جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة

تأثير المستخلص الكحولي لإزهار نبات القرنفل (*Eugenia caryophyllus*) على كبد وكلية ذكور الجرذ الأبيض المعاملة بعقار السايكلوفوسفامايد دراسة وظيفية ونسجية

رسالة تقدم بها الطالب

أحمد سرحان كاظم جودة

إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة ،
جامعة كربلاء
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير
في علوم الحياة / علم الحيوان
بكالوريوس كلية التربية للعلوم الصرفة _
علوم حياة 2011

أشراف

أ. د ستار جاسم حتروش

1434 هـ **2013 م**

بسم الله الرحمن الرحيم

♣ وَفَـوْقَ كُـلِّ ذِي عِـلْـمٍ عَـلِـيـمٌ ƒ

صدق الله العلي العظيم

♣سورة يـوسف/ الآيـة ƒ76

م/ قرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة التقويم والمناقشة، قد أطلعنا على الرسالة الموسومة " **تأثير المستخلص الكحولي لإزهار نبات القرنفل (*Eugenia caryophyllus*) على كبد وكلية ذكور الجرذ الأبيض المعاملة بعقار السايكلوفوسفامايد دراسة وظيفية ونسجية.** وقد ناقشنا الطالب **أحمد سرحان كاظم جودة** في محتوياتها وفيما له علاقة بها ، وأنها جديرة بالقبول بتقدير **جيد جداً** لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة /فرع الحيوان.

التوقيع :

الاسم : د. عبد الهادي صلال محمد

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : / / 2013

رئيساً

التوقيع :

الاسم : د. عدنان وحيد البديري

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : / / 2013

عضواً

التوقيع :

الاسم : حسين علي عبد اللطيف

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : / / 2013

عضواً

التوقيع :

الاسم : د. ستار جاسم حتروش

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : / / 2013

عضواً ومشرفاً

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع:

الاسم: د. نجم عبد الحسين نجم

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2013

الإهداء

إلى القبس الذي أنار مشارق الأرض ومغاربها بهدي رسالة الإسلام
..... الرسول الأكرم محمد (صلى الله عليه واله وسلم)
إلى من قال الله تبارك وتعالى فيهم (إِنَّمَا يُرِيدُ اللهُ لِيُذْهِبَ عَنْكُمُ الرِّجْسَ أَهْلَ الْبَيْتِ وَيُطَهِّرَكُمْ تَطْهِيرًا)
.... الأئمة الهداة الميامين (عليهم السلام)
إلى من اعتز بحمل اسمه ... قدوتي ومثلي الأعلى
..... والدي العزيز
إلى ينبوع الحنان وربيع الأمان
..... والدتي الحبيبة
إلى سندي وقرة عيني

.....أخوتي وأعمامي وخوالي وأبناءهم

إلى منار حياتي وسر سعادتي

..... عائلتي الكريمة
إلى حبيبتي وشريكة حياتي
..... خطيبتي الغالية

الباحث

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد المرسلين والخلق أجمعين أبي القاسم محمد وعلى اله الطيبين الطاهرين وأصحابه الغر المنتجبين.

إما بعد ....

يطيب لي أن أتقدم بشكري الجزيل إلى أستاذي الدكتور **ستار جاسم حتروش** لاقتراحه موضوع الرسالة ولإشرافه ولما أمدني به من معلومات وإرشادات قيمة وبما وصل إليه هذا البحث بصورته المتواضعة بين أيديكم وعرفاناً مني بالجميل اشكر **الأستاذ الدكتور سعد حمد عبد اللطيف** لما أبداه من مساعدة ورعاية أبوية .

كما أتقدم بالشكر والامتنان إلى رئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة أساتذة ومنتسبين ويطيب لي أن أتقدم بجزيل الشكر والامتنان الى الدكتور نصير حمزة مرزة .

و أسجل احترامي وشكري الجزيل إلى الدكتور **عبد الهادي صلال** لتقديمه يد المساعدة في التشخيص ويسعدني أن أقدم خالص شكري إلى كل من **أستاذ أحسان** و**أستاذ حسين** لما أبدياه من مساعدة في تحليل النتائج إحصائياً.

حباً وتقديراً اشكر خطيبتي الغالية لدعمها وتحفيزها طيلة مدة الدراسة.

وأخيراً أتقدم بالشكر والامتنان إلى جميع زميلاتي وزملائي طلبة الدراسات العليا وكل الشكر والتقدير للذين مدوا لي يد العون في مراحل مختلفة من البحث.

وفق الله الجميع لما فيه الخير والصلاح

أحمد 2013

. . . . الـخــلاصـــــة

أجريت الدراسة للتعرف على تأثير المستخلص الكحولي لإزهار نبات القرنفل على بعض المعايير الهرمونية والكيموحيوية والنسجية فضلا عن التأثيرات المظهرية على الجرذان البيضاء المعاملة بعقار السايكلوفوسفامايد فأجريت تجربتين ضمن هذه الدراسة، التجربة الأولى تم فيها حقن مجموعة من الجرذان بعقار السايكلوفوسفامايد بتركيز (20) ملغم/كغم ولمدة (30) يوما وسحب الدم منها ثم تمت التضحية بالحيوانات المحقونة بالعقار لغرض ملاحظة التأثيرات المرضية الحاصلة في المعايير المدروسة, وبعد قياس مستوى الهرمونات, ظهرت النتائج متمثلة بحدوث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في هرمون LH, بينما حصل انخفاض معنوي ($P<0.05$) لكل من الهرمونات الشحمون الخصوي GH, Testosterone, T3, T4 , hormones إما المعايير الكيموحيوية فقد ظهر حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في إنزيمات الكبد واليوريا, البليروبين,الكولسترول الكلي وإنزيم LDH إما الألبومين فقد سجل انخفاض معنوي ($P<0.05$) . كما وظهرت تغيرات مظهرية متمثلة بفقدان الشهية وتحول لون الإدرار إلى بني غامق فضلا عن اصفرار الجلد, إما التغيرات النسجية لكل من الكبد والكلى تضمنت حدوث تفجيء في هيولي الخلايا الكبدية وتضخم خلايا كفر فضلا عن حدوث احتقان في وريد الكبد المركزي, كما تضمنت التأثيرات النسجية في الكلى حدوث انكماش في بعض الكبيبات الكلوية والتهاب الكبيبة التكاثري وانسلاخ في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية و نزف بيني وتوسع في عروات هنلي.

وفي التجربة الثانية استعملت ثلاثة تراكيز من مستخلص القرنفل الكحولي وهي (300) ملغم/كغم، (400) ملغم/كغم و(500) ملغم/كغم وجرعت كل مجموعة من الجرذان بأحد هذه التراكيز لمدة (30) يوما، وتم سحب الدم وبعدها تم التضحية بالحيوانات لغرض بيان تأثير المستخلص على بعض المعايير الهرمونية والكيموحيوية والنسجية , فضلا عن التأثيرات المظهرية, إذ تبين إن مستخلص القرنفل ولكافة التراكيز المستعملة أدى إلى حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى هرمون LH, بينما حصل ارتفاع معنوي ($P<0.05$) لكل من الهرمونات Testosterone, T3, T4, GH hormones, إما المعايير الكيموحيوية فقد ظهر حدوث انخفاضا معنويا ($P<0.05$) في مستويات إنزيمات الكبد واليوريا, البليروبين الكلي,الكولسترول الكلي وإنزيم LDH بينما سجل الألبومين ارتفاع معنوي ($P<0.05$). إما تأثير المستخلص على أنسجة الكبد والكلى فقد اثبت مستخلص القرنفل عند تركيز (500) ملغم/كغم فعاليته في خفض التأثيرات السمية لعقار

. . . .

. . . .

الـخــلاصـــــــة . . . .

السايكلوفوسفامايد على أنسجة الكبد والكلى, بينما لم يكن للتركيزين (300, 400) ملغم/ كغم فعالية في خفض سمية عقار السايكلوفوسفامايد.

المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
	الفصل الأول	
1	المقدمة	1
	الفصل الثاني	
2	**استعراض المراجع**	4
1-2	**نبات القرنفل *Eugenia caryophyllus***	4
1-1-2	**نبذه عامة عن نبات القرنفل**	4
2-1-2	**تصنيف نبات القرنفل**	4
3-1-2	**أهمية القرنفل من الناحية الاقتصادية والطبية**	5
4-1-2	**مركبات القرنفل الفعالة**	6
5-1-2	**فعالية القرنفل المضادة للأكسدة**	7
6-1-2	**فعالية القرنفل المضادة للسرطان**	8
7-1-2	**فعالية القرنفل ضد البكتريا والفطريات**	10
8-1-2	**فعالية القرنفل الفسلجية وتأثيراته الإيضية**	11
2-2	**السايكلوفوسفومايد (تصنيفه , استعماله)**	13
1-2-2	**مزايا السايكلوفوسفامايد الفيزيائية والكيميائية**	15
3-2-2	**الآثار الجانبية للعقار على الدم**	15
4-2-2	**الآثار الجانبية للعقار على الكبد**	16
5-2-2	**الآثار الجانبية للعقار على الكلية**	16
6-2-2	**الأورام الثانوية التي ينتجها العقار**	17
	الفصل الثالث	
3	**المواد وطرائق العمل**	18
1-3	**حيوانات التجربة**	18
2-3	**الأجهزة والأدوات والمواد الكيميائية المستخدمة**	18
1-2-3	**الأجهزة والأدوات**	18
2-2-3	**المواد الكيميائية والعدد**	20
3-3	**النبات المستعمل في الدراسة**	21
4-3	**تصميم التجربة**	22
5-3	**قياس أوزان الحيوانات وأعضائها**	24

المحتويات

6-3	جمع عينات الدم وخزنها	24
7-3	قياس معايير الدم	24
1-7-3	قياس مستوى بعض الهرمونات	24
2-7-3	قياس مستوى بعض المعايير الكيموحيوية	26
1-2-7-3	تقدير فعالية إنزيم (ALP) في مصل الدم	26
2-2-7-3	تقدير فعالية إنزيم (AST) وإنزيم (ALT) في مصل الدم	27
3-2-7-3	تقدير تركيز اليوريا (Urea) في مصل الدم	29
4-2-7-3	3تقدير تركيز الألبومين (Albumin) في مصل الدم	30
5-2-7-3	3تقدير تركيز البيليروبين الكلي (T-Bil) في مصل الدم :	31
6-2-7-3	تقدير تركيز الكولسترول الكلي (TC) في مصل الدم	33
7-2-7-3	تقدير تركيز انزيم (LDH) في مصل الدم	35
8-3	تحضير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل	36
9-3	تحضير المقاطع النسجية	36
1-9-3	الدراسة النسجية	36
11-9-3	التحليل الإحصائي	40
التسلسل	الفصل الرابع	الصفحة
4	النتائج والمناقشة	41
1-4	تأثير عقار السايكلوفوسفامايد على سلوكية ومظهرية ذكور الجرذ الأبيض	41
2-4	تأثير عقار السايكلوفوسفامايد في أوزان الأعضاء المدروسة فضلا عن وزن الجسم لذكور الجرذ الأبيض	41
3-4	تأثير عقار CPA في مستوى بعض الهرمونات في ذكور الجرذ الابيض	43

المحتويات

4-4	تأثير عقار CPA على مستوى بعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذ الأبيض	48
5-4	الدراسة النسجية	56
1-1-5-4	مجموعة السيطرة للكبد	57
2-1-5-4	التأثيرات النسجية – المرضية لعقار السايكلوفوسفامايد في كبد ذكور الجرذ الأبيض المعاملة :	57
3-2-5-4	التأثيرات النسجية – المرضية لعقار السايكلوفوسفامايد في كلى ذكور الجرذ الأبيض المعاملة	61
6-4	تأثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل على مظهرية ذكور الجرذ	63
7-4	تأثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل في أوزان الأعضاء فضلا عن وزن الجسم لذكور الجرذ الابيض	63
8-4	تأثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل على مستوى بعض الهرمونات لذكور الجرذ الابيض	66
9-4	تأثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل على بعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذ الأبيض	70
10-4	التأثيرات النسجية – للمستخلص الكحولي لنبات القرنفل بتراكيز مختلفة في كبد وكلى ذكور الجرذ الأبيض المعاملة بعقار السايكلوفوسفامايد	79
1-10-4	التغيرات في نسيج الكبد	79
2-9-4	التغيرات في نسيج الكلى	81
	الاستنتاجات Conclusions	88
	التوصيات Recommendation	89
	المصادر	
	المصادر العربية	90
	المصادر الاجنبية	91
	الملاحق	105
	الخلاصة باللغة الانكليزية	A
	قائمة الجداول	
رقم الجدول	الموضوع	الصفحة
(2-3)	الأجهزة والأدوات والمواد الكيميائية المستخدمة	18
(3 -2-2)	المواد الكيميائية والعدد	20

المحتويات

(4-3)	طريقة تقدير فعالية إنزيم (ALT) وإنزيم (AST) في مصل الدم	27
(5-3)	طريقة حساب فعالية الإنزيم(AST) وأنزيم (ALT) مقدراً بالوحدة العالمية / لتر (U / L)	28
(6-3)	طريقة تقدير اليوريا في مصل الدم	29
(7-3)	طريقة تقديرالالبومين في مصل الدم	30
(8-3)	طريقة تقدير البليروبين الكلي في مصل الدم	31
(9-3)	طريقة تقدير الكولسترول الكلي في مصل الدم	33

قائمة الصور

الصفحة	الموضوع	رقم الصورة
21	البراعم الزهرية الجافة لنبات القرنفل	**1-3**
57	مقطع عرضي في نسيج الكبد للجرذ الأبيض (مجموعة السيطرة):- **A**- الوريد المركزي (Central Vein) **B**– الخلايا الكبدية **c**- جيبانيات الكبد (Hepatic sinusoids) **D**- خلايا كفر (Kupffer's Cell). (H & E stain) (×400).	**1-4**
58	مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الأبيض المعاملة بعقار CPA عند تركيز 20 ملغم/كغم من وزن الجسم:- **A**– تفجي هيولي الخلايا الكبدية **B** – تضخم خلايا كفر	**2-4**
59	مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الأبيض المعاملة بعقار CPA عند تركيز 20 ملغم/كغم من وزن الجسم : **A**-احتقان دموي في احد أوردة الكبد Blood congestion . (H & E stain) (×100).	**3-4**
60	مقطع عرضي في الكلى للجرذ الأبيض (مجموعة السيطرة) :- **A**– فسحة بومان **B** –الكبيبة الكلوية **c**- نبيب ملتوي داني D-– نبيب ملتوي قاصي (H & E stain) (×400).	**4-4**
60	مقطع عرضي في لب الكلى للجرذ الأبيض (مجموعة السيطرة):- **A**– عروات هنلي B- نبيبات جامعة للبول (H & E stain) (×100) .	**5-4**
61	مقطع عرضي في قشرة الكلى للجرذ الأبيض المعاملة بعقار CPA عند تركيز 20 ملغم/كغم من وزن الجسم :- **A**– التهاب الكبيبة التكاثري **Glomerularnephritis** **c**- انسلاخ الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية (H & E stain) (×400).	**6-4**
62	مقطع عرضي في لب الكلى للجرذ الأبيض المعاملة بعقار CPA عند تركيز 20 ملغم/كغم من وزن الجسم :- **A**-نزف بيني B– توسع عروات هنلي (H & E stain) (×200) .	**7-4**
79	مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الأبيض المعاملة بتركيز 300 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :- **A**-احتقان دموي في الوريد الكبدي **B**– توسع في جيبانيات الكبد (H & E stain) (×100) .	**8-4**
80	مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الأبيض المعاملة بتركيز 400 ملغرام/كغم من	**9-4**

المحتويات

	مستخلص القرنفل :- A- احتقان دموي في الوريد المركزي B- توسع في جيبانيات الكبد C- تنكس الخلايا الكبدية D- تنخر في الحبال الكبدية (H & E stain) (×400) .	
10-4	مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الأبيض المعاملة بتركيز 500 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :- A- وريد الكبد المركزي B- جيبانيات الكبد C- تغلظ نووي (Pyknotic nuclei) (H & E stain) (×400) .	81
11-4	مقطع عرضي في قشرة الكلى للجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 300 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :- A- انكماش الكبيبة الكلوية B-تغيرات نسجية في بطانة النبيبات الملتوية القاصية (H & E stain) (×400).	82
12-4	مقطع عرضي في لب كلى الجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 300 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :- A -نزف دموي بيني في عروات هنلي B- توسع في عروات هنلي (H & E stain) (×100) .	83
13-4	مقطع عرضي في قشرة الكلى للجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 400 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :- A- احتقان دموي في احد فروع الشريان الكلوي B- توسع في الوريد الكلوي بين الفصوص C- تنخر في بطانة النبيبات الملتوية الدانية والقاصية (H & E stain) (×100).	84
14-4	مقطع عرضي في لب الكلى للجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 400 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :- A - نزف دموي بيني في عروات هنلي B- توسع في عروات هنلي (H & E stain) (×100).	85
15-4	مقطع عرضي في قشرة الكلى للجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 500 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل:- A- الكبيبة الكلوية B- فسحة بومان (H & E stain) (×400).	86
16-4	مقطع عرضي في لب الكلى للجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 500 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل : - A-عروات هنلي (H & E stain) (×100) .	87

	قائمة الاشكال	

المحتويات

رقم الشكل	الموضوع	الصفحة
(1-4)	متوسط وزن الجسم لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	41
(2-4)	متوسط وزن الكبد لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة.	42
(3-4)	شكل (4-3) متوسط وزن الكلى لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	43
(4-4)	شكل (4-4) مستوى هرمون (LH) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	44
(5-4)	شكل (4-5) مستوى هرمون (Testosterone) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	45
(6-4)	شكل (4-6) مستوى هرمون (T3) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	46
(7-4)	شكل (4-7) مستوى هرمون (T4) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	47
(8-4)	شكل (4-8) مستوى هرمون (GH) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	48
(9-4)	شكل (4-9) مستوى أنزيم (ALP) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	49
(10-4)	شكل (4-10) مستوى أنزيم (ALT) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة.	50
(11-4)	شكل (4-11) مستوى أنزيم (AST) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	51
(12-4)	شكل (4-12) مستوى اليوريا (Urea) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	52
(13-4)	شكل (4-13) مستوى الألبومين (Albumin) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	53
(14-4)	شكل (4-14) مستوى البليروبين الكلي (T-Bil) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	54
(15-4)	شكل (4-15) مستوى الكولسترول الكلي (TC) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	55
(16-4)	شكل (4-16) مستوى أنزيم (LDH) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .	56
(17-3)	شكل (4-17) متوسط وزن الجسم لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	63
(18-4)	شكل (4-18) متوسط وزن الكبد لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA .	64
(19-4)	شكل (4-19) متوسط وزن الكلى لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA .	65
(20-3)	شكل (4-20) مستوى هرمون (LH) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	66
(21-3)	شكل (4-21) مستوى هرمون (Testosterone) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار	67

المحتويات

	.CPA	
(22-3)	شكل (4-22) مستوى هرمون (T3) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	68
(23-3)	شكل (4-23) مستوى هرمون (T4) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	69
(24-3)	شكل (4-24) مستوى هرمون (GH) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	70
(25-3)	شكل (4-25) مستوى انزيم (ALP) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	71
(26-4)	شكل (4-26) مستوى انزيم (ALT) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	72
(27-4)	شكل (4-27) مستوى إنزيم (AST) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	73
(28-4)	شكل (4-28) مستوى اليوريا Urea لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	74
(29-4)	شكل (4-29) مستوى الالبومين Albumin لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	75
(30-4)	شكل (4-30) مستوى البليروبين الكلي (TBil) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	76
(31-4)	شكل (4-31) مستوى الكولسترول الكلي (TC) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	77
(32-4)	شكل (4-32) مستوى انزيم (LDH) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.	78

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح
ALP	alkaline phosphatase
BHT	butylated hydroxyl toluene
CPA	Cyclophosphamide
DC	diene conjugates
COX-2	cyclo oxygenase -2
CSF	CerebroSpinal Fluid
D.P.X	DestrinePlastisizer Xylene
DMBA	dimethyl benz (a) anthracene
DNPH	dinitrophenylhydraizine
DPPH	diphenyl picryl hydrazyl
E	Eosin
ELISA	Enzyme – Linked immunoabsorbent assay
G6Pase	glucose-6-phosphatase
GH	Growth Hormone
AST	Aspartate-aminotransferase
GOX	Glutathione - peroxidase
ALT	Alanine-aminotransferase
GST	glutathione S transferase
H	Hematoxylin
LD_{50}	Lethal dose 50
LDH	Lactate dehydrogenase
LH	Luteinizing hormone
NADH	Nicotinamide adenine denucleotide
PCT	Proximal Convoluted Tubule
PPCK	phosphoenol pyruvate carboxy kinase
SOD	super oxide dismutase

T3	Triiodothyronine
T4	Thyroxin
TBARS	thiobarbitaric acid reactive substances
T-Bil	Total Bilirubin
TC	Total Cholesterol

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

الـمقـدمـة

Introduction

تعد النباتات الطبية دواءً طبيعيا وعلاجا مأمون المخاطر, إلا أنه معقد لأنه يحتوي على عدة مكونات فعالة تعمل في أجهزة الجسم المختلفة, وتبقى النباتات الطبيعية البديل الدوائي المناسب عن الأدوية الكيميائية والتي تنتج عنها مضاعفات وأثار جانبية شديدة. تؤدي العديد من أجزاء وأنواع بعض النباتات دوراً مهماً في التقليل من حدوث الطفرات الوراثية والوقاية من الأورام السرطانية المختلفة وقد تم أثبات ذلك في عدد كبير من الدراسات والأبحاث وباستعمال عدة أنظمة أختبارية من الكائنات الراقية والأحياء المجهرية وذلك لفهم الدور الحقيقي للنباتات سواء عند استعمالها بصورة طبيعية أو عند تحويلها إلى مستخلصات بمذيبات كيميائية مختلفة (Deflora and Ramel, 1988). وينتمي نبات القرنفل *Eugenia caryophyllus* إلى العائلة القرنفلية (Caryophyllaceae) وهو من الأشجار دائمة الخضرة والتي تنمو إلى مديات تتراوح من 10– 20 سم وتمتلك أوراقا بيضوية كبيرة وأزهارا قرمزية اللون في مجاميع متعددة لعناقيد طرفية، تكون البراعم الزهرية في البداية شاحبة اللون ثم تصبح خضراء تدريجياً وعندما تتضج تكون ذات لون احمر مشع (Kim *et al*., 1998). وهو من نباتات الزينة ويأتي بالمرتبة الثانية عالميًا بعد الورد الشجيري في تجارة أزهار القطف وتعد منطقة البحر المتوسط الموطن الأصلي له (Dole and Wilkins,1999). القرنفل نبات عشبي حولي يصل ارتفاعه إلى 60 سم تقريبا عند زراعته في الحدائق ويزداد ارتفاعه بمعدل 15 سم عند زراعته في الأصص, الأوراق ضيقة صغيره وطويلة متقابلة يتراوح لونها من الأخضر إلى الرمادي المخضر وأزهاره أما إن تكون كبيرة الحجم أو صغيرة متعددة الألوان حسب الأصناف ذات رائحة زكية (Galbally and Galbally, 1997), فضلا عن استمرارية النبات في التزهير لفترة تتراوح بين 7– 12 يوما بعد القطف, كما يمتاز القرنفل بوفرة الإنتاج إذ يبلغ متوسط أنتاج النبات الواحد (10-20) ساق زهري في العام الواحد (*الحيصة وآخرون*,2007).

للنبات العديد من الفوائد منها انه يستعمل كمطيبات للأطعمة والمشروبات وذو فائدة طبية باستعماله في علاج آلام الأسنان وتهدئة الأعصاب. كما وجد Lee and Shibamoto , (2001) أن مستخلص القرنفل يمتلك عدة مركبات فعالة لها تأثير مضاد للأكسدة (anti-oxidant) ومضادا للورم (antitumor). ويمتلك Eugenol وهو المركب الفعال من المستخلص فعالية عالية مثبطة للبكتريا (Burt and Reinders , 2003). وله فعالية مضادة للألتهابات (Dip *et al*., 2004).

كما يعد مضاداً فطرياً قوياً (Chami *et al*., 2004). فقد أفاد Nagabalu *et al*, (2010) أن مركب eugenol يقلل من تولد الجذور الحرة داخل الخلايا الطبيعية وبذلك فأنه يحد من الفعل التطفيري لها. كما بين Abdel Wahhab and Aly,(2005) أن القرنفل يعمل على خفض مستويات أنزيمات الكبد في المصل وتعود هذه الفعالية إلى وجود مضادات الأكسدة في القرنفل كما انه يحتوي على مركبات فينولية تعمل كوابح للجذور الحرة. وقد أشارات معظم الدراسات إلى أن المركبات الكيميائية النباتية التي لها خصائص مضادات أكسدة ومضادات الالتهاب تستطيع تثبيط الورم في مرحلة البدء وفي مرحلة التعزيز promotion والمرحلة المتقدمة (Banerjee and Das,2005). وان عقار Cyclophosphamide علاج كيميائي يستعمل لمعالجة مدى واسع لأنواع عديدة من السرطانات وبضمنها سرطان الثدي Breast Cancerوسرطان الرئة Lung Cancer ومرض ابيضاض الدم Leukemia وبعض الأورام اللمفية Lymphomas، كما أنه يستعمل في معالجة داء الذئب الإحمراري Erythematosis Lupus وكذلك فأنه يستعمل في معالجة مرض الخزب المتصلب Scleroderma والحالات المعقدة من مرض التهاب المفاصل وبعض حالات التهاب الأوعية الدموية Vasculitis ويستعمل كذلك لمعالجة مرض هودجكن Hodgkin disease .

ويعطى العقار بوصفه علاجاً مساعداً مع عقار 5-florouracil وعقار Methotrexate بعد إجراء العملية الجراحية لاستئصال سرطان الثدي وقد اظهر نتائج جيدة عند استعماله لمعالجة مرض ابيضاض الدم وسرطان عنق الرحم وسرطان المبيض.

وكذلك يستعمل في معالجة أمراض الكلى والأورام السرطانية في الأطفال، والأمراض غير السرطانية المرتبطة بالاختلالات المناعية وبضمنها الأورام الحبيبية Hardman *et al*.,1996;Michael,2004). ويتأيض السايكلوفوسفامايد بنظام الأكسدة المتعدد الوظائف Cytochrome الموجود في الكبد حالاً بعد حقنه وبعدها ينتقل إلى مواقع الحاجة له بصيغته الوسطية التي هي أيونات الكاربون ويتوزع العقار إلى بطانة الأمعاء Intestinal Mucosa ونقي العظم Marrow Bone والكبد Liver والأنسجة الأخرى. وعلى الرغم من ذوبانيته المحدودة في الدهون فان العقار يعبر الحاجز الدماغي الدموي Blood Brain Barrier (وتظهر عادة تراكيز عالية من العقار في الدماغ) ومن ثم ينتشر سريعاً إلى سائل النخاع ألشوكي Cerebrospinal Fluid (CSF) وأنسجة الدماغ ويتركز بعد حوالي 30 -60 دقيقة من الحقن بالوريد ويصل أعلى قيمة بعد 3 ساعات ويترسب ببطء بعد 9 ساعات . وعلى ضوء ذلك تم اختيار القرنفل في دراستنا الحالية وإمكانية نجاح مستخلص القرنفل في التقليل من الأضرار التي يحدثها عقارCPA, إذ أظهرت الدراسات العديدة لهذا العقار أنه يسبب تشوهات جنينية ونقص في الهيكل العظمي للجنين وعند أعطائه للحوامل يسبب اختزال الأصابع والأطراف

. (Reznik and Hecht,1979; Gilman *et al*., 1990 ; Trasler *et al*.,1996)

هدفت الدراسة الحالية إلى :

1 – دراسة التغيرات في مستويات بعض المعايير الهرمونية : GH, T3 ,T4 ,LH T, .

2– دراسة التغيرات في مستويات بعض المعايير الكيموحيوية : ALT, AST, ALP, LDH, TC ,TBil, Albumin, Urea .

3- دراسة التغيرات النسجية المرضية للكبد والكلى التي يسببها العقار.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

استعراض المراجع

Literature Review

1.2 نبات القرنفل *Eugenia caryophyllus*

1.1.2 نبذه عامة عن نبات القرنفل :

يعد القرنفل من النباتات العشبية الحولية ذات التربية الخاصة أفرعه متعددة مائلة بصورة قليلة والبراعم الزهرية flower buds تكون شاحبة اللون في بداية التزهير ثم تتدرج لتصبح ذات لون اخضر وبعدها تنضج لتصبح ذات لون احمر مشع وعندها تكون جاهزة للحصاد, طول هذه البراعم يتراوح من (1.5-2) سم تكون ذات كأس طويل ينتهي بأربع أوراق كآسية منبسطة sepals وأربع أوراق تويجية غير منتفخة تكون بدورها كرة صغيرة في المركز (Bin 2008 , mdderos). يتكاثر القرنفل بطريقتين الطريقة الخضرية تتم بواسطة العقل إما الطريقة الجنسية فتتم بواسطة البذور وتعد طريقة التكاثر بالبذور طريقة غير محبذه إذا ما أريد الاحتفاظ بالصفات الوراثية للصنف المراد تكثيره ويعود سبب ذلك لحصول اختلافات وراثية بين النباتات الناتجة من البذور فيما بينهما وبين النبات الأم من جانب أخر لذا فهي وسيلة لإنتاج أصناف جديدة (Galbally and Galbally, 1997). أما الطريقة الخضرية فتعد الطريقة الرئيسية المتبعة في التكاثر والتي تتصف بتشابه النباتات الناتجة عنها مع النبات الأصل المستخدم في التكاثر (صافي, 2004).

2.1.2 تصنيف نبات القرنفل :

Kingdom: Plantae

Division: Magnoliophyta- flowering plants.

Class: Magnoliopsida – dicotyledons plants.

Order: Myrtales

Family: Myrtaceae

Genus: *Eugenia*

Species: *caryophyllus* (Fringe)

تم تصنيف النبات اعتمادا على مفتاح التصنيف النباتي / مركز التأريخ الطبيعي – بغداد.

3.1.2 أهمية القرنفل من الناحية الاقتصادية والطبية :

يمتلك القرنفل زيوت طيارة فضلا عن زيوت غير طيارة كالتانينات والفلافونيدات والستيرويدات والكلايكوسيدات التي جعلت له أهمية طبية كبيرة, الـ eugenol هو المركب الفعال لزيت القرنفل والذي يشكل نسبة 70 – 95 % من الوزن الكلي للزيت وله استعمالات عديدة, منها استعماله في طب الأسنان كمخدر موضعي (Curtis, 1990).

وتعد خاصية القرنفل المطهرة مفيدة لمعالجة بعض الالتهابات الفيروسية وغالبا ما تستعمله بعض مناطق أسيا المدارية خاصيته المطهرة لعلاج الأمراض مثل الملاريا Malaria, والكوليرا Cholera والسل الرئوي Tuberculosis, كذلك يعد القرنفل منبها للعقل والجسم فهو يعمل على تنشيط الذاكرة والجسم, وقد استعمل لأعداد عملية الولادة إذ يعمل على تنبيه تقلصات الرحم وتقويتها في أثناء الولادة. كما يعد كذلك مزيلا للحمى ومطهراً للجسم ومعقما للمعدة والأمعاء ويقلل من آلام الرأس والصرع ويعزز المناعة ويخفف التهابات الحساسية ويستعمل مع زيت الزيتون في حالة الضعف العضلي والشلل (الزبيدي وبابان, 1996). أصبح العلاج بالمستخلصات النباتية يستعمل بكثرة لمعالجة أنواع مختلفة من الأمراض ومنها أمراض تصلب الشرايين وداء السكري والسرطان (Hemnani and Parihar, 1998). وقد أشار (2001), Lee and shibamoto بأن مشتقات eugenol تستعمل في صناعة المثبتات ومضادات الأكسدة للدائن والمطاط. كذلك يستعمل زيت القرنفل مضاداً جيداً للجراثيم ومضاداً للطفيليات وترياقا ومانعا للتعرق ومزيلا للروائح (Duke *et al*., 2003). كذلك ذكر (2008) ,*et al*. Lans أن زيت القرنفل يستعمل في علاج اضطرابات الجلد المختلفة مثل حب الشباب والبثور ويستعمل كذلك لمعالجة الحروق الشديدة والتهابات الجلد ولخفض حساسية الجلد كما يستعمل كمرهم لتخفيف الآم ولمعالجة مشاكل الأذن عند القطط والكلاب في بريطانيا وكولومبيا وكندا, ولكون القرنفل يعد من النباتات العطرية فقد استعمل في صناعة المنكهات.

4-1-2 مركبات القرنفل الفعالة :

الزيوت الأساسية في القرنفل هي المركبات الفعالة فيه ولها استعمالات مختلفة في الطب الشعبي وفي الصناعات الدوائية. وكما اشار اليها Zheng *et al*, (1992) هي eugenol وcaryophyllene وalpha-humulene و alpha-terpinyl و eugenyl و methyl eugenolو actyl eugenol و naphthalene و chavicol و heptanone و sesquiterpenes وmethyl salicylate pinene وvanillian، ومن بين هذه المركبات المختلفة يعد eugenol العنصر الأساس لزيت براعم القرنفل ويوجد بمقدار 81.1 % فضلا عن مركبي trans-caryophyllene و isoeugenol واللذين يوجدان بنسبة 7% 10.1% على الترتيب .

وقد ذكر Cai and Wui, (1996) إن هناك مجموعة مركبات استخلصت من القرنفل وثبت لها فعالية مثبطة لنمو المسببات المرضية الفموية Oral pathogens وهذه المركبات هي Kaempferol وRhamnocitrin و Biflorin وMyricetin وGallic acid و 5- 7–dihydroxy –2-methylchromone -8–*β*-D-glycopyranoside و Ellagic acid فضلا عن Oleanolic acid, كذلك توجد سبعة مركبات تم استخلاصها من البراعم الزهرية الجافة للقرنفل وهي eugenol و (7- 0 – methyl ether) kaempferol وoleanolic acid و 3,3,4 –tri - o- methylellagic acid و maslinic acid و *B*-sitosterol-3-0- glucoside ومركب isorhamnetin 3-0-glucoside، ويعد eugenol ذو فعالية مثبطة للـ COX-2 (2- cyclo oxygenase) وهو إنزيم محفز لسرطان القولون. أما Charles *et al*, (1998) فقد ذكر مركب آخر تم عزله من القرنفل وهو Orsellinic acid glucoside.

5-1-2 فعالية القرنفل المضادة للأكسدة :

عرف عن معظم النباتات العطرية والتوابل وبالأخص البراعم الزهرية للقرنفل وزيوتها الأساسية بأنها تمتلك فعاليات بيولوجية عديدة منها فعاليتها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات وفعلها الكابح للجذور الحرة يعود إلى قدرتها على وهب ذرات الهيدروجين. فعند تفاعلها مع مركب 1,2 diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) أدت إلى قصر لونه من البنفسجي الغامق إلى الأصفر الفاتح (Fum,2007). ويعد مركبي eugenol و Isoeugenol المستخلصين من القرنفل لهما تأثير مثبط لبيروكسيد اللسيثين الحاصل بواسطة نظام Fe^{2+}- H_2O_2 (Toda *et al.*, 1994). وكما بيّن Shahidi *et al*, (1995) إن الفعالية المضادة للأكسدة التي يمتلكها القرنفلClove والزنجبيلGinger والميرمية Sage والزعترThyme وإكليل الجبل Rosmaria في دهنيات اللحوم مرتبطة بتراكيز هذه المواد وكان للقرنفل ألمرتبه الأولى في التأثير يتبعه الميرمية ثم إكليل الجبل، أما الزعتر والزنجبيل فكانا الأضعف تأثيرا، ويعتقد أن القرنفل يمتلك فعلا مضادا للأكسدة يمكن أن يقضي على فعالية الجذور الحرة المؤدية إلى حدوث السرطان.

