



جامعة كربلاء

**دراسة التأثير الوقائي للمستخلص الكحولي والنانوي لبذور  
نبات الخرفيش *Silybum marianum* على بعض المعايير  
الفسلجية والنسجية والوراثية في ذكور الجرذان المستحث  
بها سرطان الكبد**

اطروحة مقدمة الى  
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء وهي جزء  
من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة - علم الحيوان

كتبت بوساطة

**كرار حسين حنيت الكريطي**

**بإشراف**

**أ.د. رشا عبد الأمير جواد**

**أ.د. ياسمين خضير خلف**

**2023 م**

**1444 هـ**

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

وَمَا تَوْفِیْقِیْ اِلَّا بِاللّٰهِ

عَلِیْهِ تَوَكَّلْتُ وَاِلَیْهِ اُنِیْبُ

صَدَقَ اللّٰهُ الْعَلِیُّ الْعَظِیْمُ

سورة هود (88)

## الإهداء

- إلى من فقدته جرح لا يتدمل . . . . . (أبي رحمه الله)
- إلى من حصده الأشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم
- إلى رمز الحب وبلسم الشفاء . . . إلى ملاكي في الحياة . . .
- إلى معنى الحب وإلى معنى الحنان والتفاني . . . . إلى بسمة الحياة وسر الوجود ..
- إلى من كان دعاؤها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي
- إلى أغلى الحبايب . . . . . (أمي الحبيبة)
- إلى من بهن أكبر وعليهن أعتد . . . إلى شمعة متقدة تنير ظلمة حياتي
- إلى من بوجودهن أكتسب قوة ومحبة لا حدود لها
- إلى من عرفت معهن معنى الحياة . . . . . (نزوجتي وبناتي)
- إلى سندي وقوتي وملاذي بعد الله من آثروني على أنفسهم . . . إلى من علموني علم الحياة
- إلى من أظهروا لي ما هو أجمل من الحياة . . . . . (إخوتي)
- إلى كل من علمني . . . وسيعلمني . . . وسيبقى

كرام

## شكر وتقدير

الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي لَا يَبْلُغُ مِدْحَتَهُ الْقَائِلُونَ، وَلَا يُحْصِي نِعْمَاءَهُ الْعَادُّونَ، وَلَا يُؤَدِّي حَقَّهُ الْمُجْتَهِدُونَ، الَّذِي لَا يُدْرِكُهُ بَعْدُ الْهَمَمُ، وَلَا يَنَالُهُ غَوْصُ الْفِطْنِ، الَّذِي لَيْسَ لِصِفَتِهِ حَدٌّ مَحْدُودٌ، وَلَا نَعْتٌ مَوْجُودٌ، وَلَا وَقْتُ مَعْدُودٌ، وَلَا أَجَلٌ مَمْدُودٌ. فَطَرَ الْخَلَائِقَ بِقُدْرَتِهِ، وَنَشَرَ الرِّيَّاحَ بِرَحْمَتِهِ، وَوَتَدَّ بِالصُّخُورِ مَيِّدَانَ أَرْضِهِ، وَالصَّلَاةَ وَالسَّلَامَ عَلَى خَيْرِ خَلْقِهِ سَيِّدِ الْمُرْسَلِينَ وَعَلَى أَهْلِ بَيْتِهِ الْإِطْهَارِ الْمِيَامِينَ.

يطيب لي أن أتوجه بخالص شكري إلى رئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة وللکادر التدريسي في قسم علوم الحياة الذين طالما كانوا شموعا في مسيرتي الدراسية فأسأل الله أن يوفقهم وأن يسدد خطاهم.

ويشرفني وأنا أنتهي من دراسة الدكتوراه أن أعبر عن شكري وتقديري وامتناني الفائق إلى الأستاذة الفاضلة الدكتورة ياسمين خضير خلف لاقتراحها لعنوان الأطروحة، ولما قدمته لي من توجيهات علمية وإشرافها المستمر على إعداد هذه الأطروحة.

كما أقدم شكري الجزيل إلى الأستاذة الفاضلة الدكتورة رشا عبد الأمير جواد لما قدمته لي من مساعده طيلة مدة الدراسة والبحث وإشرافها المستمر على إعداد هذه الأطروحة فجزاها الله عني ألف خير.

ويسرني أن أتقدم بجزيل الشكر والعرفان إلى الدكتور نزار متعب جبار استشاري الفحص النسجي في مستشفى الحسين (ع) لمساعدته لي في تشخيص المقاطع النسجية فجزاه الله ألف خير وأيضاً شكري وتقديري لكادر الفحص النسجي في مستشفى الحسين (ع).

واود أن أتوجه بالشكر إلى إختوتي وزملائي طلبة الدكتوراه واخص منهم بالذكر مهدي حمزة خشان و محمود نعمة حمود و محمد سليم محمد و علي نصير زبيدي و حسين علي محسن و فرح جواد كاظم الذين قدموا لي المساعدة خلال مدة الدراسة فجزأهم الله ألف خير ووفقهم في مسيرتهم العلمية، وإلى كل من ساندني وشجعني ومد لي يد العون في انجاز هذه الدراسة.

## إقرار المشرف على الاطروحة

أشهد أن إعداد هذه الاطروحة الموسومة (دراسة التأثير الوقائي للمستخلص الكحولي والنانوي لبذور نبات الخرفيش *Silybum marianum* على بعض المعايير الفسلجية والنسجية والوراثية في ذكور الجرذان المستحث بها سرطان الكبد) قد جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه في علوم الحياة / الحيوان.

التوقيع :  
الاسم: د. رشا عبد الأمير جواد  
المرتبة العلمية: أستاذ  
العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة -  
جامعة كربلاء  
التاريخ: 2023 / 6 / 25

التوقيع:  
الاسم: د. ياسمين خضير خلف  
المرتبة العلمية: أستاذ  
العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة -  
جامعة كربلاء  
التاريخ: 2023 / 6 / 25

## توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى التوصية أعلاه من قبل الأستأذنين المشرفين، أحيل هذه الاطروحة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع:  
الاسم : د. نصير مرزا حمزة

المرتبة العلمية : استاذ

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ : 2023 / 6 / 25

## إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الأطروحة الموسومة بـ (دراسة التأثير الوقائي للمستخلص الكحولي والنانوي لبذور نبات الخرفيش *Silybum marianum* على بعض المعايير الفسلجية والنسجية والوراثية في ذكور الجرذان المستحث بها سرطان الكبد ) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية؛ وبذلك أصبحت مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

  
التوقيع:

الاسم : ميثم رشيد حميد

المرتبة العلمية: مدرس دكتور

الجامعة والكلية: جامعة كربلاء / كلية العلوم الاسلامية

التاريخ: ٢٠٢٣ / ٦ / ٢٠



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة كربلاء  
كلية التربية للعلوم الصرفة  
شعبة الدراسات العليا

### إقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا رئيس وأعضاء لجنة المناقشة قد اطلعنا على الاطروحة الموسومة " دراسة التأثير الوقائي للمستخلص الكحولي والناثوي لبذور نبات الخرفيش *Silybum marianum* على بعض المعايير الفسلجية والنسجية والوراثية في ذكور الجرذان المستحث بها سرطان الكبد" المقدمة من قبل طالب الدكتوراه (( كرار حسين حنيت)) وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وكل ما يتعلق بها . ووجدنا انها جديرة بالقبول بتقدير ( امتياز ) لنيل درجة الدكتوراه في علوم الحياة / علم الحيوان.

رئيس اللجنة  
التوقيع:

الاسم : د. عايد حميد حسن  
اللقب العلمي : أستاذ

مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية طب الاسنان

التاريخ: 2023 / 6 / 26

#### عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم : د. لقاء حسون صكبان  
اللقب العلمي : أستاذ

مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2023 / 6 / 25

#### عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم : د. الااء شاكر حنتوش  
اللقب العلمي : أستاذ

مكان العمل : جامعة الكوفة / كلية العلوم

التاريخ: 2023 / 6 / 25

#### عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم : شذى حسين كاظم  
اللقب العلمي : أستاذ مساعد

مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية الصيدلة

التاريخ: 2023 / 6 / 26

#### عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم : د. نصير مرزا حمزة  
اللقب العلمي : أستاذ

مكان العمل: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2023 / 6 / 25

#### عضواً ومشرفاً

التوقيع:

الاسم : د. رشا عبد الامير جواد  
اللقب العلمي : أستاذ

مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2023 / 6 / 25

#### عضواً ومشرفاً

التوقيع:

الاسم : د. ياسمين خضير خلف  
اللقب العلمي : أستاذ

مكان العمل: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2023 / 6 / 25

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة  
أصادق على ما جاء في إقرار اللجنة اعلاه

التوقيع:

الاسم : د. حميدة عيدان سلمان  
المرتبة العلمية: أستاذ

مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2023 / 7 / 13

الخلاصة

تهدفت الدراسة الحالية إلى معرفة التأثير الوقائي للمستخلص الكحولي والنانوي المخلوق من اوكسيد الزنك لبذور نبات الخرفيش *Silybum marianum* للحد من تأثير سرطان الكبد المستحث بمادة الثيواسيتامايد (TAA) و رابع كلوريد الكربون (CCl<sub>4</sub>) في ذكور الجرذان البيض *Rattus rattus* عن طريق دراسة بعض التغييرات في المعايير الفسلجية و النسجية و الوراثية. اجريت الدراسة في البيت الحيواني التابع لكلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء للمدة من 2022 /3/1 ولغاية 2022 /7/1، شملت 35 من ذكور الجرذ الأبيض ذات اوزان (200-250) غرام وكانت اعمارها (10-12) أسبوع، قسمت إلى سبع مجاميع بواقع 5 حيوانات لكل مجموعة و عدت المجموعة الاولى G1 مجموعة سيطرة سالبة جرعت بمحلول الملح الفسلجي لمدة 14 أسبوع، و المجموعة الثانية G2 جرعت بالمستخلص الكحولي لبذور النبات بتركيز 100mg/kg لمدة 14 أسبوع، و عدت المجموعة الثالثة G3 سيطرة موجبة حقنت بالبريتون بمادة thioacetamide بجرعة 200mg/kg يومياً لمدة أسبوعين ومن ثم حقنت بمادة رابع كلوريد الكربون بجرعة 3mg/kg مرة واحدة في الأسبوع ولمدة 12 أسبوع، و المجموعة الرابعة G4 جرعت بالمستخلص الكحولي بجرعة 100 mg/kg لمدة اسبوعين بعدها تعطى المزيج الثيواسيتامايد و رابع كلوريد الكربون بحقنها حتى نهاية التجربة وهي 14 أسبوع، أما المجموعة الخامسة G5 و السادسة G6 و السابعة G7 جرعت بالمستخلص النانوي بجرعات (20,32,60 mg/kg) على التوالي لمدة أسبوعين ومن ثم تحقن بمزيج الثيواسيتامايد و رابع كلوريد الكربون حتى نهاية التجربة وهي 14 أسبوع. جمعت عينات الدم والأنسجة بعد التضحية بالحيوانات عند نهاية التجربة لقياس المعايير التالية: قياس مستوى انزيمات الكبد Alanine transaminase (ALT) و Aspartate transaminase (AST) و Alkaline phosphatase (ALP) و تقدير مستوى البروتين الكلي (Total protein) و الالبومين (Albumin) و الكلوبولين (Globulin) و المألون الديهايد (malondialdehyde) و الكلوتاثيون (Glutathione) و السوبر اوكسيد الدسميوتاز (Superoxide dismutase) وكذلك تقييم التغييرات المرضية لنسيج الكبد مع قياس اقطار كل من الخلايا الكبدية Hepatocytes و الجيبانيات Sinusoids و الوريد المركزي Central vein و قياس النسبة المئوية لتحطم الحامض النووي DNA و قد حصلنا على النتائج التالية:

1- كشفت الدراسة وجود 12 مركب فعال موجود في المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش عن طريق استخدام تقنية GC-Mass وكان المركب الفعال Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-Hexadecen-1-ol,trans-9- كان يمتلك أعلى مساحة في المستخلص ، أما المركب الفعال Hexadecen-1-ol,trans-9- كان يمتلك أقل مساحة في المستخلص.

