinogenicity. Larc. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to human. Supple Ment. 7. Lyon. France. Inter. Agency for Res. of Cancer. P. 411.

Laslett, T. (1995). Xenobiotical. 25(10):1031-9.

Lee, H. A. ; Sharpstone, P. & Ames, A. C. (1997). Postgrad Med. J. 43:381.

Lee, J. R. ; Park, S. J. ; Lee, H. S. ; Jee, S. Y. ; Seo, J. ; Kwon, Y. K. ; Kwon, T. K. & Kim, S. C. (2007). Hepato-protective activity of licorice water extract against cadmium-induced toxicity in rats. Evidence-based Compl. and Alt. Med. 6(2):195-201.

Lewis, R. (1993). Hawley's condensed chemical dictionary 13th Ed. New York, NY. John Wiley and Sons. Inc. P. 327.

Lewis, R. (1997). Hawley's condesed chemical dictionary 12th Ed. New York. John Wiley and Sons. Inc. P. 327.

Limidi, J. K. & Hude, G. M. (2003). Evaluation of abnormal live function testes. Postgrad. Med. J. 79:307-312.

Longmore, P. ; Wilkinson, D. ; Rajagopalan, L. (2004). Oxford Handbook of Clinical Medicine. 6th Edition. Oxford University. press. London.

Luna, G. (1968). Manual of histological Staining Method of armed forced institute of pathology. 3rd Ed. MC. GRAW Hill book Co. New York.

Lynda, S. ; Wright, S. E. ; Kornguth, F. ; Terry, D. O. & Frank, L. S. (1998). Effects of Lead on Glutathion S-Transferase Experession Toxicological Sciences. 46:254-259.

Macpherson, L. J. ; Geierstanger, B. H. ; Viswanath, V. ; Bandell, M. ; Eid, S. R. ; Hwang, S. W. & Patapoutian, A. (2005). "The pungency of garlic. Activation of TRPA1 and TRPV1 in response to allicin". Current Biology. 15(10):929-34.

Macsween, R. N. & Whaley, K. (1992). Muir's text book of pathology. 13th Ed. ELBS with Edward Arnold.

Magid, S. A. (2000). Effect of age and sex on some wool characteristics of Awassi sheep. Iraqi. J. Agri. 5:150-155.

Majumdar, A. S. ; Saraf, M. N. ; Andraves, N. R. & Kamble, R. Y. (2008). Preliminary studies on the antioxidant activity of *Tribulus terrestris* and *Eclipta alba*. Phcog. Mag. 4(13):102-107.

Martein, D. W. ; Mayes, P. A. ; Rodwell, V. W. & Granner, D. K. (1985). Harper's Review of Biochemistry. 20th Ed. Lange Medical.

McDonald, G. & Frieze, D. (2008). "A problem-oriented approach to liver disease in oncology patients". Journal of Gastroenterology & Hepatology. 57:987-1003.

McGee, H. (2006)."When Science Sniffs Around the Kitchen". curiouscook. Com.

McLeod, H. L. & Evans, W. E. (2001). Pharmecogenomics. Unlocking the human genome for better drug therapy. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 41:101-121.

McNally, R. T. (1994). In Search of Dracula. Houghton Mifflin. P. 120-122.

Merck, K. (1983). "Merck index" Rahway, New Jersey. Merck Co. Inc. P. 439.

Meyer, E. & Walther, A. (1988). Methods for the estimation of protein, lipid, carbohydrate and chitin in fresh water invertebrates. J. Arch. Hydro-boil. 13:61-177.

Michael, C. (2004). Chemotherapy of Cancer. American College of Rhematology. 2th Ed. New York. P. 127.

Mihi, Y. & Gindhi, T. R. (2008). Hepatoprotective herbal drug silymarine from expermintal pharma Gology to clinical medicine review. Pharmaconosy reviews. 2(3):1-7.

Mir, S. H. ; Abdul-Baqui ; Bhagat, R. C. ; Darzi, M. M. & Abdul-Wahid, S. (2008). Biochemical and Histomorphological Study of Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Rabbits. Pakistan. J. Nutri. 7(2):359-364.