أن النباتات الحاوية على الفلافونيدات مؤثرة في منع الإصابة بالقرح المعدية، والسبب الرئيسي في ذلك هو امتلاكها فعالية مضادة للأكسدة (Harborne and Williams, 2000). كذلك لاحظ كل من Abdel- Wahhab and Aly, (2005) إن العلاج باستعمال القرنفل والهيل يقلل من مستويات إنزيمات الكبد في المصل، وينسب فعالية هذا العلاج إلى وجود مضادات الأكسدة في كل من القرنفل والهيل اللذين يحتويان على مركبات فينولية تعمل كوابح للجذور الحرة. و للقرنفل أهمية في منع الشد العصبي والعطل الوعائي المحفز بواسطة عقار Streptozotoecin، والمؤدي لحدوث سكري الجرذان وان هذه الفعاليات تعود إلى وجود الزيوت في القرنفل وخصوصا eugenol، لذلك فان مضادات الأكسدة من الممكن استعمالها في منع الإجهاد المحفز للتغيرات المرضية (Nangle *et al*., 2006).

كما أظهر المستخلص الميثانولي للقرنفل والزنجبيل والفلفل الأسود و الهيل فعالية قريبة لفعالية ascorbic acid (Vit.C) بوصفه مضاداً للأكسدة بسبب احتوائه على مواد كابحة للجذور الحرة مثل الفينولات المتعددة والفلافونيدات والأحماض الفينولية (2008 Khalaf *et al* .,). كذلك وجد أن المستخلص الكحولي المائي للقرنفل له فعالية عالية مضادة للإجهاد (anti-stress). فالجرعة العالية للمستخلص حالت دون تطور القرح المعوية في مجموعة الفئران التي تعرضت لإجهاد ضبط النفس cold- restraint stress المحفز للقرحة المعوية، كما أدى إلى انخفاض مستويات الدلائل الكيميوحيوية biochemical markers على تضرر الخلايا. وفضلا عن انخفاض التأثيرات الناتجة عن إجهاد نقص تجهيز الأوكسجين (anoxic–stress) الحاث للتشنجات في الفئران المعاملة بمستخلص القرنفل (Singh *et al*., 2009).

كما إن جميع مستخلصات القرنفل و الفلافونويدات المعزولة منها مضادات أكسدة قوية في اختبار diphenyl picryl hydrazyl . ويعد المستخلص الأيثانولي لبراعم أزهار القرنفل هو الأفضل في كبح الجذور الحرة مقارنة بمضادات الأكسدة المصنعة مثل butylated hydroxyl toluene (BHT) (Nagababu *et al*., 2010) .

6-1-2 فـعـالـيـة الـقـرنـفـل الـمـضـادة لـلـسـرطـان :

إن الايوجينول من المركبات المهمة في منع حدوث السرطان و الطفرات الوراثية (Zheng *et al*., 1992). إذ يعد القرنفل من مضادات التسرطن لاحتوائه على الفلافونيدات، وان فعالية المركبات الفينولية ومنها الفلافونيدات تتمثل بامتلاكها فعل مضاد للأكسدة ومضاد للتسرطن إذ تعمل على إزالة الجذور الحرة المتولدة وبذلك توجه الخلية للدخول في مرحلة الموت الخلوي المبرمج (Apoptosis) ومن الأمثلة على الخلايا السرطانية التي تكون حساسة للمركبات الفينولية خارج الجسم *in vitro* هي خلايا سرطان الحنجرة Hep-2 وخلايا سرطان عنق الرحم

والقولون وسرطان البروستات (Forkman and 2001 Martens,) .

وان نظائرEugenol الخمسة يتم الحصول عليها من تفاعلات (acetylation) و(nitration)، وقد تم اختبار تلك النظائر خارج الجسم In vitro باستعمال خطين من خلايا السرطان البشرية وهما KB (oral squamous carcinoma cells) وDU-145 (androgen – insensitive prostate cancer cells). وقد وجد أن لنظائر eugenol فعلاً مثبطا على كلا الخطين بتركيز أقل من 50×10^{-6} مول/لتر، ويعتقد أن احتواء eugenol على مجاميع الهيدروكسيل والنيترو(nitro and hydroxyl groups) لها الأثر الفعال في تأثيره المضاد للسرطان، فضلا عن ظهور الموت المبرمج للخلايا (Apoptosis) في خلايا KB و DU-145 (Carrasco *et al*., 2008).

وجد كذلك من خلال الدراسة التي أجراها Banerjee and Das, (2005) على جلد الفئران السويسرية أن النقيع المائي للقرنفل تمكن من تثبيط عملية تكوّن السرطان (carcinogenesis)، إذ سبب اختزالاً في مدى حدوث سرطان الجلد(skin papilloma) بشكل كبير، وتبين من خلال النتائج إن الفعل الوقائي لنقيع القرنفل المائي ضد corton oilو DMBA (9,10- dimethyl benz (a) anthracene) المحفزة على تكون سرطان الجلد في الجرع المعتمدة والتجريع الفموي للنقيع، لا يؤخر فقط تكوين سرطان الجلد الحليمي ولكن يقلل أيضا مدى تأثير الورم ألحليمي في الجلد فضلا عن العدد المتراكم للورم.

وأما في الفئران التي حفز فيها سرطان الرئة كيميائياً لوحظ أن المستخلص المائي للقرنفل قلل وبشكل معنوي مدى حدوث عدم التنسج (dysplasia) و التنسج ألبعدي (metaplasia) والسرطان (carcinoma) موضعيا (Banerjee *et al*., 2006). فقد أشار Hussain *et al*.,(2009) إن العلاج الكيميائي بعقار الـ Gemcitabine لخلايا السرطان العنقي المقاوم للعلاج الكيميائي والإشعاعي، كان له اثر سمي عال على الخلايا السرطانية

والخلايا الطبيعية بينما وجد أن مستخلص القرنفل بتركيز (0.7–8) ملغم/كغم كان أكثر سمية تجاه الخلايا السرطانية فقط .

كما إن الجرعة الواطئة للعلاج عند إعطائها مع مستخلص القرنفل الإيثانولي بتركيز (2–3) ملغم/كغم وجد لها تأثير سمي واضح على الخلايا السرطانية مقارنة بالجرعة المفردة للعلاج بالعقار لوحده، مما يشير إلى أن المستخلص قد رفع من كفاءة عقار الـ gemcitabine .

7-1-2 فعالية القرنفل ضد البكتريا والفطريات :

لقد عرف عن القرنفل انه مضاد فعال للعديد من الأحياء المجهرية، ومن تلك الإحياء هي البكتريا ومثالها *Staphyllococcus aureus* و *Campylobacter jejuni* و *Salmonella enterides* و *Escherichia coli* (Al-Khayant and Blank, 1985).

وأكدت العديد من الأبحاث فعالية القرنفل ضد الفيروسات، فمركب (eugenin) المستخلص من القرنفل يمتلك تأثيراً مضاداً لفيروس (herpes) من خلال تثبيط عملية تخليق الحامض النووي الفيروسي (Montes-Belmont and Carvajal, 1998). كما وجد أن المستخلص المائي للقرنفل يمتلك فعالية مثبطة لإنزيم protease لفيروس التهاب الكبد من النوع C (Shiraki *et al*., 1998). إذ بين El- Hag *et al*, (1999) إن النقيع المائي للقرنفل ثبّط نمو السبورات الجرثومية لبكتيريا *Bacillus subtilis* .

وفي بحث تم أجراؤه لمعرفة تأثير القرنفل المجرع بطريقتين مختلفتين على نمو فطر *Candida albicans* أعطي مستحضر القرنفل داخل التجويف ألفمي للفئران المصابة بالفطر إذ وجد تحسن أعراض الفم وانخفاض الخلايا القابلة للنمو لـ *Candida* هذا من جانب، ومن جانب آخر عندما أعطي مستحضر القرنفل داخل التجويف المعدي intragastrically لوحظ إن

أعراض الفم لم تتحسن إلا ان أعداد الخلايا القابلة للنمو قد انخفضت مما يشير إلى إن القرنفل ثبط نمو فطر *Candida* في القناة الهضمية (Taguchi *et al*., 2005).

كما تبين إن المستخلصات المائية لكل من القرنفل والقرفة والزنجبيل والتي استعملت بتراكيز مختلفة (10% 15% 20%) ضد نمو فطر *Aspergillus niger* إذ إن التركيز (20%) كان التركيز الأكثر فعالية في تثبيط نمو هذا الفطر ونمو الهايفات وان نسبة عدم نمو هذا الفطر كانت عالية جداً عند استعمال مستخلص القرنفل، يتبعه مستخلص القرفة بنسبة 73. 24 % أما مستخلص الزنجبيل فلم يسجل أي فعالية تثبيطية مضادة للفطر، ويعتقد أن مركب eugenol في القرنفل هو المسؤول عن هذه الفعالية (Gautam *et al* ., 2010) .

8-1-2 فعالية القرنفل الوظيفية وتأثيراته الإيضية :

أوضح Srivastava and Justesen, (1987) إلى إن المستخلص الأيثري (ethereal extract) للقرنفل يمنع وبقوة تجمّع الصفائح الدموية platlets عن طريق خفض تخليق prostanoid وهي مجموعة من المركبات الدهنية الذائبة التي تنتجها معظم الخلايا الجسمية.

وقد أمكن عزل مركبي eugenol و eugenol acetate من القرنفل بوصفها مركبات فعالة مضادة لتجّمع الصفائح الدموية (antiplatlet)، إذ تثبط هذه المركبات حامض الاركيدونيك والأدرنالين والكولاجين المحفزة لتجّمع الصفائح الدموية.

كما لهذه المركبات الفعالة سلوك مانع تخثر(anti-aggregation) عن طريق منع تكون ثرومبوكسين الصفائح وزيادة تكّون إنزيم Lipoxygenase– 12، إذ وجد أنها أكثر فعالية من الأسبرين في منع التخثر الحاصل بواسطة arcodenic acid والأدرنالين والكولاجين

(Srivastava and Mustafa, 1993), وفضلا عن أن مستوى الكلوتاثيون GSH قد أنخفض وبشكل واضح في كبد وكلى مجموعة الجرذان ذات الفرط ألدهني (Hyperlipidemic) أي الحيوانات التي أخذت غذاء عالي المحتوى ألدهني، بينما أظهرت مستويات اليوريا واللبيدات

وأنزيمات AST (Aspartate-aminotransferase) و ALT (Alanine-aminotransferase) الموجودة في المصل والكبد والكلى ارتفاعاً معنوياً .

كما ارتفعت مستويات TBARS (Thiobarbitaric acid reactive substances) و DC (Diene conjugates) وهذا حث على تحفيز التولد للجذور الحرة وزيادة فعالية عملية بيروكسدة الدهون، كما وجد إن مستويات هذه المركبات قد سجلت ميلا للرجوع إلى الحالة الطبيعية في المجاميع التي تم تجريعها مستخلص القرنفل، وأوضحت النتائج أيضا إن أنزيمات الأكسدة مثل (Catalase) و GOX (glutathione – Peroxidase) وSOD (Super Oxide Dismutase) و GST (Glutathione transferase) في مجموعة الجرذان التي جرعت المستخلص أظهرت تحسنا في فعالياتها (Shyamala *et al*., 2003).

كما ان المعاملة بمستخلص القرنفل ترفع من مستويات الهرمونات التالية GH, (Testosterone, T3,T4) بينما تؤدي إلى خفض مستوى هرمون (LH)

(Harrington *et al*., 1991; Yakubu,2007).

كذلك وجد أن مستخلص القرنفل له فعل مشابه لفعل الأنسولين في الخلايا الكبدية (hepatocytes) وخلايا الورم الكبدي (hepatoma) بخفض التعبير الجيني لـ PEPCK (phosphoenol pyruvate carboxy kinase) و G6Pase (glucose-6-phosphatase) وتشمل الإنزيمات التي تتحكم في عملية تخليق الكلوكوز الكبدي (Prasad *et al*., 2005).

كذلك وجد إن مركب eugenol المستخلص من القرنفل أدى إلى تثبيط amyloid – β – peptide المحفز للتدفق المفرط لأيونات الكالسيوم إلى الخلايا العصبية مؤديا بذلك إلى الموت العصبي وبذلك يعطي دعما للعلاج بالأعشاب الحاوية على المركبات الفعالة لعلاج مرض الزهايمر(Lee *et al*., 2005). وبينت الدراسات الحديثة إمكانية استعمال eugenol كدواء لعلاج هذا المرض (Irie,2006). ويعد وجود القرنفل في غذاء الفأر المعاملة

برابع كلوريد الكاربون CCl4 خافض للتغييرات النسجية المرضية لأنسجة الكبد وأعادها إلى الحالة الطبيعية، كما أعاد نشاط إنزيمات الكبد مثل catalase .

وقد وجد تأثير الغذاء المكمل بالقرنفل وقشور الرمان على كبد الفئران المعاملة بـ CCl4 حيث أدى إلى زيادة مستوى الألبومين وخفض مستوى الإنزيمات AST وALT و TBil و ALP , (Abdel-Rahman and Abd El- Megeid 2006) .

كما أشار Shyamala *et al* , (2003) إلى إن المعاملة بالقرنفل تؤدي إلى رفع مستوى اليوريا. .وخفض مستوى الكولسترول الكلي (Nathan *et al*., 2005). كذلك إن استعمال مجموعة جرع مختلفة من المستخلص الأيثانولي للقرنفل قد حسّن قابلية التعلم واستدعاء الذاكرة الطويلة الأمد والقصيرة الأمد لدى الفأر مقارنة مع مجموعة السيطرة وكان الفرق معنويا عند استعمال التراكيز 100و200 ملغم/كغم (Dashti and Morshedi, 2009).

2-2 السايكلوفوسفامايد (تصنيفه , استعماله) :

يصنف عقار CPA ضمن مجموعة العوامل المؤلكلة Alkylating Agents حسب تصنيف الأدوية المضادة للسرطان التي تتداخل مع عمليات استنساخ الأحماض النووية في الخلية وترجمتها ومن ثم تتداخل مع عمليات انقسام الخلية و تقوم بتقطيع هيكلة الحمض النووي DNA في كل مراحل دورة حياة الخلية (Boesen and Davis,1969;Haskell,1977;Davidson *et al*.,1990;Hasiet *et al*., 1999). ويستعمل عقار CPA في علم المداواة الكيميائي على نطاق واسع و كعامل محصن للعديد من الطرائق العلاجية ضد مرض السرطان وخاصة الطرائق الهجومية بالجرعات العلاجية مع عدد من العلاجات الدوائية الشافية (Rodjer *et al*.,1990;Sutton *et al*., 1990) .

ويعطى العقار بوصفه علاجاً مساعداً مع عقار 5-florouracil وعقارMethotrexate بعد إجراء العملية الجراحية لاستئصال سرطان الثدي وقد اظهر نتائج جيدة عند استعماله لمعالجة مرض ابيضاض الدم وسرطان عنق الرحم وسرطان المبيض.

وكذلك يستعمل في معالجة أمراض الكلى والأورام السرطانية في الأطفال، والأمراض غير السرطانية المرتبطة بالاختلالات المناعية وبضمنها الأورام الحبيبية (Hardman *et al*.,1996;Michael,2004). كما إن عقار CPA يعمل على رفع مستوى هرمون LH في المصل (Jequier, 2000). وان الجرعة النصف قاتلة (LD_{50}) لهذا العقار في الجرذ للحقن تحت الجلد هي 1655ملغرام/كغم (Atsdr, 1990;Cart Wright, 2003).

ويخفض مستويات كل من الهرمونات التالية (GH,Testosterone,T3,T4)

(Steinberg and Steinberg,1991; Salido *et al*., 2003). كذلك يزيد من مستويات إنزيمات الكبد (vandenberghe, 1995). فضلا عن خفض مستوى الألبومين

(Abdel-Wahhab and Aly, 2005) . وزيادة مستوى البليروبين(Oboh, (2006 . كذلك حدوث زيادة في مستوى الكولسترول الكلي في الدم (Owu *et al*., 2006). وزيادة مستوى إنزيم (LDH)ورفع مستوى اليوريا

. (Kanellis and Kang, 2005; Ikizler *et al*., 2007; Nagi *et al*., 2010)

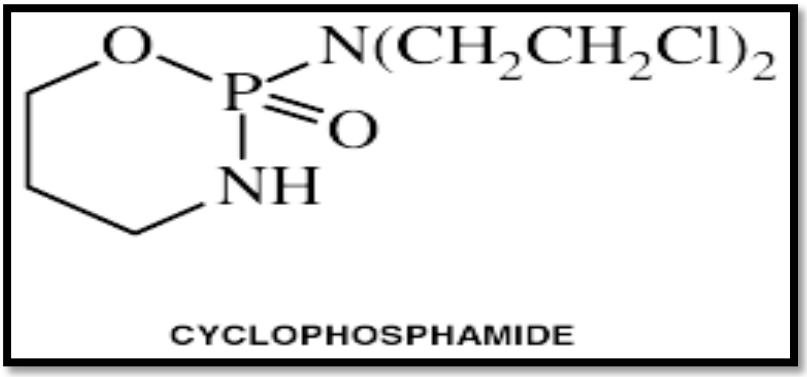
ويعمل العقار عن طريق التصاقه مع الحامض النووي الريبوزي المنقوص الأوكسجين DNA للخلايا وهذا يمنع الخلايا من الانقسام أو النمو وربما يؤدي هذا الشيء إلى موت الخلية ومن أكثر الخلايا المستهدفة هي الخلايا المناعية ومنها خلايا الدم البيض وان DNA هو الشفرة الجينية الموجودة في كل الخلايا الحيوانية والنباتية وهو الذي يسيطر على كل عمل تقوم به الخلية ومن دونه لا تستطيع الخلايا أن تنقسم لخليتين(Center Research UK, 2004). وCPA لا يتواجد بصورة حرة في الطبيعة (Iarc,1975), وهو أستر فوسفمايد حلقي للميكلورايثامين Acyclic Phosphamide Ester of mechlorethamin. (Haskell, 1990). وقد بينت الدراسات إلى أن CPA والعديد من العوامل العلاجية الكيميائية تسبب حدوث طفرات جينية وكسور كروموسومية وإعادة ترتيب الكروموسومات في الخلايا الجسدية فضلاً عن زيادة تردد الأورام الثانوية المرتبطة بالمعالجة في المرضى المصابين بالسرطان

(Sandoval *et al*.,1993; Povirk and Shuker,1994 ;Ben-Yehuda *et al*., 1996).

1-2-2 مزايا السايكلوفوسفامايد الفيزيائية والكيميائية :

العقار عبارة عن بلورات صلبة بيضاء اللون، عديمة الرائحة، ذات طعم مر لاذع نوعاً ما، يتميع عند فقدانه لماء التبلور, درجة انصهاره 49.5–53 درجة مئوية, ذو حساسية عالية للرطوبة والأكسدة، يذوب في الماء المقطر بنسبة 25:1. ويذوب في الكحول بنسبة 1:1، وهو قليل الذوبانية في البنزين والكلوروفورم وذوبانيته قليلة جداً في الإيثر والأسيتون .

(Reynolds and Prassad , 1982;Osol,1980;Iarc,1987; Lewis, 1993;Lewis,1997). الوزن الجزيئي للعقار هو 261.10 دالتون والصيغة الجزيئية له هي C_7-H_{15}-Cl_2-N_2-O_2-P (Merck,1983;Budavari,1989) .



التركيب الكيميائي للسايكلوفوسفامايد (Saly,2002)

2-2-2 الآثار الجانبية للعقار على الدم :

من جملة التأثيرات البارزة في حالة استعمال عقار CPA هو حدوث كبت لنخاع العظم وقلة عدد الصفيحات الدموية وعدد خلايا الدم البيض بعد أسبوع واحد من اخذ العقار. كما إن لمضادات السرطان تأثيرات وخصائص سمية ومن ضمنها CPA, إذ إن معالجة الإناث بهذا العقار يؤدي إلى حدوث انخفاضٍ في مستوى الخلايا اللمفية في الدم، كما إن انخفاض عدد خلايا الدم البيض في جسم المريض يجعله عرضة للإصابة بالأحياء المجهرية بسبب قلة المناعة في جسم المريض (Unknown, 1999) .

3-2-2 الآثار الجانبية للعقار على الكبد :

وجد لعقار CPA تغيرات نسجية مرضية في أعضاء عدة منها الكبد والكلية والمثانة , الصائم (Waldeck,1972 ; Demin *et al*.,1996; Anton, 1997).

وقد أشارت البحوث إلى أن عقار CPA سبب ظهور تغيرات نسجية مرضية في كبد وكلية العلجوم Toad Bufo (Saber and Dahlawi, 1998), وعند المعاملة بعقار CPAيحدث تسمم الكبد وتتمثل هذه الحالة بحدوث تنخر وتغيرات دهنية وتليف وتلف للأوعية الدموية كما يسبب حدوث اضطراب في وظيفة الكبد وبالتالي يؤدي إلى تغير أيض الدواء داخل الكبد. وفي دراسة أخرى سجلت ظاهرة تسمم الكبد وزيادة في مستوى البيليروبين وزيادة في مستوى الفوسفات القاعدي وذلك عند إعطاء عقار CPA وعقار Doxorubicin (Adriamycin) لمرضى ابيضاض الدم، وعند إجراء الفحص النسيجي لخزعة من الكبد ثبت حدوث التنخر لخلايا الكبد وترشح الخلايا الدموية البيض فضلا عن حدوث تغيرات دهنية في الكبد. ويعتقد العلماء أن تجمع Doxorubicin داخل الخلايا الكبدية ربما يكون فعالا في إحداث التأثير السمي للكبد فضلاً عن التأثير الذي يسببهCPA (Paul Michael,2001). and

4-2-2 الآثار الجانبية للعقار على الكلية :

يعتقد بعض الباحثين أن لعقارCPA تأثير مباشر على الأنابيب الكلوية القريبة والبعيدة والقنوات الجامعة (Schilsky,1982). كما انه يؤدي إلى تطور الالتهابات وتولد خلايا ظهارية رقيقة وتشكيل أوعية دموية جديدة. وإن من مميزات العلاجات الكيميائية أنها تسبب تسمم كلوي (مباشر وغير مباشر). وتستعمل العلاجات الكيميائية لمعالجة الأورام الخبيثة وكثيرا ما تسبب سمية حادة للمرضى بالرغم من إن اكبر نسبة سمية تحدث في معظم الأحيان في نخاع العظم, الجلد, الجهاز الهضمي والأنسجة, وترتبط بعضها مع سمية كلوية, إذ إن الآثار غير المباشرة تحدث في الدرجة الأولى نتيجة تحلل الخلايا السرطانية وتحرير كميات كبيرة من الايونات داخل الخلايا والايض (Philips *et al*., 1961) .

ونادرا ما تحدث أورام خبيثة للجهاز التناسلي للمرأة, كما إن تحرير حامض اليوريك بكميات كبيرة يمكن إن يؤدي إلى اعتلال كلوي نتيجة ترسب بلورات حامض اليوريك في الأنابيب الكلوية البعيدة والقنوات الجامعة (Barton, 1989). وقد تم وصف السمية الكلوية من قبل المختصين في العلاج الكيميائي ويعتقد إن سبب حدوثها يرتبط في معظم الحالات باستخدام العلاجات الكيميائية الخاصة بالأورام الخبيثة للجهاز التناسلي للمرأة ومن تلك العلاجات المستعملة , Cyclophosphomide, Mitomycin –c, Cisplatin, Mathotrexate . Thigpen (1990,). كما إن الجرع الكيميائية المحددة تسبب سمية كلوية, فشل كلوي, تنخر كلوي أنبوبي, وانحطاط , وذمة خلالية ويعتقد إن النبيب الكلوي الداني هو الموقع الأساسي لتأثير عقارCPAالسمي (Hayes *et al*,. 1977 ; Rainey *et al*., 1978).

كما أن سبب موت الخلايا الكلوية الناجم عن تعاطي عقار (Cisplatin) غير معروف وان استخدام كل من Hydrationh ,Mannitol, Furosemide يعد فعالاً للحماية من السمية الكلوية (Safirstein *et al.,* 1986) .

5-2-2 الأورام الثانوية التي ينتجها العقار :

يعد ظهور الأورام الثانوية الخبيثة مؤشراً لتأثيرات جانبية متأخرة لمختلف العوامل المعالجة الكيميائية بالرغم من إن سبب حدوثها غير واضح فيما إذا كان السبب فعل تطفيري لهذه العوامل أو بسبب فعلها الكابح للمناعة, كما إن تأثير مقدار الجرعة ومدة العلاج غير معروف في إحداث الأورام إلا إن السبب في ذلك يعتقد انه يعود إلى الاستعمال الطويل المدى لهذه العوامل العلاجية يزيد من فرصة تكوين أورام ثانوية خبيثة. ونظرا لقلة الدراسات في هذا المجال فقد وجدت حالات لحدوث السرطان في الإنسان والحيوانات ومنها سرطان الأنسجة المكونة للدم وسرطان الأنسجة اللمفاوية وسرطان المثانة (وبالأخص عند الإصابة بنزف المثانة) عند استعمالهم لعقار CPA بعد عدة سنوات من المعالجة (Iarc, 1987).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل
Materials & Methods

3- 1 حيوانات التجربة :

استعملت في هذه الدراسة ذكور الجرذ الأبيض البالغة (White rats) بعمر (5) أشهر وبمعدل وزن 230- 250 غم, وتم الحصول عليها من البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري جامعة القادسية وتم إيواؤها في البيت الحيواني التابع لكلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء إذ وضعت في أقفاص بلاستيكية وأعطيت العليقة الغذائية والماء اللازم لها بصوره حرة *ad libitum*, فضلا عن تبديل أرضية الأقفاص بين مدة وأخرى للمحافظة على نظافة الحيوانات, وتركت الحيوانات لمدة أسبوعين لكي تتأقلم مع ظروف التجربة قبل إخضاعها للدراسة .

3-2 الأجهزة والأدوات والمواد الكيميائية المستعملة :

استعملت في الدراسة أجهزة عدة (جدول 3-1) ومواد كيميائية وعدد مختلفة تم الحصول عليها جاهزة بشكل عدة قياس (Standard Kits) وكما موضحه في جدول (3-2).

3-2-1 الأجهزة والأدوات :

جدول (3-2) يبين الأجهزة المستعملة في الاختبارات الخاصة بالدراسة الحالية حسب الشركة المصنعة والمنشأ .

ت	أسم الجهاز أو المستلزم Equipments	الشركة المصنعة والمنشأ Company & Country
1	Camera Digital	Mettler,(Germany)
2	Centrifuge	Hereaus (Germany)
3	Deep Freezer	Japan
4	Distiller water	Gellen Kamp (England)
5	Electrical sensitive balance	Sartorius(Germany)
6	ELISA System	Biolisa Reader,Spain
7	Filter Paper	Ahlstrom (USA)

Glassco (India)	Hot Plate	**8**
Pro –way (China)	Light microscope	**9**
Labtech (Korea)	Magnetic stirrer	**10**
Jordan	Medical syringe	**11**
Bio Basic (Canada)	Micropipettes	**12**
Histo-Line Labratories, Italy	Microtome	**13**
China	Pipits tips	**14**
Volac (England)	Pyrex	**15**
China	Slide Basket	**16**
China Mheco,china	Slides	**17**
Schoot , Germany	Soxhlet extractor	**18**
The Specialazation Co.,Ltd.	Spectrophotometer	**19**
China	Test tube (Jell)	**20**
Labtech (Korea)	Water bath	**21**

3-2-2 المواد الكيميائية والعدد :

جدول (3-2) يبين العدد والمواد الكيميائية المستخدمة في القياسات الخاصة بالدراسة .

ت	أسم المادة الكيمائية	الشركة المصنعة والمنشأ
1	Cyclophosphomide	Baxter (Germany)
2	Absolute ethanol	Scharlau (Spain)
3	Chloroform	BDH(England)
4	Formalin	Edutek chemicals
5	Xylene	International prolabo
6	Eosin stain	BHD – India
7	Hematoxylen stain	BHD – India
8	D.P.X	BHD – India
9	Paraffin wax	Merck-Germany
10	LH(Kit)	Veda Lab Veda,Germany
11	Testosterone (Kit)	Veda Lab Veda,Germany
12	GH (Kit)	Veda Lab Veda,Germany
13	T3(Kit)	Veda Lab Veda,Germany
14	T4(Kit)	Veda Lab Veda,Germany
15	ALP, ALT, AST (Kit)	Randox,United kingdom BT 29 4 QY
16	TBil (Kit)	Linear Chemicals S.L., Spain
17	Albumin (Kit)	Linear Chemicals S.L., Spain
18	TC (Kit)	Atlas,U.S.A
19	Urea (Kit)	Randox,United kingdom

		BT 29 4 QY
20	LDH (Kit)	Linear Chemicals S.L. , Spain

3-3 النبات المستعمل في الدراسة :

استعملت في هذه الدراسة البراعم الزهرية الجافة لنبات القرنفل المتوفرة في السوق المحلية لدى العطارين وبائعي الأعشاب الطبية, وتم تصنيف النبات اعتمادا على مفتاح التصنيف النباتي / مركز التأريخ الطبيعي – بغداد .

صورة (3-1) البراعم الزهرية الجافة لنبات القرنفل .

4-3 تصميم التجربة :

استعملت في هذه الدراسة (40) جرذاً ابيض(White rats) من الذكور البالغة واستمرت الدراسة (6) أشهر إذ امتدت من شهر شباط إلى شهر تموز من عام 2013, إذ قسمت العينات إلى (4) مجاميع بصورة عشوائية بواقع (10) جرذ لكل مجموعة, المجموعة الأولى عدتْ مجموعة سيطرة, إذ أعطيت العليقة الغذائية والماء اللازم وتم التضحية بالحيوانات بعد مضي ثلاث أسابيع, أما المجاميع الثلاثة المتبقية (الثانية والثالثة والرابعة) فقد أجريت عليها الدراسة ولمدة شهرين, في الشهر الأول تم حقن (10) جرذ من كل مجموعة بعقار CPA وبتركيز(20) ملغرام / كغم من وزن الجسم (1981 , Shubber) بهدف إحداث الإصابة, وتم التضحية بالحيوانات بعد مضي 30 يوما لغرض إجراء الفحوصات المختبرية والنسجية اللازمة, وتمت مقارنتها مع مجموعة السيطرة .

وفي الشهر الثاني من الدراسة جرعت حيوانات المجاميع المصابة المتبقية (الثانية , الثالثة , الرابعة) جرعة فموية من المستخلص الكحولي للقرنفل بحيث تم أعطاء المجموعة الثانية جرعة بتركيز (300) ملغرام/ كغم, المجموعة الثالثة أعطيت تركيز (400) ملغرام/كغم, المجموعة الرابعة أعطيت تركيز (500) ملغرام / كغم (Tajuddin *et al* , 2004) من وزن الجسم, وبعدها تم التضحية بالحيوانات بهدف إكمال الفحوصات المختيرية والنسجية المطلوبة وتمت مقارنتها مع الحيوانات المعاملة بعقار CPA .

. ...
...................................المـواد وطرائـق
الـعمل

5-3 قياس أوزان الحيوانات وأعضائها :

تم اخذ الوزن الكلي للجسم باستعمال ميزان ذي مرتبة عشرية واحدة نوع Sartorius، كما تم اخذ أوزان الأعضاء (الكبد والكلى) باستعمال ميزان حساس ذي أربع مراتب عشرية نوع Sartorius .

6-3 جمع عينات الدم وخزنها :

تم جمع عينات الدم باعتماد أخذ الدم من القلب, إذ تم أخذ (3) مل من كل جرذ ثم وضعت في أنابيب اختبار حاوية على جل, بعد ذلك وضعت في جهاز الطرد المركزي Centrifuge على قوة 3000دورة / دقيقة لمدة (10) دقيقة, وبعد انتهاء عملية الطرد Centrifugation- انعزلت طبقة المصل عن بقية مكونات الدم, وسحب المصل بواسطة ماصة دقيقة Micropipett ثم وضع في أنابيب بلاستيكية جديدة لغرض إجراء الاختبارات الوظيفية, بعد ذلك حفظت عينات المصل بدرجة حرارة (4-) °م حفاظاً عليها من التلف ولحين الاستعمال .

7-3 قياس مستوى بعض الهرمونات والمعايير الكيموحيوية :

1-7-3 قياس مستوى بعض الهرمونات :

استعملت طريقة فحص الامتصاص المناعي لوصلة الإنزيم (Enzyme – Linked immunoabsorbent assay) ELISA والتي وصفت من قبل Wistom(1976); Uotila *et al*, (1981) لقياس معايير الدم الهرمونية الآتية (LH,GH,T3,T4,T).

طريقة العمل Procedure :

1- يضاف 25- 100 مايكرو لتر **UI** (كل حسب طريقته)من المحاليل القياسية ذات الدلالة وبتراكيز وحدات مختلفة والنموذج والسيطرة في حفر الصفيحة ذات المعايير الدقيقة .

2- يضاف (100) مايكرو لتر **UI** من الكاشف الإنزيم الرابط (نفس الإضافة لجميع طرق عمل الهرمونات) .

3- يتم الخلط بدقة لمدة 10-30 ثانية ويتم الحضن في درجة حرارة الغرفة 18-25 درجة مئوية أو في الحاضنة ضمن هذه الدرجة من 60-120 دقيقة (كل حسب طريقة عمله) .

4- يتم إزالة الخليط المحضون من الحفر بواسطة النقر بالإصبع أو بأجهزة خاصة لسحب هذا الخليط وتغسل الصفيحة ذات المعايير الدقيقة خمس مرات بالماء المقطر.

5- تدق الصفيحة ذات المعايير الدقيقة بشدة على ورق مجفف أو ممتصة paper towels or absorbent paper لإزالة قطرات الماء المتبقية .

6-يضاف (100) مايكرو لتر **UI** من المادة الأساس (إضافة ثابتة في كل طرق العمل) ثم يمزج بلطف لمدة 5-10 ثانية (كل حسب طريقة عملة) والحضن في درجة حرارة الغرفة وفي مكان مظلم لمدة (20) دقيقة .

7-يضاف 100 مايكرو لتر**UI** من محلول إيقاف التفاعل (1N HCL) Stop solution والإضافة ثابتة في كل طرق العمل .

8-الخلط بلطف لمدة (30) ثانية (ثابتة لكل طرق العمل) وان هذه المرحلة مهمة جدا ويجب عملها بالضبط لإتمام تغيير كل اللون الأزرق إلى اللون الأصفر .

9- يتم قراءة الامتصاصية على طول موجي 450 nm وخلال (15) دقيقة .

10- يتم ترتيب المنحني القياسي بواسطة رسم العلاقة بين الامتصاصية والتراكيز القياسية ذات الدلالة وبوحدات مختلفة لكل هرمون .

11- يتم استخراج قيمة مستوى كل هرمون من هذه الهرمونات من المنحني القياسي الخاص بكل هرمون .

2-7-3 قياس بعض المعايير الكيموحيوية :

تم الاعتماد على العدة التشخيصية (Kit) الخاصة في قياس كل من المعايير الدموية (AST), Albumin , Alp Alkaline Phosphatase , Bilirubin, Total Cholestrol,Urea (Glutamic oxalacetic Transaminase , (ALT) Glutamic Pyruvic transaminase وباستخدام جهاز Sepectrophotometer .

1-2-7-3 تقدير فعالية إنزيم (ALP) في مصل الدم :

وحسب طريقة (Roy,1970;Young,1975; Teitz 1976) .

طريقة العمل Procedure:

1 : أضيف 0.5 من Alkaline Phosphates substrate في أنابيب الاختبار test tubes المعلمة . ثم توضع في الحمام المائي Water bath بدرجة 37 مْ لمدة

ثلاث دقائق .