2- وجود ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى انزيمات الكبد AST,ALT,ALP والمالونالديهيد في مجموعة السيطرة الموجبة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1 في حين لا توجد فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 وG2، بينما كان هنالك انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى انزيمات الكبد AST,ALT,ALP في ذكور الجرذان في المجموعة G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش وكذلك في المجاميع G5,G6,G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي، وكذلك وجود انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين والكلوتاثيون والسوبر اوكسيد دسيموتاز في مجموعة السيطرة الموجبة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1 في حين لا توجد فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 وG2 ماعدا مستوى الكلوتاثيون كان هنالك فرق معنوي ( $p \leq 0.05$ ) بين G1 وG2، بينما كان هنالك ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين والكلوتاثيون والسوبر اوكسيد دسيموتاز في ذكور الجرذان في المجموعة G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش وكذلك في المجاميع G5,G6,G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي للنبات .

3- وجود تغيرات في نسيج الكبد لمجموعة السيطرة الموجبة G3 مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 والمجموعة G2 وتشملت وجود خلايا ورمية ونخر في خلايا الكبد مع وجود نزف في النسيج وعدم انتظام الجيبانيات وكذلك عدم انتظام لشكل الفصيصة الكبدية مع وجود التهاب في بعض مناطق النسيج، أما المجموعة G4 يظهر النسيج تحلل في بعض الخلايا الكبدية ووجود تنخر في الخلايا أخرى مع عدم انتظام الجيبانيات أما المجاميع G5,G6,G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي أظهرت تغيرات نسجية بسيطة مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة تمثلت بتحلل في بعض خلايا الكبد في G5 والتهاب خفيف في G6 ، وأظهرت المقاطع النسجية انتظام في الجيبانيات وشكل النسيج كان طبيعياً، وكذلك وجود ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في اقطار خلايا الكبد والجيبانيات والوريد المركزي في مجموعة السيطرة الموجبة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1 في حين لا توجد فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 وG2، بينما كان هنالك انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في اقطار خلايا الكبد

والوريد المركزي في ذكور الجرذان في المجموعة G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش وكذلك كان هنالك انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في اقطار خلايا الكبد والجيبانيات والوريد المركزي في ذكور الجرذان في المجاميع G7, G6, G5 التي جرعت بالمستخلص النانوي .

4- وجود ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في نسبة تحطم DNA في مجموعة السيطرة الموجبة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1 في حين لا توجد فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما كان هنالك انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في نسبة تحطم DNA في ذكور الجرذان في المجموعة G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش وكذلك في المجاميع G7, G6, G5 التي جرعت بالمستخلص النانوي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 .

نستنتج مما تقدم إن استحثاث سرطان الكبد في ذكور الجرذان البيض عن طريق حقنها تحت البريتون بمادة TAA و  $CCl_4$  يؤدي الى حدوث تغيرات في بعض المعايير الفسلجية والنسجية والوراثية عند تجريب الحيوانات فموياً بالمستخلص الكحولي والنانوي لبذور نبات الخرفيش كان له تأثيراً وقائياً ضد الإصابة بسرطان الكبد والمستخلص النانوي ذو فعالية وقائية أعلى من المستخلص الكحولي لبذور النبات وخصوصاً عند الجرعة (32mg/kg).

قائمة المحتويات

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
I	الخلاصة	
IV	قائمة المحتويات	
VII	قائمة الجداول	
VIII	قائمة الأشكال والصور	
X	قائمة المختصرات	
3-1	الفصل الاول : المقدمة	1
1	المقدمة	1.1
3	الهدف من الدراسة	2.1
34-4	الفصل الثاني : استعراض المراجع	2
4	تعريف مرض السرطان	1.2
4	نبذة تاريخية عن المرض	2.2
5	وبائية المرض	3.2
7	أنواع السرطان	4.2
8	سرطان الكبد	5.2
10	أنواع سرطان الكبد	6.2
10	سرطان الكبد الاولي	1.6.2
10	سرطان الخلايا الكبدية	1.1.6.2
12	سرطان القنوات الصفراوية داخل الكبد	2.1.6.2
13	الورم الأرومي الكبدي	3.1.6.2
13	سرطان الخلايا الكبدية وسرطان القنوات الصفراوية داخل الكبد المركب	4.1.6.2
14	سرطان الكبد الثانوي (النقيلي)	2.6.2
16	عوامل الخطر	7.2
16	التهاب الكبد الفيروسي	1.7.2
17	الافلاتوكسينات	2.7.2

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
18	الكحول	3.7.2
18	السمنة والسكري	4.7.2
19	مرض الكبد الدهني غير الكحولي	5.7.2
20	تليف او تشمع الكبد	6.7.2
20	وراثة سرطان الكبد	8.2
22	العلاج	9.2
23	تكنولوجيا النانو	10.2
24	التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية من المستخلصات النباتية	1.10.2
25	تطبيقات الجسيمات النانوية في المجال الاحيائي	2.10.2
26	نبات الخرفيش <i>Silybum marianum</i>	11.2
26	تصنيف وتسمية النبات	12.2
28	تاريخ النبات وانتشاره	13.2
29	التركيب الكيميائي والمركبات الفعالة في النبات	14.2
30	الاهمية الطبية لنبات الخرفيش	15.2
32	التأثير المضاد للسرطان	1.15.2
32	التأثير المضاد للاكسدة	2.15.2
33	التأثير المضاد للميكروبات	3.15.2
56-35	الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل	3
35	الأجهزة و المواد والادوات المستعملة	1.3
35	الأجهزة المستعملة	1.1.3
36	الادوات المستعملة	2.1.3
37	المواد الكيميائية المستعملة	3.1.3
38	طرائق العمل	2.3
38	الحيوانات المستعملة في الدراسة	1.2.3
38	تصميم التجربة	2.2.3
39	مخطط التجربة	3.2.3
40	استحداث سرطان الكبد	4.2.3
40	تحضير المستخلص الكحولي لنبات الخرفيش	5.2.3
40	تحضير المستخلص النانوي	6.2.3
41	تشخيص المستخلص النانوي	7.2.3
41	مجهر القوة الذرية (AFM)	1.7.2.3
41	تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء (FT-IR)	2.7.2.3
42	المجهر الالكتروني الماسح (SEM)	3.7.2.3
42	الطيف المشتت للطاقة (EDS)	4.7.2.3

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
42	تشخيص مركبات الفعالة بجهاز كروماتوغرافيا الغاز ومطياف الكتلة	8.2.3
43	جمع عينات الدم	7.2.3
44	الفحوصات المختبرية	3.3
44	قياس مستوى انزيمات الكبد	1.3.3
44	تقدير فعالية الانزيمات الناقلين لمجموعة الامين في المصل ALT و AST	1.1.3.3
45	قياس فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP)	2.1.3.3
46	قياس بعض المعايير الكيموحيوية	2.3.3
46	تقدير تركيز البروتين الكلي	1.2.3.3
47	تقدير تركيز الألبومين	2.2.3.3
48	تقدير تركيز الكلوبوليون	3.2.3.3
48	تقدير مضادات الاكسدة	3.3.3
48	تقدير تركيز المالوندايالديهيد (MDA)	1.3.3.3
49	قياس مستوى تركيز الكلوتاثيون (GSH)	2.3.3.3
50	قياس مستوى تركيز السوبر اوكسايد دسميوتاز (SOD)	3.3.3.3
52	التحضيرات النسجية	4.3.3
52	الانكاز والترويق	1.4.3.3
52	التشريب	2.4.3.3
52	الظمر	3.4.3.3
53	التقطيع	4.4.3.3
53	التصبغ والتحميل	5.4.3.3
53	التصوير المجهرى	6.4.3.3
53	القياسات النسجية	5.3.3
54	اختبار المذنب	6.3.3
56	التحليل الإحصائي	4.3
93-57	الفصل الرابع : النتائج والمناقشة	4
57	نتائج تشخيص المستخلص النانوي لنبات الخرفيش	1.4
57	مجهر القوة الذرية Atomic force microscope (AFM)	1.1.4
57	تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR)	2.1.4
58	المجهر الإلكتروني الماسح (SEM)	3.1.4
60	الطيف المشتت للطاقة (EDS)	4.1.4
61	نتائج تحليل تقنية الـ GC-Mass	2.4
62	التغيرات في مستوى انزيمات الكبد AST, ALT, ALP	3.4
66	التغيرات في بروتينات مصل الدم (الألبومين ، البروتين الكلي ، الكلوبوليون)	4.4
70	التغيرات في مستوى مضادات الاكسدة MDA, GSH, SOD	5.4

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
74	التغيرات في نسيج الكبد	6.4
82	التغيرات في أقطار خلايا الكبد و الجيبانبات والوريد المركزي	7.4
86	التغيرات في نسبة تحطم الحامض النووي DNA	8.4
95-94	الاستنتاجات والتوصيات	
94	الاستنتاجات	
95	التوصيات	
135-96	المصادر	
96	المصادر العربية	
96	المصادر الاجنبية	
IV-I	الخلاصة باللغة الانكليزية	

### قائمة الجداول

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
35	جدول يوضح الأجهزة المستخدمة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ	1.3
36	جدول يوضح المواد الكيميائية المستعملة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ	2.3
36	الجدول يوضح الادوات المستعملة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ	3.3
62	جدول يوضح اسماء المركبات الفعالة للمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش والنسبة المنوية لمساحتها ووزنها في المستخلص حسب تحليل تقنيّة الـ GC-Mass	1.4
64	جدول يوضح تأثير المستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش على مستوى انزيمات الكبد AST، ALT، ALP (U/L) في دم ذكور الجرذان البيض المستحث بها سرطان الكبد.	2.4
68	جدول يوضح تأثير المستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش على مستوى الالبومين والكلوبيولين والبروتين الكلي (g/dl) في دم ذكور الجرذان البيض المستحث بها سرطان الكبد	3.4
72	جدول يوضح تأثير المستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش على مستوى مضادات الاكسدة (SOD, GSH, MDA) في دم ذكور الجرذان البيض المستحث بها سرطان الكبد	4.4
84	جدول يوضح تأثير المستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش على قياس اقطار خلايا الكبد والجيبانبات والوريد المركزي (ميكرومتر) في دم ذكور الجرذان البيض المستحث بها سرطان الكبد	5.4
88	جدول يوضح تأثير المستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش على مستوى تحطم DNA (%) في خلايا كبد ذكور الجرذان البيض المستحث بها سرطان الكبد	6.4

قائمة الأشكال والصور

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
6	شكل يمثل احصائيات الإصابة بمرض السرطان على مستوى العالم لعام 2020	1-2
9	شكل يوضح وبائية سرطان الكبد عالميا	2-2
15	شكل يوضح نسبة الإصابة بسرطان الكبد الثانوي من الأعضاء المختلفة في الجسم	3-2
26	شكل يوضح المظهر العام لنبات الخرفيش.	4-2
30	شكل المركبات الفعالة الرئيسية لنبات الخرفيش وتركيبها الكيميائي	5-2
57	شكل يظهر صورة ثلاثية الأبعاد مأخوذ بواسطة AFM لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش	1-4
58	شكل للتحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش	2-4
59	شكل يبين صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش عند حدود 100 نانومتر.	3-4
59	شكل يبين صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش عند حدود 200 نانومتر.	4-4
60	الشكل الطيف المشتت للطاقة (EDS) لجسيمات اوكسيد الزنك النانوية المحمل عليها مستخلص بذور نبات الخرفيش .	5-4
61	شكل يمثل منحنى زمن ظهور المركبات الفعالة في تم قياسها بجهاز GC-Mass	6-4
76	صورة تبين المظهر الخارجي للكبد لمجموعة السيطرة الطبيعية	1-4
76	صورة تبين المظهر الخارجي للكبد لمجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحث بها سرطان الكبد	2-4
77	الصورة رقم مقطع عرضي في نسيج الكبد لمجموعة السيطرة موضح فيه الخلايا الكبدية (H) والوريد المركزي (CV) والجيبانيات (S) وخلايا كوبفر (K) (ملون H&E قوة التكبير 400X).	3-4
77	الصورة مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة الثانية (مستخلص كحولي 100 ملغم/كغم) موضح فيه الخلايا الكبدية (H) والوريد المركزي (CV) والجيبانيات (S) وخلايا كوبفر (K) (ملون H&E قوة التكبير 400X).	4-4
78	الصورة مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة الثالثة (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg) موضح فيه وجود نزف (G) والوريد المركزي (CV) والخلايا الورمية (C) و الخلايا الالتهابية (M) ووجود تنخر (N) (ملون H&E قوة التكبير 100X=B , 400X=A).	5-4