Nagi, M. N. ; Al-Shabanah, O. A. & Hafez, M. M. (2010). Thymoquinone supplementation attenuates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. J. Biochem. Mol. Toxicol. 25:135-42.

Oboh, G. (2006). Hepato-protective property of ethanolic and aqueous extracts of fluted pumpkin (Telfaria Occidentalis) leaves against garlic induced oxidative stress. J. Med. Food. 8:560-3.

Osol, A. (1980). Reminington's pharmaceutical sciences. 16th Easton. Pennsy-lvania. Mack publishing Co. P. 1087.

Parkman, R. & Weinberg, K. I. (1997). Immunological reconstitution following bone marrow transplantation. Immunol. Rev. 157:73-78.

Paul, D. & Michael, C. P. (2001). Hepatotoxicity of Chemotherapy. 6(2):162-176.

Philips, F. S. ; Sternberg, S. S. & Cronin, A. P. (1961). Cyclophosphamide and urinary bladder toxicity. Cancer Res. 21:1577.

Pickering, D. (2003). Cassell's Dictionary of Superstitions. Sterling Publishing. P. 211.

Pignon, J. P. ; Bourhis, J. ; Domenge, C. & Designe, L. (2000).Chemotherapy added to loco regional treatment for head and neck squamous-cell carcinoma. three mete-Analyses of updated individual data. Lancet. 355:49-55.

Pistacor, M. ; Bjork, L. & Nordberg, M. (1981). B2-microglobin levels in serum and urine of cadmium expose rabbits. Acta. Pharmacol. Toxicol. J. 54:73-81.

Piton, A. ; Poynard, T. & Imbert-Bismut, F. (1998). Factors associated with serum alanine transaminase activity in healthy subjects: conseguences for the definition of normal Values for selection of blood donors and for Patints with chronic hepatitis. C. Hepatology. 27:1213-9.

Povirk, L. & Shuker, D. (1994). DIVA damage and mutagenesis induced by nitrogen mustards. Mutat. Res. 318:205-226.

Prakasam, A. ; Sethupathy, S. & Pugalendi (2004). Influence of Casearia esculenta root extract on protein metabolism and marker enzyme in streptozotocin induced diabetic rats. Pol. J. Pharmacol. 56:587-593.

Prince, P. S. & Menon, V. P. (1999). Antioxidant activity of tinospora cordifolia roots in experimental diabetes. J. Ethno-pharmacol. 65(3):277-81.

Qian, Z. M. ; Xu, M. F. & Tang, P. L. (1997). Polysaccharide peptide (PSP) restores immunosuppression induced by cyclophosphamide in rats. Am. J. Chin. Med. 25(1):27-35.

Rahman, K. (2007). "Effects of garlic on platelet biochemistry and physiology". Mol. Nutri. Food Res. 51(11):1335-44.

Rainey, J. M. ; Alberts, D. S. & Safe (1978). rapid administration schedule for cisplatinum-mannitol. Med. Pediatr. Oncol. 4:371.

Raju, J. & Bird, R. P. (2006). Alleviation of hepatic steatosis accompanied by modulation of plasma and liver TNF/alpha levels by *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek) seeds in Zucker obese (fa/fa) rats. Department of Biology. University of Waterloo. Waterloo. Ontario. Canada. Int. J. Obes. (Lond.). 30(8)1298-307.

Rakshit, M. (2012). "Bioedible coating of meat using garlic, cinnamon and turmeric" (PDF). European Journal of Experimental Biology 2(5):1439-1443.

Ranjan, S. (2012). "Comparative study of antibacterial activity of garlic and cinnamon at different temperature and its application on preservation of fish". Adv. Appl. Sci. Res. 3(1):495-501.

Reitman, S. & Frankel, S. (1957). Am clinical pathology 28:56.

Reynolds, J. ; Prassad, A. (1982). Martindale. The Extra Phrmacopeia. 28th Ed. London. The pharmaceutical press. P .199.

Ried, K. ; Toben, C. & Fakler, P. (2013). "Effect of garlic on serum lipids: an updated meta-analysis". Nutrition Reviews. 71(5):282-99.