2: أضيف 0.05 مل من المصل إلى كل أنبوبة من أنابيب الاختبار وفي نفس الوقت أضيف 0.05 مل من الـ Stander المحلول القياسي الى أنبوبه المحلول القياسي .

3 : توضع في الحمام المائي Water bath لمده 10 دقائق بدرجة 37 مْ .

4 : أضيف 2.5 مل من Alkaline Phosphates color إلى أنابيب الاختبار وأنبوبة المحلول القياسي

5 : تمت القراءة على طول موجي wave length قدره 590 نانوميتر في جهاز المطياف spectra photometer بعد تصفيره بمحلول الكفء Blank.

الحسابات Calculation :

تحسب النتائج على وفق المعادلة الآتية :

الامتصاصية غير المعروفة T

قيمة الـ ALP للنموذج = ——————————— × **50 وحدة دوليه / لتر**

امتصاصية المحلول القياسي St (Demetrious,1974) . 1u / L **وحدة دوليه / لتر**

2-2-7-3 تقدير فعالية إنزيم (ALT) وإنزيم (AST) في مصل الدم :

حسب طريقة (Reitman and Frankel,1957) (Schmidt,1963) .

مبدأ العمل الأساسي :

تعمل إنزيمات (AST) و (ALT) على تحفيز نقل مجموعة الأمين glutamic acid إلى حامض اوكسالواستك Oxalacetic acid و حامض البايروفك Pyruvic acid في تفاعلات عكسية.

تكون فعالية الترانس امينيز transaminase متناسبة مع كمية اوكسالواستيت(Oxaloacetate) و (Pyruvate) المتكونة خلال مدة محددة من الوقت. وتقاس من خلال التفاعل مع 4.2- داي نايتروفينيل هايدرايزين (DNPH) dinitrophenylhydraizine 2.4 في محلول قاعدي .

طريقة العمل Procedure :

تم استخدام عدة التحاليل الجاهزة (Kit) في تقدير فعالية إنزيم الـ AST والـ ALT وبحسب جدول (3-4) الأتي :

	AST	ALT
Substrate AST	**0.5 µl**	**-**
Substrate ALT	**-**	**0.5 ml**
وضع في الحمام المائي waterbath لمدة خمس دقائق وبدرجة حرارة 37 مْ		
serum	**100 µl**	**100 µl**
رج واعيد إلى الحمام المائي لمدة	**60 min**	**30 min**
DNPH	**0.5 ml**	**0.5 ml**

يخرج ويبقى 20 دقيقة في درجة حرارة الغرفة		
NaoH 0.4 N	5.0 ml	5.0 ml
يخرج ويترك لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة ومن ثم يقرأ على طول موجي مقداره 505 نانوميتر		

الحسابات Calculation :-

يمكن حساب فعالية الإنزيم مقدراً بالوحدة العالمية / لتر (U / L) كما مبين في جدول (3-5) اعتماداً على :

الامتصاصية لـ AST		الامتصاصية لـ ALT	
Abs	AST (U/ L)	Abs	**ALT(U /L)**
0.02	7	0.025	**4**
0.030	10	0.05	**8**
0.040	13	0.75	**12**
0.050	16	0.100	**17**
0.060	19	0.125	**21**
0.070	23	0.150	**25**
0.080	27	0.157	**29**
0.090	31	200	**34**
0.100	36	0.225	**39**
0.110	41	0.250	**43**
0.120	47	0.275	**48**
0.130	52	0.300	**52**
0.140	59	0.325	**57**
0.150	67	0.350	**62**
0.160	76	0.75	**67**
0.170	89	0.400	**72**
Abs up 0.170 Calculated by		0.425	**77**
		0.450	**83**
		0.75	**88**
		0.500	**94**

Abs up 0.500 Calculated by **X = Abs × 188**	**X = Abs × 523.5**

. (Reitman and Frankel,1957)

3-2-7-3 تقدير تركيز اليوريا (Urea) في مصل الدم :

تم تقدير تركيز اليوريا في العينة حسب الطريقة الموصوفة من قبل (Elena& John ,2001).

مبدأ العمل الأساسي :

$$\mathbf{Urea + H_2O \xrightarrow{urase} CO_2 + 2NH_3}$$

إذ يتفاعل كل من Hypochlorite & Salicylate الموجود في المادة الفعالة Reagent مع ايون الصوديوم ليكون Dicarboxy-Indophenols 2.2 والتقدير الكمي لهذا المركب الأخضر اللون يحدد تركيز اليوريا في مصل العينة.

طريقة العمل Procedure :

تمُّ استعمال ثلاثة أنابيب (العينة Sample، المحلول القياسي Stander، الكفيء Blank). كما مبين في الجدول (3- 6) وكالاتي :-

أنبوبة العينة	انبوبة القياسي	انبوبة الكفئ	المحاليل
-	**µl** 10	-	Stander المحلول القياسي
µl 10	-	-	Serum
-	-	ml 10	Blank (D. W) الكفء
ml 1	ml 1	ml 1	Reagent A

ثم تمزج العينة جيدا وبعدها تترك في الحاضنة لمدة 5 دقائق أو 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة (20-25) ثم نقرا الامتصاصية لها بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند طول موجي مقداره (500 nm) وذلك بعد تصفير الجهاز باستعمال الـ Blank .

الحسابات Calculation :

يتم حساب تركيز اليوريا في مصل العينة وفقا للقانون الآتي:

تركيزا ليوريا Urea= (امتصاصية العينة / امتصاصية المحلول القياسي) × تركيز المحلول القياسي.

4-2-7-3 تقدير تركيز الألبومين (Albumin) في مصل الدم :

تم قياس تركيز الألبومين في مصل الدم حسب طريقة (Friedman and young, 2001) وكما يتضح من خلال الجدول (3-7) الأتي :-

طريقة العمل Procedure :

Materials	Standard القياسي	Sample العينة
Standard Reagent (2)	10 µl	
Sample		10 µl
Reagent (1)	2 ml	2 ml

* بعدها وضعت الأنابيب في الحاضنة Incubator لمدة 5 دقائق في درجة حرارة (20-25 C°).

- وبعدها ثم القراءة على الطول ألموجي Wave length(628 nm) .

وثم الحساب Calculation بالاعتماد على المعادلة الآتية :

Albumine. con . = O. D . Sample / O. D . Standard × N

g/l : N =50 .

5-2-7-3 تقدير تركيز البيليروبين الكلي (T-Bil) في مصل الدم :

تم تقدير تركيز البيليروبين الكلي وفقاً لطريقة (Burtis *et al* ., 1994) .

مبدأ العمل الأساسي :

يتم تحديد مقياس الطيف الضوئي للبيليروبين الكلي، حيث يقترن البيليروبين مع حامض sulfanilic diazotized بوجود مادة الكافيين لإعطاء صبغة الآزو(azo)، شدة اللون تقياس بواسطة طريقة جهاز المطياف الضوئي.

الكواشف Reagents :

Reagent/R_1 (sulfanilic acid solution).	
Sulfanilic acid	**29 mmol/L**
HCl	**0.17 N**
Reagent/R_2 (sodium nitrite solution).	
Sodium nitrite	**25 mmol/L**
Reagent/R_3 (caffeine solution)	

Caffeine	**0.26 mol/L**
Sodium benzoate	**0.52 mol/L**
Reagent/R_4 (tartrate solution)	
Tartrate	**0.93 mol/L**
NaOH	**1.9 N**

جميع الكواشف تكون جاهزة للاستخدام.

طريقة العمل Procedure : كما مبينه في جدول (3-8) الأتي .

Reagents	Sample blank	Sample
Reagent R_1	**200 µl**	**200 µl**
Reagent R_2	**---**	**50 µl**
Reagent R_3	**1000 µl**	**1000 µl**
Sample	**200 µl**	**200 µl**
Mix, let stand for 10-60 minutes at 20 to 25°C add		
Reagent R_4	**1000 µl**	**1000 µl**
Mix, let stand for 5-30 minutes at 20-25°C **Read absorbance of sample against sample blank at wavelength = 578nm.**		

الحسابات Calculation:

Total bilirubin

c (mg/dL) 10.8 X A_{TB}

c (mol/L 185 X A_{TB}

6-2-7-3 تقدير تركيز الكولسترول الكلي (TC) في مصل الدم :

تم تقدير تركيز الكولسترول في مصل الدم بالطريقة الأنزيمية وفقاً لطريقة (Allain,1974) إذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل Cholesterol Esterase بوجود الأوكسجين (O_2) وإنزيم Cholesterol Oxidase اللذين يعملان على أكسدة الكولسترول الحر المتكون نتيجة التفاعل الأول إلى (Cholest-4en-3one) و(Hydrogen Peroxidase) وهذا الأخير يتفاعل مع الفينول 4-Aminoantipyrinel وبوجود إنزيم Peroxidase ليكون كيتون امين quinoneoimine وردي اللون وكما مبين في المعادلات الآتية :

Cholesterol Ester $\xrightarrow{\text{Cholesterol Estrase}}$ Fatty Acids + Cholesterol

Cholesterol $\xrightarrow{\text{Cholesterol Oxidase}}$ Cholest-4-en-3-one+H_2o_2

Quinoneimine + $4H_20$

$2H_2o_2 +$ Phenol + 4-amino-antipyrine $\xrightarrow{\text{cholesterol peroxidase}}$

طريقة العمل Procedure :

تم استعمال ثلاثة أنابيب اختبار هي العينة sample , المحلول القياسي standard والكفء blank وحسب الجدول (3-9) الأتي :-

المحاليل	القياسي	العينة	الكفء
العينة		10µ	
القياسي	10µ		
الكفء			10µ
الكاشف	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

بعدها أضيف 1.0 ml من reagent a إلى العينة و المحلول القياس والكفء ومزجت المحاليل جيدا وتركت لمدة دقائق 5 في الحمام المائي بدرجة حرارة 37 مئوية وبعدها تم قراءة الامتصاصية لها بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول ألموجي (510 nm) وذلك بعد تصفير الجهاز بواسطة الكفء .

الحسابات Calculation : تركيز تم حساب تركيز الكولسترول الكلي وفقا للقانون التالي :

$$\text{التركيز بالملغرام /الديسي لتر} = \frac{\text{العينة}}{\text{القياسي}} \times n$$

إذ إن :

N : 200 وهو تركيز المحلول القياسي .

Sample : الامتصاصية الضوئية للعينة .

Standard : الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

3-7-2-7 تقدير تركيز انزيم (LDH) في مصل الدم :

تم قياس تركيز LDH في مصل الدم حسب طريقة (Friedman and Young, 2000) .

مبدأ العمل الأساسي :

انزيم LDH يحفز اختزال البايروفيت إلى لاكتات بوجود Nicotinamide adenine denucleotide (NADH) عند PH 7.5 و يتم هذا التفاعل عند طول موجي 340 nm بواسطة نقص ناتج الامتصاصية الناتجة عند أكسدة (NADH) إلى (NAD^+) الذي يعد مؤشر لنسبة فعالية وجود LD في العينة .

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow[\text{PH 7.5}]{\text{LD/LDH}} \text{L-Lactate} + NAD^+$$

هذا الاختبار معد وفقاً للطريقة الموصوفة بواسطة (SFBC) UV enzymatic method Kinetic

طريقة العمل Procedure :

يتم خلط 4ml R1 + 1ml R2 لعمل الكاشف الذي يكون مستقراً لمدة شهرين بدرجة حرارة 2-8 م ° ويحفظ بعيداً عن الضوء .

1 – بعد تحضير الكاشف وتهيئة العينات للتفاعل عند درجة حرارة 37- 30 م ° .

2 – يصفر جهاز المطياف الضوئي على الماء المقطر وعند طول موجي 340 nm .

3 – تؤخذ أنبوبتي اختبار ويضاف لكل واحدة منها (1) ml من الكاشف ويضاف إلى الأنبوبة الأولى 20 **µl** من عينة السيطرة وللأنبوبة الثانية 20 µl من مصل الدم ويرج جيداً.

4– يوضع الخليط في الخلية الخاصة بالجهاز, ثم توضع الخلية في جهاز المطياف الضوئي وتسجل القراءة الأولى بعد مرور 30 ثانية ثم تقرأ الامتصاصية بعد مرور 1 ,2 و 3 دقائق .

5 – يؤخذ الفرق بين الأمتصاصيات المقروءة (معدل القراءات) بعدها تسجل النتيجة بشكل ΔA/min لكل دقيقة .

الحسابات Calculation : Δ **U/L** = A/min × 8095

8-3 تحضير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل:

تم طحن الأجزاء النباتية استعمال طاحونة, وبعدها غربلت الأجزاء المطحونة من خلال غربيل مساحة ثقوبه (2) ملم^2 جمع المسحوق وترك عند درجة حرارة 45 م لمدة 72 ساعة, وزن (20) غم من مسحوق الجاف ووضع في جهاز السوكسوليت لبدء عملية الاستخلاص باستخدام 400 مل من الكحول الايثانولي المطلق 99.9% كمذيب (للحصول على المستخلص الكحولي), وبذلك تصبح نسبة المسحوق الجاف إلى المذيب 1: 20, واستمرت عملية الاستخلاص لمدة 24 ساعة للدفعة الواحدة .

بعدها وضع المستخلص الناتج في أطباق بتري زجاجية نظيفة و معقمة ومغلفة من الداخل بأكياس نايلون نظيفة و وضعت في الحاضنة عند درجة حرارة 45°م وتركت لتجف لمدة 24 ساعة، تم أخذ المستخلص الجاف بسهولة بواسطة نزع الكيس من الطبق ومن ثم حفظ بعد إن وزن في أوعية بلاستيكية نظيفة و محكمة الغلق لحين الاستعمال . (Kerem *et al.*, 2005) .

3-9 تحضير المقاطع النسجية :

تم أخذ العينات المطلوبة للدراسة وذلك بعد تخدير الحيوان بمادة الكلوروفورم وتشريحه. إذ تم إزالة الأنسجة الدهنية لكل من الكلى والكبد وبعدها غسلت الأعضاء بمحلول ملحي فسلجي (normal saline) وحفظت بالفورمالين تركيز (10) % ولمدة 48 ساعة .

1-9-3 الدراسة النسجية :

واعتمدت الطريقة (Bancroft & Steven, 1982) .

2-9-3 تثبيت العينات Specimens Fixation

تثبت الأجزاء المراد دراستها نسيجيا والمتمثلة (الكبد والكلية) باستخدام الفورمالين تركيز (10) % ولمدة 48 ساعة .

3-9-3 الغسل Washing

بعد انتهاء مدة التثبيت للنماذج المثبتة بمحلول الفورمالين غسلت النماذج بكحول اثيلي (70%) ولعدة مرات للتخلص من بقايا المثبت.

4-9-3 الانكاز Dehydration

مررت النماذج بعد الغسل بسلسلة متصاعدة من الكحول الاثيلي حيث بدأ بتركيز (70%، 80%، 90% ، 95 %، 100%، 100%) ولمدة ساعة لكل تركيز .

5-9-3 الترويق Clearing

روقت العينات بتبديلين من xylene ولمدة نصف ساعة لكل تبديل .

6-9-3 التشريب والطمر Infiltration and Embedding

وضعت العينات بمزيج من شمع البرافين شركة (Histo Line) درجة انصهاره 60^oC مع الزايلين بنسبة 1:1 مل ولمدة نصف ساعة ووضعت في فرن درجة حرارته 60^oC، وشربت العينات بشمع البرافين وعلى مرحلتين ولمدة ساعتين لكل تمريره، وأخيرا طمرت العينات بنوعية الشمع نفسه داخل قوالب خاصة.

7-9-3 التشذيب والتقطيع Trimming and Cutting

شذبت قوالب الشمع الحاوية على النماذج بمشرط حاد وثبت على حامل خشبي وقطعت النماذج باستعمال المشراح الدوار شركة (Histo Line, Italy) بسمك خمسة مايكروميتر, ثم نقلت المقاطع إلى حمام مائي بدرجة 40^oC لغرض تسطيح النسيج ووضعت الأشرطة على شرائح زجاجية تحتوي على طبقة خفيفة من (Albumin وMayers) وكالاتي:

1- 5غم ألبومين جاف (Albumin Dried)

2 - 0.5 غم كلوريد الصوديوم.

3- 100 مل ماء مقطر.

4- 50 مل كليسرين .

5 – قليل من بلورات الثايمول لمنع نمو العفن والفطريات .

8-9-3 التلوين Staining

استعملت الملونات الآتية للدراسة النسجية :

1-8-9-3 ملون هارس هيماتوكسلين Harris Hematoxylin Stain

لإظهار البنيان النسيجي للمقاطع بشكل عام (Luna, 1968) وكالاتي:

1 –(2.5) غم مسحوق الهيماتوكسلين .

2 - (25) مل كحول اثيلي مطلق .

3- (50) غم شب البوتاسيوم $Alk(SO_4)_2.12H_2O$ أو شب الأمونيا $NH_4Al(SO_4)_2.12H_2O$.

4- (500) مل ماء مقطر دافئ .

5- (1.25)غم اوكسيد ألزئبقيك الأحمر (Red Mercuric Oxide) .

أذيب الهيماتوكسلين بالكحول المطلق ثم أضيف إلى الشب المذاب بالماء المقطر الدافئ ووضع المزيج على النار إلى درجة الغليان ثم أضيف إليه أوكسيد ألزئبقيك الأحمر برد مباشرة بالماء البارد وأضيف إليه حامض ألخليك الثلجي ورشح الخليط قبل الاستعمال .

2-8-9-3 ملون الايوسين الكحولي Alcoholic Eosin Stain

1. (1)غم من مسحوق الايوسين .
2. (99) مل من الكحول الاثيلي تركيز 70% .
3. (1) مل حامض الخليك الثلجي (Glacial Acetic Acid) .

أذيب الكحول بشكل جيد ثم أضيف اليه حامض الخليك الثلجي ورشح قبل الاستعمال في اليوم التالي.

إذ لونت الشرائح بإتباع طريقة (Humason, 1979) وهي كالأتي :

3-8-9-3 التلوين باستعمال الهيماتوكسلين والايوسين **:**

1. أزيل الشمع من الشرائح باستعمال الزايلين وعلى مرحلتين ولمدة 5 دقائق لكل مرحلة ثم مررت سلسلة تنازلية من الكحول الاثيلي ابتداء من (70-100) % ولمدة دقيقتين لكل تركيز وغسلت بالماء المقطر.
2. وضعت الشرائح الزجاجية في ملون الهيماتوكسلين هارس (Harris Hematoxylin) ولمدة 5 دقائق .
3. غسلت الشرائح بالماء الجاري لمدة 10 دقائق للحصول على أفضل زرقة .
4. لونت الشرائح بملون الأيوسين الكحولي لمدة 3 دقائق .

5- تغسل بكحول 70%.

6. ثم مررت الشرائح بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي 70%, 100%, 100% لمدة دقيقتين وروقت بالزايلول وعلى مرحلتين لمدة 5 دقائق.

9-9-3 التحميل

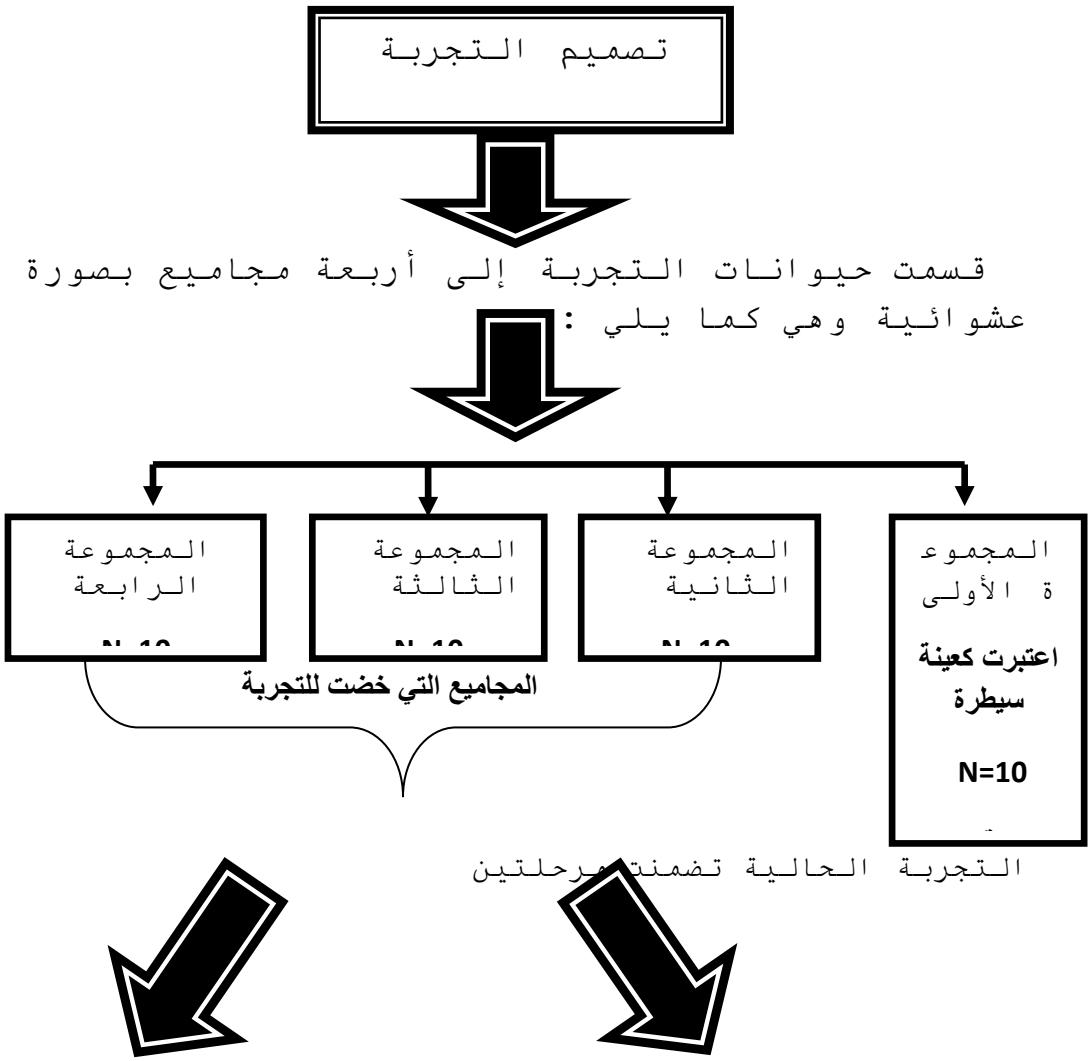
حملت الشرائح باستخدام D.P.X. وغطاء الشرائح cover slides ثم تركت لتجف على صفيحة ساخنة (Hote Plate) بدرجة $40^{o}C$.

10-9-3 الفحص والتصوير المجهري :

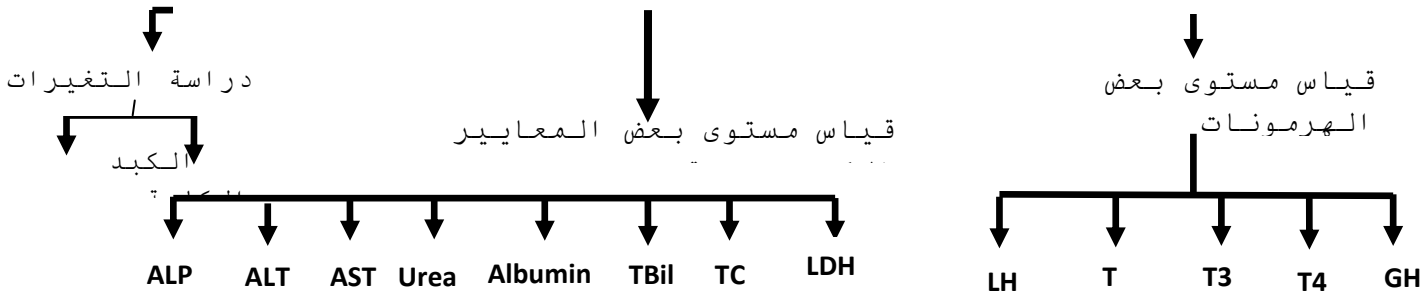
تم تصوير المقاطع النسجية باستعمال مجهر ضوئي مزود بكاميرا تصوير, لتصوير التراكيب النسجية الخاصة بكل من الكبد والكلية للحيوانات التي خضعت للدراسة .

11-9-3 التحليل الإحصائي :

تم أجراء تحليل التباين بأستخدام تصميم تام العشوائية لدراسة تأثير المستخلص الكحولي لازهار نبات القرنفل على المعايير الوظيفية والنسجية على الجرذان البيضاء التي عوملت بعقار الـ CPA واختبار معنوية الفروق بين المتوسطات عند مستوى معنوية ($p< 0.05$) بأستخدام دنكن المعدل (L.S.D) Revised Least Significant Differenes . (الساهوكي ووهيب, 1990) .



(قياس مستوى بعض الهرمونات والمعايير الكيموحيوية , فحوصات نسجية)



الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results & discussion

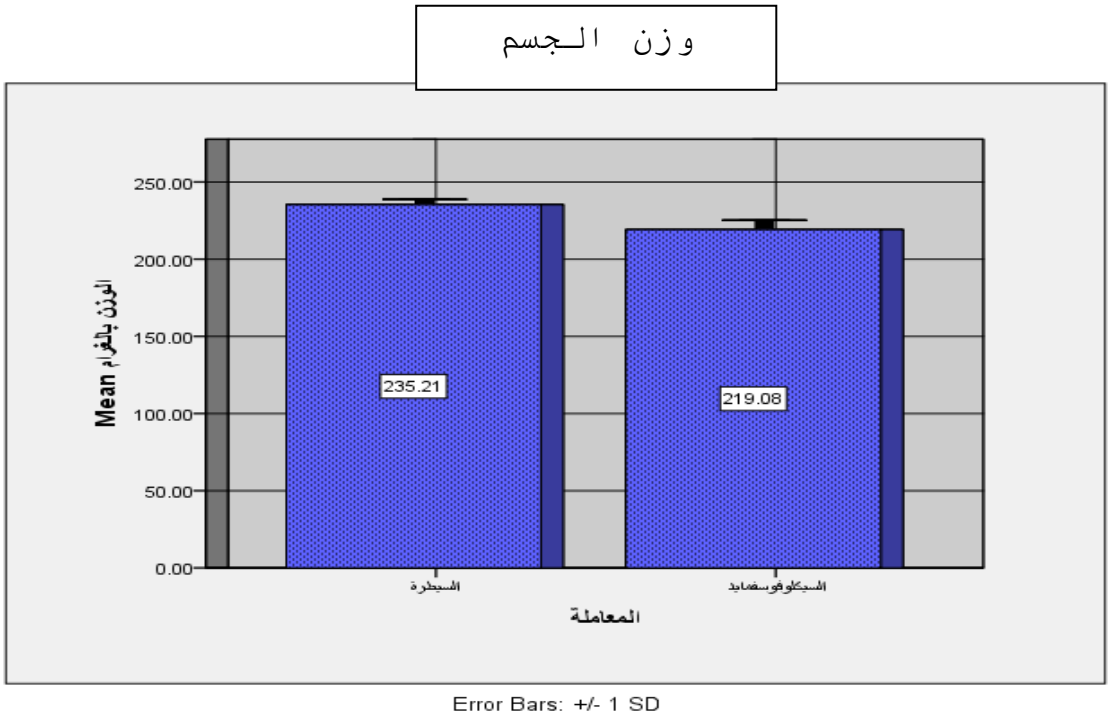
1-4 تأثير عقار السايكلوفوسفامايد على سلوكية

أدت المعاملة بعقار السايكلوفوسفامايد إلى حدوث تغيرات في سلوكية ذكور الجرذ كفقدان الشهية وتغيرات مظهرية مثل تحول لون الجلد إلى اللون الأصفر الشاحب وسقوط الشعر وتحول لون الإدرار إلى لون بني غامق .

2-4 تأثير عقار السايكلوفوسفامايد في أوزان الأعضاء المدروسة فضلا عن وزن الجسم لذكور الجرذ الأبيض :-

1-2-4 التغيرات في وزن الجسم :

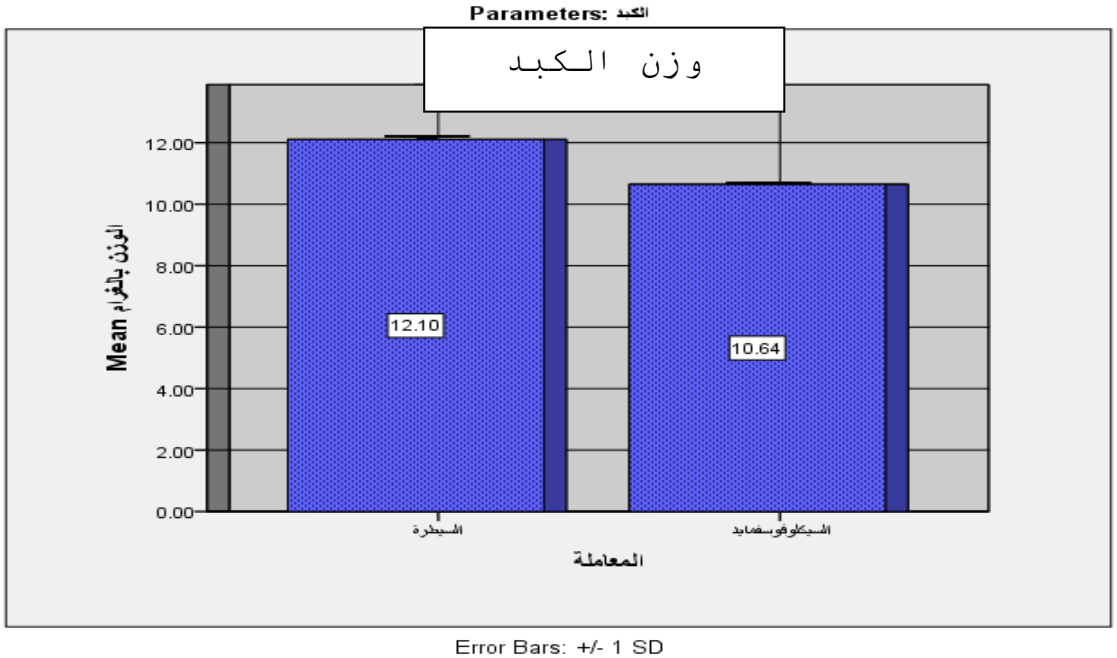
أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي($P<0.05$) في متوسط وزن الجسم لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة مع متوسط وزن الجسم لمجموعة السيطرة أذ بلغ متوسط وزن الجسم (219.08 ± 6.16) و (235.21 ± 3.46) غم للمجموعتين على التوالي شكل (1-4). وقد يعود سبب الانخفاض في وزن الجسم إلى حصول اختزال وتنخر الأنسجة الحية وخاصة الأنسجة الدهنية منها .



شكل (1-4) متوسط وزن الجسم لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

2-2-4 التغيرات في أوزان الكبد :

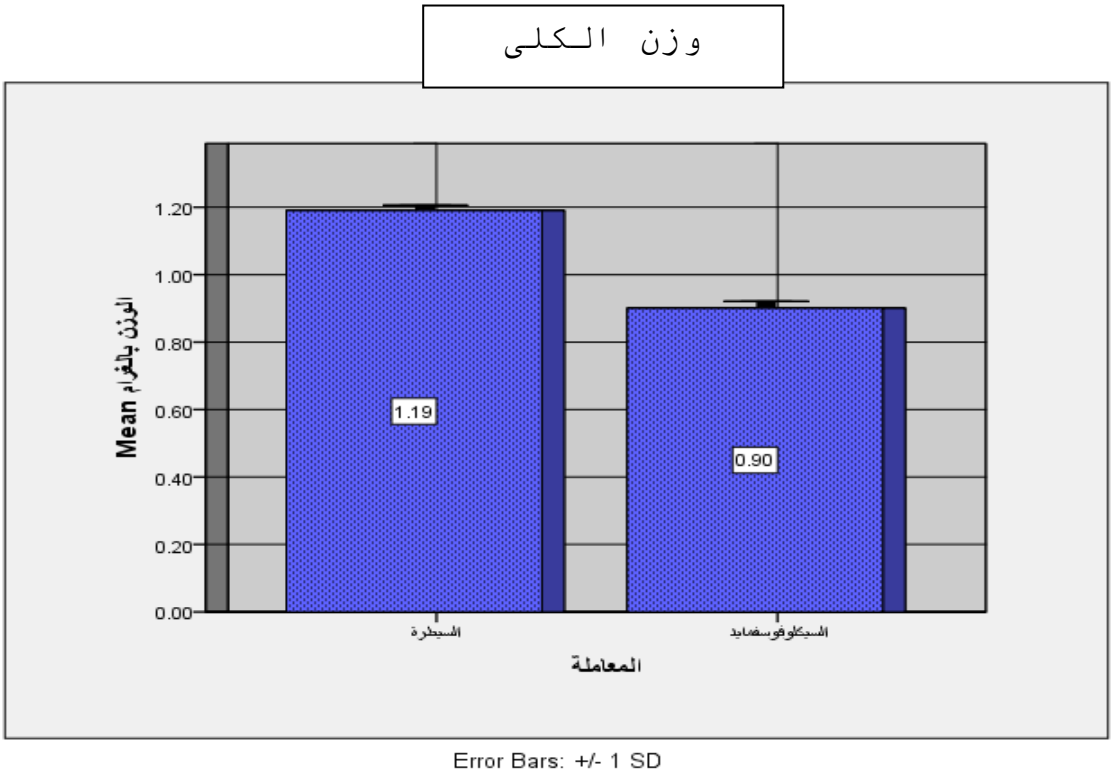
أشارت النتائج إلى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في وزن الكبد لمجموعة ذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة مع ذكور الجرذ لمجموعة السيطرة وكان متوسط وزن الكبد (0.05 ± 10.64) و(0.12 ± 12.10) غم للمجموعتين على التوالي الشكل (4-2). وقد يعود سبب الانخفاض في وزن الكبد إلى حصول انكماش وتنخر في أنسجة الكبد الناتجة عن سمية عقار CPA وهذا ما أكده Paul and Michael,(2001). عند إعطاء جرع عالية من عقار CPA و بشكل حقن داخل الصفاق ولمدة ستة أيام متعاقبة فان هذا سيؤدي إلى حدوث انخفاض في الوزن الكلي للكبد وفي محتوى الأنزيمات الموجودة في الميكروسوم الكبدي كالسايتوكروم P-450والسايتوكروم b5 وتقل فعالية المركب Aminopurin N-demethylase والمركب Aniline p-hydroxylase وظهرت نفس التغيرات عند إعطاء العقار لمدة خمسة أيام بدلا من ستة أيام. وفي دراسة أخرى وجد اختزال وظيفة الميكروسوم الكبدي بعد تجريع الجرذان الذكور بجرعة مفردة من عقار CPA بتركيز 200 ملغم/كغم لجرذان ذكور وتشريحها بعد فترات مختلفة (4,7,10, 14) أيام من التجريع (Laslett, 1995).



شكل (2-4) متوسط وزن الكبد لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة.

3-2-4 التغيرات في أوزان

أظهرت نتائج الدراسة حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في وزن الكلى لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة مع ذكور الجرذ لمجموعة السيطرة وقد بلغ متوسط وزن الكلى(0.02 ± 0.90) و(0.02 ± 1.19) غم للمجموعتين على التوالي الشكل (4-3). وقد يعود سبب النقص في وزن الكلى إلى حصول انكماش وتنخر في أنسجة الكلى نتيجة سمية عقار CPA (Paul and Michael,2001).