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
79	الصورة مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة G4 مستخلص كحولي (100mg/kg) + (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg) موضع فيه عدم انتظام الجبيبات (IR) والوريد المركزي (CV) والخلايا منتكسة (D) و تنخر شديد (N) (ملون H&E قوة التكبير 400X).	6-4
79	الصورة مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة G5 مستخلص نانوي (20mg/kg) + (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg) موضع فيه الخلايا الكبدية (H) والوريد المركزي (CV) والجبيبات (S) وخلايا كوبفر (K) وتتكس في بعض الخلايا (D) (ملون H&E قوة التكبير 400X).	7-4
80	الصورة مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة G6 مستخلص نانوي (32mg/kg) + (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg) موضع فيه الخلايا الكبدية (H) والوريد المركزي (CV) والجبيبات (S) وخلايا كوبفر (K) مع وجود التهاب خفيف (M) (ملون H&E قوة التكبير 400X).	8-4
80	الصورة مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة G7 مستخلص نانوي (60mg/kg) + (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg) موضع فيه الخلايا الكبدية (H) والوريد المركزي (CV) والجبيبات (S) وخلايا كوبفر (K) (ملون H&E قوة التكبير 400X).	9-4
89	صورة تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة السيطرة (NO) G1 خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .	10-4
89	صورة تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة المستخلص (NO) G2, خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .	11-4
90	صورة تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة السيطرة الموجبة G3 (NO) خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .	12-4
90	صورة تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة المستخلص كحولي (100mg/kg) + (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg) G4 (NO) خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .	13-4
91	صورة تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة المستخلص النانوي (20mg/kg) + (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg) G5 (NO) خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .	14-4

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
91	صورة تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة المستخلص النانوي (32mg/kg) (NO) G6 (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg) + خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .	15-4
92	صورة تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة المستخلص النانوي (60mg/kg) (NO) G7 (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg) + خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .	16-4

### قائمة المختصرات

المصطلح	المختصر	التسلسل
Aflatoxin B1	AFB1	1
Alanine transaminase	ALT	2
Aldehyde dehydrogenase	ALDH2	3
Alkaline phosphatase	ALP	4
Alpha fetoprotein	AFP	5
Aspartate transaminase	AST	6
Atomic force microscope	AFM	7
Carbon tetrachloride	CCl <sub>4</sub>	8
Combined Hepatocellular Carcinoma And Intrahepatic Cholangiocarcinoma	cHCC-ICC	9
Cyclooxygenase	COX	10
Distyrene Plasticizer Xylene	DPX	11

المصطلح	المختصر	التسلسل
Energy dispersive spectroscopy	EDS	12
Ethylene Diamine Tetra Acetate	EDTA	13
Fourier transform infrared spectrometer	FI-TR	14
Gas chromatography–mass spectrometry	GC-MS	15
Glutathione	GSH	16
Hematoxylin & Eosin	H&E	17
Hepatitis B Virus	HBV	18
Hepatitis C Virus	HCV	19
hepatoblastoma	HB	20
Hepatocellular Carcinoma	HCC	21
Interleukin-1 beta	IL-1 $\beta$	22
Interleukin-6	IL-6	23
Intrahepatic Cholangiocarcinoma	ICC	24
Malondialdehyde	MDA	25
Natural killer cell	NKC	26
Nuclear factor kappa B	NF-kB	27
Peroxisome proliferator-activated receptor	PPAR	28
reactive oxygen species	ROS	29
Scanning Electron Microscope	SEM	30
Super Oxide Dismutase	SOD	31

المصطلح	المختصر	التسلسل
Thioacetamide	TAA	32
Transforming growth factor beta 1	TGF- $\beta$ 1	33
Tumor necrosis factor- alpha	TNF- $\alpha$	34
Tumor Protein 53	TP53	35
Tyrosine Kinase Inhibitors	TKIs	36
World Health Organization	WHO	37

الفصل الأول

المقدمة

**INTRODUCTION**

## 1.1: المقدمة

يعرف مرض السرطان بأنه حالة من الانقسام الغير طبيعي للخلايا بسبب خلل يؤثر في المادة الوراثية لتلك الخلايا وقد يصيب أي جزء من جسم الإنسان وفي أي مرحلة عمرية وحتى الاجنة في رحم امهاتهم ، ومن أهم خواص المرض الخبيث الانتشار السريع الذي غالباً ما يؤدي إلى الوفاة مع امكانية علاج المرض إذا تم الكشف عنه والتشخيص المبكر له، وعلى الرغم من التطور والتقدم الطبي لم يتم معرفة الأسباب التي تؤدي إلى حدوث المرض وتعزى اغلب الحالات إلى الطفرات الجينية الوراثية اوخلل في الحامض النووي ، وهناك عوامل مساعدة على نشوء المرض من ضمنها الاستعداد الوراثي فضلا عن العوامل البيئية ومنها التعرض بعد الولادة للمواد الكيماوية والمواد المشعة والمخلفات الحربية (Mustafa, 2020).

تعد الأمراض السرطانية السبب الثاني للوفاة عند الإنسان في جميع انحاء العالم بعد أمراض القلب وسببت ما يقرب من 9.6 مليون حالة وفاة في عام 2018 على الصعيد العالمي ويمكن القول إن وفاة شخص واحد من كل 6 ناتجة عن السرطان، وإن اغلب الوفيات الناجمة عن مرض السرطان كانت تحدث خاصة في البلدان ذات الدخل المنخفض والمتوسط (Bayrak *et al.*; 2019). كان العلاج الكيماوي هو الخيار الأساسي للعلاج ومع ذلك، فإن العلاج الكيماوي له قيود دوائية، من بينها مشاكل الاستقرار والذوبان في الماء، مع وجود سمية غير محددة للخلايا السليمة، وفقدان الشعر، وفقدان الشهية، والاعتلال العصبي المحيطي والإسهال وكذلك ظهور مقاومة الأدوية المتعددة أيضاً تحدياً كبيراً في علاج السرطان الناجح إذ تصبح الخلايا السرطانية مقاومة عبر العديد من عوامل العلاج الكيماوي المستخدمة (Awasthi *et al.*; 2018). ومن العلاجات الجديدة المستخدمة لتقليل الآثار الجانبية التي تسببها العلاجات التقليدية، هو الطب النانوي الذي يقدم منصة متعددة الاستخدامات من الأنظمة المتوافقة حيويًا والقابلة للتحلل البيولوجي والقادرة على توصيل أدوية العلاج الكيماوي التقليدية في الجسم الحي، مما يزيد من توافرها الحيوي وتركيزها حول أنسجة الورم، وتحسين إطلاقها ويمكن استغلال الجسيمات النانوية في تطبيقات مختلفة، بدءاً من التشخيص وحتى العلاج (Pucci *et al.*; 2019).

توجد أنواع عديدة من الأمراض السرطانية من بينها سرطان الكبد والذي يعد أحد أكثر أنواع سرطانات الجهاز الهضمي شيوعاً في العالم، على الرغم من وجود تحسينات في العلاجات السريرية

في السنوات الاخيرة ولكن لم تكن هنالك تحسينات في تشخيص المرضى المصابين، لذلك هنالك حاجة ملحة لتحديد المؤشرات الحيوية التنبؤية الجديدة لسرطان الكبد إذ يمكن تحسين الوقاية واختيار العلاج (Jiao *et al.*; 2019). عادةً ينتج سرطان الكبد عن أمراض الكبد المزمنة، والسكري، ومرض الكبد الدهني غير الكحولي فضلاً عن التهاب الكبد الفيروسي وتوجد هناك العديد من الطرق المستخدمة لعلاج سرطان الكبد، بما في ذلك الإستئصال الجراحي والعلاجات غير الجراحية إذ تعتمد خيارات علاج سرطان الكبد بشكل انتقائي على مرحلة المرض ووظيفة الكبد وتكلفة العلاج، على الرغم من إطالة بقاء المرضى المصابين بسرطان الكبد على قيد الحياة، إلا إن التكرار يظل مشكلة رئيسية في علاج سرطان الكبد (Zhang *et al.*; 2020a).

استعملت النباتات الطبية منذ العصور القديمة في علاج الامراض ويمكن اعتبارها أصل الطب الحديث وكانت المركبات ذات الأصل النباتي ولا تزال مصدرًا مهمًا لمركبات الأدوية، ففي البداية تم استخدام طريقة التجربة والخطأ لعلاج الأمراض أو حتى مجرد الشعور بالتحسن للتمييز بين النباتات ذات التأثيرات المفيدة، وقد تم تحسين استخدام هذه النباتات تدريجيًا على مر الأجيال وأصبح هذا معروفًا باسم الطب التقليدي وأدت الخصائص العلاجية للنباتات إلى ظهور عقاقير طبية مصنوعة من نباتات معينة مع هذه الفوائد (Salmerón-Manzano *et al.*; 2020).

إن الاراضي العراقية غنية بالنباتات الطبية ومنذ القدم يثق الشعب العراقي بالاستشفاء بالنباتات الطبية ومن أهم هذه النباتات الطبية النامية بصورة طبيعية في أنحاء العراق هو نبات الخرفيش *Silybum marianum* او ما يعرف بـ(شوك الحليب او السلبين المريمي)، إذ استخدم كثيرا كمقوي للكبد في الطب العربي والاعريقي القديم والذي اسند لاحقا بالدراسات العلمية والسرييرية مما جعل النبات في قمة النباتات المستخدمة في تجديد خلايا الكبد ومعالجته من الأمراض (Eldalawy & Al-Ani, 2020). وينتمي الخرفيش إلى عائلة النجمية Asteraceae هو نبات حولي موطنه منطقة البحر الأبيض المتوسط ، ينتشر في المناطق الدافئة والجافة ، وكذلك ينمو في العراق وخاصة الشمال و إن أهم الاستعمالات نبات الخرفيش هو استخدامه كواقى للكبد وكعلاج داعم لاضطرابات الكبد الالتهابية المزمنة مثل تليف الكبد والتهاب الكبد والتسمم بالمواد الكيميائية السامة مثل الرصاص إذ إن مركب سيليمارين المشتق من نبات الخرفيش كان يستخدم على نطاق واسع في علاج أمراض الكبد كذلك يستخدم لعلاج سرطان الكبد (Shahab, 2019).

ومما تقدم أعلاه هدفت الدراسة الحالية الى معرفة الدور الوقائي لبذور نبات الخرفيش .

## 2.1: اهداف الدراسة

1- معرفة الدور الوقائي لمستخلصات بذور نبات الخرفيش بشكليته الكحولي والنانوي في الوقاية من سرطان الكبد المستحث في ذكور الجرذان البيض

2-معرفة تأثيرات مستخلص بذور نبات الخرفيش بشكليته الكحولي و النانوي على بعض المعايير الفسلجية ونسيج الكبد والمادة الوراثية

عن طريق دراسة ما يلي :

### 1.2.1: معايير الدراسة الفسلجية Physiological Tests

اولا: قياس فعالية الانزيمات الكبدية والتي تشمل AST وALT وALP

ثانيا: قياس مستوى البروتينات وتشمل البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين

ثالثا: قياس مستوى بعض مؤشرات الأوكسدة والتي تشمل المادة المؤكسدة مثل MDA والمواد المضادة للأكسدة وتشمل SOD وGSH.