Robbins, S. & Angell, M. (1970). Basic Pathology. 2nd Ed. Philadelphia. W.B. Saunders Company.

Rodac, S. B. (2002). Hematological Clinical principles and application. 2nd Ed. W.B. Saunder company. Philadelphia. London.Toronto. P. 156.

Rodjer, S. ; Swolin, B. ; Weinfeld, A. & Westin, G. (1990). Cytogenetic abnormalities in acute leukemia complicating melphalan treated multiple myeloma. Cancer Genet. Cytogenet. 48:67-73.

Saadalla, R. A. (1980). Biochemistry practical. Manual. College of Medicine. Basrah. Iraq.

Saber, A. & Dehlawi, G. (1998). Cyclophosphamide induced histo-pathological alteration in the illeum of the Saudi Toad Bufo TIBAMICUS. Bio. Department. Umm AL-Qura university. Makkah. Saudia Arabia.

Safirstein, R. ; Winston, J. & Goldstein, M. (1986). Cisplatin nephron-toxicity. Am. J. Kidney Dis. 8:356.

Salido, M. ; Macarron, P. ; Hernandez-Garcia, C. ; D'Cruz, D. P. ; Khamashta, M. A. & Hughes, G. R. (2003). Water intoxication induced by low-dose cyclophosphamide in two patients with systemic lupus erythematosus. Lupus. 12:636-639.

Salunkhe, D. K. & Kadam, S. S. (1998). Handbook of Vegetable Science and Technology. Marcel Dekker. P. 397.

Saly, H. (2002). Small Animal Oncology. The chemical perspective. J. Nova Scotia. Agricultural College. 25(3):2-16.

Sambrook, J. ; Frigah, E. & Maniatis, T. (2001). Molecular cloning. a lab. Manual. Cold Spring Harbour Lab. New York.

Samir, M. & El-Kholy, N. M. (1999). Thiobarbituric acid reactive substance in patients with laryngeal cancer. Clin. Otolarynggol. 24:232-4.

Sandoval, C. ; Pui, C. & Bowman, L. (1993). Secondary Acute myeloid leukemia in children previously treated with alkylating agents, intercalating topoisome- rase II inhibitors, and irradiation. J. Cline. Oncol. 11:1034-1045.

Saniewska, A. (1996). Potential Use of Garlic Compound and Fungicides in The Control of Fungi on Seeds of Some Ornamental Plant VII. Conference of The Conference of The Section for Biological Control of Plant Diseases of The Polish Phyto-Pathological Society "Effectiveness of Some Germ and Plant Extracts in The Control of Plant Disease". Skierniwice. Poland. P. 141-147.

Sastry, K. V. & Agrawal, M. K. (1997). Cadmium chloride induced enzymological changes in kidney and ovary of ateleost fish channa pimctatus. Bull. Environ. Contain. Toxicol. 48:11-20.

Sato, T. ; Onse, Y. ; Nagase, H. & Kito, H. (1990). Mechanism of anti-mutagenicity of aquatic plant extracts against (benzo (a) yrene) in the *Salmonella* assay. J. Mut. Res. 241:283-290.

Schilsky, R. L. (1982). Renal and metabolic toxicities of cancer chemotherapy. Semin.Oncol. 9:75.

Schmidt, E. (1963). Enzymology boil.Clinical. 3:1.

Schmidt, R. E. ; Dorsey, D. A. ; Beaudet, L. N. ; Pluread, S. B. ; Williamson, J. R. & Udo, Y. (1998). Effect of sorbitol dehydrogenase inhibitor on experimental diabetic autonomic neuropathy. J. of Neuropathology and Expermental Neurology. 57:1175-1189.

SeongGill, K. & Juchan, K. (2006). Effect of dietary copper exposure on accumulation, growth and hematological parameters of the juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. Marine Environmental Research. 26:599-608.

Sharp, P. ; Retnam, L. ; Heo, S. & Peneyra, J. (2007). The Laboratory Rabbit. J. NUS. P. 1-15.