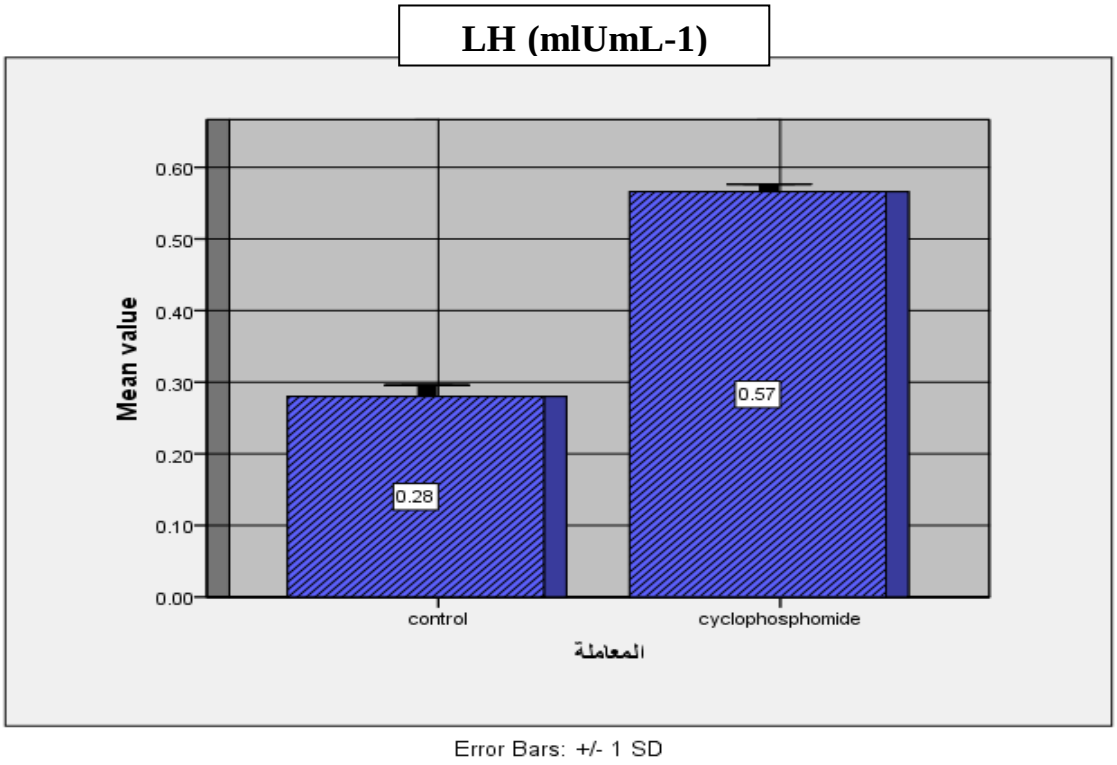
شكل (4-3) متوسط وزن الكلى لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

4-3 تأثير عقار CPA في مستوى بعض الهرمونات في ذكور الجرذ

4-3-1 مستوى هرمون (LH) :

أوضحت نتائج الدراسة الشكل (4-4) إلى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى هرمون LH لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة مع ذكور الجرذ لمجموعة السيطرة.

إذ بلغ متوسط مستوى هرمون LH (0.57 ± 0.01) و (0.28 ± 0.02) (mlUmL-1) على التوالي. وجاءت نتائج الدراسة الحالية متفقة مع العديد من الدراسات منها دراسة (2000 Jequier,) والتي أكدت إن سبب الارتفاع في مستوى هرمون (LH) يعزى إلى حدوث اضطراب في خلايا ليدك في الخصية. إذ أشار Meistrich , (1986) إلى إن هذا الاضطراب يمكن إن يؤدي إلى حدوث فقدان دائمي للخلايا النطفية .



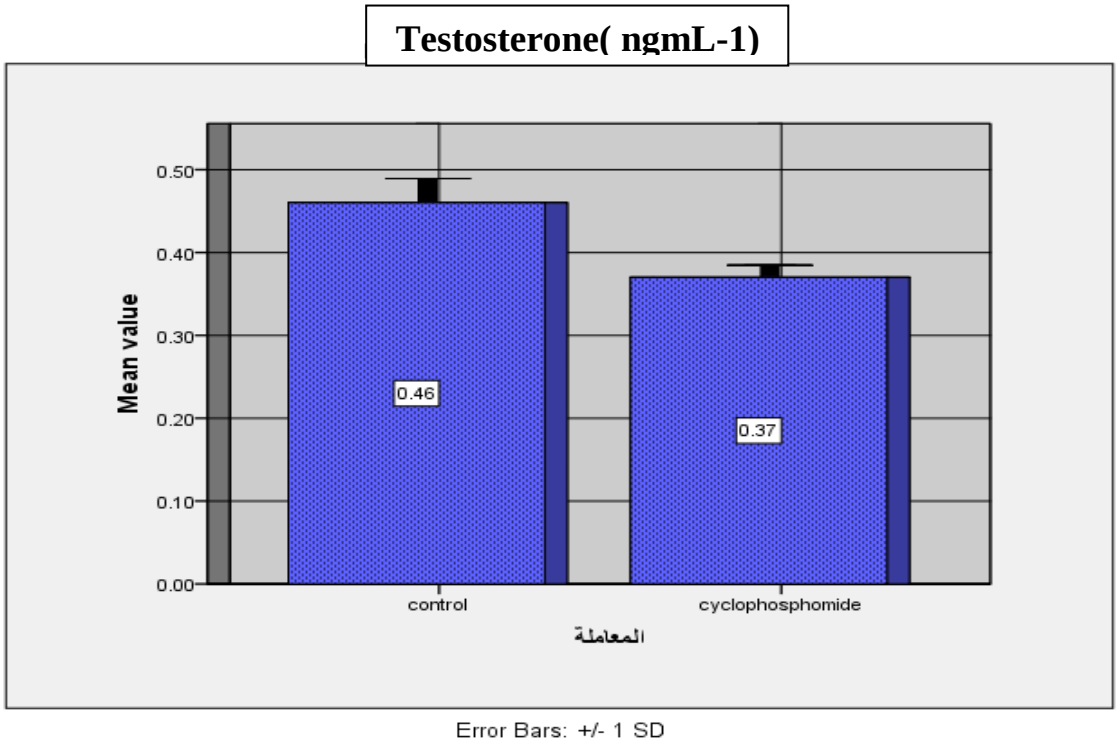
شكل (4-4) مستوى هرمون (LH) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

4-3-2 مستوى هرمو ن الشحمون الخصوي : (Testosterone)

بينت نتائج الدراسة الشكل (4-5) إلى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى هرمون الشحمون الخصوي لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة مع ذكور الجرذ لمجموعة السيطرة إذ بلغ مستوى الهرمون (0.02 ± 0.37) و(03 .0 ± 0.46) (ngmL-

(1على التوالي. وجاءت نتائج الدراسة الحالية مطابقة لدراسة Howell 1998) and Shalet,).

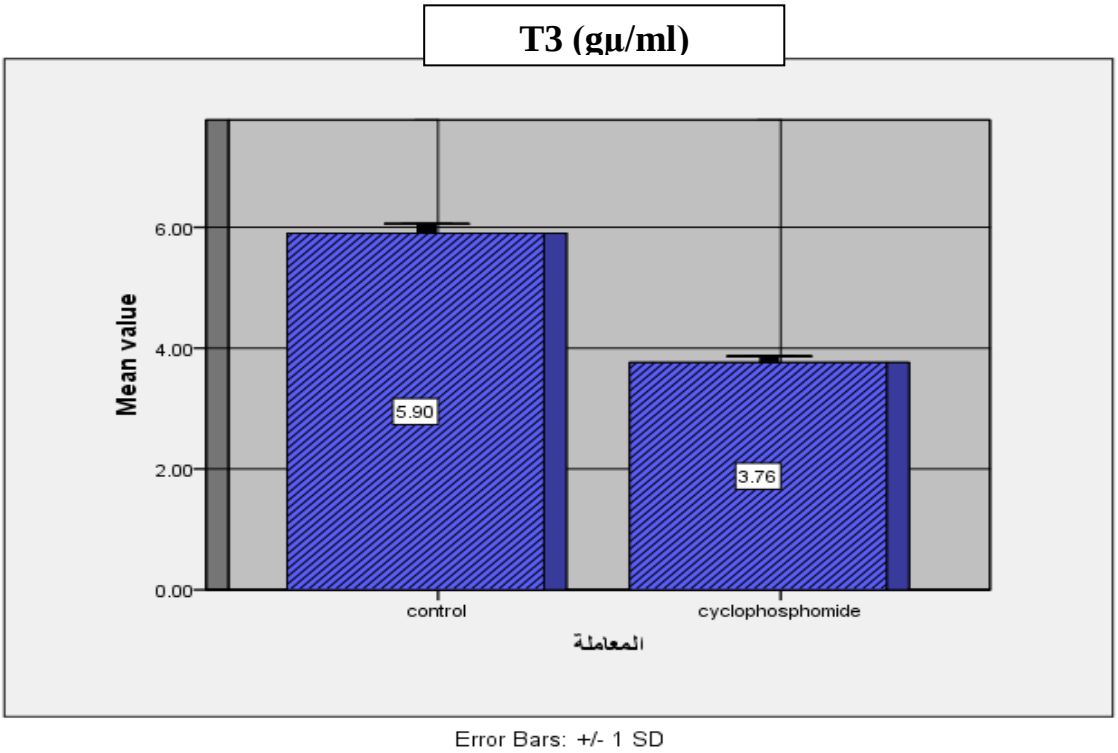
إذ أثبتت التجارب التي أجريت على المرضى من الذكور البالغين إن المعاملة بعقار CPA أدت إلى حدوث انخفاض في عدد الحيوانات المنوية.



شكل (4-5) مستوى هرمون (Testosterone) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

3-3-4 مستوى هرمون (T3) :

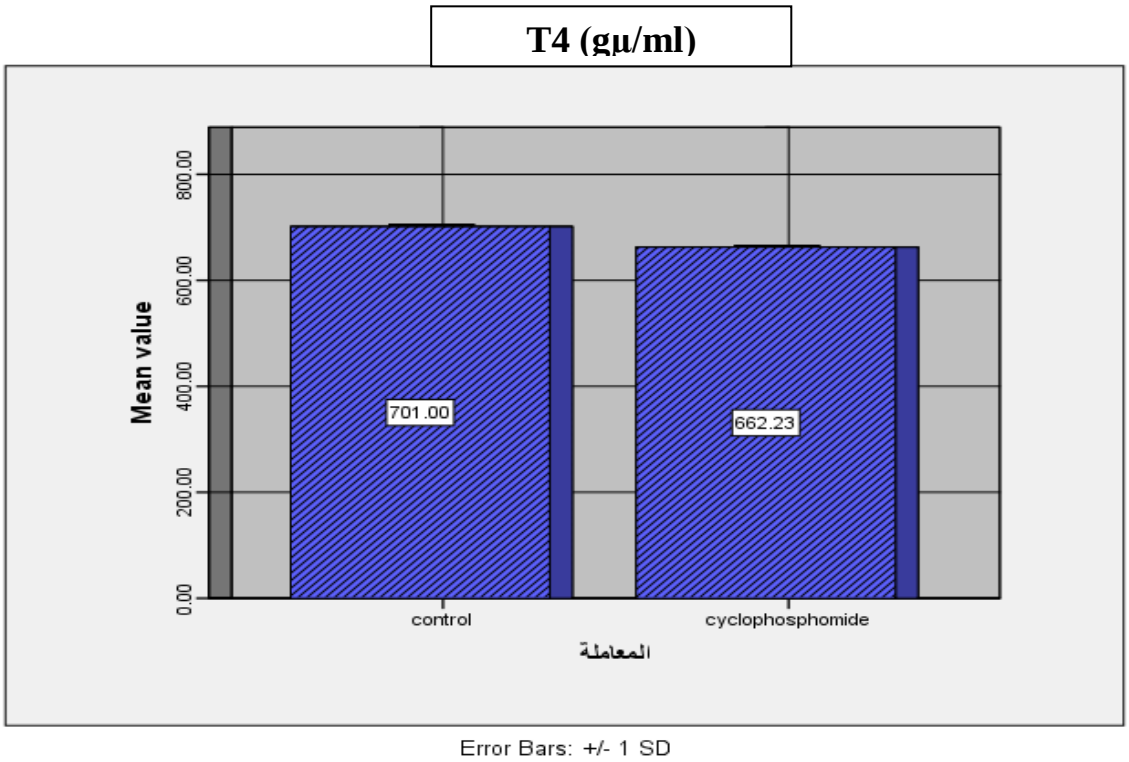
أظهرت نتائج الدراسة الشكل (4-6) إلى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى هرمون T3 لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة مع ذكور الجرذ لمجموعة السيطرة أذ بلغ متوسط مستوى هرمون T3 (3.76 ± 0.11) و (5.90 ± 0.16) (gμ/ml) على التوالي. وهذا ما أكده (Salido *et al*., 2003), وتفسر حالة انخفاض هرمون (T3) ربما يكون عائدا إلى ترسب عقار CPA في أنسجة الغدة الدرقية مسببة تلف الخلايا الجريبية للغدة الذي ينتج عنه حالة نقص الدرقية .



شكل (4-6) مستوى هرمون (T3) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

4-3-4 مستوى هرمون (T4) :

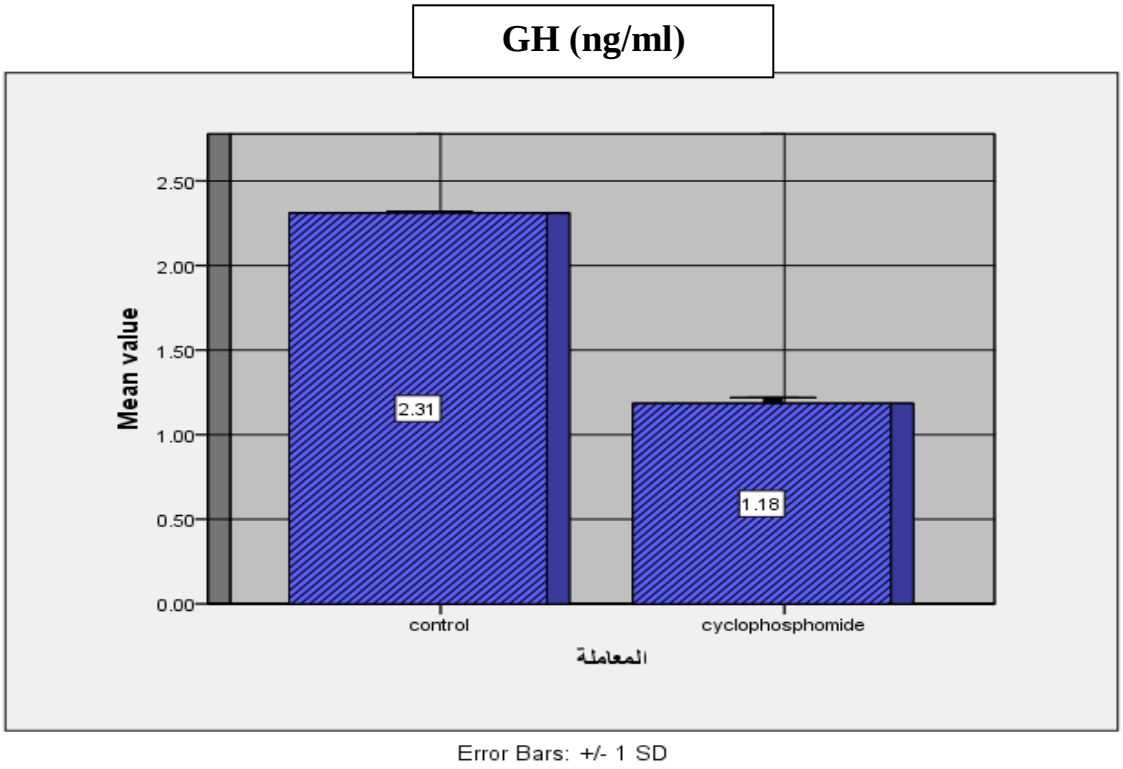
أوضحت نتائج الدراسة المبينة في الشكل (4-7) تبين وجود انخفاض معنوي ($P< 0.05$) في مستوى هرمون (T4) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة بمجموعة السيطرة إذ بلغ متوسط الانخفاض (662.23 ±2.26) و(701.00 ± 3.61) (gµ/ml) على التوالي. وهذه النتيجة جاءت مطابقة لدراسة (Salido *et al*., 2003). وقد يكون سبب انخفاض الهرمون يعود إلى ترسب عقار CPA في أنسجة الغدة مسببة تلف الخلايا الجريبية الذي ينتج عنه حالة نقص الدرقية .



شكل (4-7) مستوى هرمون (T4) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

4-3-5 مستوى هرمون (GH) :

أظهرت نتائج الدراسة الشكل (4-8) حصول انخفاض معنوي ملحوظ ($P<0.05$) في مستوى هرمون (GH) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة بمجموعة السيطرة إذ بلغ مستوى الهرمون (1.18 ± 0.04) و (2.31 ± 0.01) (ng/ml) على التوالي. وهذه النتائج أشارت إليها دراسة (Steinberg and Steinberg,1991). ومن المحتمل إن يكون سبب الانخفاض في مستوى هرمون النمو ناجما عن عوز هرمونات أخرى، والذي ينتج بسبب قصور الغدة النخامية (Hypopituitarism) .



شكل (4-8) مستوى هرمون (GH) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

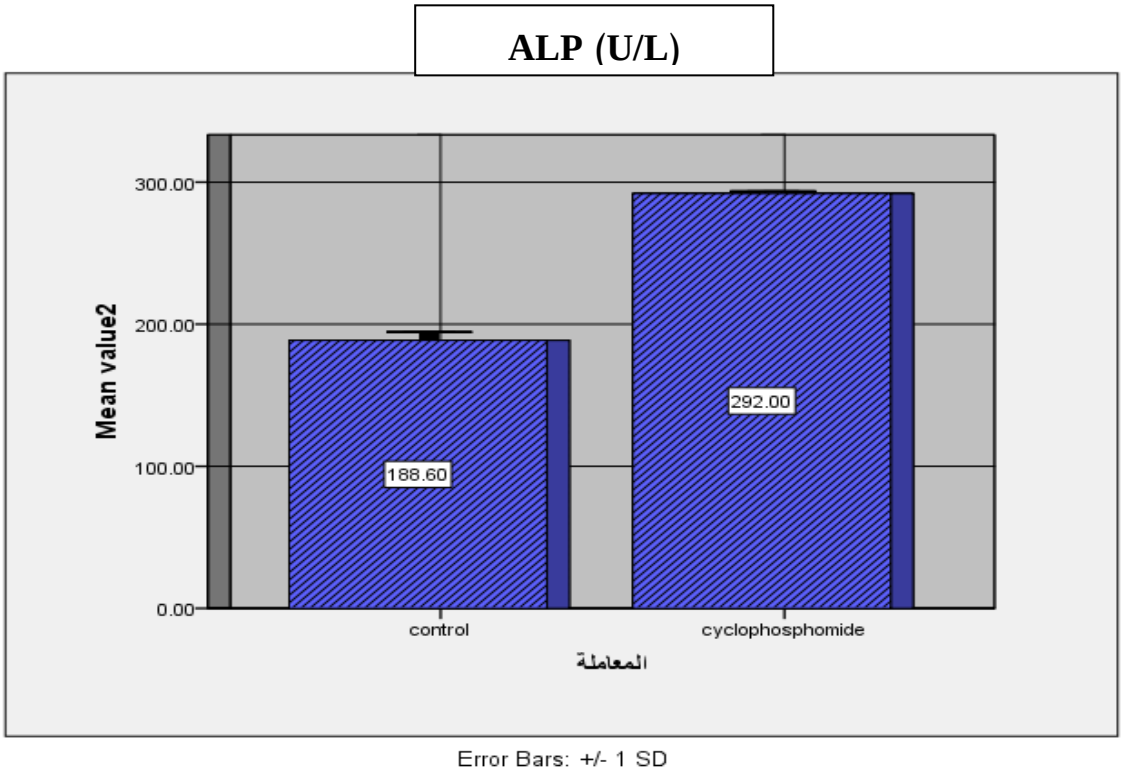
4-4 تأثير عقار **CPA** على مستوى بعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذ الأبيض :-

اشتملت الفحوصات الكيموحيوية على ثمانية معايير متمثلة بما يأتي:

.(ALP,GPT,GOT, Urea,Albumin,TBil,TC,LDH)

4-4-1 مستوى إنزيم (ALP) :

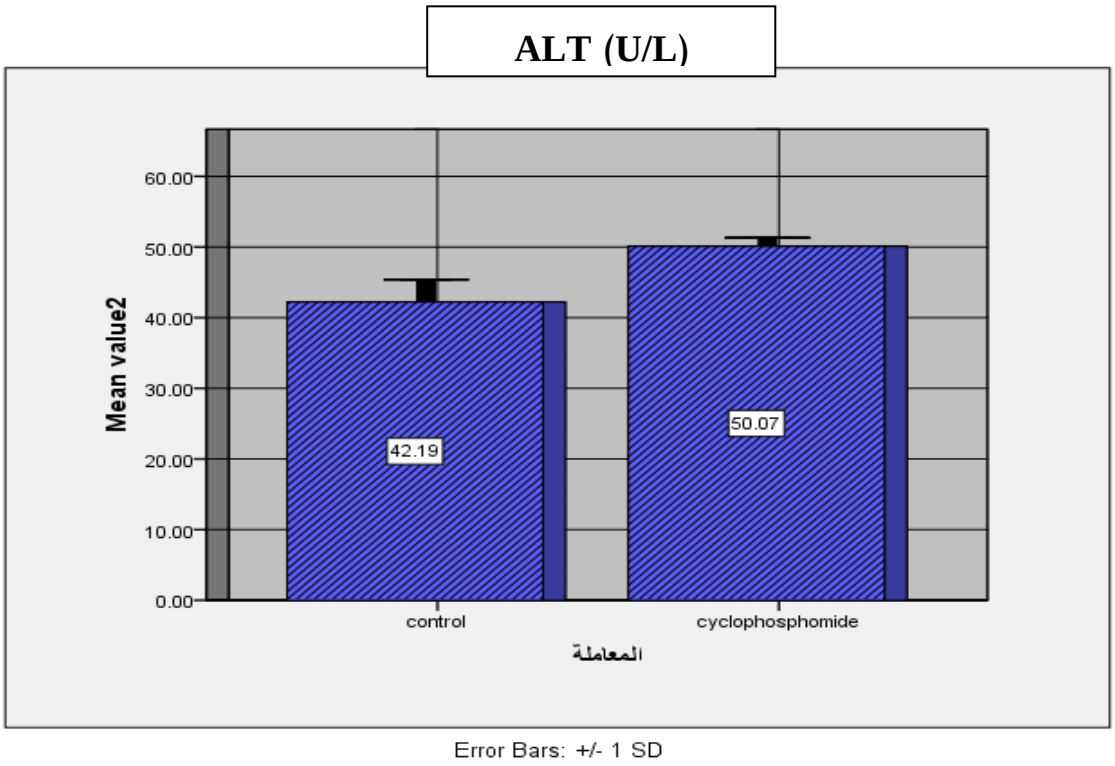
أشارت نتائج الدراسة حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى إنزيم (ALP) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة بمجموعة السيطرة. إذ بلغ متوسط الارتفاع (± 292.00 1.69) و (188.60 ± 5.92) (U/L) على التوالي الشكل (4-9). ونتائج الدراسة اتفقت مع ما توصلت إليه (vandenberghe, 1995). كما أكدت دراسة McDonald and Friezem, (2008) إن ارتفاع مستوى إنزيم (ALP) دليل على تلف الكبد (Samir, 1999) .



شكل (4-9) مستوى أنزيم (ALP) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

4-4-2 مستوى إنزيم (ALT) :

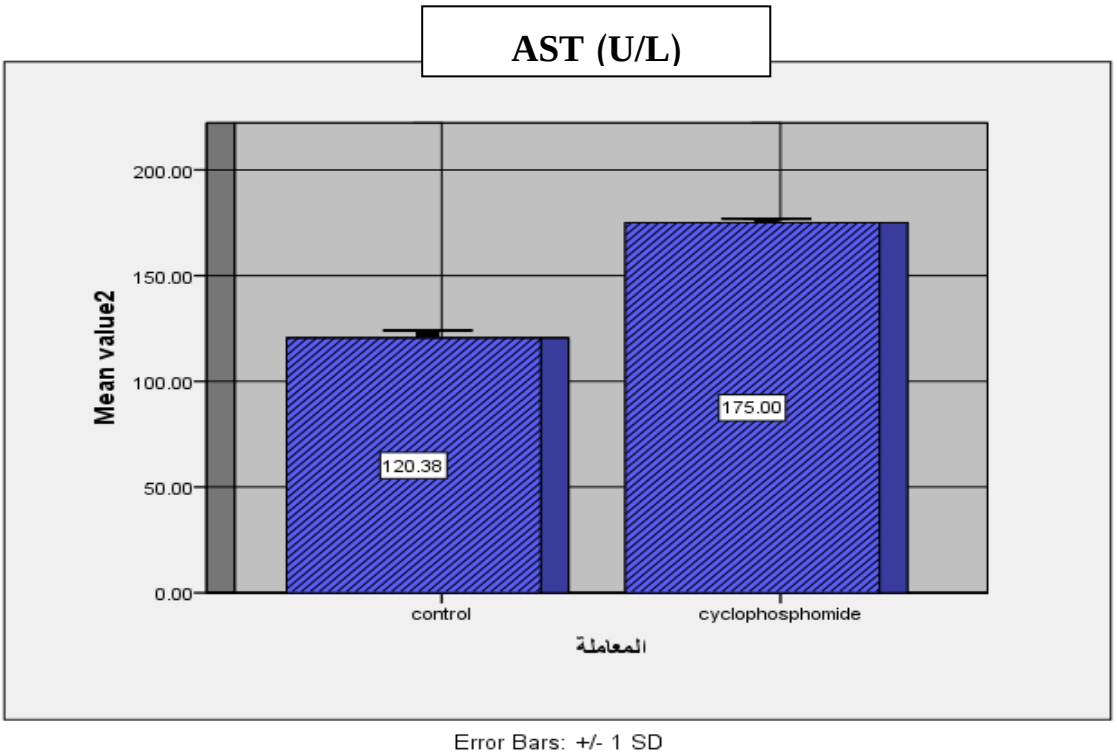
أدلت نتائج الدراسة حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى إنزيم (ALT) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة بمجموعة السيطرة, إذ بلغ متوسط الارتفاع (50.07 ± 1.24) و (42.19 ± 3.21) (U/L) على التوالي الشكل (4-10). ونتائج الدراسة الحالية جاءت متفقة مع ما توصلت إليه دراسة (vandenberghe, 1995). ويرجح الباحث السبب في ارتفاع إنزيم (ALT) عائد إلى حدوث تليف والتهاب في الكبد .



شكل (4-10) مستوى أنزيم (ALT) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة.

3-4-4 مستوى إنزيم (AST) :

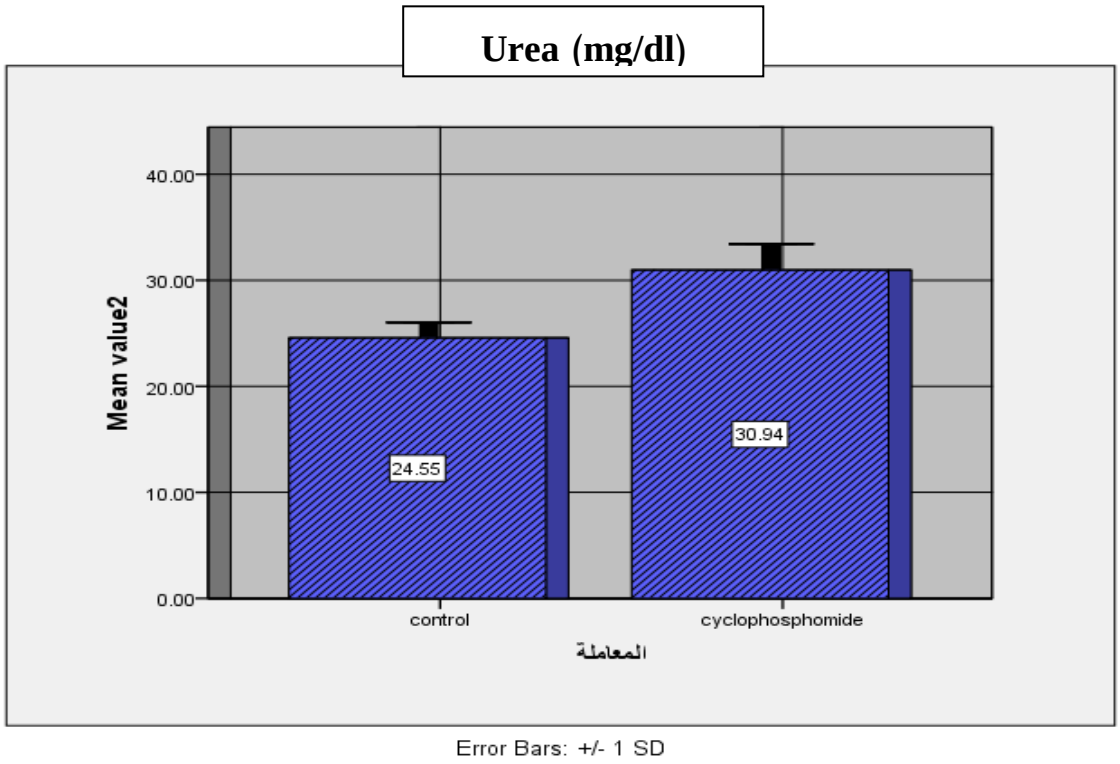
أوضحت نتائج الدراسة حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى إنزيم (AST) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة بمجموعة السيطرة, إذ بلغ متوسط الارتفاع (175.00 ± 1.99) و (120.38 ± 3.72) (U/L) على التوالي الشكل (4-11) الشكل (4-11). وهذا ما أشار إليه (vandenberghe, 1995). ويعزى الباحث سبب الارتفاع في إنزيم (AST) ربما يعود إلى حدوث تليف والتهاب في الكبد .



شكل (4-11) مستوى أنزيم (AST) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

4-4-4 مستوى اليوريا (Urea) :

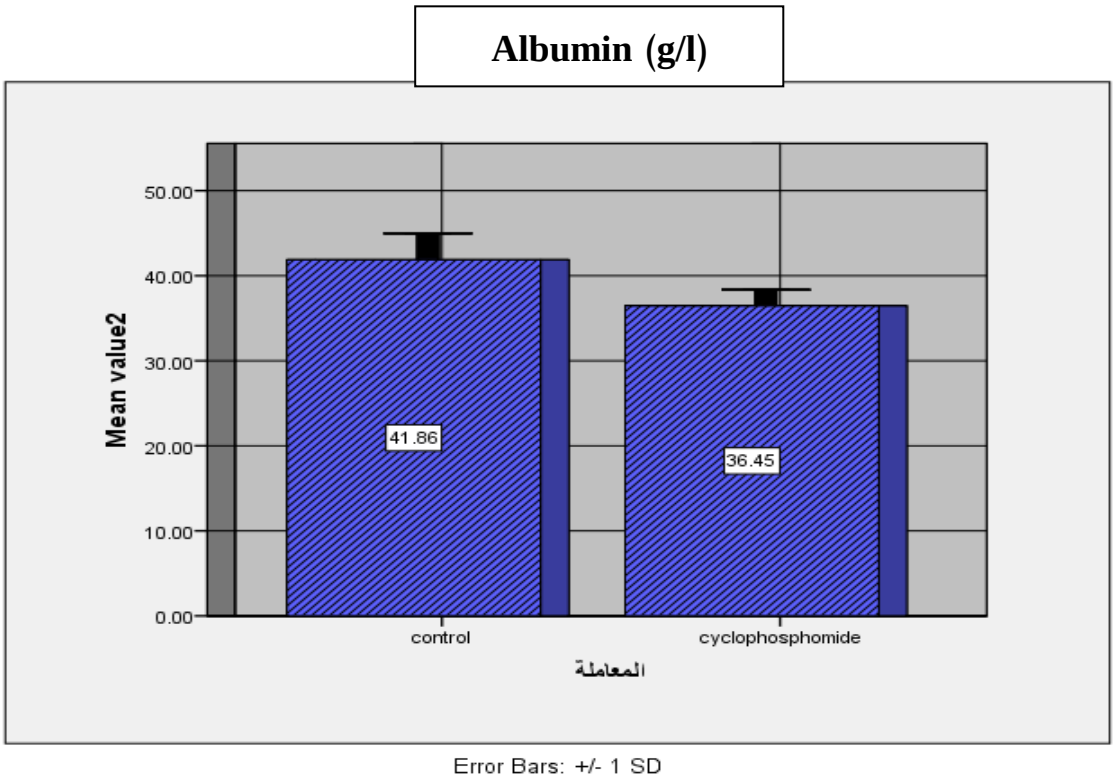
توصلت نتائج الدراسة الحالية إلى إن مستوى اليوريا سجل ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة بمجموعة السيطرة, إذ بلغ متوسط الارتفاع و (30.94 ± 2.47) و (24.55 ± 1.48) (mg/dl) على التوالي الشكل (4-12). وتفسر حالة ارتفاع مستوى اليوريا في الدم الى حصول قصور كلوي (Akkasilpa *et al*., 2004). كما ان ارتفاع مستوى اليوريا مرتبط بامراض الاوعية الدموية وارتفاع ضغط الدم (Kanellis and Kang, 2005).



شكل (4-12) مستوى اليوريا (Urea) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

5-4-4 مستوى الألبومين (Albumin) :

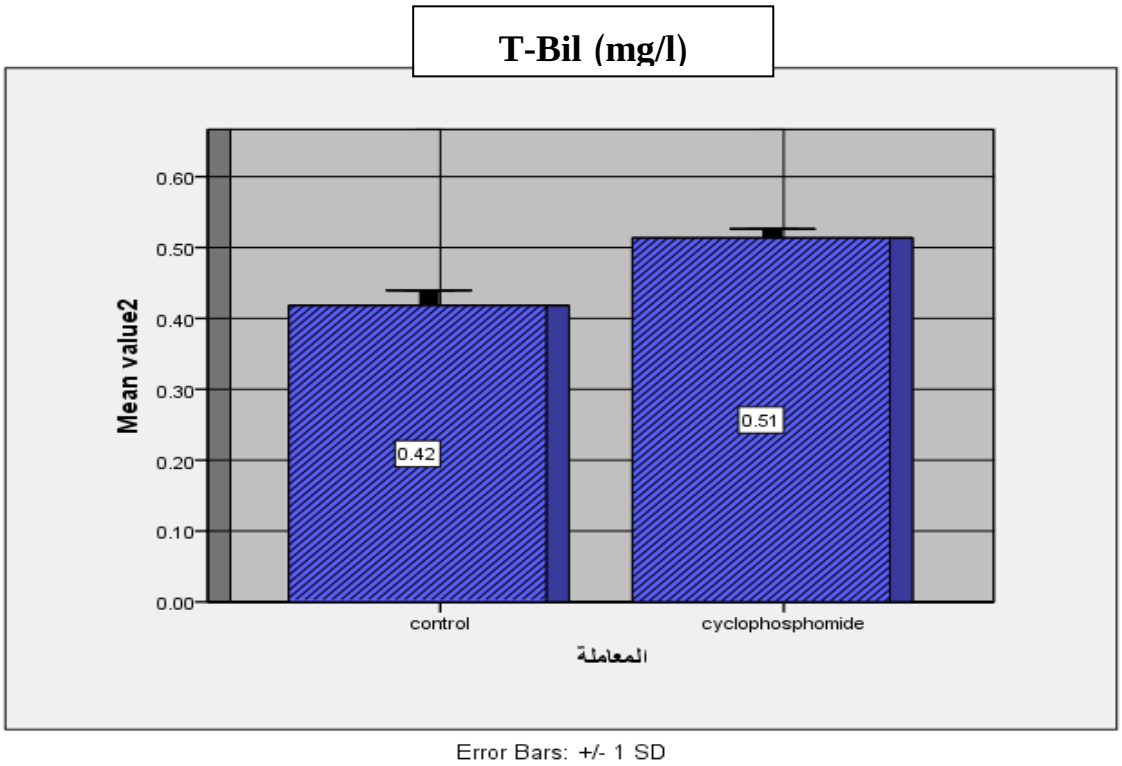
أظهرت نتائج الدراسة المبينة في الشكل (4-13) حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز الألبومين لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة بمجموعة السيطرة, إذ بلغ متوسط الانخفاض (36.45 ± 1.90) و (41.86 ± 3.12) (g/l) على التوالي. نتائج الدراسة الحالية لم تتفق مع ما توصلت إليه (Abdel-Wahhab and Aly, (2005. ويعزي الباحث سبب الانخفاض في مستوى الألبومين ربما يكون عائداً إلى إصابة الكبد بالتهاب حاد .