### 2.2.1: الاختبارات النسجية Histological Tests

تضمنت قياس معدل اقطار نسيج الكبد والتي تشمل قياس معدل اقطار كل من الاوردة المركزية والجبيانيات الكبدية والخلايا الكبدية

### 2.3.1: معايير الدراسة الوراثية Genetic Tests

اجراء اختبار تحلل الحامض النووي DNA ويسمى اختبار المذنب comet assay

الفصل الثاني

استعراض المراجع

**LITERATURE**

**REVIEW**

## 1.2: تعريف مرض السرطان Definition of cancer

يعرف مرض السرطان بأنه نمو خبيث نتيجة لانقسام الخلايا غير الطبيعي وهذا يعود إلى وجود خلل في دورة الخلية التي تنظم عملية الإنقسام الخلوي فضلاً عن الانزيمات التي تتحكم بسير هذه العملية ، إذ إن السرطان من أخطر الأمراض في العالم ولا يزال سبباً رئيسياً في حدوث أضرار جسيمة لأعضاء جسم الإنسان (Campbell, 2012; Ahrabi & Advisor, 2018). أن تحول الخلايا السليمة إلى خلايا سرطانية نتيجة لحدوث تغييرات في تركيب المادة الوراثية نتيجة تعرضها لعوامل عديدة منها المواد المسرطنة مثل التدخين والتعرض للإشعاع والمواد الكيميائية وكذلك الإصابة بالأمراض الفيروسية (الحورى وآخرون، 2017).

## 2.2: نبذة تاريخية عن مرض السرطان Brief history of cancer

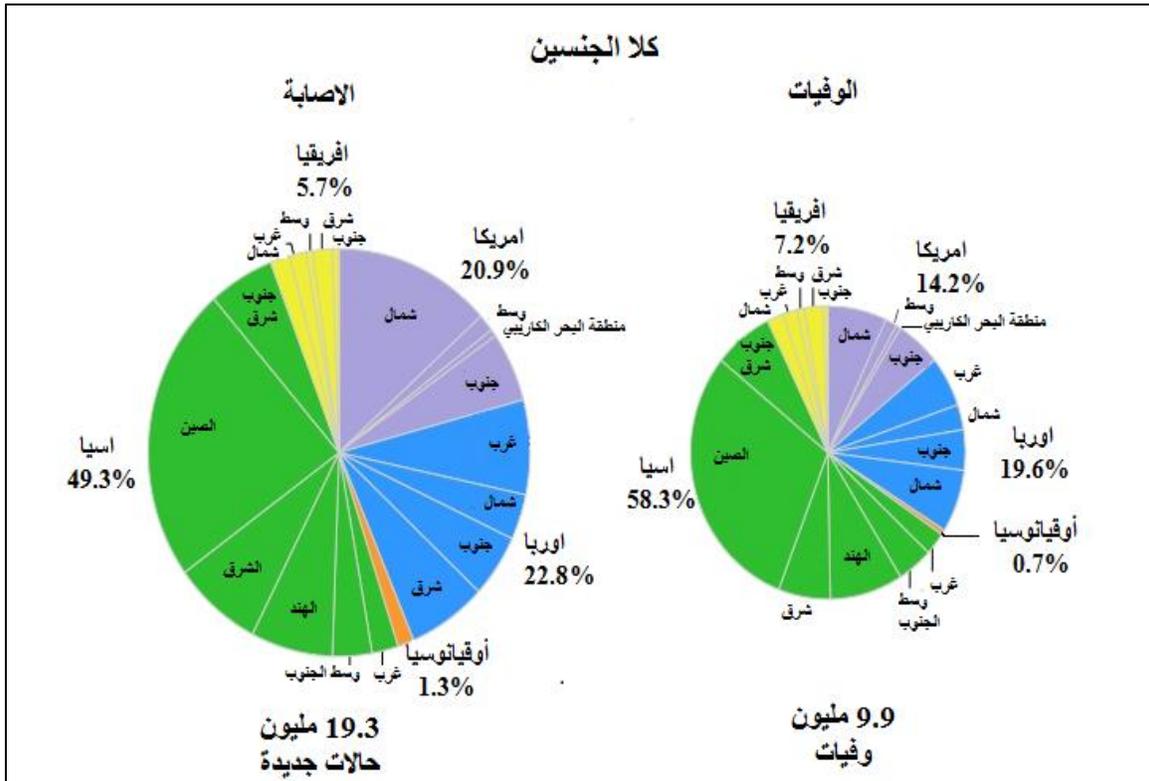
وجد مرض السرطان منذ القدم فهو ليس مرضاً جديداً فقد هاجم الإنسان والحيوان على حد سواء وقد كان المصريون القدماء اول من وصف هذا المرض، كما وصفوا علاجه بالإستئصال الجراحي وكذلك الكي بالنار، كما كشف تشريح عدد من الموميوات إلى وجود إصابات بسرطان العظام فضلاً عن اورام سرطانية أخرى، ويحتفظ معهد الأبحاث للاورام الخبيثة في القاهرة إلى يومنا هذا بالنسخة الأصلية الفريدة من نوعها لصورة أخذت بالأشعة لمومياء أحد الفراعنة الشبان، الذي عاش قبل أربعة آلاف سنة من الميلاد، وقد تبين بالفعل أن هذا الفرعون توفي نتيجة الإصابة بمرض خبيث في عظم الفخذ ( كرسوع ، 2012) . وكان للعرب دورهم في دراسة الاورام السرطانية وقد تمكن الطبيبان الفيلسوفان العربيان (ابن رشد، وابن زهر) من ايجاد طريقة جديدة لتشخيص سرطان الحنجرة، والمريء، والمعدة ، واستعمال الخشخاش لتخفيف آلام المرض، أما ابن القف، فقال أن السرطان (( هو ورم تفرح له أرجل شبيهة بأرجل السرطان، وذلك لامتلاء العروق المتصلة بمجمل الورم... والفرق بينه وبين الصلابة من وجوه أربعة، وهي أن السرطان ورم يتصل بعروق ممتلئة من مادة سوداوية، فليس لها ذلك، وثانيها أن الصلابة هادئة ساكنة، وثالثها أن السرطان متفرح أما الصلابة فغير متفرحة، وأكثر حدوث السرطان في النساء)) (فتحي، 2012). وقد شاهد الجراح البريطاني السير بير سيفال بوت في القرن الثامن عشر انتشار لمرض سرطان الجلد بين العمال الذين يقومون بتنظيف المداخل، كما أثبتت بعض الأبحاث العلمية أن جانباً من عمال المصانع في إنكلترا يصابون بالسرطان لتعاملهم مع بعض المعادن المعينة مثل Arsine ، وشهد القرن التاسع عشر اكتشافات علمية هائلة

ساعدت الإنسان على الانتصار في كفاحه المستمر ضد السرطان، فقد اكتشف العالم الألماني مولر 1838م أن السرطان يتكون من خلايا تتكاثر بصورة غير طبيعية، وقد أدى اكتشاف التخدير وطرق التعقيم الحديثة إلى تطور كبير في جراحة السرطان (الحسن ، 2019).

### 3.2: وبائية المرض Disease epidemiology

يعد السرطان حاليًا المساهم الأول أو الثاني الأكثر شيوعًا في الوفيات المبكرة في معظم دول العالم من المتوقع أن يرتفع العدد العالمي للمرضى المصابين بالسرطان على مدار الخمسين عاما القادمة بسبب التأثير القوي للتغيرات الديموغرافية ، مثل شيخوخة السكان ونموهم ، على الاتجاهات المتباينة في حدوث السرطان في مناطق مختلفة (Soerjomataram & Bray, 2021). أشارت دراسة إن توفر المعرفة العميقة والدقيقة لوبائيات السرطان معلومات أساسية عن الأسباب المحتملة لحالات الإصابة ، مما يجعل من الممكن إنشاء تدخلات رعاية صحية مناسبة وفي الوقت المناسب تهدف إلى تطوير سياسات فعالة للوقاية والفحص والتشخيص (Mattiuzzi & Lippi, 2019). يُقدر أن نصف جميع الحالات و 58.3% من وفيات السرطان تحدث في آسيا في عام 2020 ، إذ تشكل 59.5% من سكان العالم وتمثل أوروبا 22.8% من إجمالي حالات السرطان و 19.6% من وفيات السرطان ، على الرغم من أنها تمثل 9.7% من سكان العالم ، تليها الأمريكتان 20.9% من حالات الإصابة و 14.2% من الوفيات في جميع أنحاء العالم. على عكس المناطق الأخرى ، فإن نسبة وفيات السرطان في آسيا (58.3%) وأفريقيا (7.2%) أعلى من نسبة الإصابة (49.3% و 5.7% على التوالي) بسبب التوزيع المختلف لأنواع السرطان و معدلات وفيات أعلى في هذه المناطق (Sung et al.; 2021). فقد قارنت بعض الدراسات حالات الإصابة بين الصين والولايات المتحدة ووضحت في عام 2022 ، سيكون هناك ما يقرب من (2,370,000 – 4,820,000) حالة سرطان جديدة و حوالي (3,210,000 - 640,000) حالة وفاة بالسرطان في الصين والولايات المتحدة ، على التوالي (Xia et al.; 2022). وفي الدول العربية تشير التقديرات إلى وجود 463,675 حالة سرطان جديدة ، بما يعادل 2.4% من الإصابة العالمية، وشكلت سرطانات الإناث 52.9% من هذا العدد ، مقارنة بـ 47.8% على مستوى العالم وكذلك قُدِّرَ العدد الإجمالي للوفيات بـ 281,656 ، وهو ما يمثل 2.8% من الوفيات العالمية ، وشكلت وفيات الإناث 46.9% من هذا الإجمالي ، مقارنة بـ 44.5% على مستوى العالم (Mahdi et al.; 2022). وشكلت سرطانات الذكور في العالم العربي 47.3% من

هذا العدد ، مقارنة بـ 52.7% على مستوى العالم وشكلت وفيات الذكور 53% من اجمالي حالات الوفاة مقارنة بـ 55.5% على مستوى العالم (Mula-Hussain et al.; 2022). كان هنالك زيادة ملحوظة في العراق بين عامي 2000 و 2016 إذ أصبحت الزيادة أكثر وضوحًا بعد عام 2007 ولا يمكن تفسير ذلك فقط عن طريق تحسين اكتشاف الحالات وتسجيلها إذ لا يزال النظام الصحي يعاني من نقاط الضعف و يُعتقد أن الكثير من العوامل هي المسؤولة عن هذه الزيادة والتي تتعلق بشكل أساسي بالحروب المتعاقبة منذ عام 1980 والتي تسببت في دمار كبير للبنية التحتية ، خاصةً في النظام الصحي (Hussain & Lafta, 2021). وبينت منظمة GLOBOCAN في العراق إلى وجود 25,320 حالة سرطانية جديدة في عام 2018 ، منها 14,020 (55.37%) لدى النساء و 11,300 (44.62%) لدى الرجال إذ أن 57.36% من الحالات الجديدة حالات وفاة في عام 2018 نتيجة مرضهم (Aldujaily et al.; 2020). الشكل (1-2) يوضح احصائيات الاصابة و الوفيات بمرض السرطان على مستوى العالم لعام 2020



الشكل (1-2) احصائيات الاصابة والوفيات بمرض السرطان على مستوى العالم لعام 2020 (Sung et al.; 2021).