Shihata, I. (1951). A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M. D. Vet. Thesis. Cairo. Uni. Cairo. Egypt.

Shyamala, M. P. ; Venukumar, M. R. & Latha, M. S. (2003). Antioxidant potential of the *Syzygium aromaticum.* (GAERTN.). LINN. (Cloves) in rats fed with high fat diet. Ind. J. Pharmacol. 35:99-103.

Sieber, S. M. & Adamsone, R. H. (1975). The clasto-genic, mutagenic. terato-genic anti-neoplastic agents in pharmacologic basis of cancer chemotherapy. (M.D.). Anders on hospital and Tumor institute at Houston. Williams and Wilkins Baltimor. P. 401-498.

Siena, S. ; Castro-Malaspina, H. & Gulati, S. C. (1985). Effects of in vitro purging with 4-hydroperoxy cyclophosphamide on the hematopoietic and micro environmental elements of human bone marrow. Blood. 65:655-662.

Silva, G. T. ; Lee, I. K. & Kinghorn, A. D. (1998). Special problems with the extraction of plant in: Cannel, R. J. P. (Ed.) Natural Products Isolation. Methods in Biotechnology. Humana Press. Totumn. New Jersey. 4:343-633.

Simonetti, G. (1990). Schuler, S. Ed. Simon & Schuster's Guide to Herbs and Spices. Simon & Schuster. Inc.

Smolensk, S. ; Silnis, H. & Fransworth, N. (1972). Alkaloid screening. Liydia. 35:31-34.

Stabler, S. N. ; Tejani, A. M. ; Huynh, F. & Fowkes, C. (2012). "Garlic for the prevention of cardiovascular morbidity and mortality in hypertensive patients". Cochrane Data base of Systematic Reviews. P. 8.

Steinberg, A. D. & Steinberg, S. C. (1991). Long term patients with lupus nephritis receiving treatment that includes cyclophosphamide versus those treated with prednisolone alone Arthritis. Rheum. 34(8):945-950.

Suradkar, S. G. ; Vihol, P. D. ; Patel, H. J. ; Ghodasara, D. J. ; Joshi, B. P. & Prajapati, K. S. (2010). Patho-morphogical changes in tissues of Wistar rats by exposure of lead acetate. Veterinary World. 3(2):82-84.

Sutton, R. ; Buzdor, A. & Hortbbagyi, G. (1990). Pregnancy and offspring after adguvant chemotherapy in breast cancer patients. J. Cancer. 65:847-850.

Tchounwou, D. B. ; Patolla, A. & Centon, A. (2004). Serum amino transferases as biomarkers of arsenic-induced hepatotoxic in Sprague-dawley rats. Metal. Lions. in Bio. and Medicine. 8:284-288.

Thigpen, J. T. (1990). Management of adverse effects of chemotherapy. In Deppe G. Ed. Chemotherapy of Gynecologic Cancer. 2nd Ed. New York. Wiley-Liss. P. 41.

Thompson, S. (1995). The Kitchen Garden. Bantam Books. P. 144-145.

Tietz, N. W. (1986). Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Sounders Philadelphia. P. 1271-1281.

University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. "Garlic: Safe Methods to Store, Preserve and Enjoy" (PDF). **UCANR**. Retrieved February 28, **(2014)**.

Vandenberghe, J. (1995). Hepato-toxicology: Mechanisms of liver toxity and methodological aspects. In Toxicology: Principle and applications (J. M. Niesink, J. D. Varies and M. A. Hollinger, Eds.). CRC Press. Boca Raton. P. 718.

Verma, V. (2012). "Antibacterial activity of extracts of Citrus, Allium & Punica against food borne spoilage" (PDF). Asian Journal of Plant Science and Research. 2(4):503-509.

Vlassara, H. ; Valinsky, J. ; Brownlee, M. ; Cerami, C. ; Nishimoto, S. & Cerami, A. (1987). Advanced glycation endo-products on erythrocyte cell surface induce receptor-mediated phagocytosis by microphage. A model for turnover of aging cells. J. Exp. Med. 166:539-549.