شكل (4-13) مستوى الألبومين (Albumin) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

6-4-4 مستوى البليروبين الكلي (T-Bil) :

بينت نتائج الدراسة أن البليروبين الكلي سجل ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة بمجموعة السيطرة, إذ بلغ متوسط الارتفاع (0.01 ± 0.51) و (0.02 ± 0.42) (mg/dl) على التوالي الشكل (4-14). حيث اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصلت إليه الدراسة (Oboh, 2006) . والتي نصت على إن الارتفاع في تركيز البليروبين الكلي يعد مؤشراً لحدوث التهاب حاد في الكبد. وفي دراسة أخرى سجلت ظاهرة تسمم الكبد وزيادة في مستوى البليروبين وذلك عند إعطاء عقار CPA .
(Paul and Michael,2001)

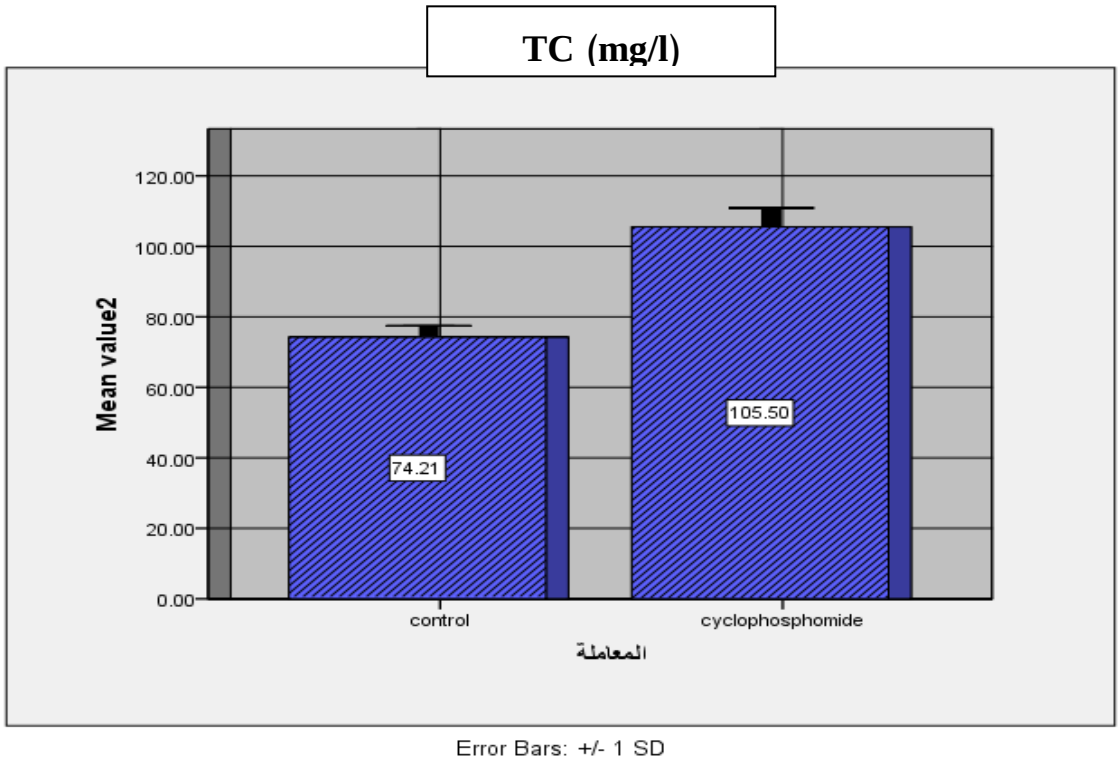


شكل (4-14) مستوى البليروبين الكلي (T-Bil) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

4-4-7 مستوى الكولسترول الكلي (TC) :

أظهرت نتائج الدراسة المبينة في الشكل (4-15) حصول ارتفاع معنوي ملحوظ ($P < 0.05$) في مستوى الكولسترول الكلي لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة بمجموعة السيطرة, إذ بلغ متوسط الارتفاع (105.50 ± 5.40) و (74.21 ± 3.25) (mg/dl) على التوالي. وهذه النتائج أشارت إليها العديد من الدراسات منها دراسة

. (Das *et al*., 1997; Owu *et al*., 2006)

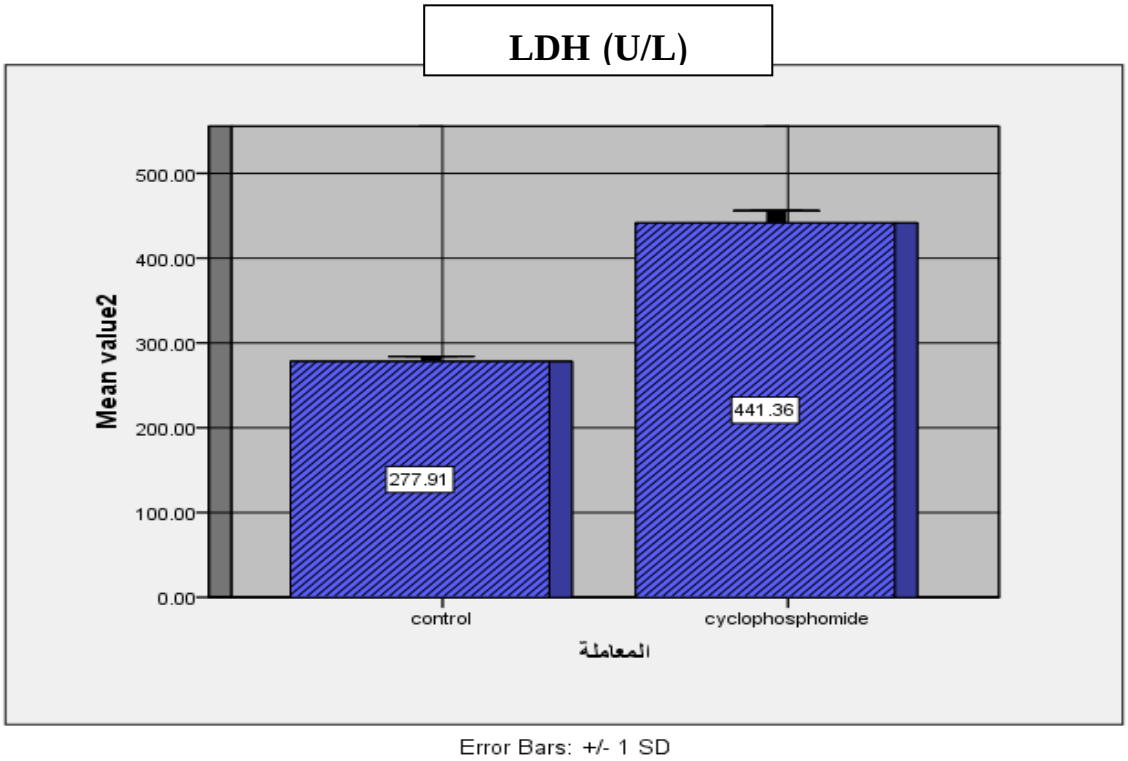


شكل (4-15) مستوى الكولسترول الكلي (TC) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

8-4-4 مستوى إنزيم (LDH) :

أشارت نتائج الدراسة إن المعاملة بعقار (CPA) أدى إلى حصول ارتفاع معنوي ملحوظ ($P < 0.05$) في مستوى إنزيم (LDH) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA مقارنة بمجموعة السيطرة إذ بلغ متوسطه (14.35 ± 441.36) و(6.29 ± 277.91) (U/L) على التوالي الشكل (4-16). وجاءت نتائج الدراسة الحالية متفقة مع ما توصلت إليه دراسة (Ikizler *et al*., 2007; Nagi *et al*., 2010). ويعزى سبب ارتفاع مستوى إنزيم (LDH) إلى حدوث إصابة بسرطان لمفاوي حاد في الدم (vandenberghe, 1995) .

.



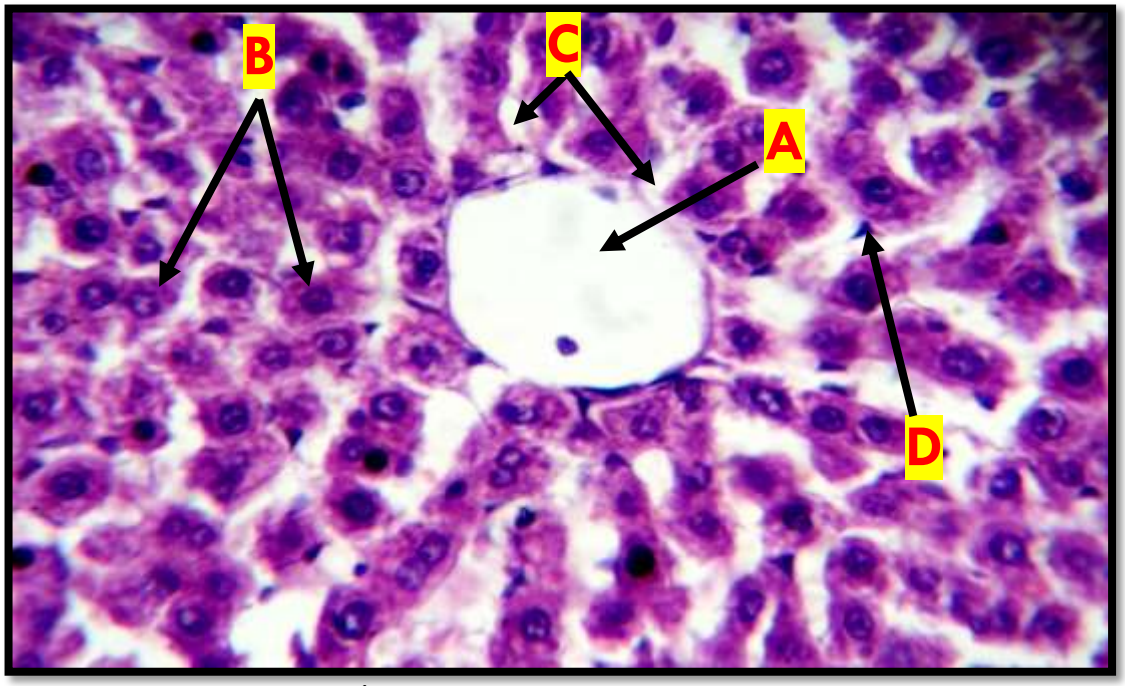
شكل (4-16) مستوى أنزيم (LDH) لذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA وذكور الجرذ لمجموعة السيطرة .

4- 5 الدراسة النسجية :

أظهرت نتائج الفحوصات النسجية للمجاميع الحيوانية المعاملة بعقار CPA حدوث تغيرات نسجية – مرضية واضحة في نسيج الكبد ونسيج الكلى عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة (غير المعاملة).

4- 5- 1-1 مجموعة السيطرة للكبد :

يتضح من خلال الصورة (4-1) وريد الكبد المركزي Central Vein والذي يعد فرع من الوريد البابي الكبدي لايظهر فية احتقان دموي Congestion, كما تتصف الجيبانيات الكبدية Hepatic sinusoids وخلايا الكبد وخلايا كفر Kupffer's Cell بأشكالها الطبيعية. .



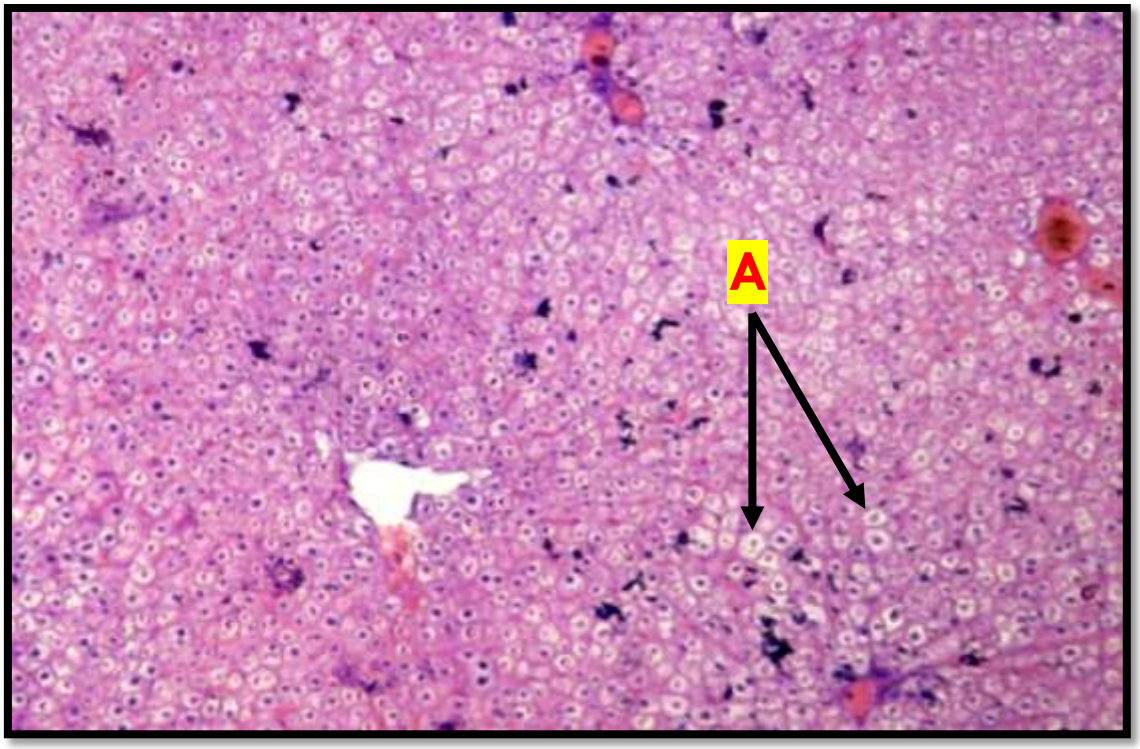
صورة (1-4): مقطع عرضي في نسيج الكبد للجرذ الأبيض (مجموعة السيطرة) :-

A- الوريد المركزي **(Central Vein)** **B**– الخلايا الكبدية **C**- جيبانيات الكبد **(Hepatic sinusoids)** **D**- خلايا كفر (Kupffer's Cell). **(H & E stain)** **(400x)**

2-1-5-4 التأثيرات النسجية – المرضية لعقار السايكلوفوسفامايد في كبد ذكور الجرذ الأبيض :

فيما يخص التأثيرات النسيجية الخاصة بأكباد الحيوانات التي تمت معاملتها بعقار CPA بتركيز (20) ملغم / كغم من وزن الجسم حصول تغيرات نسجية مرضية واضحة كحدوث ظاهرة التفجي Vasculization في سايتوبلازم الخلايا الكبدية وإن حدوث التفجي في هيولي الخلايا يحدث كنتيجة لاستعمال عقار CPA وهذا يتفق مع ما جاء به Sanad *et al*., 1989 ; El- (Banhawy *et al*., 1993) إذ أشاروا إلى أن حدوث التفجي في هيولي الخلايا الظهارية للطبقة المخاطية للامعاء بهيئة مشابهة لتلك التي وصفت في الكبد نتيجة المعاملة بالعقار نفسه وأيضا سجلت حالات التفجي في الأمعاء بنفس العقار ولكن بنسبة أعلى مما هو عليه في الكبد .

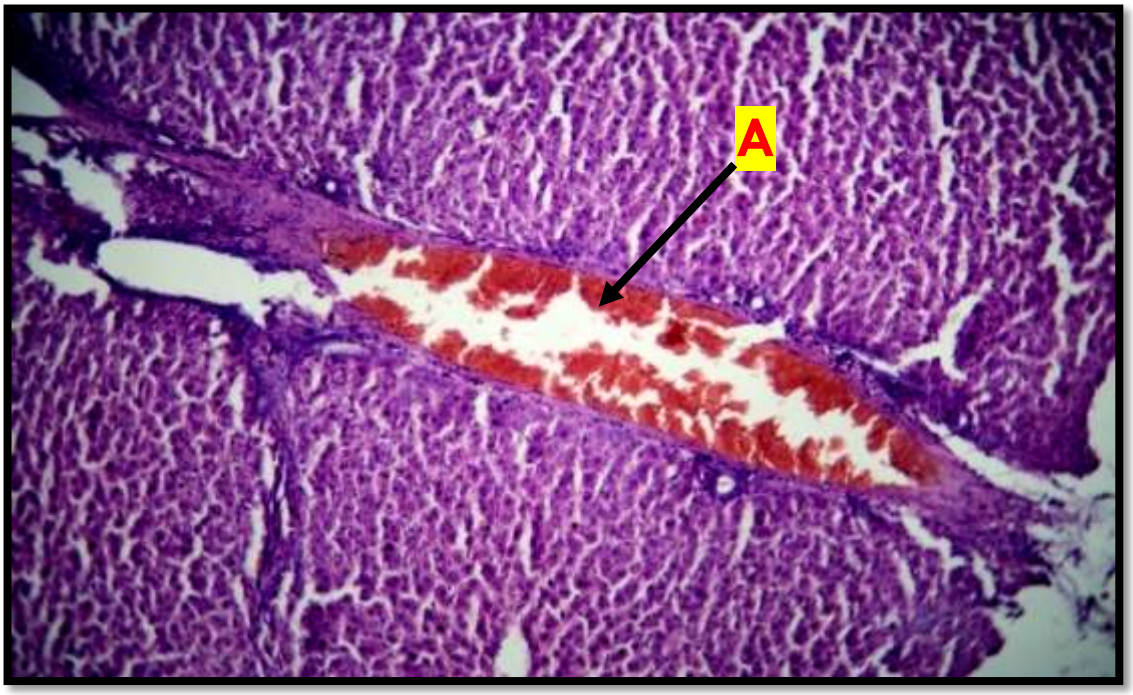
وأشار Robbins and Angell, (1970) إلى أن تفجي الهيولي هو أحد علامات الاستجابة الأولية المهمة في الماء الداخل للخلايا كماء كافٍ متجمع داخل الخلايا وهذا يسبب حدوث فجوات واضحة في الهيولي. فضلا عن حصول تضخم في خلايا كفر, كما هو مبين في الصوره (4-2). كما تبين صورة (4-3) حصول احتقان دموي في احد أوردة الكبد .



صورة (4-2) : مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الأبيض المعاملة بعقار CPA عند تركيز 20 ملغم/كغم من وزن الجسم :-

A- تفجي هيولي الخلايا الكبدية B - تضخم خلايا كفر .

(100×) (H & E stain) .



صورة (4-3) : مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الأبيض المعاملة بعقار CPA عند تركيز 20 ملغم/كغم من وزن الجسم :

A- احتقان دموي في احد أوردة الكبد Blood congestion . **(H & E stain) (100×)**.

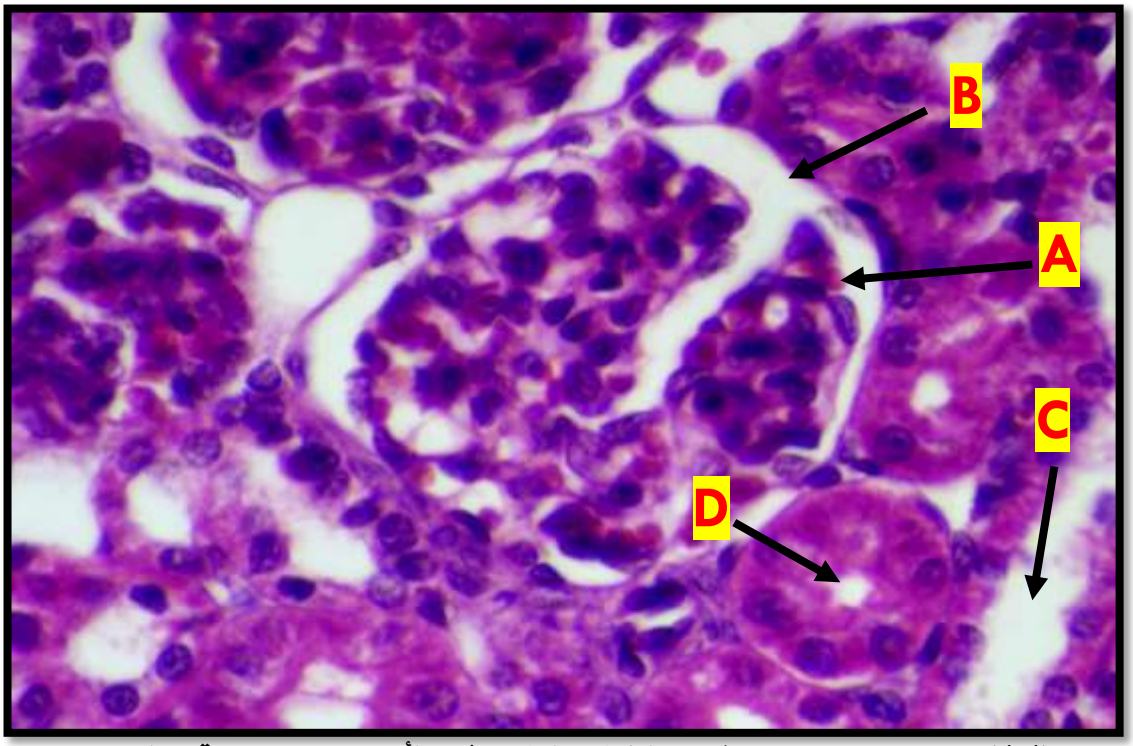
4- 5- 2 مجموعة السيطرة للكلى :

1-2-5-4 منطقة القشرة

يتضح من خلال الصورة (4-4) منطقة القشرة الكلوية التي يظهر فيها فسحة بومان وكبيبة الكلية .

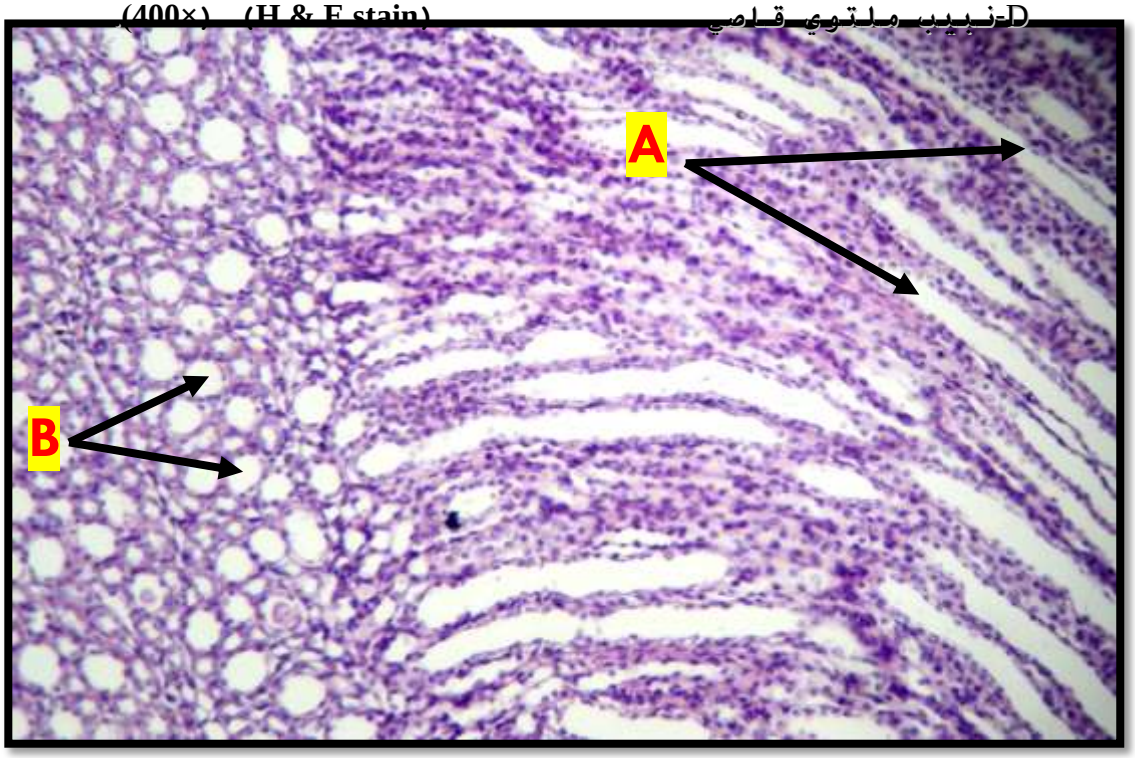
2-2-5-4 منطقة اللب **Medulla** :

توضح الصورة (4-5) منطقة لب الكلى وعروات هنلي .



صورة (4-4) : مقطع عرضي في الكلى للجرذ الأبيض (مجموعة السيطرة) -:

A- فسحة بومان B -الكبيبة الكلوية c- نبيب ملتوي داني D-نبيب ملتوي قاصي (H & E stain) (400×)



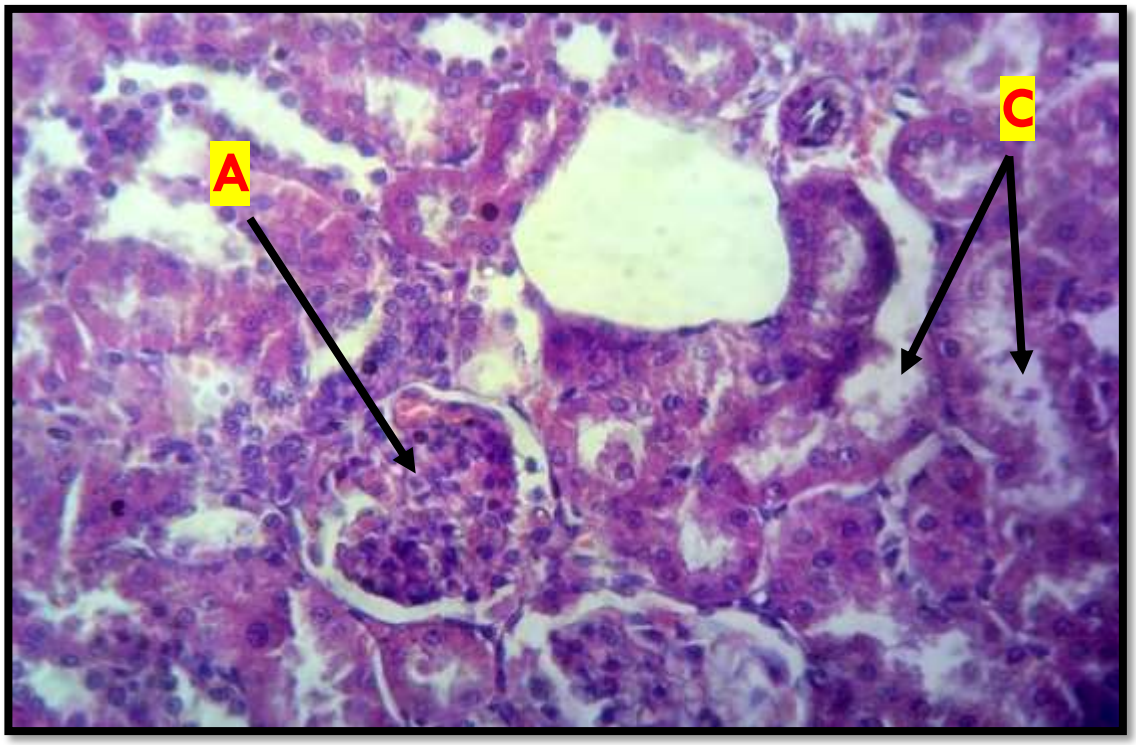
صورة (4-5): مقطع عرضي في لب الكلى للجرذ الأبيض (مجموعة السيطرة) :-

A- عروات هنلي B-نبيبات جامعة للبول (H & E stain)

3-2-5-4 التأثيرات النسجية – المرضية لعقار السايكلوفوسفامايد في كلى ذكور الجرذ الأبيض المعاملة :

4-2-5-4 منطقة القشرة **Cortex** :

أظهرت نتائج فحص المقاطع النسجية في نسيج الكلى المعاملة بعقار CPA بتركيز 20 ملغم/ كغم من وزن الجسم تغيرات نسيجية واضحة في منطقة القشرة ومنطقة اللب, إذ وجد في منطقة القشرة اصابة لبعض الكبيبات Glomerulars (Cohen *et al*.,1992). كما وجد اصابة بعض الكبيبات الاخرى بالتهاب الكبيبة التكاثري Glomerularnephritis فضلا عن حصول انسلاخ للخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية. كما مبين في الصورة (4-6).

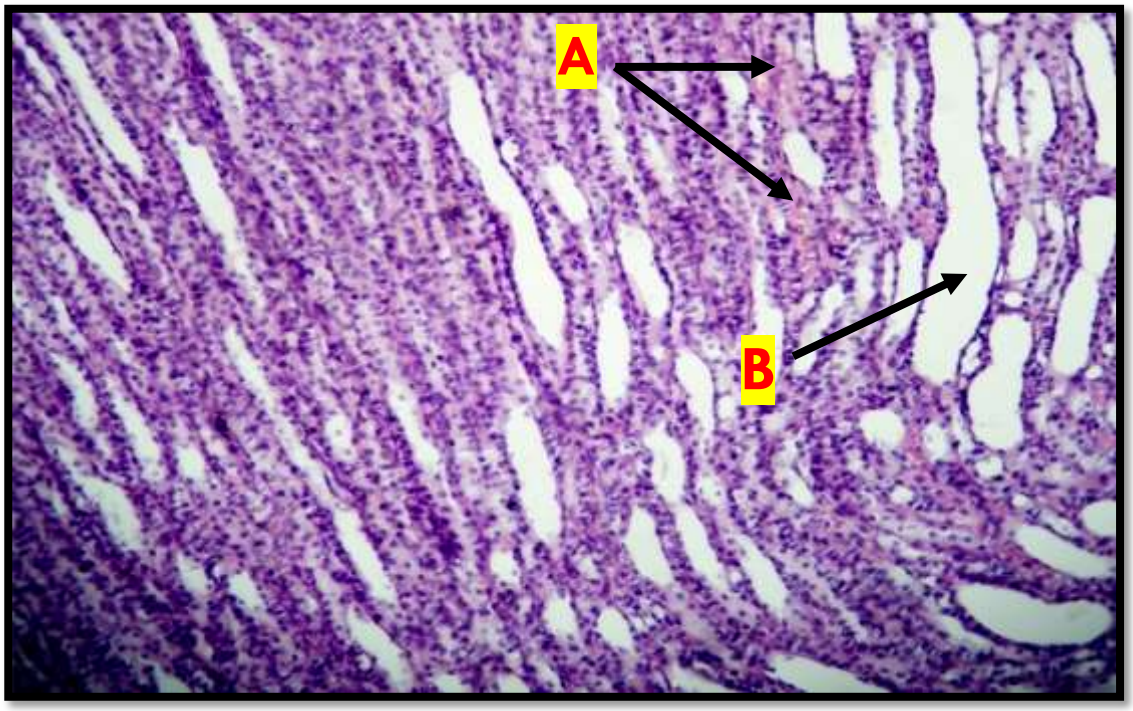


صورة (4-6) : مقطع عرضي في قشرة الكلى للجرذ الأبيض المعاملة بعقار CPA عند تركيز 20 ملغم/كغم من وزن الجسم :-

A- التهاب الكبيبة التكاثري **Glomerularnephritis** -**c** انسلاخ الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية (**H & E stain**) (**400×**).

5-2-5-4 منطقة اللب Medulla :

اما فيما يتعلق بمنطقة اللب فقد وجد اصابتها بنزف بيني وتوسع في عروات هنلي وهذا ما جاء به Cohen *et al*, (1992). ومن المرجح ان يكون سبب النزف البيني يعود الى فعالية عقار CPA المدمرة للخلايا الالتهابية الدفاعية في منطقة لب الكلى الصوره (4-7) .



صورة (4-7) : مقطع عرضي في لب الكلى للجرذ الأبيض المعاملة بعقار CPA عند تركيز 20 ملغم/كغم من وزن الجسم :-

A- نزف بيني B– توسع عروات هنلي **(H & E stain) (200×)** .

6-4 تأثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل على مظهرية ذكور الجرذ :-

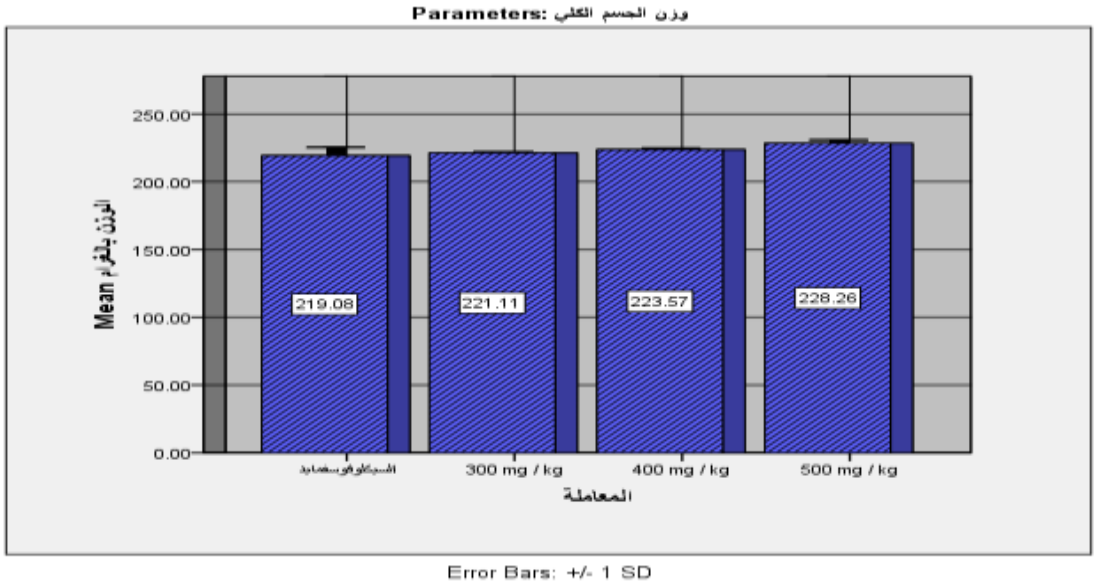
بينت نتائج الدراسة المظهرية الحالية للحيوانات المعاملة بمستخلص القرنفل ولمدة 30 يوما ولكافة التراكيز المستخدمة, تحول لون إدرار الحيوانات من اللون البني الغامق عند المعاملة بعقار CPA إلى اللون الأصفر عند المعاملة بالمستخلص, كما تمت ملاحظة عودة الحيوانات المعاملة بالمستخلص إلى تناول العليقة مقارنة عند المعاملة بعقار CPA.

7-4 تأثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل في أوزان الأعضاء فضلا عن وزن الجسم لذكور الجرذ الابيض :-

1-7-4 التغيرات في وزن الجسم :

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الخاصة بقياس وزن الجسم لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في متوسط وزن الجسم مقارنة بمجموعة السيطرة, إذ بلغ متوسط وزن الجسم (221.11 ± 1.14) , (223.57 ± 1.04) و (228.26±2.43) غم للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (219.08 ± 6.16) غم الشكل (4-17).