## 4.2: أنواع السرطان Types of cancer

يعد السرطان مشكلة خطيرة تؤثر على صحة جميع المجتمعات البشرية و لسوء الحظ إنه مرض متنوع على مستوى الأنسجة وهذا التنوع يمثل تحديًا كبيرًا لتشخيصه المحدد ففي الرجال تحدث أعلى النسب المئوية لأنواع السرطان في البروستاتا والرئة والشعب الهوائية ، القولون والمستقيم والمثانة البولية على التوالي أما في النساء يكون انتشار السرطان أعلى في الثدي والرئة والشعب الهوائية والقولون والمستقيم وعنق الرحم والغدة الدرقية على التوالي (Hassanpour & Dehghani, 2017). يضل سرطان الثدي أكثر أنواع السرطانات شيوعًا بين النساء في جميع أنحاء العالم وفقًا لـ GLOBOCAN 2018 ، تم تشخيص ما يقرب من 2.1 مليون حالة في جميع أنحاء العالم بسرطان الثدي وتوفي حوالي 630.000 بسبب هذا المرض (Mokhatri-Hesari & Montazeri, 2020). يعد سرطان الرئة هو السبب الرئيسي لوفيات السرطان في جميع أنحاء العالم إذ يكون تشخيصه ضعيفاً فضلاً عن ذلك نسبة البقاء على قيد الحياة ضعيفة أيضاً وإن الاستئصال الجراحي هو الخيار العلاجي المفضل للورم في وقت مبكر من نموه (Jouida et al.; 2021). أما سرطان البروستات ثاني أكثر الاورام شيوعاً على مستوى العالم وخامس أكثر الاورام عدائية بين الأفراد الذكور إذ إن خطر الإصابة بسرطان البروستات خلال حياة الرجل هو 7:1 وفقاً للدراسات الوبائية ويعود لأسباب ترتبط بعوامل بيئية ووراثية مختلفة التي تؤدي إلى تطور نمو خلايا البروستاتا غير الطبيعي الذي يؤدي في النهاية إلى تطور الخلايا السرطانية (Habib et al.; 2021). يعد سرطان القولون والمستقيم ثالث أكثر أنواع السرطانات شيوعاً التي يتم تشخيصها على مستوى العالم وهو ثاني سبب رئيسي للوفاة المرتبطة بالسرطان و هنالك تباين جغرافي في انتشار سرطان القولون والمستقيم ، وغالبًا ما يرتبط بنمط الحياة فمن المعروف أن السمنة وسوء التغذية وانخفاض النشاط البدني كلها عوامل تساهم في تطور سرطان القولون والمستقيم (Phipps et al.; 2021). يحتل سرطان المثانة المرتبة العاشرة بين أكثر أنواع السرطانات شيوعاً على مستوى العالم ، إذ يمثل 3% من جميع حالات السرطان الجديدة و 2% من جميع وفيات السرطان (Kibaru et al.; 2021). إن سرطان عنق الرحم هو ثاني أكثر أنواع السرطانات شيوعاً وثاني أكثر أسباب الوفاة شيوعاً من السرطان لدى النساء في سن الإنجاب في جميع أنحاء العالم. وسجلت أعلى معدلات الإصابة والوفيات بشكل عام في البلدان ذات القيم الأدنى في مؤشر التنمية البشرية و ترتبط هذه المعدلات أيضاً بارتفاع معدل انتشار العدوى بفيروس نقص المناعة المكتسب (Bouvard et al.; 2021). نظراً لأن الجلد أكبر عضو في الجسم يعد سرطان الجلد أحد

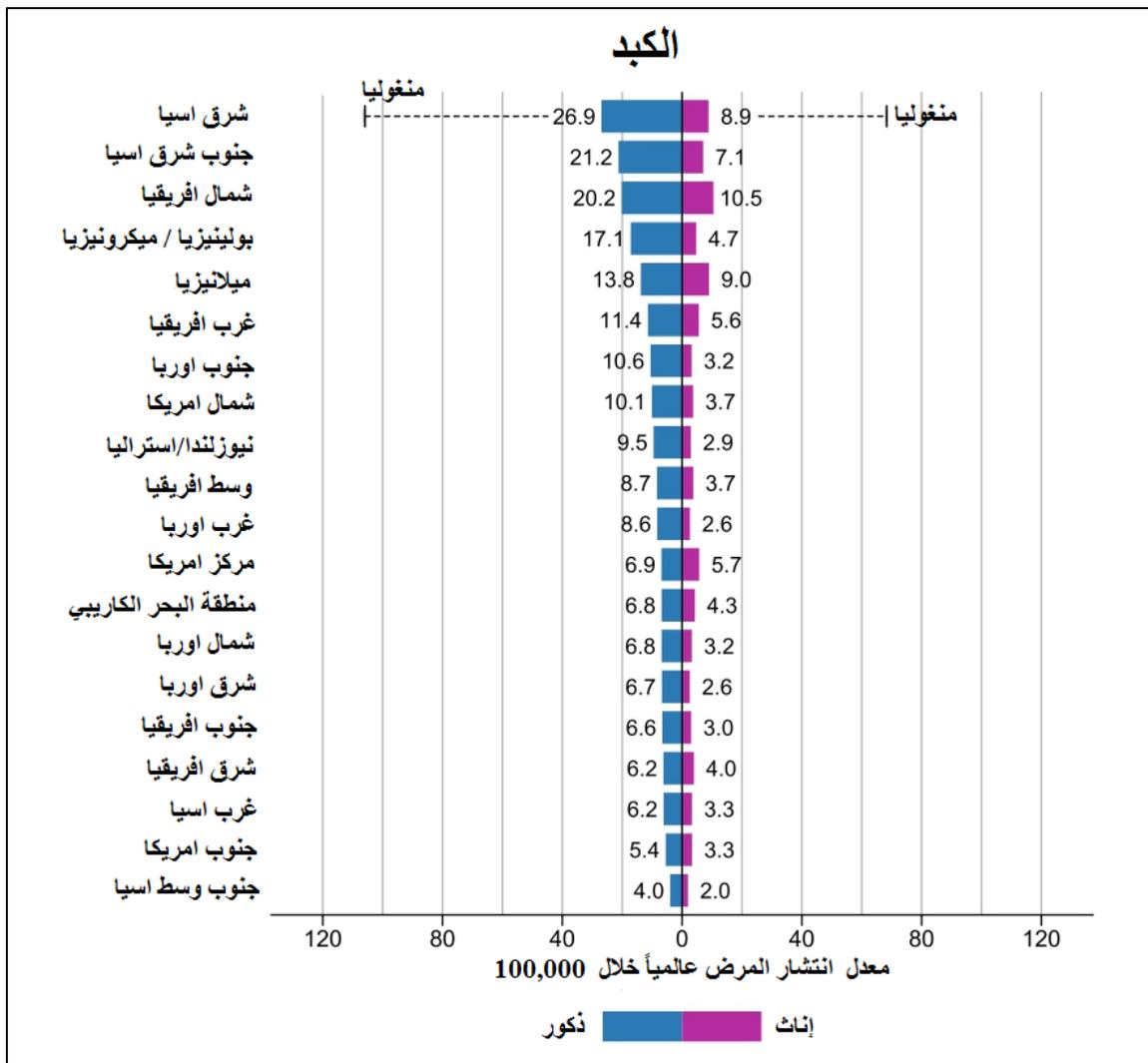
أكثر أنواع السرطانات نشاطاً في العقد الحالي ويمكن أن يقسم إلى سرطان الجلد الميلانيني وهو الاخطر وسرطان الجلد غير الميلانيني (Dildar *et al.*; 2021). استناداً إلى بيانات السرطان العالمية لعام 2018 ، يعد سرطان المعدة خامس أكثر الاورام شيوعاً وثالث أكثر أنواع السرطان فتكاً ، مما تسبب في وفاة ما يقدر بنحو 783000 حالة في عام 2018، وإن المرضى يتم تشخيصهم غالباً في مراحل لاحقة بسبب عدم وجود علامات مبكرة نموذجية (Cao *et al.*; 2021).

## 5.2: سرطان الكبد Liver cancer

سرطان الكبد هو رابع سبب رئيسي للوفيات المرتبطة بالسرطان في جميع أنحاء العالم ، على الرغم من إن الكبد يحتل المركز السادس الأكثر شيوعاً للإصابة بالسرطان عند البشر ، وينشأ عموماً نتيجة الإصابة بتليف الكبد والالتهاب و يتم اصابة الكبد عن طريق النقائل من سرطانات أعضاء أخرى خاصة القولون بسبب موقعه التشريحي (Li *et al.*; 2021). ووفقاً لتقديرات منظمة الصحة العالمية بأن أكثر من مليون شخص سوف يموت بسبب هذا المرض في عام 2030 أما العوامل المسببة لخطر الإصابة بسرطان الكبد هي العدوى بفيروس التهاب الكبد C او B و مرض الكبد الدهني الكحولي وغير الكحولي و التدخين والسمنة والسكري والحديد الزائد كانت من العوامل المتورطة في توليد هذا المرض (Galicia-Moreno *et al.*; 2021). يعد سرطان الكبد من أكثر الاورام الخبيثة انتشاراً في العالم وفقاً لـ GLOBOCAN 2018 فقد قُدر أن حالات الإصابة بسرطان الكبد كانت 841,080 والتي تمثل 4.65% من نسبة الاورام الخبيثة في العالم والتي تقدر بـ 18,078,957 حالة كل عام وتحتل المرتبة السادسة في العالم (الخامس في الرجال والتاسع عند النساء). ومن بين 9,555,027 حالة وفاة بسبب السرطان ، توفيت 781,631 حالة (8.18%) بسبب سرطان الكبد ، تحتل المرتبة الرابعة في العالم (الثانية عند الرجال والسادسة عند النساء) (Chen *et al.*; 2021). يعد سرطان الكبد الاولي هو الأكثر شيوعاً ويتوافق معدل الوفيات المرتبط به مع 9% من جميع الوفيات المرتبطة بالسرطان في جميع أنحاء العالم أما سرطان الخلايا الكبدية هو النوع الأكثر شيوعاً من سرطان الكبد الاولي ويمثل ما يقرب من 80-90% من جميع حالات سرطان الكبد الاولي (Sohn *et al.*; 2021). وإن أعلى معدلات الإصابة بسرطان الكبد في العالم تحدث في آسيا وأفريقيا في حين أن الصين تمثل ما يقرب من 50% من العبء العالمي أما خارج آسيا وأفريقيا تحدث أعلى المعدلات في العالم في شمال أمريكا الوسطى ، وكانت غواتيمالا تمتلك أعلى معدل تقديري في المنطقة ، و يُلاحظ التفوت

في الإصابة بين الجنسين في جميع أنحاء العالم إذ تزيد المعدلات بين الذكور بمقدار 2 إلى 3 أضعاف عن المعدلات بين الإناث (Petrick & McGlynn, 2019). بدأ سرطان الكبد في العراق بمعدل 0.40 لكل 100000 في عام 2000 ، وبلغ ذروته في عام 2005 ، ثم ارتفع من 2008 إلى 2016 (0.82 / 100000 إلى 1.91 / 100000) كلا الجنسين تأثروا بالتساوي. (Hussain & Lafta, 2021).

ووكما موضح في الشكل (2-2) الذي يوضح وبائية سرطان الكبد عالمياً



الشكل (2-2) يوضح وبائية سرطان الكبد عالمياً (Sung et al.; 2021).

## 6.2: أنواع سرطان الكبد Types of Liver cancer

يوجد نوعان رئيسيان لسرطان الكبد هما سرطان الكبد الاولي وهو الأكثر شيوعاً ويضم أنواع أخرى تسمى حسب موقع الإصابة داخل الكبد والنوع الثاني هو سرطان الكبد الثانوي (النقيلي) والذي يحدث نتيجة لانتقال الخلايا السرطانية من أعضاء الجسم المختلفة إلى الكبد مسببة حدوث السرطان فيه (Dutta & Dubey, 2019).

### 1.6.2: سرطان الكبد الاولي Primary liver cancer

يعد سرطان الكبد الاولي مرضاً مميتاً يصيب ملايين البشر في جميع أنحاء العالم وهو السبب الرئيسي للوفيات المرتبطة بالسرطان ومن المتوقع أن يرتفع معدل الإصابة بهذا المرض في العقود القادمة ، وقد لوحظت أعلى معدلات الإصابة بسرطان الكبد في شرق آسيا وجنوب شرق آسيا وشمال إفريقيا وجنوب إفريقيا (Kim & Park, 2018; Feng *et al.*; 2020). وفي دراسة أجريت على 30 دولة قارنت بين معدلات الإصابة بين عامي 2005 و2030 توصلت إلى إن من المتوقع حدوث زيادة في معدل الإصابة بسرطان الكبد الاولي على مدى 25 عام بين الرجال وكذلك توقعت انخفاض في معدل الإصابة بين النساء (Valery *et al.*; 2018). يمكن تصنيف سرطان الكبد الاولي بشكل أساسي إلى الأنواع الأربعة التالية: سرطان الخلايا الكبدية (HCC) hepatocellular carcinoma وسرطان القنوات الصفراوية داخل الكبد (ICC) intrahepatic Cholangiocarcinoma والورم الأرومي الكبدي (HB) hepatoblastoma وسرطان الخلايا الكبدية وسرطان القنوات الصفراوية داخل الكبد المركب combined hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma (cHCC-ICC) (Wang *et al.*; 2020a).