Waldeck, H. (1972). Mucosa of the small intestine following administration of large doses of Cyclophosphamide. 10(7):543-5.

Wenger, T. & Fintelman, V. (1999). Flavonoids and bioactivity. Wien. Med. Wochenschr. 149:241-247.

Woo, H. D. ; Park, S. ; Oh, K. ; Kim, H. J. ; Shin, H. R. ; Moon, H. K. & Kim, J. (2014). "Diet and cancer risk in the Korean population: a meta- analysis" (PDF). Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 15(19):8509-19.

Yu, S. ; Lannin, D. R. ; Tsui-Collins, A. L. & Mckhann, C. F. (1980). Effect of Cyclophosphamide on mice bearing methyl-cholan threne induced fibrosarcomas. Cancer Research. 40(8):2756-2761.

Zhou, X. F. ; Ding, Z. S. & Liu, N. B. (2013). "Allium vegetables and risk of prostate cancer: evidence from 132,192 subjects" (PDF). Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 14(7):4131-4.

Zohary, D. & Hopf, M. (2000). Domestication of plants in the Old World, 3rd Edition, Oxford University Press. P. 197.

Summary

This study has been conducted in various places, including laboratories of department of biology in the college of education for pure sciences - university of Karbala, labs of the college of veterinary medicine - university of Karbala, in addition to the labs of Al-Hussein teaching hospital in the province of Karbala. This study took eight months approximately extended from February/2016 until September/2016, so as to evaluate the effect of the aqueous extract of garlic's cloves **(*Allium sativum*)** on some of physiological criteria (some of hematological parameters with a number of biochemical parameters) and histological criteria (the liver and kidneys tissues) for males of the domestic rabbits that treated with Cyclophosphamide drug, as it has been used 25 males from the domestic rabbits which ranged in age from 6-7 months approximately, with weights ranged from 1050-1080 grams, and these animals were divided randomly to five groups (five animals per group) and according to the following description:

First Group (G1) (negative control): Which had given the water and food daily for a period of 30 days.
Second Group (G2) (positive control): Which orally dosed with the Cyclophosphamide drug (concentration: 20 mg/kg of the animal's weight) daily for 30 days.
Third Group (G3): Which orally dosed with the aqueous extract of garlic's cloves (concentration: 100 mg/kg of the animal's weight) daily for 30 days before dosing with the Cyclophosphamide drug (concentration: 20 mg/kg of the animal's weight) daily for another 30 days.
Fourth Group (G4): Which orally dosed with the aqueous extract of garlic's cloves (concentration: 100 mg/kg of the animal's weight) with the dosing with the Cyclophosphamide drug (concentration: 20 mg/kg of the animal's weight) daily at the same time for a period of 30 days.
Fifth Group (G5): Which orally dosed with the aqueous extract of garlic's cloves (concentration: 100 mg/kg of the animal's weight) daily for a period of 30 days after the dosing with the Cyclophosphamide drug (concentration: 20 mg/kg of the animal's weight) daily for a period of also 30 days.

The animals' weights were recorded before and after the experiment, then the blood samples were saved after they had been taken from the heart directly. The animals were then autopsied and the liver and kidneys were removed and their weights were recorded. Laboratory tests were performed to determine the pathological changes in the physiological and histological criteria studied. The results of the present study showed a significant decrease ($P \leq 0.05$) for all measured weight parameters (body weights and liver and kidneys weights) for the positive control group compared to the negative control group. But when the interaction

was made (three interactions) between the plant extract and the used drug for the last three groups (before, with and after the drug) in order to test the effectiveness of the extract in reducing or minimizing the toxic effects of the drug, the results showed a significant increase ($P \leq 0.05$) for all measured weight parameters compared to the positive control group.

Some of the hematological parameters were measured such as: the number of red blood corpuscles (R.B.Cs), the number of white blood cells (W.B.Cs), the packed cells volume (P.C.V), and the level of hemoglobin (Hb.). The results indicated to a significant decrease ($P \leq 0.05$) in all of these measurements for the positive control in comparison with the negative control. But when the interaction was made (three interactions) between the extract and the drug for the last three groups (before, with and after) to test the activity of the extract in reducing or minimizing the toxicity of the drug effects, the results showed a significant rising ($P \leq 0.05$) in all of these criteria in the case of the treatment with the extract with and after the drug, while there were no significant differences ($P > 0.05$) in the case of the treatment with the extract before the drug in comparison with the positive control.