وزن الجسم

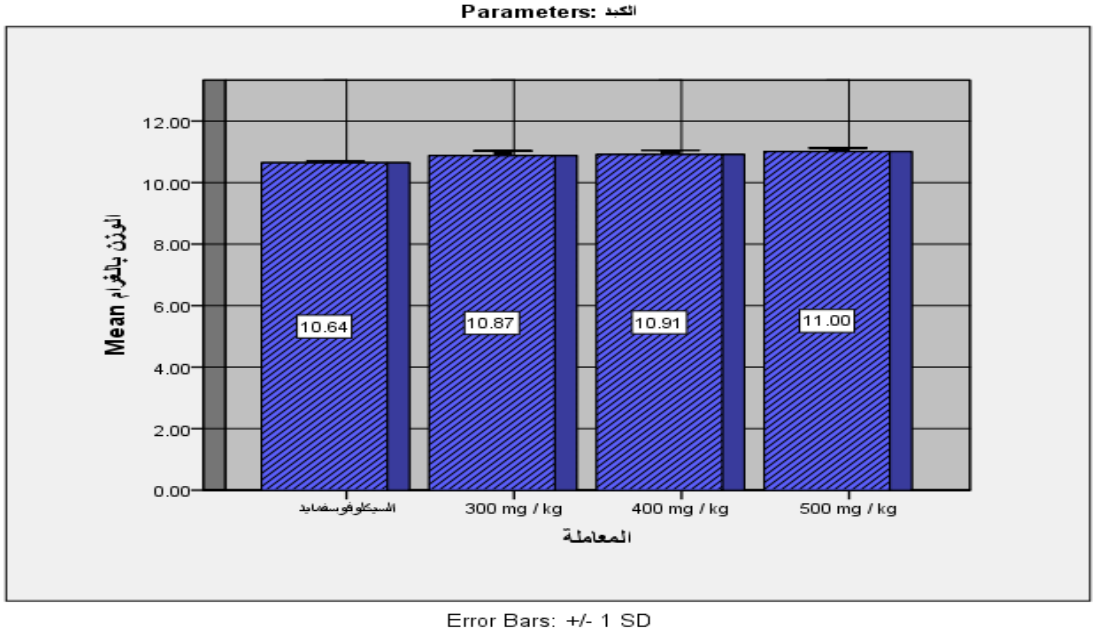


شكل (4-17) متوسط وزن الجسم لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-7-2 التغيرات في أوزان الكبد :

أوضحت نتائج الدراسة الخاصة بقياس أوزان الكبد لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في متوسط وزن الكبد مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA, إذ بلغ متوسط وزن الكبد (10.87 ± 0 .16) , (10.91 ± 0.14) و (11.00 ± 0.12)غم للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (10.64 ± 0.05) غم الشكل (4-18) .ومن المحتمل سبب الارتفاع في وزن الكبد يعود إلى فعالية مستخلص القرنفل وإمكانيته على إزالة الآثار السمية لعقار CPA وإعادة خلايا الكبد إلى حالتها الطبيعية .

وزن الكبد

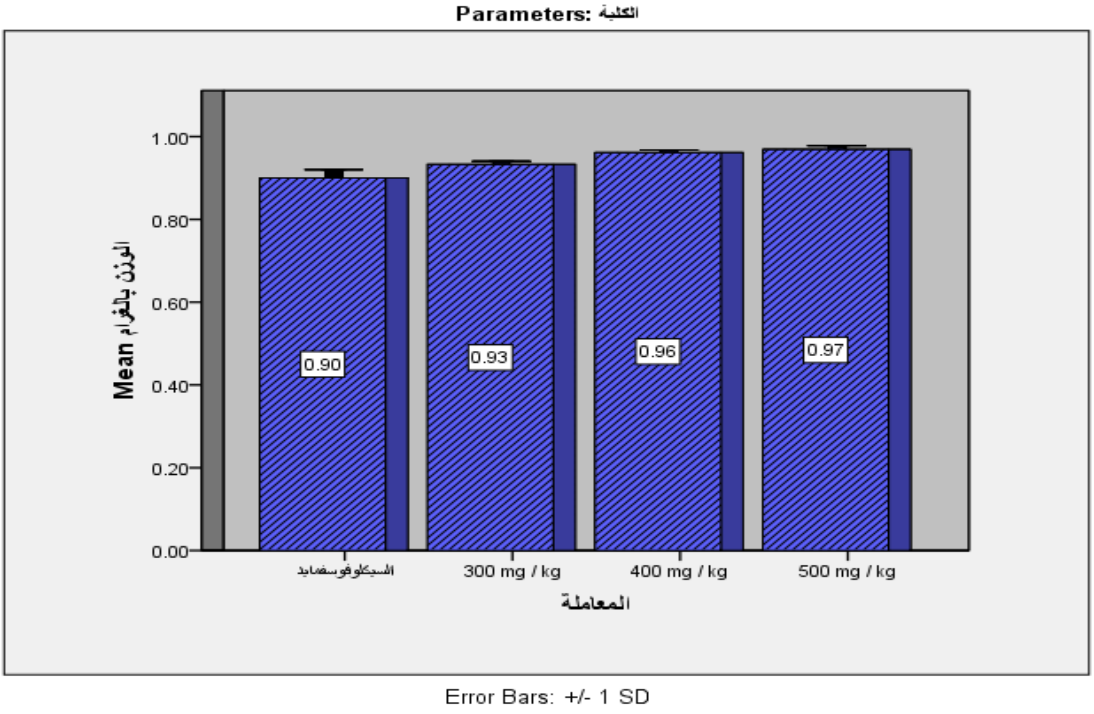


شكل (4-18) متوسط وزن الكبد لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA .

3-7-4 التغيرات في أوزان الكلى :

أظهرت نتائج الدراسة الحالية المبينة في الشكل (4-19) والخاصة بقياس أوزان الكلى لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في متوسط وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA, إذ بلغ متوسط وزن الكلى (0.93 ± 0. 01) , (0.96 ± 0.01) و (0.97 ± 0. 01) غم للمجاميع الثلاثة ولمجموعة السيطرة (0.90 ± 0. 02) غم.

وقد يكون سبب الزيادة في وزن الكلى راجع إلى فعالية المستخلص الكحولي للقرنفل وقابليته على إعادة المكونات الخلوية المتمثلة بقشرة ولب الكلى إلى حالتها الطبيعة .



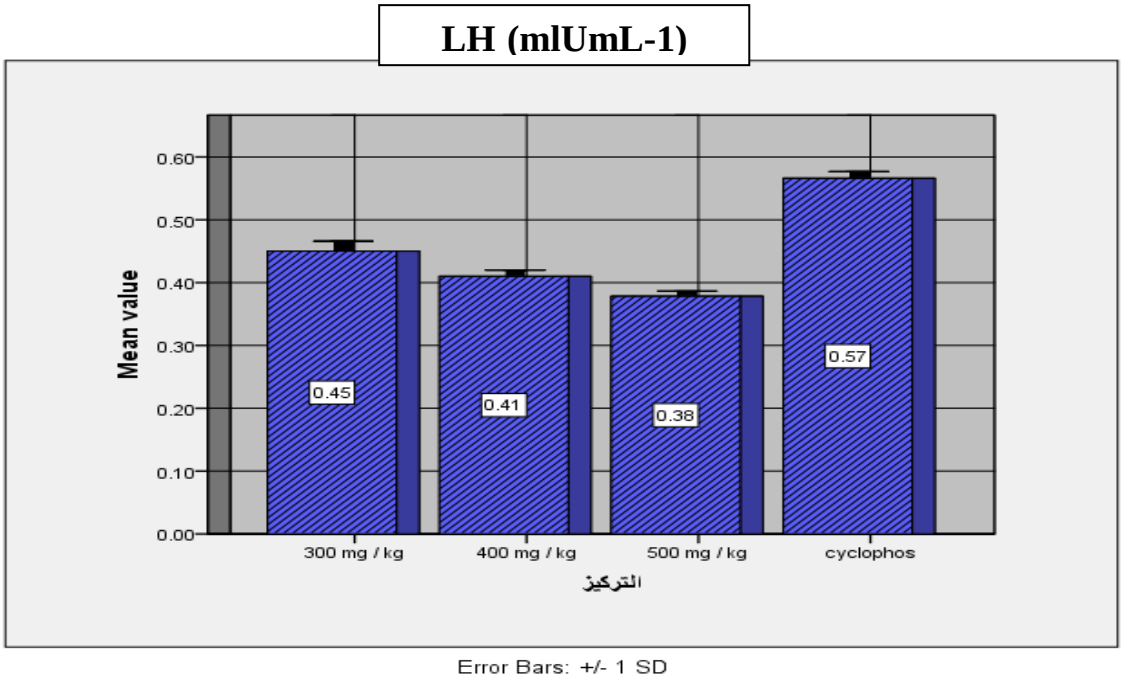
شكل (4-19) متوسط وزن الكلى لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA .

8-4 تأثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل على مستوى بعض الهرمونات لذكور الجرذ الأبيض :-

تم استعمال ثلاثة تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لنبات القرنفل (500,400,300) ملغم / كغم بهدف التعرف على التركيز الأكثر تقليل للآثار الجانبية الناتجة عن المعاملة بعقار CPA وذلك من خلال المعايير الهرمونية في ذكور الجرذ الأبيض .

1-8-4 التغير في مستوى هرمون (LH) :

أظهرت النتائج المبينة في الشكل (4-20) حصول انخفاض معنوي (P<0.05) في مستوى هرمون (LH) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA, إذ بلغ مستوى الهرمون (0.45 ± 0.02) ,(0.41 ± 0.01) و (0.38 ± 0.01) **(**mlUmL-1**)** للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (0.57 ± 0.01) **(**mlUmL-1**)**. وجاءت نتائج الدراسة الحالية متفقة مع ما جاءت بها دراسة (Yakubu ,2007) والتي أشارت إلى أن القرنفل يخفض مستوى هرمون (LH) في الدم.

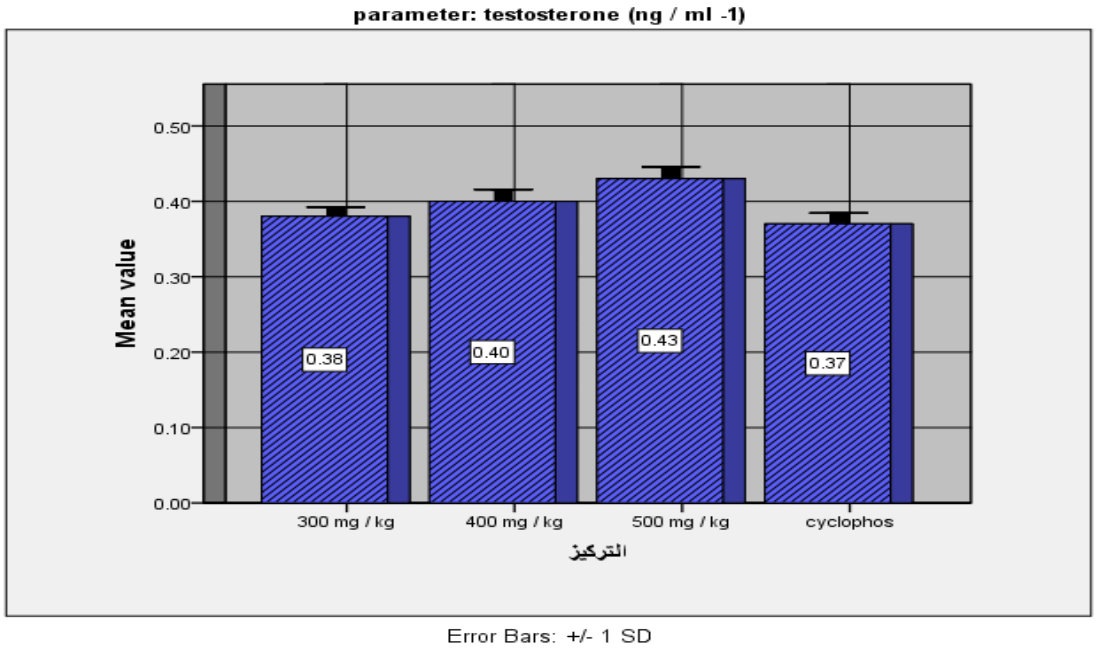


شكل (4-20) مستوى هرمون (LH) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-8-2 مستوى هرمون (Testosterone)

أشارت النتائج المبينة في الشكل (4-21) حصول ارتفاع معنوي (P<0.05) في مستوى هرمون الشحمون الخصوي لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA, إذ بلغ مستوى الهرمون (0.01± 0.38) , (0.02± 0.40) و (0.02± 0.43)

.(Yakubu, 2007)



(ng/ml) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (0.37 ± 0.01) (ng/ml) . وجاءت نتائج الدراسة متفقة مع ما توصل إليه

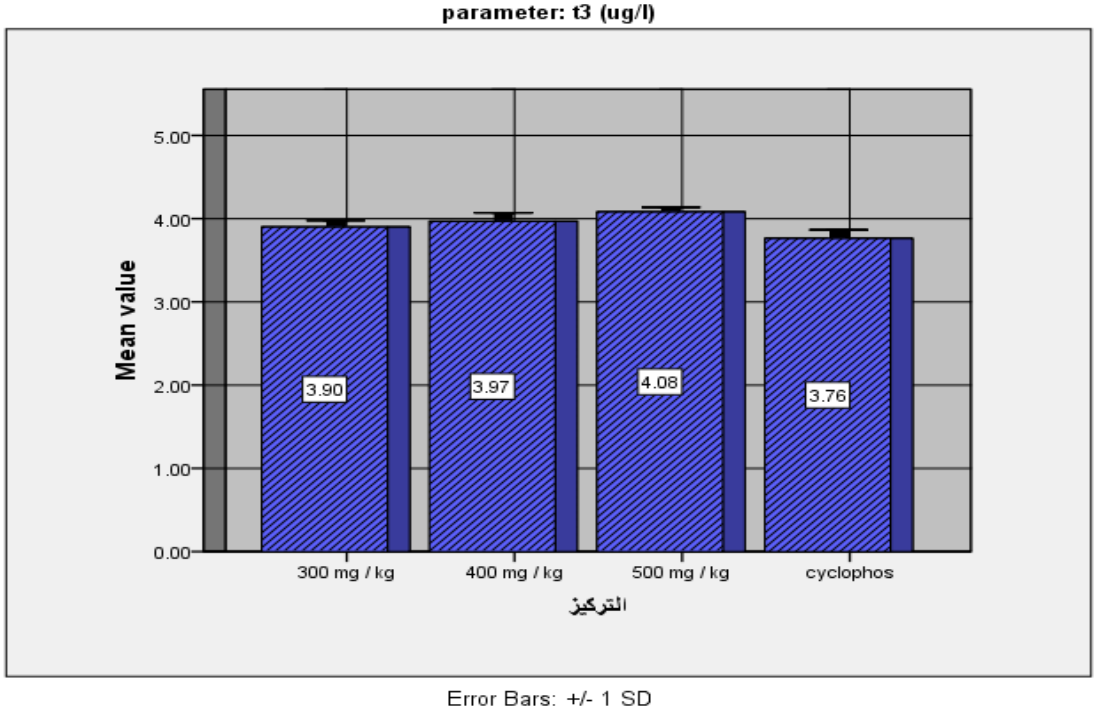
شكل (4-21) مستوى هرمون (Testosterone) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-8-3 التغير في مستوى هرمون (T3) :

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى هرمون (T3) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

إذ بلغ مستوى الهرمون (3.90 ± 0.08) , (3.97 ± 0.10) و (4.08± 0.06) (gμ/ml) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (3.76 ± 0.11) (gμ/ml) الشكل (4−22). وهذا ما أكده (Harrington *et al*., 1991).

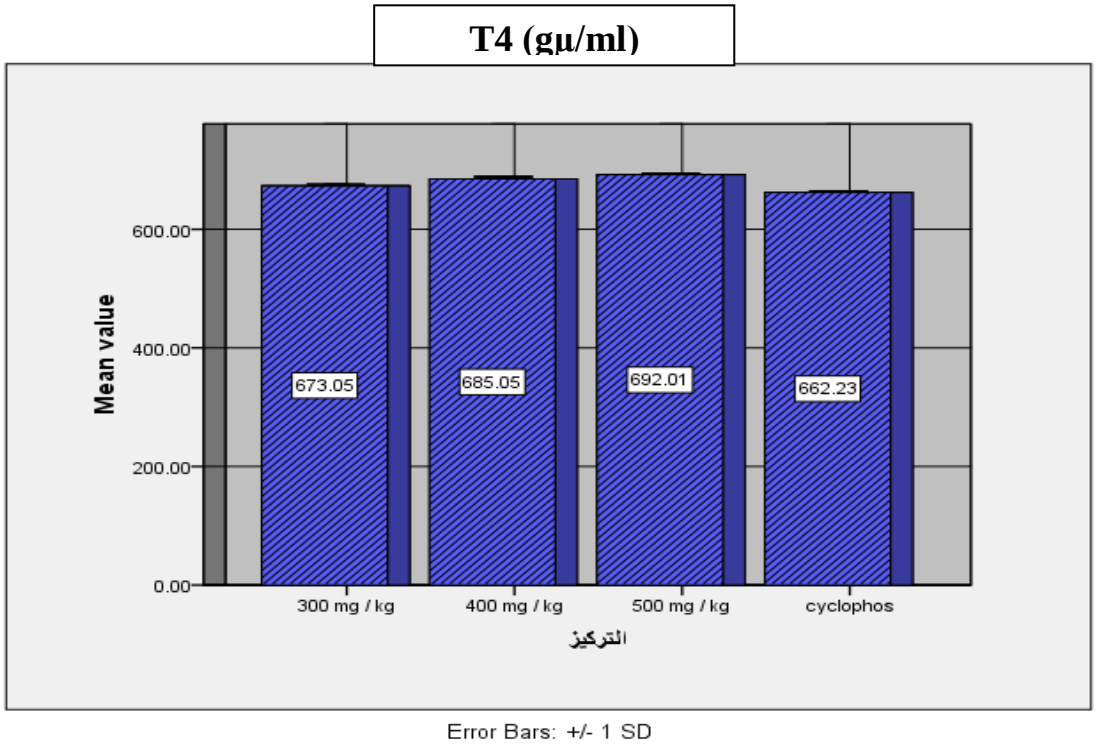
T3 (gμ/ml)



شكل (4-22) مستوى هرمون (T3) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-8-4 التغير في مستوى هرمون (T4) :

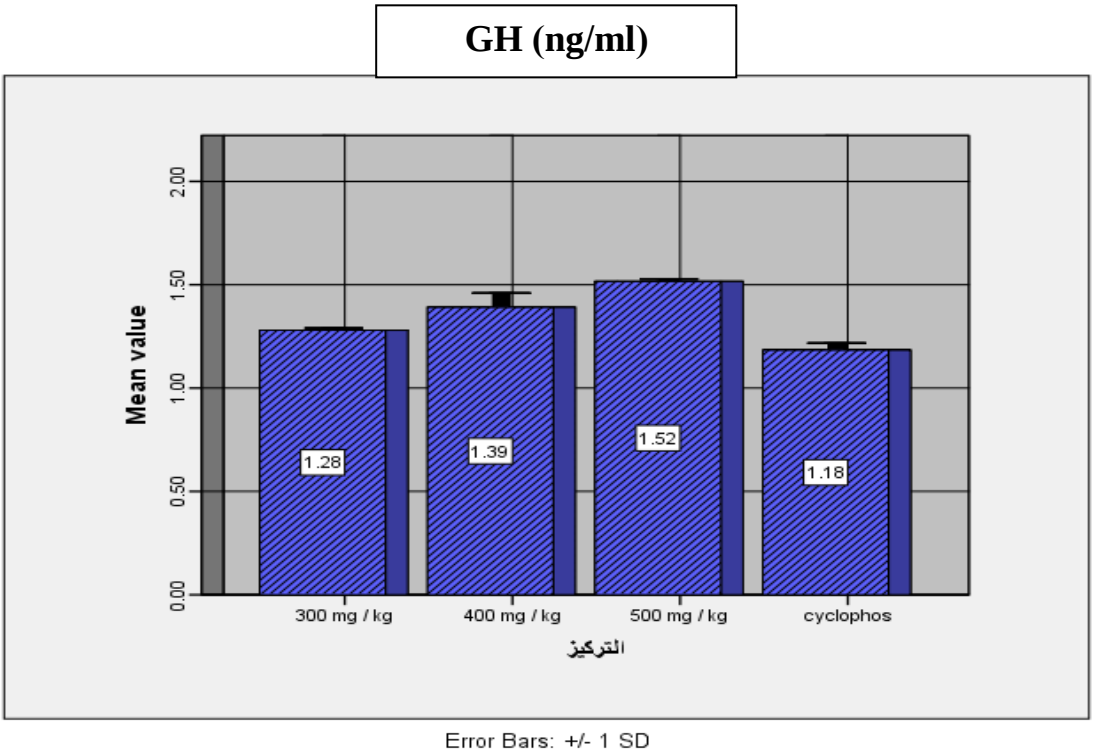
أوضحت النتائج الحالية المبينة في الشكل (4-23) حصول ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في مستوى هرمون (T4) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA. إذ بلغ مستوى الهرمون (673.05 ± 2.54) , (685.05 ± 3.62) و (692.01 ±1.84) (gμ/ml) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (662.23 ± 2.26) (gμ/ml). وجاءت نتائج الدراسة الحالية متفقة مع توصلت إليه Harrington *et al.*, (1991).



شكل (4-23) مستوى هرمون (T4) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-8-5 التغير في مستوى هرمون (GH) :

أظهرت نتائج الدراسة الحالية المبينة في الشكل (4-24) حصول ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في مستوى هرمون (GH) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA. إذ بلغ مستوى الهرمون (1.28 ± 0.01) , (1.39 ± 0.07) و (1.52 ± 0.01) (ng/ml) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (1.18± 0.03) (ng/ml). وجاءت نتائج الدراسة الحالية متفقة مع توصلت إليه (Harrington *et al*., 1991).



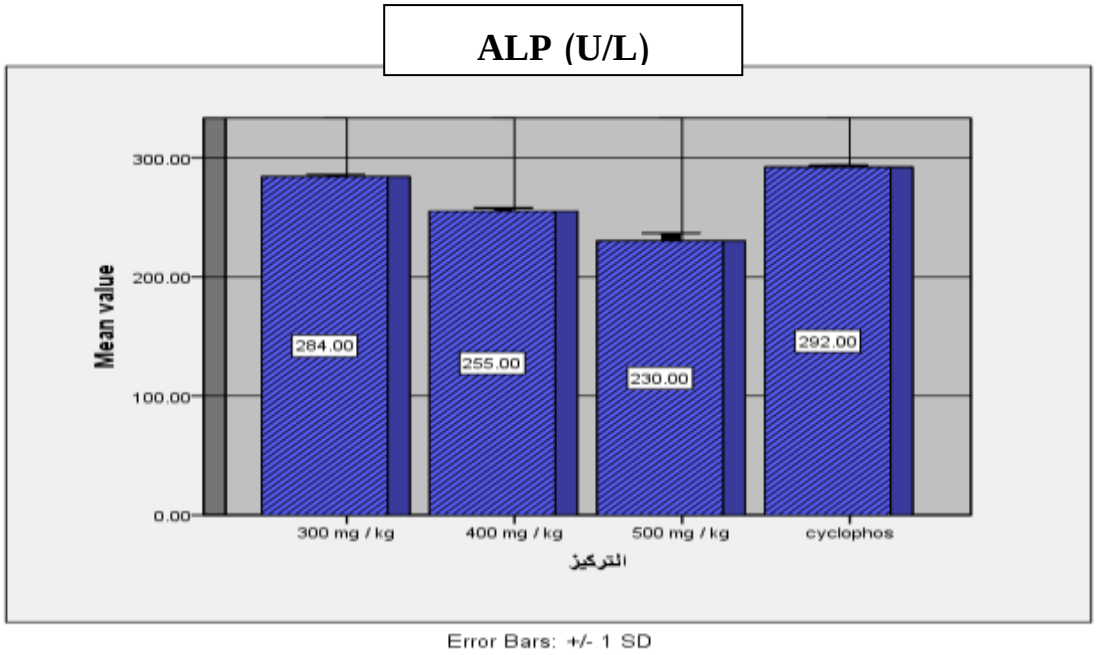
شكل (4-24) مستوى هرمون (GH) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

9-4 تأثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل على بعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذ الأبيض :-

1-9-4 التغير في مستوى إنزيم (ALP) :

أوضحت نتائج الدراسة المبينة في الشكل (4-25) حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى إنزيم (ALP) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA. إذ بلغ مستوى الإنزيم (284.00 ± 1.87) , (255.00 ± 2.92) و (230.00 ± 6.75) (U/L) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (292.00 ± 1.69) (U/L).

ونتائج الدراسة الحالية جاءت متفقة مع ما توصلت إليه دراسة Abdel-Wahhab and Aly, (2005) والتي نصت على إن العلاج بالقرنفل يعمل على خفض مستويات إنزيمات الكبد في المصل، وينسب فعالية هذا العلاج إلى وجود مضادات الأكسدة في القرنفل والذي يحتوي على مركبات فينولية تعمل كوابح للجذور الحرة .

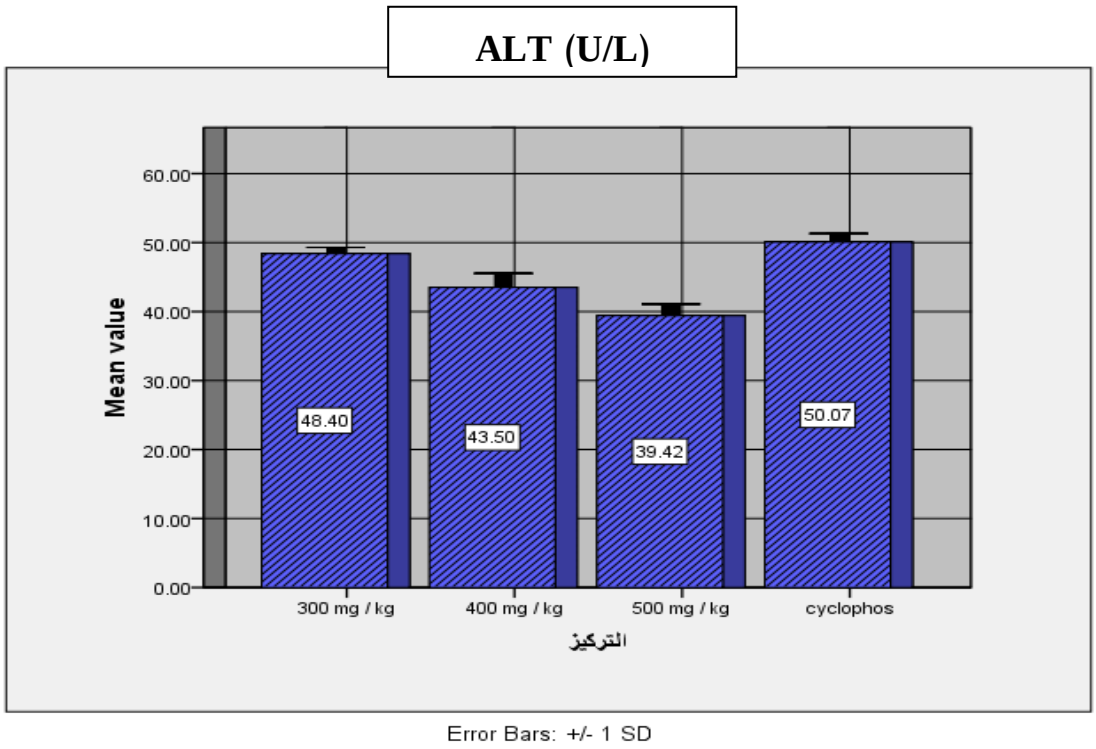


شكل (4-25) مستوى انزيم (ALP) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-9-2 مستوى إنزيم (ALT) :

بينت نتائج الدراسة ان إنزيم (ALT) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم سجل انخفاض معنوي ($P < 0.05$). إذ بلغ مستوى الإنزيم (0.89 ± 48.40) , (2.03 ± 43.50) و (1.68 ± 39.42) (U/L) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (1.24± 50.07) (U/L) الشكل (4-26).

وهذا ما تم تأكيده من خلال دراسة Abdel-Wahhab and Aly ,(2005) والتي أشارت إلى إن العلاج بالقرنفل يعمل على خفض مستويات إنزيمات الكبد في المصل، وينسب فعالية هذا العلاج إلى وجود مضادات الأكسدة في القرنفل والذي يحتوي على مركبات فينولية تعمل كوابح للجذور الحرة.



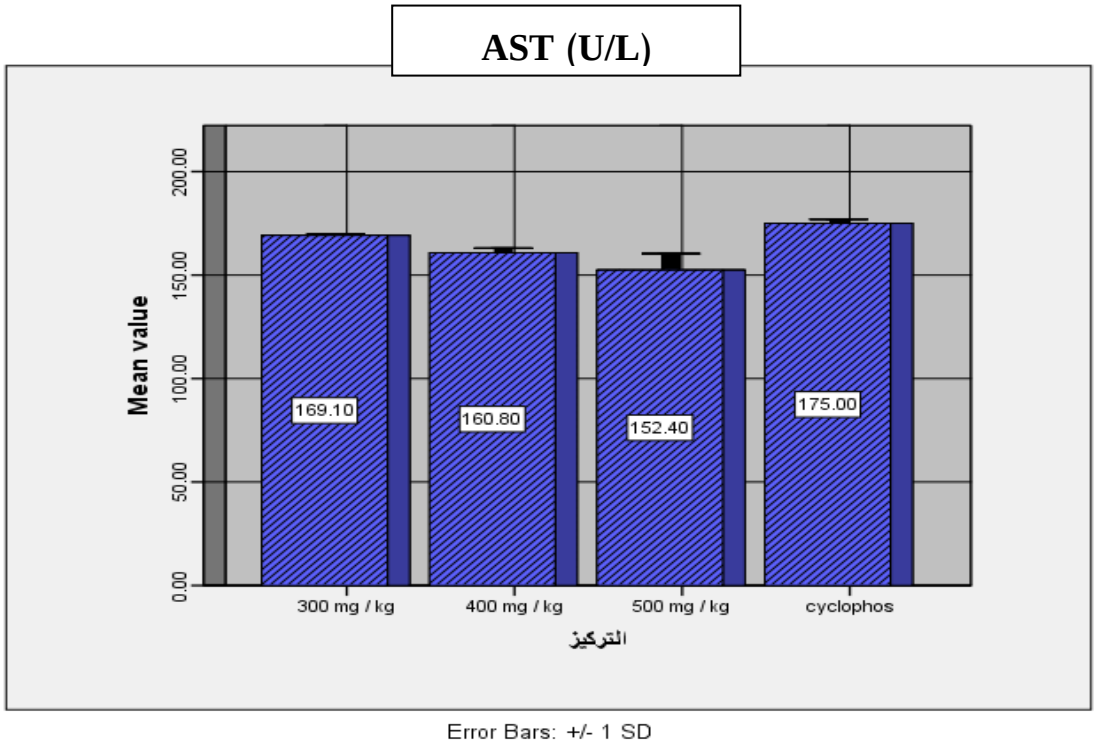
شكل (4-26) مستوى انزيم (ALT) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-9-3 مستوى إنزيم (AST) :

أظهرت نتائج الدراسة حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى إنزيم (AST) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA. إذ بلغ مستوى الإنزيم

(169.10 ± 0.89) , (160.80 ± 2.17) و (152.40 ± 7.92) (U/L) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (175.00 ± 1.98) (U/L). الشكل (4-27).

ونتائج الدراسة الحالية جاءت متفقة مع ما توصلت إليه Abdel-Wahhab and Aly ,(2005) والتي أوعزت أسباب انخفاض مستويات إنزيمات الكبد في المصل، نتيجة امتلاك القرنفل مركبات فينولية تعمل كوابح للجذور الحرة .

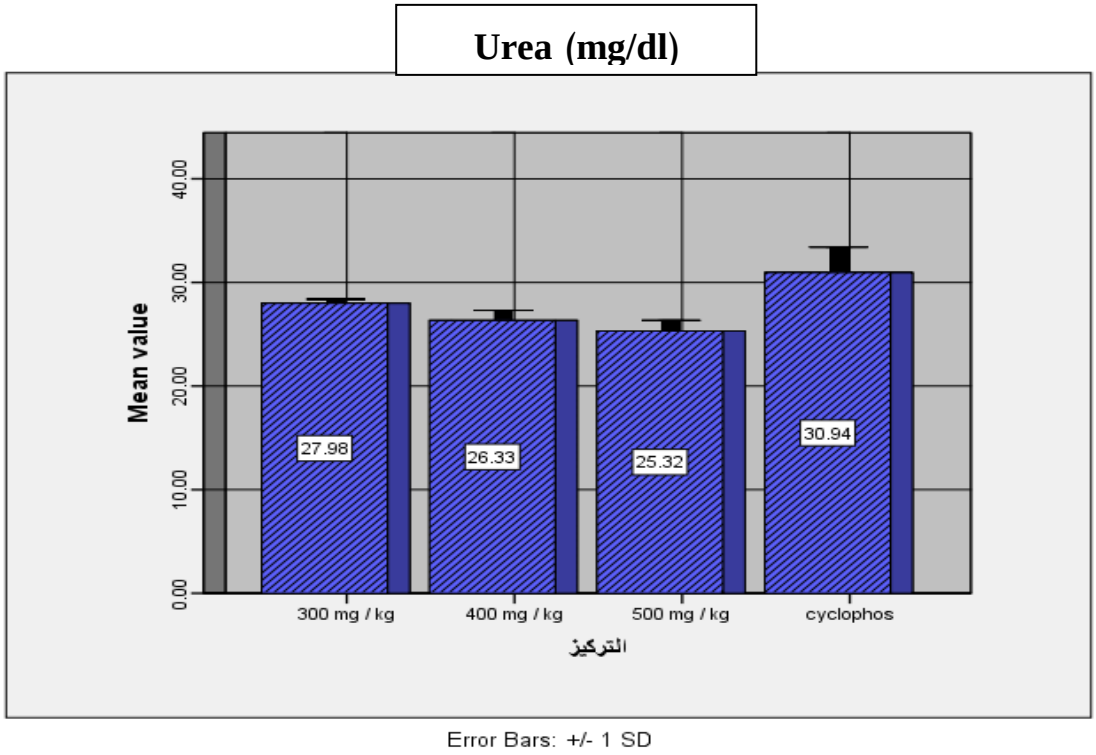


شكل (4-27) مستوى إنزيم (AST) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-9-4 مستوى اليوريا (Urea) :

أظهرت نتائج الدراسة المبينة في الشكل (4-28) حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى اليوريا لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA. إذ بلغ مستوى اليوريا (27.98 ± 0.40) , (26.33 ± 0.97) و (25.32 ± 1.01) (mg/dl) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (30.94 ± 2.47)

(mg/dl). ولم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما جاءت بها دراسة (Shyamala *et al*., 2003).