### 1.1.6.2: سرطان الخلايا الكبدية (HCC) Hepatocellular carcinoma

يعد سرطان الخلايا الكبدية (HCC) هو النوع الأكثر شيوعاً من سرطان الكبد الاولي إذ يمثل نسبة 80-90% من إجمالي الإصابات ويتسبب في حوالي 800,000 حالة وفاة سنوياً على مستوى العالم وعلى عكس معظم السرطانات الصلبة ، فإن المرضى الذين تم تشخيص إصابتهم بسرطان الكبد ليسوا مؤهلين في كثير من الأحيان للعلاجات الشافية ويظهرون معدلات وفيات عالية في عام 2015 هناك أكثر من 854,000 حالة إصابة بسرطان الكبد و 810.000 حالة وفاة مرتبطة بسرطان الكبد ويعد

الاكتشاف المبكر لمرض سرطان الخلايا الكبدية ذات أهمية محورية لأنه يرتبط بتحسين البقاء على قيد الحياة والقدرة على تطبيق العلاجات الشافية (Plaz Torres *et al.*; 2020; Sohn *et al.*; 2021). فقد أظهرت دراسات أجريت على الإنسان والفأر إلى إن الالتهاب يعزز تطور سرطان الكبد عن طريق تعزيز إشارات التكاثف والبقاء على قيد الحياة وتحفيز تكوين الاوعية وتجنب المراقبة المناعية ودعم الخلايا الجذعية السرطانية وتفعيل الغزو والورم الخبيث وكذلك إحداث عدم الاستقرار الجيني فقد يتطور سرطان الكبد عادة في بيئة من الالتهابات المزمنة والتعرض للسموم و يؤدي هذا إلى حدوث طفرات في الجينات الورمية والجينات الكابحة للورم مع تنشيط العديد من مسارات الإشارات ومن بينها  $RAF / MEK / ERK$  ، و  $PI3K / AKT / MTOR$  ، و  $WNT / b$  ، والإشارات المولدة للأوعية التي ينظمها عامل النمو والذي بدوره يؤدي إلى تكاثر للخلايا غير مسيطر عليه مع تثبيط موت الخلايا المبرمج (Rodriguez-Peralvarez *et al.*; Yu *et al.*; 2018; 2013). وكذلك تعد الورمات الكبدية أسلاف ثنائية القدرة أكثر تمايزاً ولديها القدرة على التمايز إلى الخلايا الصفراوية والخلايا الكبدية تتوسع هذه الأسلاف أثناء التهاب الكبد المزمن وتراكم التغيرات الجينية والخلقية مما يؤدي إلى تحولها إلى الخلايا الجذعية السرطانية ولكن أورام الكبد ليس بالضرورة تنشأ من الاورمات الكبدية أو خلايا الكبد إذ يمكن أن تؤدي خلايا الكبد وخلايا القنوات الصفراوية إلى ظهور الاورام عن طريق اكتساب أنماط ظاهرية للخلايا الجذعية السرطانية عن طريق عملية تسمى عدم التمايز (Yagci *et al.*; 2017). أما السمات النسجية الكلاسيكية لسرطان الخلايا الكبدية نجد الحواجز التي تفصل بين فصيصات الكبد عريضة بسمك خليتين إلى ثلاث خلايا ويكون الفصيص بارزاً أو ما يسمى بالغدي الكاذب نتيجة تضخم القنيات بين الخلايا للخلايا الكبدية وتغيرات في الخلايا الكبدية مثل النشاط الانقسامي وعدد من الأنوية في الساييتوبلازم أكثر من المعتاد ويكون الساييتوبلازم أكثر قاعدية، ويلاحظ غزو الاوعية الدموية للنسيج وقلّة خلايا كوبر وفقدان شبكة الياف الريتيكولين وإنتاج المادة الصفراء بشكل متكرر (Schlageter *et al.*; 2014). تتفاقم الأعراض السريرية في حالات ضعف وظائف الكبد و في المراحل المتقدمة ، تشمل الأعراض والنتائج السريرية المآ غامضاً في الربع العلوي الأيمن من البطن وتضخم الكبد ، واليرقان الإنسدادي ، ونزيف القناة الصفراوية (الهيموبيليا) ، والحمى مجهولة المنشأ غالباً ما تتواجد الأعراض غير المحددة للأمراض الخبيثة المتقدمة مثل فقدان الشهية والغثيان والحمول وفقدان الوزن (Dimitroulis *et al.*; 2017).

### 2.1.6.2: سرطان القنوات الصفراوية داخل الكبد intrahepatic Cholangiocarcinoma

سرطان القنوات الصفراوية داخل الكبد هو ورم خبيث نادر معدي معوي ينشأ من الخلايا الظهارية للقنوات الصفراوية داخل الكبد (الخلايا الصفراوية) ويمثل 10% - 15% من جميع سرطانات الكبد الأولية وهو ثاني أكثر أنواع سرطان الكبد الاولي شيوعاً بعد سرطان الخلايا الكبدية ويتميز بالسلوك العدوانى وقد زاد حدوثه بشكل تدريجي في جميع أنحاء العالم خلال العقود الماضية مع زيادة مذكورة بأكثر من 165% في السنوات الـ 35 الماضية في سكان العالم الغربي (Patrone *et al.*; 2021). وإن هذا المرض مثل الأنواع الأخرى من سرطانات القناة الصفراوية ، يزداد معدل الإصابة به مع تقدم العمر ، وتتراوح أعمار معظم المرضى بين 55 و 75 عاماً و يكون معدل الإصابة بسرطان القنوات الصفراوية أعلى قليلاً في الذكور منه في الإناث (Zhang *et al.*; 2016). يعزز الركود والالتهاب الصفراوي التوليد المفرط لأكسيد النيتريك الذي يزيد الضرر التأكسدي للـ DNA ويمنع إصلاح DNA والاستماتة الخلوية فضلاً عن ذلك يتم تنظيم انزيمات الاكسدة الحلقية Cyclooxygenase (COX-2) بواسطة أنواع أكسيد النيتريك المستحث ويعمل على تعزيز نمو الخلايا الصفراوية والبقاء على قيد الحياة، في حين إن الطفرات الجينية الشائعة المرتبطة بسرطان القنوات الصفراوية تشمل *KRAS* و *BRAF* و *TP53* ومستقبلات عامل نمو البشرة وتعد طفرات *KRAS* هي الطفرات الأكثر شيوعاً المرتبطة بالمرض ومع ذلك فإن حدوثها يختلف بشكل كبير من 8 إلى 53% أما طفرات *BRAF* شائعة أيضاً ولها معدل حدوث 0-22% في اورام Acher *et al.*; (2021). عادة ما تظهر على المرضى أعراض في مرحلة متقدمة من المرض وتكون هذه الأعراض غير محددة مثل آلام البطن والشعور بالضيق والتعرق الليلي وضعف عام بالجسم إذ 25% من المرضى الذين يعانون من أعراض لديهم مرض قابل للاستئصال مقابل 58% من المرضى الذين لا يعانون من أعراض المرض (Blechacz, 2017). ومن ناحية أخرى إن السمة النسجية الشائعة لسرطان القنوات الصفراوية داخل الكبد هو سرطان غدي متمايز بدرجات متفاوتة من التنسج وعادةً ما يكون مركز الورم متليفاً بشكل أكثر كثافة إذ يتواجد فيه الخلايا الورمية المتناثرة مع تكتلات يورمية اونخر في بعض الأحيان في حين أن المحيط بمركز الورم خلايا ورمية أكثر وفرة وتكاثراً والتي تتسلل إلى البرنكيما المحيطة أما عن طريق الضغط او التسلل على طول الجيبانيات او تحل مكان خلايا الكبد أما المسارات البوابية تكون محصورة داخل الكتلة وغالباً ما يتم غزو الوريد البابي والاعوية للمفاوية والأعصاب داخل الكبد في المرحلة المبكرة من المرض (Vijgen *et al.*; 2017).

**3.1.6.2: الورم الأرومي الكبدي (HB) Hepatoblastoma**

الورم الأرومي الكبدي هو الورم الخبيث الأكثر شيوعاً في الكبد عند الأطفال ويمثل أكثر من 90% من الاورام الخبيثة الكبدية الاولية بين الأطفال الذين تقل أعمارهم عن 5 سنوات وقد زاد معدل الإصابة بالورم الأرومي الكبدي خلال العقدين الماضيين ويرجع ذلك جزئياً إلى زيادة معدل بقاء الأطفال الخدج وقليلي الوزن عند الولادة وعادة ما يظهر المرض مع كتلة بطنية كبيرة وقيمة مرتفعة من بروتين ألفا فيتوبروتين (AFP) والتي تؤثر في الغالب على الأطفال دون سن 3 سنوات (Yang *et al.*; 2019). الورم الأرومي الكبدي هو ورم كبدي جنيني من المفترض أن ينشأ من ضعف تمايز خلايا الكبد أثناء مرحلة التطور الجنيني ووجد في لمقام الاول للمرض تنشيط مسار الـ WNT (هي إشارات تنظم تشكل الأنسجة أثناء التطور الجنيني) إذ إن الآلية الاولية لتنشيط مسار WNT هي حدوث طفرات حذف في الجين CTNNB1 التي تتضمن exon 3 وحدثت طفرات CTNNB1 في أكثر من 80% من الحالات (Eichenmüller *et al.*; 2014). غالباً ما يعاني مرضى الورم الاورمي الكبدي من انتفاخ في البطن أو كتلة واضحة في الربع العلوي الأيمن وتكون الاعراض غير واضحة وتشمل فقدان الوزن وفقدان الشهية والغثيان والقيء وآلام البطن المنتشرة وقد يظهر اليرقان في حالات قليلة جداً إذ تقترب من 5% نتيجة الاصطدام الصفراوي بكتلة الورم وكذلك كشف الفحص المختبري عن وجود فقر الدم في الغالبية (70%) وكثرة الصفيحات في حوالي (50%) ويُعتقد أنه يرجع إلى إنتاج الثرومبوبويتين Thrombopoietin بواسطة خلايا الورم (Morgan Auld & Sergi, 2022).