On the other hand, a number of biochemical parameters were measured such as: the activity of the enzymes which are carrying amine group in the serum that are: the alanine transaminase enzyme (ALT) & the aspartate transaminase enzyme (AST), the activity of the alkaline phosphatase enzyme (ALP), the level of total bilirubin (T.Bil.), the level of total cholesterol (T.C.), the level of albumin, the level of urea, and the level of creatinine. The results indicated to a significant rising ($P \leq 0.05$) in all of these criteria except for the level of total bilirubin and albumin, the results showed existence of a significant decrease ($P \leq 0.05$) in the level of albumin, while there were no significant differences ($P > 0.05$) in the level of total bilirubin for the positive control in comparison with the negative control. But when the interaction was made (three interactions) between the extract and the drug for the last three groups (before, with and after) to test the activity of the extract in reducing or minimizing the toxicity of the drug effects, the results indicated to a significant decrease ($P \leq 0.05$) in all of these measurements except for the level of total bilirubin and albumin, the results showed the presence of a significant rising ($P \leq 0.05$) in the level of albumin, while there were no significant differences ($P > 0.05$) in the level of total bilirubin also in comparison with the positive control.

Regarding to histological aspect of this study, it has been examined tissues of both the liver and kidneys of all experimental treatments for the purpose of knowing the histo-pathological changes compared to the normal situation, by the microscopic examination for the liver's tissue of the positive control in comparison with the negative control, the results showed presence of congestion in the central vein with severe necrosis for the liver's cells (hepatocytes) from the coagulative

type, as well as the infiltration of inflammatory cells (neutrophils) around the congested central vein, in addition to vacuolization the cytoplasm of the liver's cells leading to the inflation, as well as, a clear fibrosis around the bile ducts. While the microscopic examination for the kidneys' tissue of the positive control in comparison with the negative control showed atrophy in the capillary tuff inside the renal glomerulus which led to the large size of bowman space with a severe necrosis for the cells of the convoluted tubules, as well as, the presence of a severe congestion for the blood vessels (renal arteriole), and the presence of degenerative changes represented vacuolization the cytoplasm of the renal tubules cells. But when the interaction was made (three interactions) between the extract and the drug for the last three treatments (before, with and after) to test the activity of the extract in reducing or minimizing the toxicity of the drug effects, the results of the microscopic examination showed a clear relative improvement in the tissues of both the liver and kidneys in the case of the treatment with the extract with and after the drug, while there were no large differences remember to pathological effects on the tissues of both the liver and kidneys in the case of the treatment with the extract before the drug in comparison with the positive control.

We conclude that dosing males of the domestic rabbits with the aqueous extract of garlic's cloves (concentration: 100 mg/kg of the animal's weight) daily for 30 days and for three interactions (before, with and after the drug) has a good effect in minimizing the toxic effects of the drug used. It seemed that the dosing with the extract with drug had the strongest effect, while the dosage with the extract after drug was less effective than the previous, while the dosage with the extract before drug had a low effectiveness in reducing the effects of cyclophosphamide drug with regard to the physiological and histological criteria studied.

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education &Scientific Research

University of Karbala

College of Education for Pure Sciences

Department of Biology

Effect of the cold aqueous extract of garlic (*Allium sativum*) on some of the physiological and histological criteria for males of the rabbits treated with Cyclophosphamide

By:

Ali Hussein Kadhim Al-Akaishi

B. Edu. Biology - University of Karbala / 2010

A thesis submitted to the college of education for pure sciences / university of Karbala as a partial fulfillment of requirements for a degree of the master in Biology - Zoology

Supervised By:

Prof. Dr.

Sattar Jasim Hatroosh Al-Rajihee

1438 *A.H.* **2017 *A.D.***