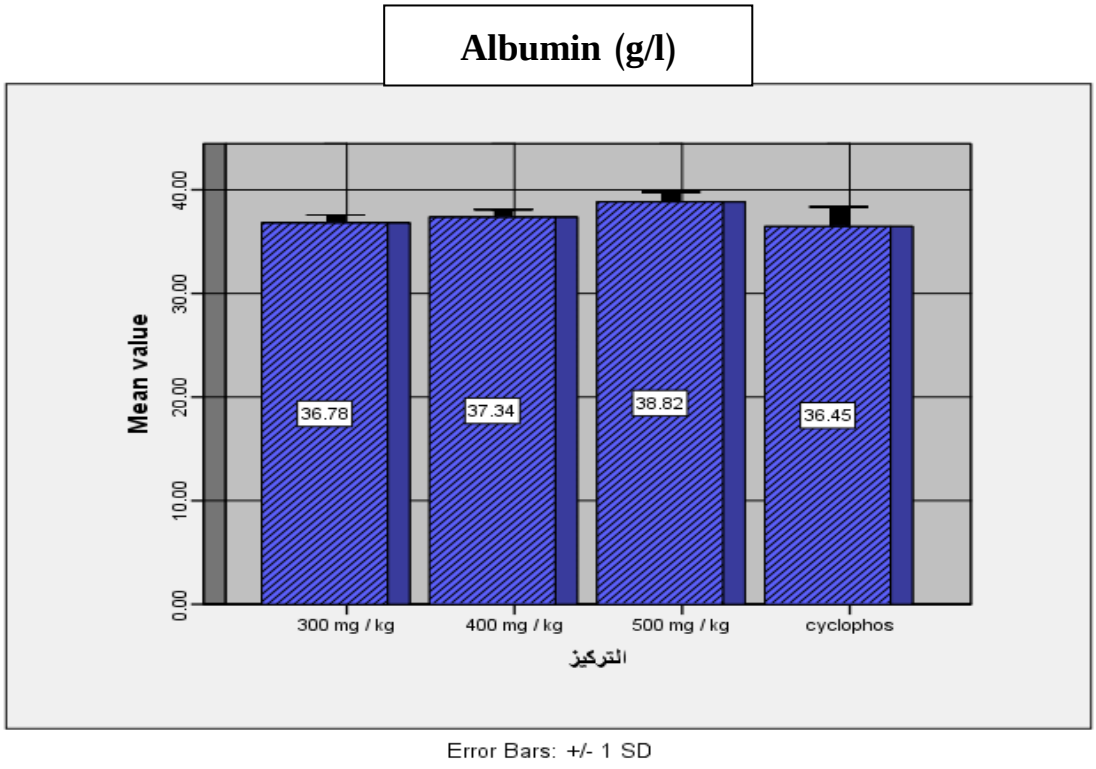


شكل (4-28) مستوى اليوريا Urea لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-9-5 مستوى الالبومين(Albumin) :

أوضحت النتائج المبينة في الشكل (4-29) حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الألبومين لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA. إذ بلغ مستوى الألبومين (36.78 ± 0.79) , (37.34 ± 0.77) و (38.82 ± 0.96) (g/l) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (36.45 ± 1.90) (g/l). نتائج الدراسة الحالية جاءت متفقة مع ما توصلت إليه العديد من الدراسات منها دراسة

(Abdel-Rahman and Abd El-Megeid , 2006) . والتي أشارت إلى إن القرنفل يزيد من مستوى الألبومين في مصل الدم .

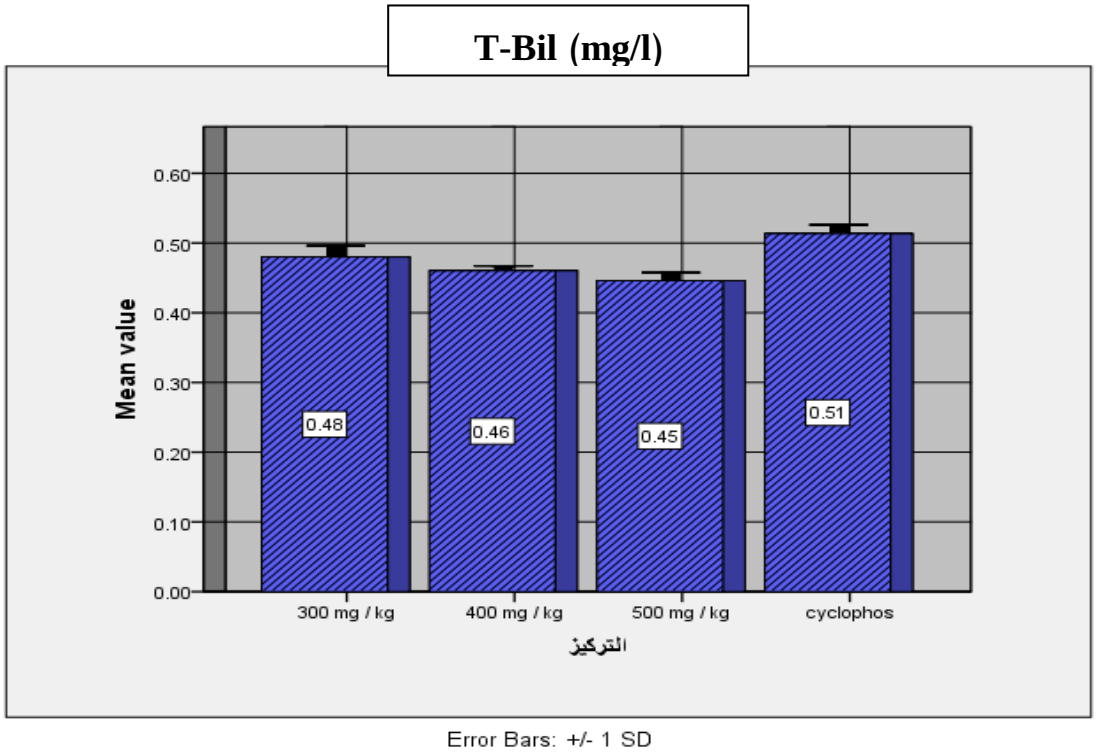


شكل (4-29) مستوى الالبومين Albumin لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-9-6 مستوى البليروبين الكلي (T-Bil) :

أشارت نتائج الدراسة الموضحة في الشكل (4-30) إلى حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى البليروبين الكلي لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA. إذ بلغ مستوى البليروبين الكلي (0.48 ± 0.02) , (0.46 ± 0.01) و (0.45 ± 0.01) (mg/dl) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (0.51 ± 0.01) (mg/dl). نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع ما أشارت إليه (Abdel-Rahman and Abd El-Megeid , 2006). كما جاءت متفقة مع ما توصلت إليه Abdel-

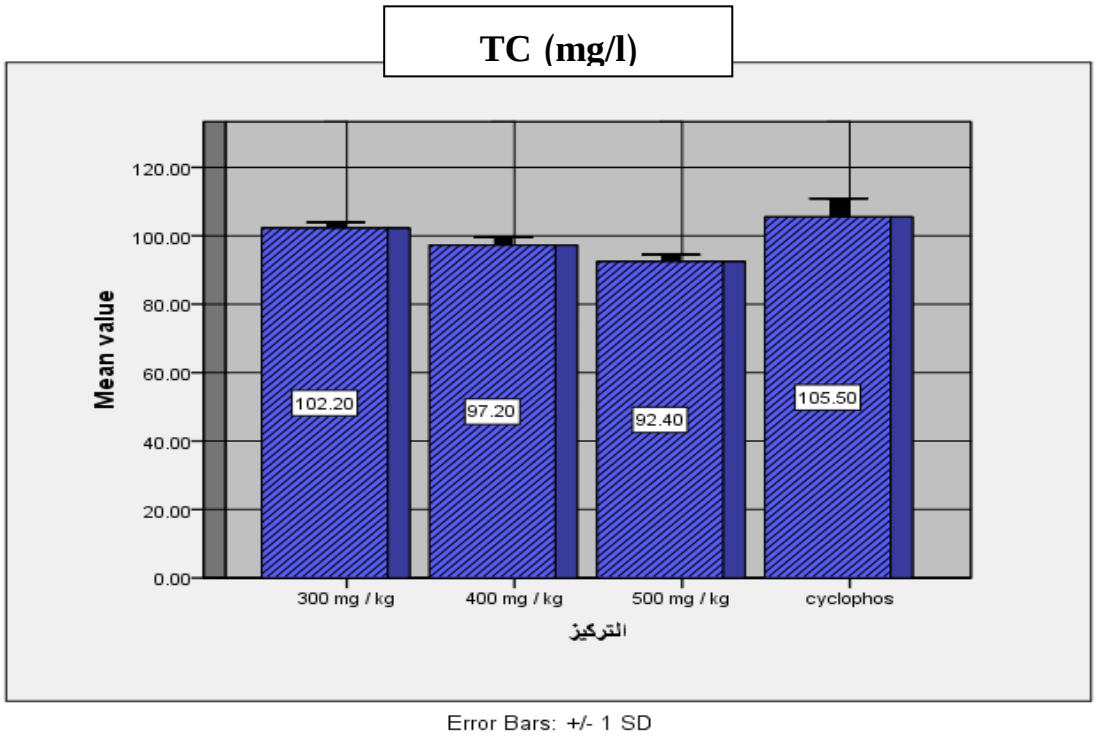
Wahhab and Aly ,(2005) . والتي أشارت إلى إن المعاملة بمستخلص القرنفل يؤدي إلى خفض مستوى البليروبين الكلي في مصل الدم.



شكل (4-30) مستوى البليروبين الكلي (TBil) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-9-7 مستوى الكولسترول الكلي (TC) :

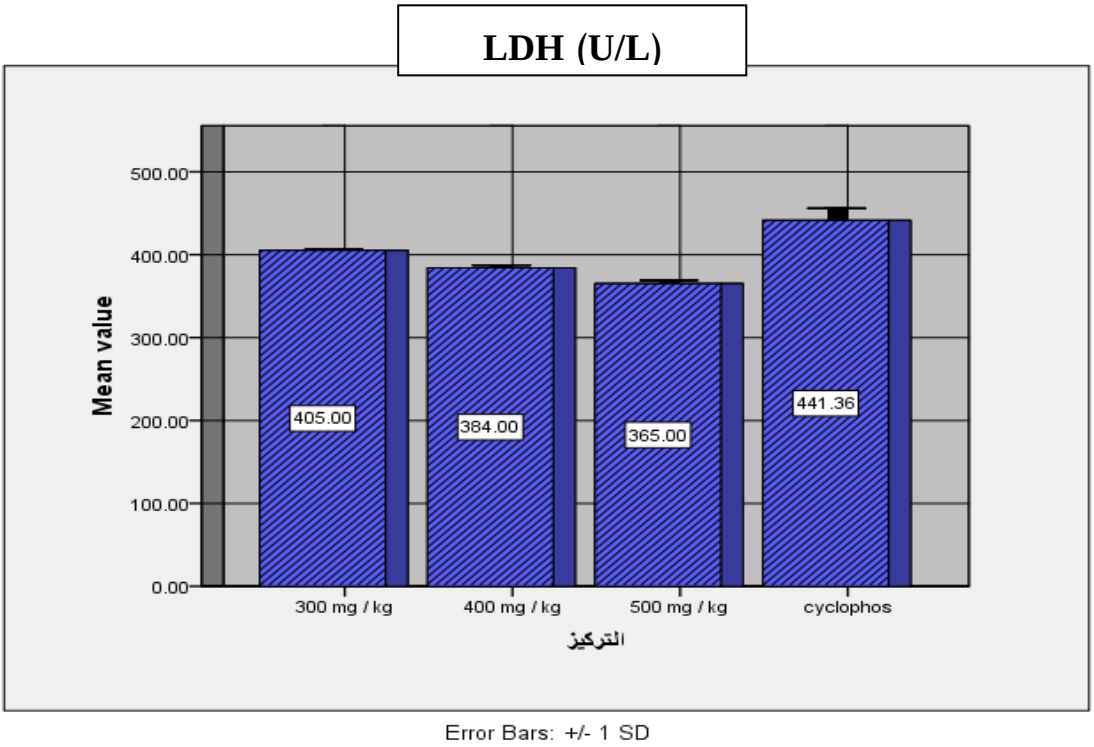
أوضحت نتائج الدراسة الحالية المبينة في الشكل (4-31) حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الكولسترول الكلي لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA. إذ بلغ مستوى الكولسترول الكلي (102.20 ± 1.68) , (97.20 ± 2.39) و (92.40 ± 2.07) (mg/dl) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (105.50 ± 5.40) (mg/dl). نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع العديد من الدراسات منها دراسة (Nathan *et al*. 2005) . والتي أشارت إلى إن المعاملة بالقرنفل تؤدي إلى خفض مستوى الكولسترول الكلي في مصل الدم .



شكل (4-31) مستوى الكولسترول الكلي (TC) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

4-9-8 مستوى إنزيم (LDH) :

بينت نتائج الدراسة الحالية حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى إنزيم (LDH) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل ولكافة التراكيز المستعملة (300) , (400), (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA. إذ بلغ مستوى الإنزيم (405.00 ± 1.58) , (384.00 ± 3.16) و (365.00 ± 4.12) (U/L) للمجاميع الثلاثة على التوالي ولمجموعة السيطرة (441.36 ± 14.35) (U/L) الشكل (4-32).



شكل (4-32) مستوى انزيم (LDH) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي للقرنفل وذكور الجرذ المعاملة بعقار CPA.

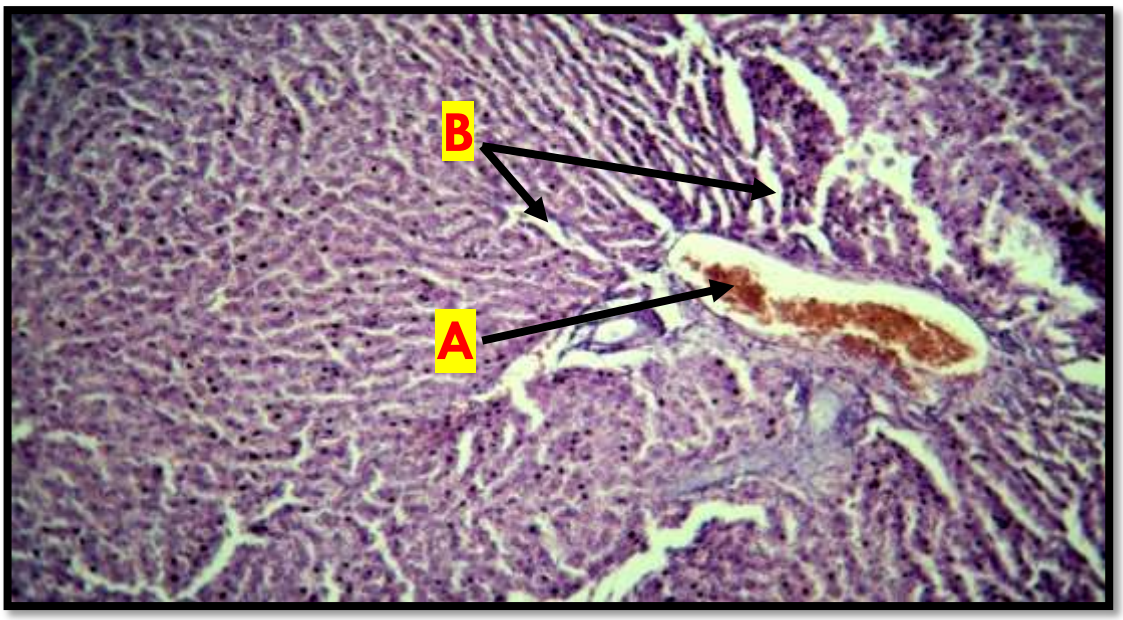
4-10 التأثيرات النسجية – للمستخلص الكحولي لذبات القرنفل بتراكيز مختلفة في كبد وكلى

ذكور الجرذ الأبيض المعاملة بعقار السايكلوفوسفامايد :

4-10-1 التغيرات في نسيج الكبد :

4-10-1-1 نتائج المعاملة عند تركيز 300 ملغم/كغم من وزن الجسم .

أشارت نتائج الدراسة النسجية الحالية إن المعاملة بالجرعة 300 ملغم/ كغم ولمدة 30 يوماً من التجريع الفموي بمستخلص القرنفل الكحولي لم تظهر تحسن في نسيج الكبد إذ لوحظ وجود احتقان دموي في الوريد المركزي للكبد فضلا عن حصول توسع في الجيبانيات الكبدية كما مبين في الصورة (4-8).

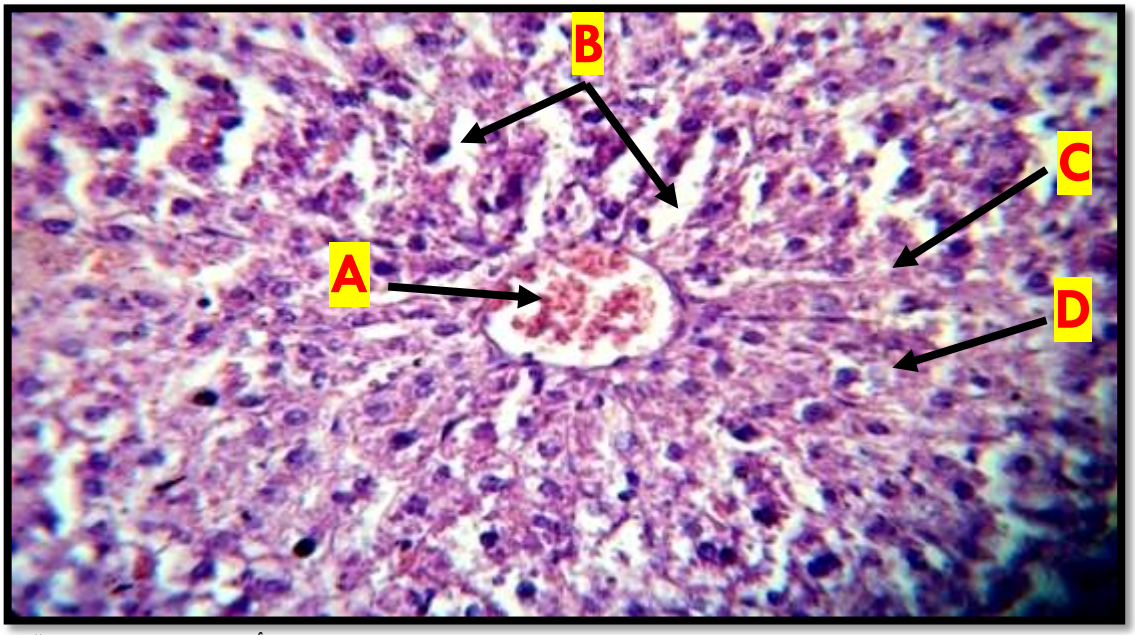


صورة (4-8): مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الأبيض المعاملة بتركيز 300 ملغم/كغم من مستخلص القرنفل :-

A-احتقان دموي في الوريد الكبدي B- توسع في جيبانيات الكبد . H) (& E stain) (100×) .

4-10-1-2 نتائج المعاملة عند تركيز 400 ملغم/كغم من وزن الجسم .

بينت نتائج الدراسة النسجية الحالية في الحيوانات المعاملة بالجرعة 400 ملغم/ كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوماً من التجريع الفموي بمستخلص القرنفل الكحولي عدم حصول إي تحسن في نسيج الكبد إذ لوحظ إصابة نسيج الكبد باحتقان دموي في وريد الكبد المركزي فضلا عن توسع جيبانيات الكبد, كما موضح في الصورة (4-9).



صورة (4-9): مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الأبيض المعاملة بتركيز 400 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :-

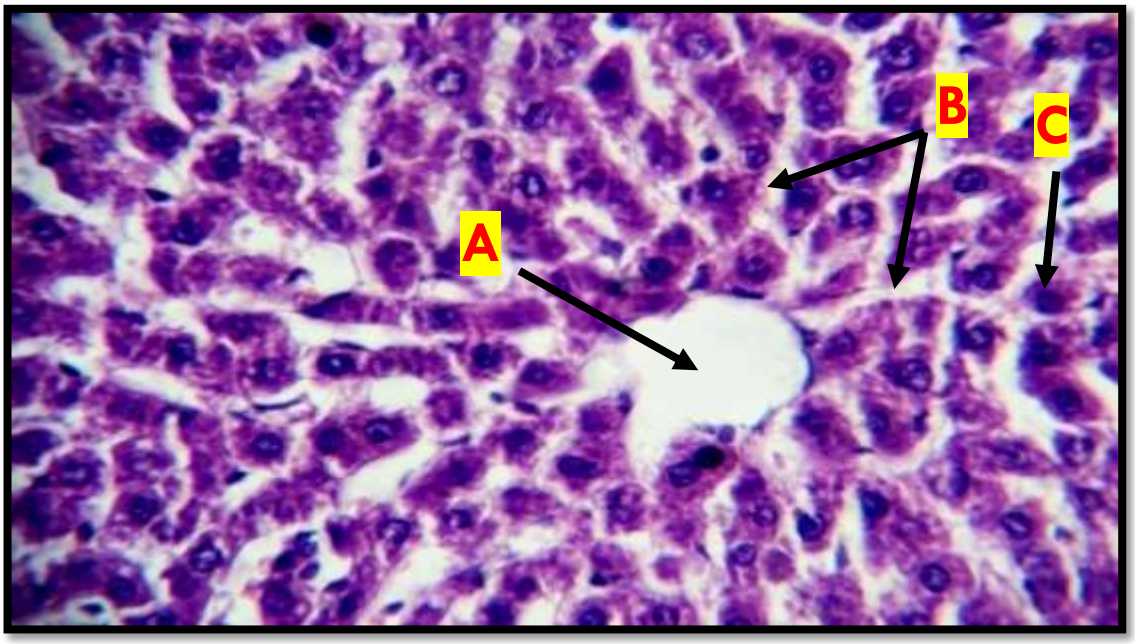
A- احتقان دموي في الوريد المركزي B- توسع في جيبانيات الكبد C- تنكس الخلايا الكبدية

D- تنخر في الحبال الكبدية (H & E stain) (400×) .

4-1-9-3 نتائج المعاملة عند تركيز 500 ملغم/كغم من وزن الجسم .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية للحيوانات المعاملة بالجرعة 500 ملغم/كغم حصول انخفاض في مستوى التأثيرات المرضية لنسيج الكبد, حيث أثبتت المعاملة ولمدة 30 يوماً من التجريع الفموي فعاليتها في حماية أنسجة الكبد من التغيرات النسجية المتسببة عن المعاملة بعقار CPA كما الا انه ظهر تغلظ نووي في خلايا الكبد مبين في الصورة (4-10).

وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصلت إليها Dashti and Morshedi ,(2009) حيث نصت على إن القرنفل في غذاء الفئران المعاملة برابع كلوريد الكاربون CCl4 قد خفض التغييرات النسيجية المرضية لأنسجة الكبد وأعادها إلى الحالة الطبيعية.



صورة (4-10): مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الأبيض المعاملة بتركيز 500 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :-

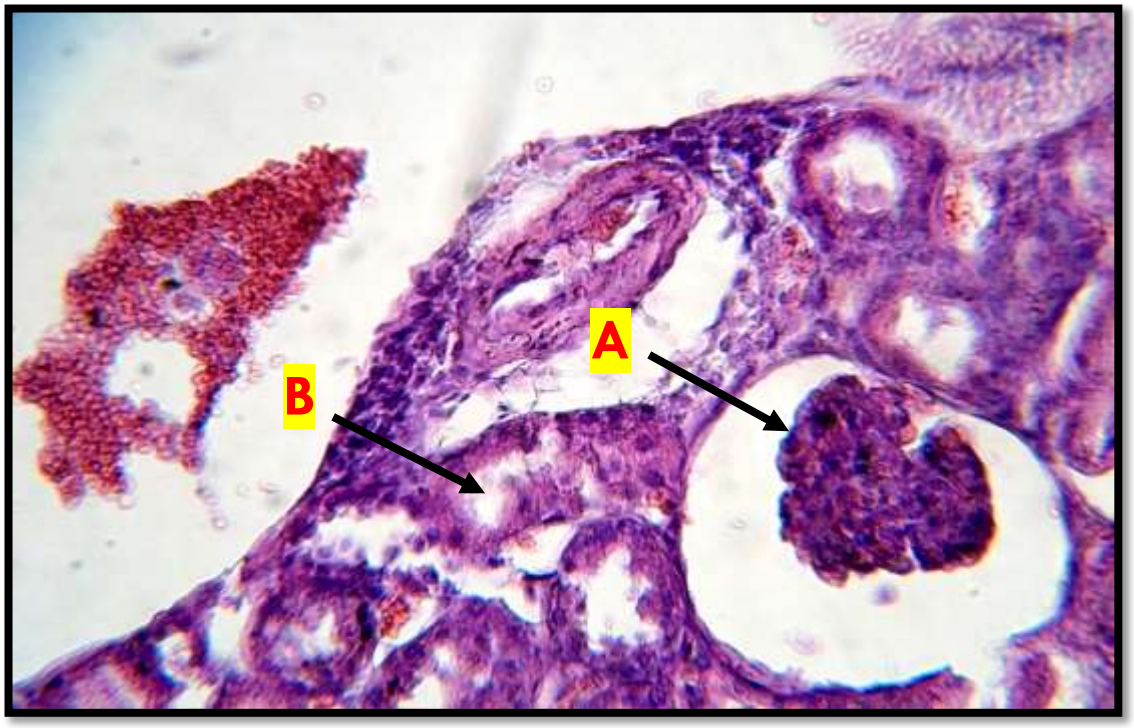
A- وريد الكبد المركزي **B**- جيبانيات الكبد **C-** تغلظ نووي (**Pyknotic nuclei**) (**H & E stain**) (**400×**) .

4-9-2 التغيرات في نسيج الكلى

4-10-2-1 نتائج المعاملة بالمستخلص عند تركيز 300 ملغم/كغم من وزن الجسم .

4-9-2-1-1 منطقة القشرة Cortex :

من خلال الصورة (4-11) تتضح نتائج الدراسة النسجية المرضية الحالية لنسيج قشرة الكلى في الحيوانات المعاملة بالجرعة 300 ملغم/ كغم ولمدة 30 يوماً من التجريع الفموي حصول انكماش في بعض الكبيبات الكلوية .

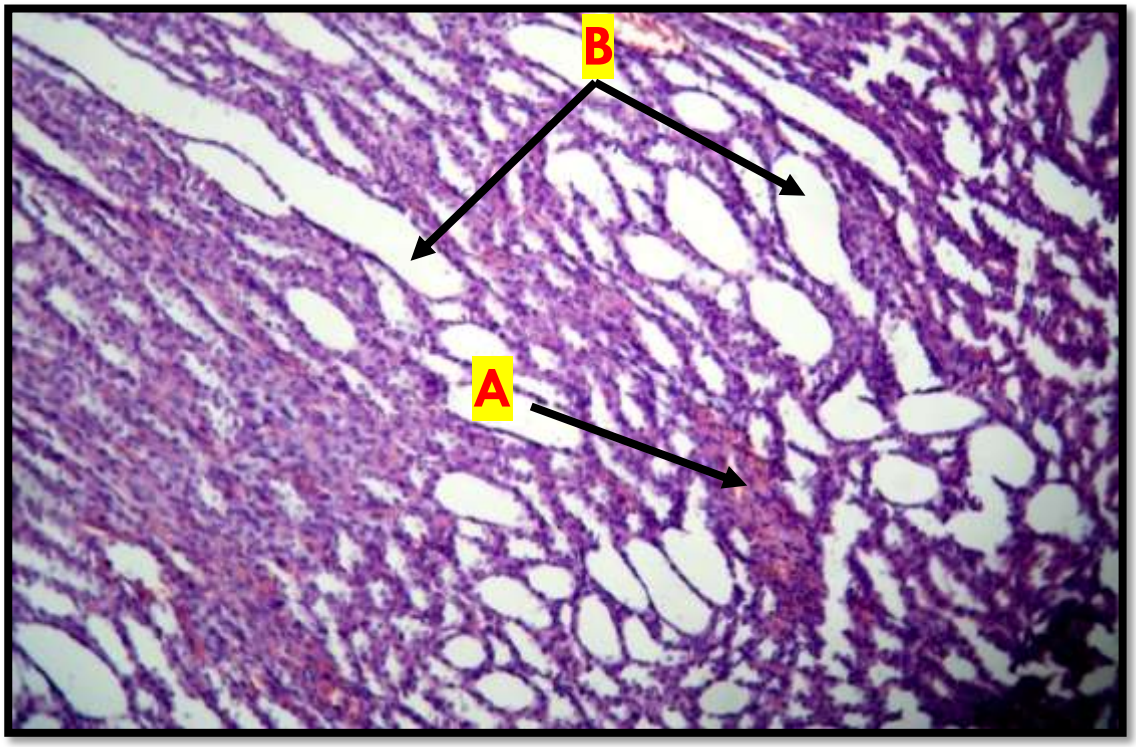


صورة (4-11): مقطع عرضي في قشرة الكلى للجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 300 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :-

A- انكماش الكبيبة الكلوية B-تغيرات نسجية في بطانة النبيبات الملتوية القاصية (400×) (H & E stain).

4-10-2-1-2 منطقة اللب Medulla :

بينت نتائج الدراسة النسجية المرضية الحالية لنسيج لب الكلى في الحيوانات المعاملة بالجرعة 300 ملغم/ كغم ولمدة 30 يوماً من التجريع الفموي حصول نزف دموي بيني في عروات هنلي (صورة 4-12). ولم يظهر لهذه الجرعة اثر فعال للحد من الضرر الحاصل في منطقة لب الكلى للحيوانات المعاملة بعقار CPA, إذ اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما أشار Srivastava and Justesen, (1987) إلى إن مستخلص القرنفل يمنع وبشكل قوي تجمّع الصفائح الدموية (platlets) عن طريق خفض تخليق prostanoid وهي مجموعة من المركبات الدهنية الذائبة التي تنتجها معظم الخلايا الجسمية .



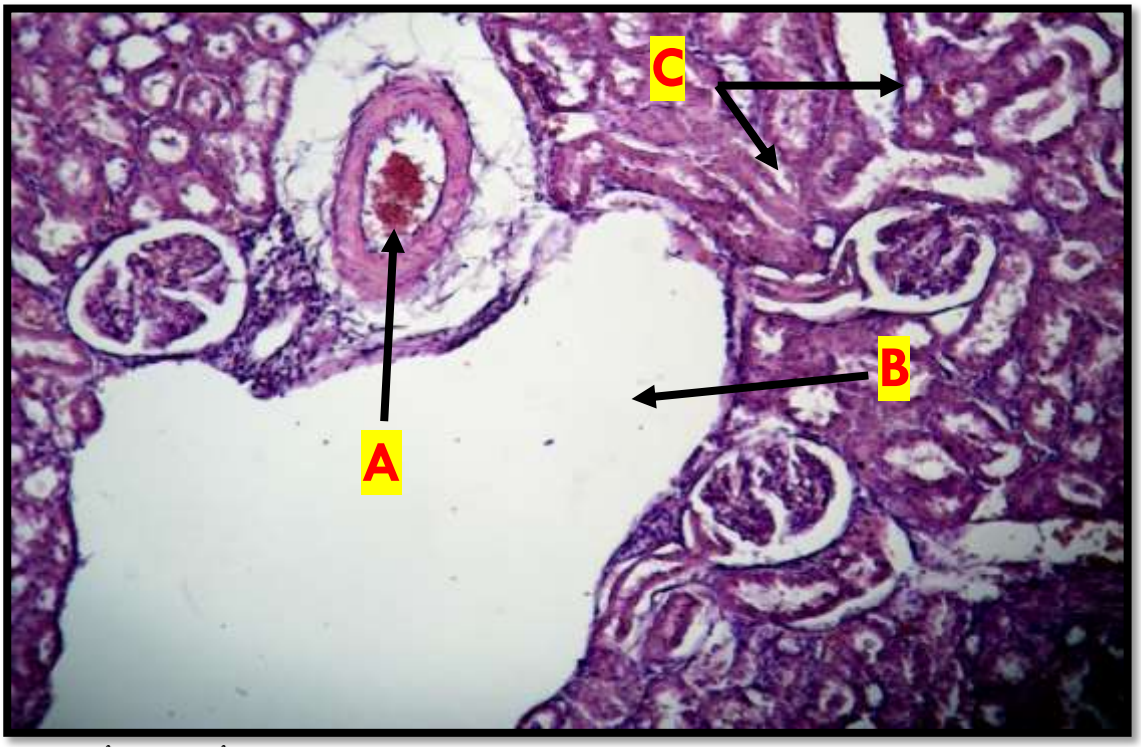
صورة (4-12): مقطع عرضي في لب كلى الجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 300 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :-

A - نزف دموي بيني في عروات هنلي **B**– توسع في عروات هنلي (**H & E stain**) (**100×**) .

4-10-2-2 نتائج المعاملة عند تركيز 400 ملغم/كغم من وزن الجسم .

4-10-2-2-1 منطقة القشرة **Cortex** :

من خلال نتائج الدراسة النسجية المرضية الحالية لنسيج قشرة الكلى في الحيوانات المعاملة بالجرعة 400 ملغم/ كغم ولمدة 30 يوماً من التجريع الفموي لم يظهر أي تحسن في نسيج الكلى فقد اتضح حصول احتقان دموي في احد فروع الشريان الكلوي وتوسع في الوريد الكلوي بين الفصوص كما مبين في الصورة (4-13) .



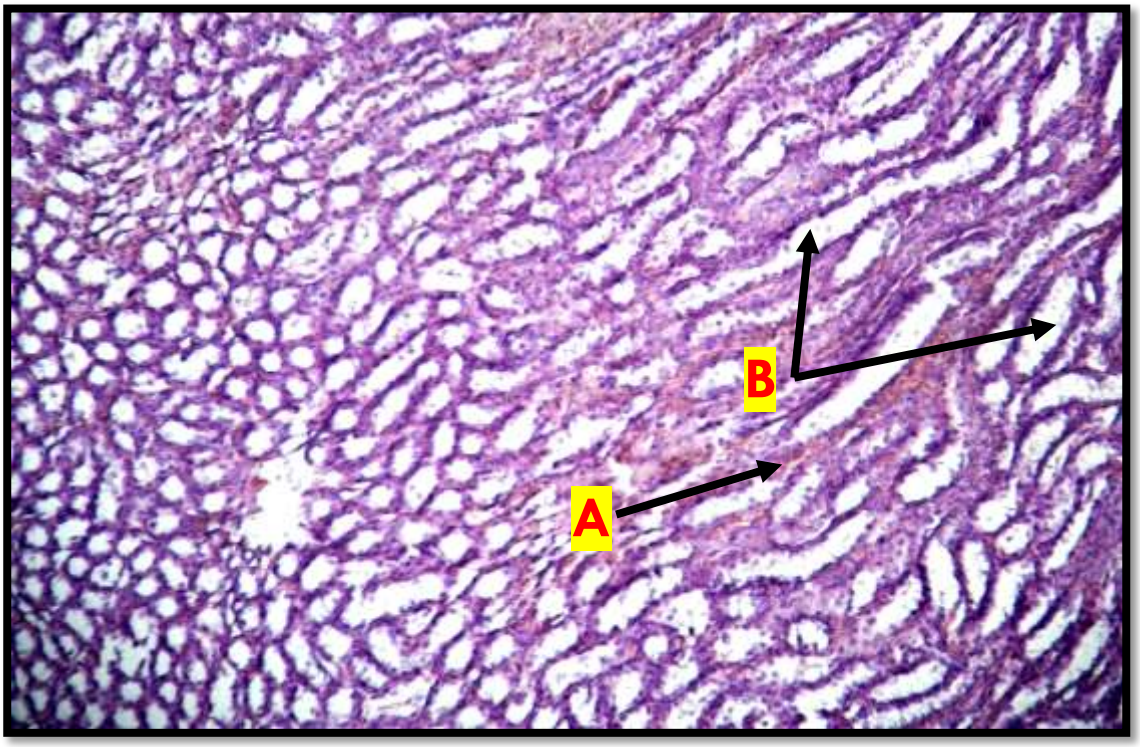
صورة (4-13): مقطع عرضي في قشرة الكلى للجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 400 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :-

A- احتقان دموي في احد فروع الشريان الكلوي B- توسع في الوريد الكلوي بين الفصوص C- تنخر في بطانة النبيبات الملتوية الدانية والقاصية

(H & E stain) (100×).

4-10-2-2-2 منطقة اللب Medulla :

أوضحت نتائج الدراسة النسجية المرضية المبينة في الصورة (4-14) لنسيج لب الكلى في الحيوانات المعاملة بالجرعة 400 ملغم/ كغم ولمدة 30 يوماً من التجريع الفموي عدم ظهور أي تحسن في منطقة لب الكلى المعاملة بعقار CPA فقد وجد إصابتها بنزف دموي بيني وتوسع في عروات هنلي وهذا يعني أن الجرعة لم تنجح في التقليل من سمية عقار CPA. وهذا ما توصل إليه (Srivastava and Justesen, 1987).