**4.1.6.2: سرطان الخلايا الكبدية وسرطان القنوات الصفراوية داخل الكبد المركب combined hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma (cHCC-ICC)**

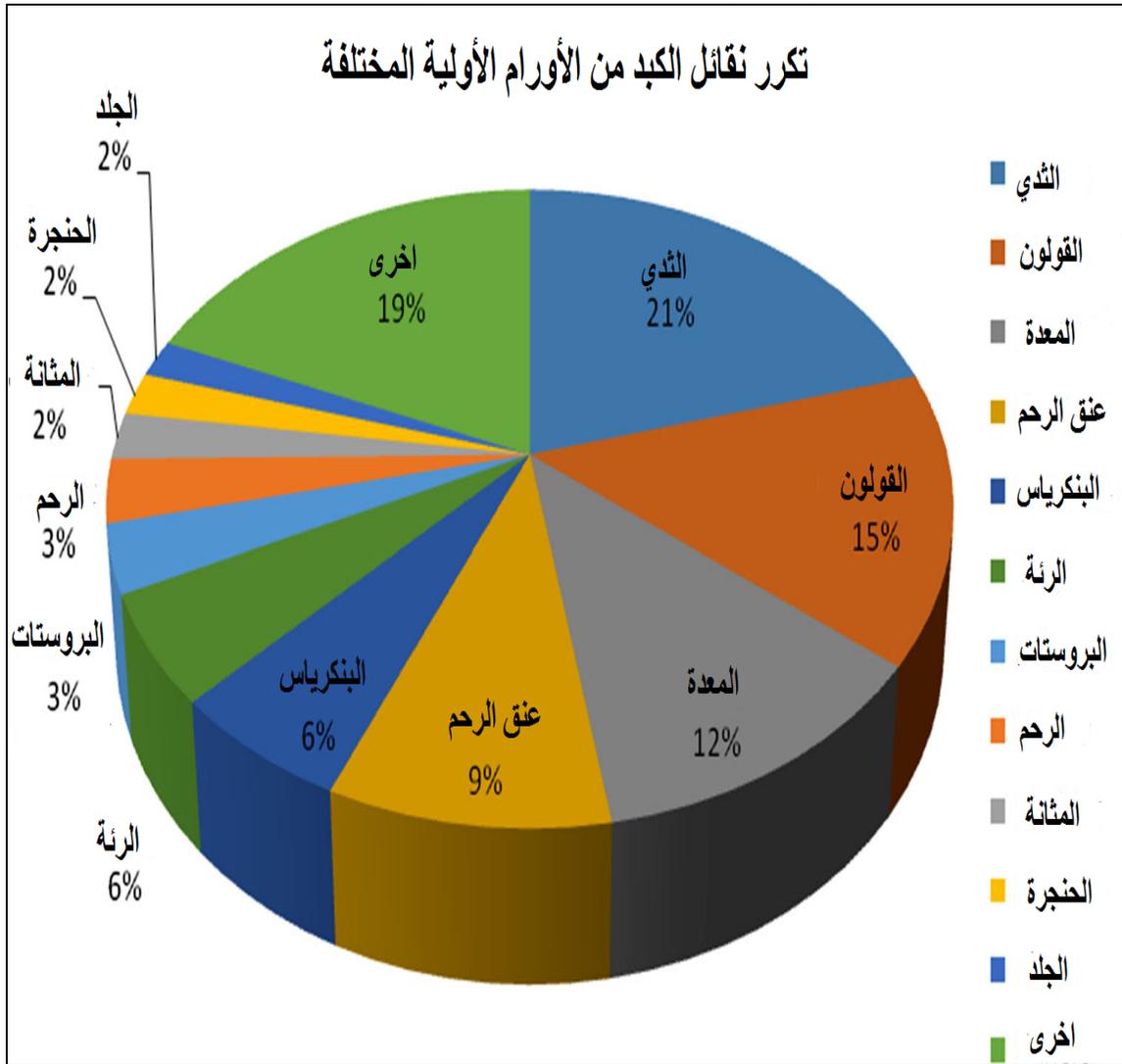
وهو نوع فرعي نادر من سرطان الكبد الاولي ، ويمثل 1% إلى 14.2% من الحالات وقد يكون الحدوث الحقيقي في الواقع أعلى بسبب الصعوبة المتكررة في التقييم المرضي الدقيق والطبيعة المتقدمة للعديد من هذه الاورام ولقد تم وصف هذا النوع الفريد لأول مرة بواسطة Allen and Lisa في عام 1949 وتم تعريفه على أنه التداخل بين كل من مكونات سرطان الخلايا الكبدية وسرطان القنوات الصفراوية (Connell *et al.*; 2016). تعد السمات النسجية لهذا المرض هو وجود خلايا كبدية

سرطانية متعددة الأنماط النووية وفرط في التنسج وكذلك الكروماتين الخشن ووجود منطقة داخل الورم نفسه تظهر بنية غدية أكثر بروزاً منتجة بروتينات mucin متسقة شكلياً مع سرطان القنوات الصفراوية قد تظهر هذه الصفات في نفس كتلة الورم او خلال نسيج الكبد ولكن ليس في نفس كتلة الورم (Azizi *et al.*; 2020). أما المظهر الجزيئي فقد وجدت الدراسات السابقة أن جينات cHCC-CCA كانت أقرب إلى سرطان القنوات الصفراوية من سرطان الخلايا الكبدية ويمكن أن تكون جينات cHCC-CCA النوع الكلاسيكي مختلفه عن سرطان القنوات الصفراوية ولكنها تشبه سرطان الخلايا الكبدية، كما وصف Moeini وجماعته (2017) الحالة الجينومية المختلفة لـ cHCC-CCA اعتماداً على أنواع الفرعية الخاصة بهم، وقد تُعزى الاختلافات في نتائج الملامح الجزيئية في cHCC-CCA إلى الأنسجة السائدة المختلفة في المناطق التي تم أخذ عينات منها أو إلى المعايير المرضية المختلفة المستخدمة (Komuta & Yeh, 2020).

## 2.6.2: سرطان الكبد الثانوي (النقيلي) Secondary liver cancer (metastatic)

سرطان الكبد الثانوي (النقيلي) هو نوع من نمو الخلايا السرطانية إذ تنشأ الخلية السرطانية من عضو مختلف من الجسم ثم تنتشر إلى الكبد وقد تنشأ النقائل الكبدية بشكل شائع من أمراض الجهاز الهضمي فضلاً عن أورام الثدي والرئة وسرطان الجلد ويكون الكبد شديد الاستعداد للنقائل بسبب موقعه التشريحي الفريد والبطانة المسامية والبيئة المثبطة للمناعة لدرجة أن سرطان الكبد النقيلي يحدث بمعدل 18-40 مرة أكثر من السرطانات الأولية (Scott, 2022). ويسبب سرطان الثدي ما يقارب 5-20% من نقائل الكبد بينما يصاب حوالي ثلثي مرضى سرطان البنكرياس بسرطان الكبد وهذا يمثل احد الأسباب الرئيسية التي تؤدي إلى فشل علاج سرطان البنكرياس في حين تُعقد النقائل الكبدية ما يقرب من 6% من حالات سرطان الرئة وقت التشخيص وتحدث في 36% من المرضى خلال فترة المرض (Khajornjiraphan *et al.*; 2015). ويعد الكبد الموقع الأكثر شيوعاً للاستقبال النقائل من سرطان القولون والمستقيم لعدة أسباب منها أولاً المسافة القصيرة من الكبد لتجاوز الخلايا الغازية وثانياً يقوم الكبد بترشيح التصريف الوريدي من الأحشاء داخل البطن ذات الصلة بتدوير الخلايا السرطانية والأحماض النووية ذات الرسوم الخلوية والتي بالتالي قد تدخل الكبد وثالثاً بسبب بنية الكبد الخاصة إذ تتكون أنسجة الكبد من عدة أنواع من الخلايا توفر بيئة مكروية خصبة بشكل خاص لتداخل الخلايا السرطانية (Golubnitschaja & Sridhar, 2016). تشكل النقائل التي تصيب الكبد من

سرطان المعدة الاولي حوالي 5%-14% فهي تنتقل إلى الكبد خلال المرحلة الرابعة من الإصابة أي في مراحل متقدمة من المرض ويعد هذا المرض قاتل غير قابل للشفاء مع معدل بقاء لمدة 5 سنوات أقل من 10% على الرغم من تطبيق العديد من العلاجات الموضعية والتي لم يتم إثبات فائدتها السريرية (Fukumitsu *et al.*; 2017). وهناك العديد من الأعضاء المصابة بالسرطان الاولي والتي تؤدي إلى انتشار النقائل للكبد ومن ثم حدوث سرطان الكبد الثانوي وبنسب مختلفة وكما موضح بالشكل.



الشكل (2-3) يوضح نسبة الإصابة بسرطان الكبد الثانوي من الأعضاء المختلفة في الجسم

(Golubnitschaja & Sridhar, 2016)

## 7.2: عوامل الخطورة Risk factors

ازداد معدل الإصابة بسرطان الكبد والوفيات في العديد من المناطق حول العالم وتعود هذه الزيادة إلى العديد من عوامل الخطر المختلفة من منطقة لأخرى وتشمل عدوى فيروس التهاب الكبد B المزمن والأفلاتوكسين في أجزاء من آسيا وأفريقيا وجنوب الصحراء وغواتيمالا وكذلك التهاب الكبد المزمن ، والإفراط في تناول الكحول ، والسمنة ، والسكري ، والتدخين من عوامل الخطر في أجزاء من أمريكا الشمالية وأوروبا (McGlynn & London, 2011; Smith *et al.*; 2017). وأشارت دراسة إلى أن ما يزيد عن 40.5% من حالات سرطان الكبد غير مفسرة بعوامل الخطر المعروفة بما في ذلك الالتهاب الكبدي الوبائي المزمن وفيروس التهاب الكبد المزمن واستهلاك الكحول والسمنة ومرض السكري (Makarova-Rusher *et al.*; 2016). ويمكن تقسيم عامل الخطر إلى التالي:

### 1.7.2: التهاب الكبد الفيروسي Veral Hepatitis

تمثل عدوى فيروس التهاب الكبد B المزمن Hepatitis B Virus (HBV) إذ إنها تشكل ما لا يقل عن 50% من حالات سرطان الكبد الوبائي في جميع أنحاء العالم والتي تشارك كل من الآليات غير المباشرة والمباشرة في تكوين أورام الكبد وتشمل عوامل HBV المعززة لسرطان الكبد العدوى طويلة الأمد ومستويات عالية من تكرار HBV والنمط الجيني HBV وتكامل HBV وطفرات HBV المحددة والبروتينات الورمية المشفرة (Xie, 2017). وتعد عدوى فيروس التهاب الكبد مصدر قلق صحي عالمي يزيد من خطر الإصابة بسرطان الكبد 5 أضعاف فقد يشفر جينوم HBV أربعة بروتينات رئيسية، يُشار إليها باسم C و P و S و X و تشير الأدلة المتراكمة إلى أن بروتين HBV (HBx) يؤدي دورًا مهمًا في التسرطن وتطور سرطان الكبد عن طريق التنظيم المباشر أو غير المباشر للجينات النسخ ونشاط البروتين عند المضيف (Guo *et al.*; 2021). وتؤدي العدوى المستمرة بفيروس التهاب الكبد B إلى مرض مزمن في الكبد (مثل التهاب الكبد B المزمن) والذي يرتبط باستجابة مناعية متناقصة أضعف غير قادرة على السيطرة على الفيروس وإن نقص المناعة الذي يتطور مع مرور الوقت أثناء استمرار الإصابة بفيروس التهاب الكبد B هو المسؤول أيضاً عن تطور مرض الكبد إلى تليف الكبد وسرطان الخلايا الكبدية (Suresh & Menne, 2021). إن الإصابة بالتهاب الكبد الفيروسي C Hepatitis C Virus (HCV) تساهم في تكوين سرطان الكبد فقد يؤدي تكاثر HCV والبروتينات الفيروسية إلى اضطراب الإرقاء الخلوي وتحفيز توليد أنواع

الأكسجين التفاعلية و تعمل المكونات الفيروسية او منتجات التكاثر الفيروسي كمحفز لتحفيز الاستجابة المناعية الفطرية وتسبب التهاباً مزماً داخل الكبد وكذلك يتم تنشيط الخلايا غير الكبدية مثل الخلايا النجمية الكبدية عند الإصابة بفيروس HCV لتوفير المصدر الرئيسي للبروتينات خارج الخلية والتي لها أدوار مهمة في تكوين الألياف (Yi & Yuan, 2017). ففي الدراسة التي اجراها Sung & Shin (2021) على العوامل المضادة للفيروسات بشكل مباشر وجدوا أثناء العدوى المزمنة بفيروس التهاب الكبد C الوبائي أظهرت الخلايا القاتلة الطبيعية (NK) cells نمطاً وظيفياً منحرفاً أدى إلى تقليل إنتاج السيتوكينات المضادة للفيروسات وزيادة السمية الخلوية.