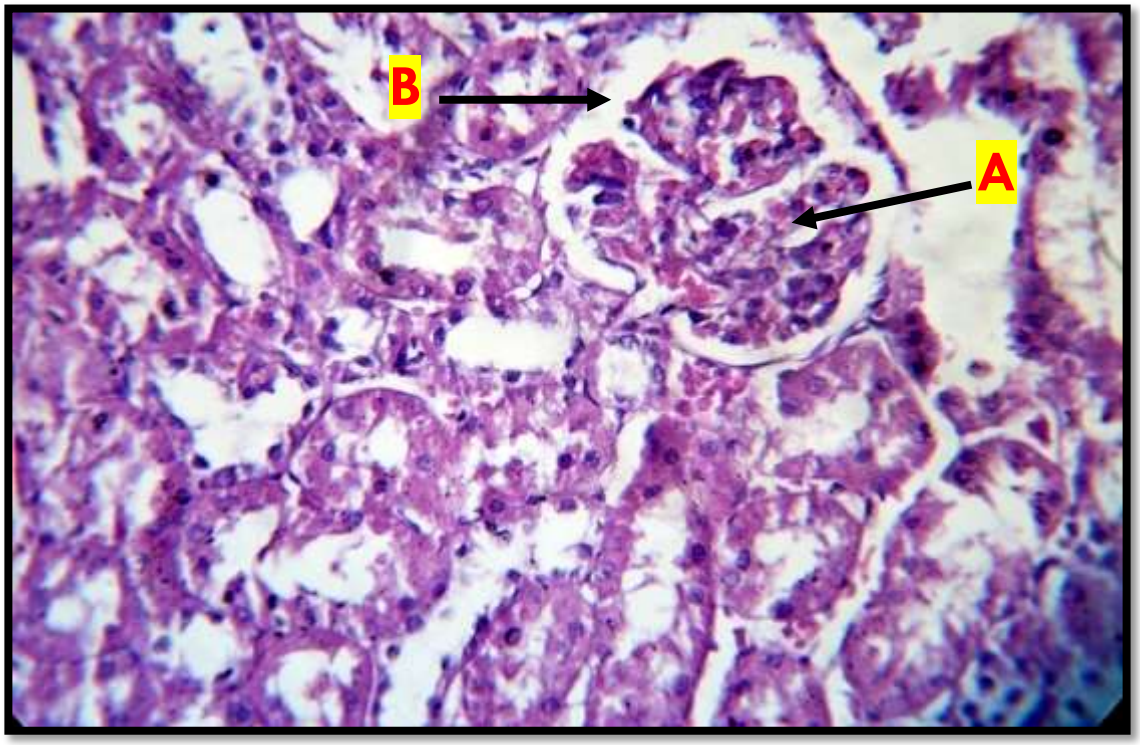
صورة (4-14): مقطع عرضي في لب الكلى للجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 400 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل :-

A - نزف دموي بيني في عروات هنلي B- توسع في عروات هنلي (H & E stain) (100×).

4-10-2-3 نتائج المعاملة عند تركيز 500 ملغم/كغم من وزن الجسم .

4-10-2-3-1 منطقة القشرة Cortex :

لوحظ من خلال نتائج الفحص ألمجهري للمقاطع النسجية إن استعمال الجرعة الحالية نجحت في حصول تحسن في حالة معظم الكبيبات الكلوية والذي رافقه عودة حجم فسحة بومان إلى وضعها الطبيعي ما قبل الحقن بعقار CPA. كما مبين في الصورة (4-15).

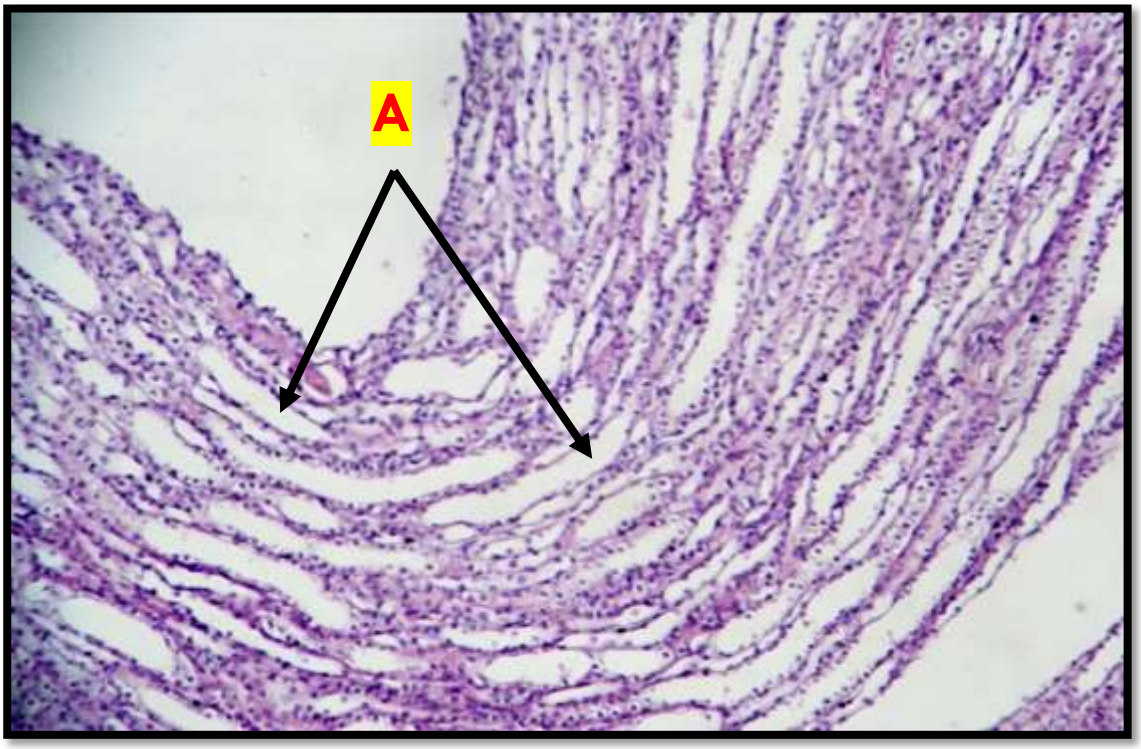


صورة (4-15): مقطع عرضي في قشرة الكلى للجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 500 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل:-

A- الكبيبة الكلوية B- فسحة بومان (H & E stain) . (400×)

4-10-2-3-2 منطقة اللب Medulla :

أوضحت نتائج الفحص ألمجهري للمقاطع النسجية حصول انخفاض في مستوى التأثيرات النسجية في منطقة لب الكلى للحيوانات المعاملة بتركيز 500 ملغم /كغم من المستخلص الكحولي للقرنفل حيث أدت المعاملة إلى خفض مستوى النزف الدموي البيني في عروات هنلي والناجم عن المعاملة بعقار CPA. كما مبين في الصورة (4-16) .



صورة (4-16): مقطع عرضي في لب الكلى للجرذ الأبيض الأبيض المعاملة بتركيز 500 ملغرام/كغم من مستخلص القرنفل : -

A - عروات هنلي **(H & E stain) (100×) .**

أولاً: الاستنتاجات **Conclusions :**

1- أن المعاملة بعقار السايكلوفوسفامايد له تأثيرات على سلوكية ومظهرية ووزن الجسم والكبد والكلية لذكور الجرذان البيض .

2- أدت المعاملة بعقار السايكلوفوسفامايد إلى حدوث تغيرات في بعض المعايير الهرمونية مثل الشحمون الخصوي T4, LH, T3, GH , T لذكور الجرذ الأبيض .

3- ان حقن ذكور الجرذ الابيض بعقار السايكلوفوسفامايد أدى الى حدوث تغيرات في مستويات بعض المعايير الكيموحيوية مثل ALP, AST ,ALT LDH, TC, TBil, Albumin, Urea .

4- أن حقن ذكور الجرذ الأبيض بجرعة (20) ملغم/ كغم من عقار السايكلوفوسفامايد قد أدى إلى حدوث تغيرات مرضية ونسجية في أنسجة الكبد والكلى لذكور الجرذ الأبيض .

5- ان تجريع ذكور الجرذ الأبيض بالمستخلص الكحولي للقرنفل له فعالية للحد من التأثيرات السمية لعقار السايكلوفوسفامايد على ذكور الجرذ الأبيض .

ثانياً: التوصيات Recommendations :

1- أجراء دراسة لتأثير عقار السايكلوفوسفامايد على أنسجة الغدة النخامية والدرقية .

2- أجراء دراسة وراثية باستخدام تقنية PCR للتعرف على التغيرات الوراثية التي يحدثها استخدام عقار السايكلوفوسفامايد في ذكور الجرذ الأبيض.

3- أن المستخلص الكحولي لنبات القرنفل يمتلك فعالية مضادة للأكسدة .

4- استعمال مستخلص القرنفل لخفض إنزيمات الكبد .

جدول (4-1) تأثير عقار CPA على وزن بعض الأعضاء والجسم لذكور الجرذ الأبيض المعاملة بعقار السايكلوفسفامايد.

الأعضاء Organs (g)	مجموعة السيطرة n = 5	المجموعة المعاملة بالسايكلوفوسفومايد n = 15
وزن الجسم	235.21 ± 3.46 A	219.08 ± 6.16 B
الكبد Liver	12.10 ± 0.12 A	10.64 ± 0.05 B
الكلى Kidney	1.19± 0 .02 A	0.90 ± 0.02 B

ملاحظة: وجود حروف متشابهة بين الخلايا يعني عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) والعكس صحيح .

جدول (4-2) تأثير عقار CPA على بعض المعايير الهرمونية في ذكور الجرذ الأبيض.

المعايير	مجموعة السيطرة n= 5	المعاملات بعقار CPA n=15
LH (mlUmL-1)	0.28 ± 0.02 A	0.57 ± 0.01 B
Testosterone (ngmL-1)	0.46 ± 0. 03 A	0.37 ±0.02 B
T3(gµ/ml)	5.90 ± 0.16 A	3.76 ± 0.11 B
T4 (gµ/ml)	701.0 ± 3.61 A	662.23 ± 2.26 B
GH (ng/ml)	2.31 ± 0.01 A	1.18 ± 0.04 B

ملاحظة: وجود حروف متشابهة بين الخلايا يعني عدم وجود فروق معنوية (P<0.05) والعكس صحيح .

جدول (3-4) تأثير عقار CPA على بعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذ الأبيض.

المعايير	مجموعة السيطرة n= 5	المعاملات بعقار CPA n=15
ALP (U/L)	188.60 ± 5.92 A	292.00 ± 1.69 B
ALT (U/L)	42.19 ± 3.21 A	50. 07 ± 1.24 B
AST (U/L)	120.38± 3.72 A	175.00 ± 1.99 B
Urea (mg/ dl)	24.55 ± 1.48 A	30.94 ± 2.47 B
Albumin (g/ L)	41.86 ± 3.12 A	36.45 ± 1.90 B
TBil (mg/ dl)	0.42 ± 0.02 A	0.51 ± 0.01 B
TC (mg/ dl)	74.21 ± 3.25 A	105.50 ± 5.40 B
LDH (U/L)	277.91 ± 6.29 A	441.36 ± 14.35 B

ملاحظة: وجود حروف متشابهة بين الخلايا يعني عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$)والعكس صحيح .

جدول (4-4) تـأثـيـر الـمـسـتـخـلـص الـكـحـولـي لإزهـار نـبـات الـقـرنـفـل عـلـى وزن بـعـض الأعـضـاء والـجـسـم لـذكـور الـجـرذ الأبـيـض.

الأعضاء Organs (g)	المجموعة المعاملة بعقار CPA n = 15	المجموعة المعاملة بتركيز 300 mg/kg n = 5	المجموعة المعاملة بتركيز 400 mg/kg n = 5	المجموعة المعاملة بتركيز 500 mg/kg n = 5
وزن الجسم	219.08 ± 6.16 A	221.11 ± 1.14 A	223.60 ± 1.04 AB	228.26 ±2.43 B
Liver الكبد	10.64 ± 0.05 A	10.87 ± 0.16 B	10.91 ± 0.14 CB	11.00 ± 0.12 C
Kidney الكلى	0.90 ± 0. 02 A	0.93 ± 0.01 B	0.96 ± 0.01 C	0.97 ± 0. 01 C

ملاحظة: وجود حروف متشابهة بين الخلايا يعني عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) والعكس صحيح .

جدول (5-4) **تـأثـيـر الـمـسـتـخـلـص الـكـحـولـي لإزهـار نـبـات الـقـرنـفـل عـلـى بـعـض الـمـعـايـيـر الـهـرمـونـيـة فـي ذكـور الـجـرذ الأبـيـض.**

المعايير / التركيز Concentration	LH (mlU/mL)	Testosterone (ng/ml)	GH (ng/ml)	T3(gμ/ml)	T4 (gμ/ml)
(CPA) mg/kg	**0.57 ± 0.01 D**	**0.37 ±0.01 A**	**1.18 ± 0.03 D**	**3.76 ± 0.11 C**	**662.23 ± 2.26 A**
300 mg/kg	**0.45 ± 0.02 A**	**0.38 ± 0.01 A**	**1.28 ± 0.01 A**	**3.90 ± 0.08 A**	**673.05 ± 2.54 A**
400 mg/kg	**0.41 ± 0.01 B**	**0.40 ± 0.02 B**	**1.39 ± 0.07 B**	**3.97 ± 0.10 AB**	**685.05 ± 3.62 A**
500 mg/kg	**0.38 ± 0.01 C**	**0.43 ± 0.02 C**	**1.52 ± 0.01 C**	**4.08 ± 0.06 B**	**692.01 ± 1.84 A**

ملاحظة: وجود حروف متشابهة بين الخلايا يعني عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) والعكس صحيح .

جدول (6-4) تـأثـيـر الـمـسـتـخـلـص الـكـحـولـي لإزهـار نـبـات الـقـرنـفـل عـلـى بـعـض الـمـعـايـيـر الـكـيـمـوحـيـويـة فـي ذكـور الـجـرذ الأبـيـض.

المعايير / التركيز Concentration	ALP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Urea (mg/dl)	Albumin(g/l)	TBil (mg/ dl)	TC (mg/dl)	LDH (U/L)
(CPA) mg/kg	292.00 ± 1.69 D	50.07 ±1.24 D	175.00 ± 1.98 D	30.94 ± 2.47 D	36.45 ± 1.90 DA	0.51 ± 0.01 D	105.50 ± 5.40 A	441.36 ± 14.35 D
300 mg/kg	284.00 ± 1.87 A	48.40 ± 0.89 A	169.10 ± 0.89 A	27.98 ± 0.40 AB	36.78 ± 0.79 A	0.48 ± 0.02 A	102.20 ± 1.68 AB	405.00 ± 1.58 A
400 mg/kg	255.00 ± 2.92 B	43.50 ± 2.03 B	160.80 ± 2.17 B	26.33 ± 0.97 BC	37.34 ± 0.77 AB	0.46 ± 0.01 B	97.20 ± 2.39 BC	384.00 ± 3.16 B
500 mg/kg	230.00 ± 6.75 C	39.42 ± 1.68 C	152.40 ± 7.92 C	25.32 ± 1.01 C	38.82 ± 0.96 A	0.45 ± 0.01 C	92.40 ± 2.07 C	365.00 ± 4.12 C

ملاحظة: وجود حروف متشابهة بين الخلايا يعني عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) والعكس صحيح .

. . . . . .
. . . . . .
. . . . . الـمـلاحق

References

المصادر العربية :

الحيصة ، خالد والحياري ، منال و حوامده ، يزيد (2007). الدليل الفني لإنتاج القرنفل لأغراض التصدير . عمان. الأردن .

الزبيدي ، زهير نجيب و بابان ، هدى عبد الكريم (1996) . دليل العلاج بالأعشاب الطبية العراقية . شركة آب للطباعة . وزارة الصحة . بغداد .

الساهوكي, مدحت ووهيب, كريمة محمد (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب, مطبعة جامعة بغداد .

صافي , محمود (2004). القرنفل الإكثار و الزراعة ، العناية والإنتاج . المركز الوطني للبحوث الزراعية ونقل التكنولوجيا .نشرة رقم 172. الأردن .

References

المصادر الأجنبية :

Abdel-Rahman, M. K. & Abd El-Megeid, A. A. (2006). Hepatoprotective effect of soapworts (*Saponaria officinalis*), pomegranate peel (*Punica granatum* L) and cloves (*Syzygium aromaticum* linn) on mice with CCl4 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.

Atsdr Agency for Toxic Substances and Disease Registry (1990), .Toxicological profile for chlorobenzene. A. Hanta, Department of Health and Human Service, Atlanta, GA.

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

Al-Khayant, M.A. & Blank, G.(1985). Phenolic spice components sporostatic to *Bascillus subtillis*. J. Food Sci., 50: 971-974.

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

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

Bancroft, J. & Stevens , A. (1982) . Theory and practice of histological technique . (2 and ed) Churchill Livingstone , London: xiv – 662.

References

Banerjee, S. & Das, S. (2005). Anticarcinogenic effects of an aqueous infusion of cloves on skin carcinogenesis. Asian Pacific J. Cancer Prev., **6**: 304-308.

Banerjee, S.; Panda, C.K. & Das, S.(2006). Clove (*Syzygium aromaticum* L.),a potential chemopreventive agent for lung cancer. Carcinogenesis , 27(8):1645-1654.

Barton JC. Tumor lysis syndrome in nonhematopoietic neoplasms. Cancer 1989; 64:738.

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

Bin Mdderos, M. R. (2008). Production and characterization of extraction oil from natural spices: A comparison study with functional group content of *Zea may* and *Elaeis guineesis jaco*. oil .Bachelor Thesis, Malaysia Pahang, Univ.

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

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

Burt, S.A. & Reinders R.D.(2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. Lett. Appl. Microbiol., **36**: 162.

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

References

Cai, L. & Wu, C. D.(1996) Compounds from Syzygium aromaticum possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. J. Nat. Prod., 59: 987-990.

Carrasco, H. A.; Espinoza, L.C.; Cardile, V. ; Gallardo, C.; Cardona, W.; Lombardo, L.; Catalan, K. M.; Cuellar, M.F. & Russo, A.(2008). Eugenol and its synthetic analogues inhibit cell growth of human cancer cels(part I). J. Braz. Chem. Soc., 19(3) : 543-548.

Cart Wright, H.M., 2003. The Physical and Theoretical Chemistry Laboratory. Oxford University, USA.

Center Research UK. (2004). Adapted from <http: //www. Cancer research UK.org.

Chami,N. ;Chami, F. ;Bennis,S. ;Trouillas, J. & Remmal, A.(2004). Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. Braz. J. Infect. Dis., 8: 217-226.

Charles, R.; Gard, S. N. & Kumar, S.(1998). An orsellinic acid glucoside from *Syzygium aromatica*. Phytochemistry, 49: 1375-1376.

Cohen, S. M. ; Emily, M. G. and Margaret, S. J. (1992) . Acrolein Initiates rat urinary bladder carcinogenesis. Cancer Res. 52, 3577-3581.

Curtis E. K. (1990). In pursuit of palliation: oil of cloves in the art of dentistry. Bull. Hist. Dent., 38:9–14.

Das S, Snehlata, Srivastava LM, Effect of ascorbic acid on lipid profile and lipid peroxidation in hypercholesterolemic rabbits. *Nutr Res* 1997; 1**7**: 231-241.

References

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. and 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.

Deflora, S. & Ramel, C. (1988). Mechanisms of mutagenesis and carcinogensis classification and over view. J. Myt. Res ., 202: 285 – 306.

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

Demin, A.; Sentiakova, T.; Smirnov, V., Derminal and Maminal (1996). Synchronizing therapy with plasmapheresis and cyclophosphamide in rapidly progressingsystemic lupus erythematosis with kidney involvement; (5): pp.27 – 30.

Dip, E.C. ; Pereira, N.A. & Fernandes, P.D. (2004). Ability of eugenol to reduce tongue edema induced by Dieffenbachia picta Schott in mice. Toxicon, 43: 729-735.

Dole, J.M. and Wilkins, H.F. (1999). Floriculture, Principles and Species. Prentice Hall Inc., New Jersey, USA.

Duke, J.A. ; Bogenschutz-Godwin, M.J. ; Decellier, J. & Duke, P.K. (2003). *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and L. M. Perry (Myrtaceae) Clavos, Clove, Clove tree, in CRC Handbook of Medicinal Spices, CRC Press, Washington DC, Pp 281.

References

El Hag, E. A.; El Nadi, A. H. & Zaitoon, A. A. (1999). Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on *Culex pipiens* larvae (Diptera : Culicidae). Phytother. Res., **13**: 388-392.

El-Banhawy, M.;Saker, S.;Sanad,S.;El-Elaimy, L. and Mahran H.(1993). Histological studies on the effect of anticoagulant rodenticide, "Brodifacoum " on the Ileum of rat. J.Egypt.Soc.Toxicol.:10:71-82.

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

Forkman, G. & Martens, S. (2001). Metabolic engineering and application of flavonoids. Curr .J. Opinion Biotech ., 12:155-160.

Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 5 th ed.AACC Press, 2000.

Friedman and Young, (2001). Effects of disease on clinical laboratory tests ,4 th ed. AACC press **.**

Fum, Y. ; Zu, Y. ; Chen, L. ; Shi, X. ;Wang, Z. ; Sun, S. & Efferth, T. (2007). Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. Phytother. Res., 21: 989–994.

Galbally, J. and Galbally, E. (1997). Carnations and Pinks for Garden and Greenhouses. Timber Press, Portland, Oregon, USA. P. 1-310.

Gautam, A. K. ;Avasthi , S. ;Sharma, A. & Bhadauria, R. (2010). Efficacy of triphala churn ingredients against *A. niger* and potential of clove extracts herbal fungitoxicant. Biol. Med. ,2(2): 1-9.

References

Harborne, J. B. & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry, 55(6): 481-504.

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

Harrington A.J., Russell K.A., Singer T.D. & Ballantyne J.S. (1991). The ects of tricaine methanesulphonate (MS-222) on plasma nonesteri 16rd ed fatty acids in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss. Lipids 26,774^775.

Hasiet, C.; Chilvers,E.;Hunter,J.and Boon,N.(1999)."Davidson's Principle and Practice of Medicine. Sydney,18th ed. :pp.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);pp.179-195.

Hayes DM, Cvitkovic E, Golbey RB, et al. High dose cis-platinum diammine dichloride: amelioration of renal toxicity by mannitol diuresis. Cancer 1977; 39:1372.

Hemnani, T. & Parihar, M.S. (1998). Reactive oxygen species and oxidative DNA damage. Ind. J. Physiol. Pharmacol., 42: 440-452.

Howell S, Shalet S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy. Endocrinol Metab Clin North Am 1998; 27: 927–943

.

References

Humason, G. L . (1979) . Animal tissue technique , (4th ed). W . H . Freeman co ., San Fran . cisco , xiii t 661 .

Hussain, A. ; Sasidharan, S. ;Ahmed, T.; Ahmed, M. & Sharma, C. (2009). Clove (*Syzygium aromaticum*) extract potentiates gemcitabine cytotoxic effect on human cervical cancer cell line .Int. J. Cancer Res.,5: 95- 104.

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

Iarc ,A.(1987). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man. Geneva : World Health Organizatien. International Agency for Research on Cancer . J. Multivolume Work , *9* (137):196 – 205.

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

Irie, Y.(2006). Effects of eugenol on the central nervous system: It's possible application to treatment of Alzheimer's disease, depression and Parkinson's disease current bioactive compounds. Curr. Bioact. Compd., 2(1): 7-66.

Jequier AM. Primary testicular Disease: a Common Cause of Male Infertility. In: Male Infertility. London: Blackwell Science Co, 2000; 121-124.

References

Kanellis J, Kang DH. Uric acid as a mediator of endothelial dysfunction, inflammation, and vascular disease. Semin Nephrol. 2005;25:39–42.

Kerem, Z. ; German-Shashoua, H. & Yarden, O. (2005). Microwave-assisted extraction of bioactive saponins from chickpea (*Cicer arietinum* L) . J. Sci. Food Agric., 85:406–412.

Khalaf, N.A. ;Shakya, A. K.; AL-Othman, A. ; EL-Agbar, Z. & Farah, H.(2008). Antioxidant activity of some common plants. Turk. J. Biol., 32: 51-55.

Kim , H. M.; Lee, E. H.; Hong, S. H.; Song, H. J.; Shin , M. K. ; S. H. & Shin, T.Y. (1998). Effect of *Syzygium aromaticum* extract on immediate hypersensitivity in rats. J. Ethnopharmacol. , 60: 125-131.

Lans, C.; Turner, N. & Khan, T. (2008). Medicinal plant treatments for fleas and ear problems of cats and dogs in British Columbia, Canada. Parasitol. Res., 103(4): 889–898.

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

Lee, K. G. & Shibamoto, T. (2001). Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry. Food Chem., 74:443–448.

Lee, M.H.; Yeon, K.Y.; Park, C.K.; Li, H.Y.; Fang, Z.; Kim, M.S.; Choi, S.Y.; Lee, S.J.; Lee, S.; Park, K.; Lee, J.H.; Kim, J.S. & Oh, S.B.(2005). Eugenol inhibits calcium currents in dental afferent neurons. J. Dent. Res., 84: 848–51.

Lewis, R. (1993). Hawley's condensed chemical dictionary 13th ed. NewYork, NY; John Wiley and Sons, Inc.p327.

References

Lewis, R. (1997). Hawley's condesed chemical dictionary 12th ed. New York; John Wiley and Sons, Inc.p327.

Luna, G. (1968). Manual of histological Staining Method of armed forced institute of pathology. 3rded MC. GRAW Hill book co. Newyork.

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

.

Meistrich ML. Relationship between spermatogonial stem cell survival and testis function after cytotoxic therapy. Brit J Cancer 1986; 53: 89–101.

Merck ,K.(1983)." Merck index" Rahway, New Jersey; Merck co., Inc., 439.

Michael ,C.(2004) Chemotherapy of cancer .American College of Rhematology . 2th ed.NewYourk.pp.127.

Montes-Belmont, R. & Carvajal, M. (1998). Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their component. J. Food Prot., **61**: 616-619.

Nagababu, E. ;Rifkind, J. ;Boindala, S. & Nakka, L. (2010). Assessment of antioxidant activity of eugenol *In vitro* and *In vivo*. Methods Mol. Biol., 610:165-180.

Nagi MN, Al-Shabanah OA, Hafez MM, et al (2010). Thymoquinone supplementation attenuates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 25, 135-42.

Nangle, M.R.; Gibson, T.M.; Cotter, M.A. & Cameron, N.E. (2006). Effects of eugenol on nerve and vascular dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. Planta Med.,72:494-500.

References

Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY et al. (2005). Intensive diabetes treatment and cardiovasculardisease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med*, 353: 2643.

Oboh G. Hepatoprotective property of ethanolic and aqueous extracts of fluted pumpkin (Telfaria occidentalis) leaves against garlic-induced oxidative stress. J Med Food2006b; 8:560–3.

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

Owu DU, Antai AB, Udofia KH, Obembe AO, Obasi KO, Eteng MU, Vitamin C improves basal metabolic rate and lipid profile inalloxan-induced diabetes mellitus in rats. J Biosci 2006; **31**: 575-579.

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

Philips FS, Sternberg SS, Cronin AP, et al. Cyclophosphamide and urinary bladder toxicity. Cancer Res 1961; 21:1577.

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

Prasad, R. C. ; Herzog, B. ; Boone , B. ; Sims, L. & Waltner-Law, M. (2005) . An extract of *Syzygium aromaticum* represses genes encoding hepatic gluconeogenic enzymes . J. Ethnopharmacol. **96** : 295–301.

Rainey JM, Alberts DS. Safe, rapid administration schedule for cisplatinum-mannitol.Med Pediatr Oncol 1978; 4:371.

Reitman ,S. & Frankel S. (1957). Am clinicalpathology 28, 56 .

References

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

Reznik, G.; Hecht, J. (1979)."Chemotherapy" Arzneim – Forsch 29 (3) :pp.479.

Robbins, S. and Angell, M.(1970). Basic Pathology. 2nd ed.Philadilphia:W.B .Saunders Company.

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

Roy , A.V. (1970). Clinical chemistry . 16;431.

Saber, A., and Dehlawi, G. (1998). Cyclophosphamide induced histopathological 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, et al. Cisplatin nephrotoxicity. Am J Kidney Dis 1986; 8:356.

Salido M, Macarron P, Hernandez-Garcia C, D'Cruz DP, Khamashta MA, Hughes GR : Water intoxication induced by low-dose cyclophosphamide in two patients with systemic lupus erythematosus, Lupus 12:636-639, 2003.

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

References

Samir M, el Kholy NM (1999). Thiobarbituric acid reactive substance in patients with laryngeal cancer. *Clin Otolarynggol*, 24, 232-4.

Sanad, S.;Al-Zahaby, A., Al-Attar, E.(1989). Histopathological studies on the liver and ileum of chloramphenicol treated rats .Egypt.J.Med.Sci;10(1):pp.25-36.

Sandoval , C.;Pui, C.and 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.

Schilsky RL. Renal and metabolic toxicities of cancer chemotherapy. Semin Oncol1982; 9:75.

Schmidt,E.(1963). Enzymology boil.clinical ,3,1.

Shahidi, F. ; Pegg, R. B. & Saleemi, Z.O.(1995). Stabilization of meat lipids with ground spices. J. Food Lipids, 2 :145–53.

Shiraki, K.; Yukawa, T. & Kurokawa, M. (1998). Cytomegalovirus infection and its possible treatment with herbal medicines. Nippon Rinsho, 56:156-160.

Shubber, E. K. (1981). The genetic hazard of ten antiparasitic drugs compared to radiation. Ph. D. Thesis, Harvard Univ., cambridge, U. S. A :p 28.

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.

Singh, A. K.; Dhamanigi, S. S. & Asad, M.(2009). Anti-stress activity of hydro-alcoholic extract of *Eugenia caryophyllus* buds (clove). Ind. J. Pharmacol., **41**(1): 28-31.

Srivastava, K.G. & Justesen, U. (1987). Inhibition of platelet aggregation and reduced formation of thromboxane and

lipoxygenase products in platelets by oil of cloves. Prostagl Leukotr Med. **29**: 11-18.

Srivastava,K.C. & Mustafa, T.(1993). Pharmacological effects of spices: eicosanoidm modulating activites and their significance in human health. Biomed. Rev., 2: 15-29.

Steinberg AD, Steinberg SC. Long term patients with lupus nephritis receiving treatment that includes cyclophosphamide versus those treated with prednisolone alone Arthritis . Rheum 1991; 34 (8): 945±950.

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

Taguchi, Y. ;Ishibashi, H. ; Takizawa, T.; Inoue, S. ;Yamaguchi, H. & Abe, S. (2005). Prtection of oral or intestinal candidiasis in mice by oral or intragastric administration of herbal food , clove (*Syzygium aromaticum*).Jpn . J. Med. Mycol. ,46 :27-33.

Tajuddin ; Ahmed, S. ; Latif , A. & Qasmi, I. A.(2004). Effect of 50% ethanolic extract of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry. (clove) on sexual behavior of normal male rats .J. BMC. Comp. Alt. Med., **4**:1-7.

Teitz N. (1976). Fundamentals of clinical chemsty 602 -609.

Thigpen JT. Management of adverse effects of chemotherapy. In Deppe G, ed. Chemotherapy of Gynecologic Cancer. 2nd edn. New York, Wiley-Liss, 1990:41.

Toda, S.; Ohnishi, M.; Kimura, M. & Toda, T.(1994). Inhibitory effects of eugenol and related compounds on lipid peroxidation induced by reactive oxygen. Planta Med., **60:** 282.

References

Trasler, J.; Hales, B. and Robaire, B. (1996). Chronic low dose cyclophosphamide treatment of adult male rats : effect on fertility, pregnancy outcome And Progeng.,34 : 275 – 283.

Unknown (1999). Drug Index (Professional)-Cyclophsphamide.cancer drug manual Adapted from UPL: http: //www. Bccancer bc. Ca/ HPl/ Drug Database / Drug Index Pro / Cyclophosphamide. Htm.

Uotila,M.;Ruoslahti,E.andEngrall,E.(1981).J.immmunol.Methods;42:11-15.

vandenberghe, J., 1995. Hpatotoxicology: 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,PP:718.

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

Wistom,G.B.(1976). Enzyme.immuno assay clin. 22:1243.

Yakubu, M. T.(2007). Male Sexual Dysfunction and Methods used in Assessing Medicinal Plants with Aphrodisiac Potentials.ph.D. *Medicinal Plants Research Laboratory-Department ofBiochemistry, University of Ilorin, Ilorin, Nigeria :55PP.*

Young , D . S. etal. (1975). Clinical chemsty 81 ; 5.

Zheng, G.; Kenney, P.M. & Lam, L.K.T.(1992). Sesquiterpenes from clove oil*, Eugenia caryophyllata* as potential anticarcinogenic agents. J. Nat. Prod., 55:999–1003.

Abstract :

This study was proceeded in order to Know some of the physiological, chemobiological- effects of weight effects in addition to the appearance and pathological tissue resulted from the alcoholic extract on white male rats dealt with cyclophosphamide drug as two experiments were done , first one included injection for several rats by cyclophosphamide drug of 20 mg/kg concentration for 30 days and then withdrawing the blood from these rats that were injected with above mention drug to see the pathological effects occurred to the fore – come up with incorporeal increase by ($P<0.05$) in (LH), while there is incorporeal decrease($P<0.05$) for each hormones of (Testosterone,GH,T3,T4), while the chemo-biological standards shows a incorporeal increase ($P<0.05$) in enzymes of liver and urea, total bilirubin, total cholesterol and the enzyme Lactate dehydrogenase). Also there were some aspect changes like lack of desire to eat, brown urinary and yellow skin, textural change for both of liver and kidney that included a sudden change in cytoplasm of liver cells, inflation of kuppfers cells, inflame in the central vein of liver, also happen the phenomena of glomerulus inflammation and alienation for the covering cells of kidney pipes, bleed and enlarging of Henley Loops .

In the second experiment, three concentrations of alcoholic carnation are (300) mg/kg, (400) mg/kg, (500) mg/kg and each group of has been fed with one of these concentrations for 30 days, blood has been withdrawn , bodies of rat were slashed to know the effects of the extract on the weight, physiological and chemo- biological, in addition to the aspect effects and pathological textural effects on liver and kidney , it turns up that carnation extract for all used concentrations results in incorporeal decrease ($P<0.05$) in the level of hormone (LH) , while there is a incorporeal increase ($P<0.05$) happen in for all hormones of (Testosterone, GH,T3,T4), while the chemo-biological standard shows incorporeal decrease ($P<0.05$) in the levels of enzymes of liver and urea. Total bilirubin,total cholesterol and Lactate dehydrognease .

The effect of the extract on textures of kidney and liver that extract on concentration of 500 mg/kg in decrease the intoxication effects of cyclophosphamide on the tissue of kidney and liver , while the both other concentration of (300.400) mg/kg has not such effects .

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education & Scientific Research
University of Kerbala–College of Education
Department of Biology

Effect of alcoholic extract of carnation plant flowers (*Eugenia caryophyllus*) on liver and kidney of white male rate with cyclophosphamide Histo- physiological study

By

Ahmed serhan Kadhim

A thesis submitted to the college of Education for pure sciences of Kerbala University as a partial fulfillment of the requirements for the degree of master in Science Biology / Zoology

B. Sc. College of Education for pure sciences
University of Karbala
2011

Supervised By

Pro. Dr. Sattar Hatrosh

August/ 2013

1434 A.H **2013 A.D**