### 2.7.2: الأفلاتوكسينات Aflatoxins

الأفلاتوكسينات هي السموم الفطرية (fungal toxins) التي تنتجها أنواع الرشاشيات *Aspergillus* في مجموعة متنوعة من المواد الغذائية و يمكن أن يتسبب استهلاك الأطعمة الملوثة بالأفلاتوكسين في آثار صحية ضارة بما في ذلك سرطان الكبد وعادة ما يكون التعرض للأفلاتوكسين أعلى في البلدان الحارة والرطبة (Saha Turna & Wu, 2019). يتزايد خطر تلوث السلع بالأفلاتوكسين في العالم إذ إن الذرة والأرز والبقول السوداني هي المحاصيل التي تؤدي بشكل أساسي دوراً مهماً في النظم الغذائية وتكون إصابة هذه المحاصيل بالفطريات الأفلاتوكسينية وبالتالي تلوثها بالأفلاتوكسين أعلى بشكل عام وبالنهاية فإن تعرض الإنسان والحيوان لهذا السم يكون أعلى ويسبب مشاكل صحية واقتصادية ضخمة ومن أكثر أنواع الأفلاتوكسين شيوعاً AFB1 و AFB2 و AFG1 و AFM1 و AFM2 (Negash, 2018). وعلى غرار العديد من المواد البيئية المسببة للسرطان فإن الأفلاتوكسينات ليست مسببة للسرطان بشكل مباشر ولكن يجب أولاً تحويلها في الجسم الحي إلى مشتقاتها المسرطنة في نهاية المطاف فمثلاً يتم إنتاج المستقلب المسرطن النهائي لـ Aflatoxin B1 (AFB1) إلى 8-exo-AFB1-epoxide في الكبد عن طريق أكسدة AFB1 بواسطة إنزيمات السيتوكروم P450 (Groopman et al.; 2021). ويعد الايبوكسيد الناتج مركب جيني وسيط يتفاعل مع DNA خلايا الكبد إذ يرتبط مع ذرة النيتروجين السابعة من الكوانين ويمكن أن يتسبب في كسر خيوط الحامض النووي بسبب حلقة إيميدازول المشحونة إيجاباً والتي قد تعزز إزالة البيورين وبالتالي تكوين موقع الأبيورين وهذا يؤدي إلى تغيير الشفرة 249 في منطقة الجين p53 الجوانين (G) إلى الثايمين (T) والذي قد يسبب الاورام الكبدية (Nugraha et al.; 2018).

## 3.7.2: الكحول Alcohol

الكحول هو السبب الرئيسي لأمراض الكبد المرتبطة بسرطان الكبد إذ يمثل 30% من الحالات في جميع أنحاء العالم فضلاً عن ذلك يتأزر الكحول مع عوامل الخطر الأخرى للإصابة بسرطان الكبد مثل داء السكري والتهاب الكبد الفيروسي في المرضى الذين يتناولون الكحول بإفراط والذي يُعرّف بأنه أكثر من 80 جراماً في اليوم (Ganne-Carrié & Nahon, 2019). ويؤدي زيادة التمثيل الغذائي للإيثانول في الأمعاء إلى حدوث خلل وظيفي في القناة الهضمية وزيادة النمو البكتيريا وهذا يؤدي هذا إلى انتقال البكتيريا والسموم الداخلية ومستقلبات الإيثانول عبر الدورة الدموية المعوية الكبدية ومن ثم التعرف على الأنماط الجزيئية المرتبطة بالعوامل الممرضة عبر مستقبلات محددة Toll-like لخلايا الكبد تسبب تنشيط مسار العامل النووي kappa-B الذي يطلق السيتوكينات والكيموكينات المؤيدة للالتهابات وبالتالي سيتم تعزيز النشاط الانقسامي للخلايا الكبدية ومنع موت الخلايا المبرمج الخلوي وهذا يساهم في تطور سرطان الكبد (Méndez-Sánchez *et al.*; 2020). يزداد خطر الإصابة بسرطان الخلايا الكبدية عند مدمني الكحول خاصةً للذين يعانون من نقص انزيم Aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) وهو إنزيم رئيسي لإزالة السموم من مستقلب الإيثانول (أسيتالديهيد) فقد يعاني ما يقرب من 30-40% من السكان الآسيويين من نقص في انزيم ALDH2 وهذا يسبب زيادة تركيز الاسيتالديهيد في الدم مما يساهم في زيادة الاجهاد التأكسدي وتلف في DNA ميتوكوندريا الخلايا الكبدية مما يسرع شيخوخة الخلية (Seo *et al.*; 2019).

## 4.7.2: السمنة والسكري Obesity and diabetic

يعد الوزن الزائد والسمنة من العوامل الخطرة التي تؤثر على الصحة العامة على المستوى العالمي وهناك زيادة في الوزن او السمنة أكثر من البالغين الذين يعانون من نقص الوزن ففي عام 2016 كان 39% من الرجال و 40% من النساء الذين تبلغ أعمارهم 18 عاماً أو أكثر أي ما يقرب من 2 مليار بالغ يعانون من زيادة الوزن و 11% من الرجال و 15% من النساء ، أكثر من نصف مليار يعانون من السمنة في جميع أنحاء العالم وقد أظهر كل من زيادة الوزن والسمنة زيادة ملحوظة خلال العقود الأربعة الماضية (WHO, 2021). و تساهم السمنة في خفض متوسط العمر المتوقع وضعف جودة الحياة والإعاقات وخاصة لدى الأفراد الذين يصابون بأمراض القلب والاعوية الدموية والسكري من النوع الثاني وهشاشة العظام والسرطان (Blüher, 2020). وتمثل الأنسجة الدهنية غدد صماء

لقدرتها على إنتاج الاديبوسيتوكينات او الاديبيوكينات التي تسبب التهاباً مزماً منخفض الدرجة في العديد من أعضاء الجسم وقد وجد إن زيادة الأنسجة الدهنية اوخلل في وظائفها يؤدي إلى خلل في إفراز الاديبوكين مما يسأهم في مجموعة متنوعة من العمليات المرضية مما يؤدي إلى الإصابة بسرطان الكبد المرتبط بالسمنة (Rajesh & Sarkar, 2021). كما يعد الكبد عضواً رئيسياً لتخزين الدهون و السيتوكينات المحفزة للالتهابات (عامل نخر الورم ألفا و وانترلوكين-6) التي يفرزها النسيج الدهني هي وسائط مؤثرة لسرطان الكبد و الطفرات السرطانية وكذلك الاستجابة الالتهابية وتعد مقاومة الأنسولين او فرط الأنسولين في الدم سمة مهمة لتكاثر الخلايا المصحوبة بالسمنة وهذه كلها اليات تسرطن الكبد نتيجة السمنة (Sohn et al.; 2021). وإن كثيراً ما يُلاحظ ارتفاع مستويات الأنسولين الدم في حالات السمنة ومرض السكري من النوع 2 المبكر و نتيجة عدم حساسية الأنسجة الأيضية لتأثيرات الأنسولين فقد ارتبطت المستويات العالية من الأنسولين في الدم بزيادة مخاطر الإصابة بالسرطان والتقدم في دراسات علم الاوبئة يعتقد إن فرط انسولين الدم هو عامل رئيسي يربط بين السمنة والسكري والسرطان (Gallagher & LeRoith, 2020). وقد ثبت أن مرض السكري من النوع 2 هو عامل خطر للإصابة بسرطان الكبد في جميع أنحاء العالم فضلاً عن ذلك يمكن أن يعزز تكرار وتطور سرطان الكبد من ضعفين إلى ثلاث أضعاف لان الكبد يعد موقعاً رئيسياً لعملية التمثيل الغذائي للجزيئات الكلوكوز ( glycolysis, glycogenesis, glycogenolysis, and gluconeogenesis) (Mao et al.; 2022).

### 5.7.2: مرض الكبد الدهني غير الكحولي Nonalcoholic Fatty Liver Disease

مرض الكبد الدهني غير الكحولي وهو من أمراض الكبد المزمنة المنتشرة في جميع انحاء العالم والذي يعد مظهراً من مظاهر متلازمة التمثيل الغذائي ويرتبط عادةً بعوامل الخطر الأيضية بما في ذلك السمنة و عسر شحميات الدم وارتفاع ضغط الدم ومرض السكري (Loomba et al.; 2021). وقُدِّر الانتشار العالمي لمرض الكبد الدهني غير الكحولي بنحو 25.2% مع أعلى معدل انتشار في الشرق الاوسط وأمريكا الجنوبية (13.8% و 30.4% على التوالي) وأقل المعدلات المبلغ عنها من إفريقيا (13.5%) فضلاً عن ذلك ، إن معدلات انتشار مرض الكبد الدهني غير الكحولي في أمريكا الشمالية واوروبا وآسيا بنسبة ( 24.1% و 23.7% و 27.4%) على التوالي (Younossi et al.; 2019). ويشمل هذا المرض مجموعة كبيرة من الأمراض التي تتراوح من التتسكس الدهني الحميد والتهاب الكبد

الدهني غير الكحولي مع إصابة الخلايا الكبدية بالانتفاخ و الالتهاب و حدوث حالة التليف fibrosis الذي يتطور في النهاية إلى تليف الكبد الحاد في بعض الحالات cirrhosis وأمراض الكبد وفي المرحلة النهائية إلى سرطان الخلايا الكبدية (Nunes *et al.*; 2020). وقد تُعزى عوامل الخطر للإصابة بسرطان الكبد في التهاب الكبد الدهني غير الكحولي إلى الزيادة التالية - الوزن الزائد و الإنسولين الزائد و الحمل الكبدى للحديد مما يؤدي إلى تليف الكبد و تليف الكبد المتقدم فضلاً عن ذلك ، يعد العمر و الجنس أيضاً من عوامل الخطر لسرطان الكبد المرتبط بمرض التهاب الكبد الدهني غير الكحولي (Dhamija *et al.*; 2019) .

### 6.7.2: تليف او تشمع الكبد Cirrhosis

تشمع الكبد هو المرحلة النهائية لكل مرض مزمن في الكبد وهو ليس فقط عامل الخطر الرئيسي لتطور سرطان الخلايا الكبدية ولكن أيضاً عامل مقيد للعلاج المضاد لسرطان في الكبد و الاورام الخبيثة غير الكبدية و قد يحد تشمع الكبد من الأساليب الجراحية و التداخلية لعلاج السرطان و يؤثر على الحركة الدوائية للأدوية المضادة لسرطان و يزيد من الآثار الجانبية للعلاج الكيميائي و يجعل المرضى عرضة للتسمم الكبدى (Pinter *et al.*; 2016). و لقد ثبت منذ فترة طويلة العلاقة بين تشمع الكبد و الاورام الخبيثة الاولية في الكبد و يمكن أن يرتبط تليف الكبد بزيادة تزيد عن 30 ضعفاً في خطر الإصابة بسرطان الكبد و زيادة 10 أضعاف إلى 20 ضعفاً في خطر الإصابة بسرطان القنوات الصفراوية داخل الكبد (Massarweh & El-Serag, 2017).

هنالك العديد من عوامل الخطر التي تساعد على نشوء أنواع سرطان الكبد و تشمل العوامل الوراثية و البيئية و العوامل الايضية فضلاً عن العمر و الجنس و المواد الكيميائية و العوامل الفيزيائية (Desai *et al.*; 2019).

### 8.2: وراثية سرطان الكبد Inheritance of liver cancer

يحدث السرطان بسبب الأحداث الجزيئية التي تنطوي على تفاعلات بين الجينات المسؤولة عن دورة الخلية و المسرطنات و تسمى العملية بالمتسرطن و تُعرف أيضاً باسم تكوين الاورام و هي عملية متعددة الخطوات تتضمن طفرة أو طفرات متسلسلة تؤدي إلى تكاثر الخلايا بشكل غير طبيعي و تمتاز الخلايا الناتجة بقدرتها على الإنقسام المستمر و الهروب من الجهاز المناعي و أيضاً لها القدرة على

غزو الأنسجة الأخرى (Diori Karidio & Sanlier, 2021). إذ يتم التحكم بدورة الخلية عن طريق أنشطة العديد من الجينات و الحواجز checkpoints والتي تحدد فيما إذا كانت الخلية بها تلف في الحامض النووي اولديها مشاكل في آلية دورة الخلية ولا تسمح إلا للخلايا الطبيعية بالاستمرار، وإن الجزيئات الرئيسية المستخدمة في الحواجز هي السايكلين المعتمد على الكاينيز cyclin-dependent kinases (Cdks) أما الخلية السرطانية لا تستجيب للإشارات المعتادة وتنقسم دون قيود (Bisteau et al.; 2014). ينتج عدم الاستقرار الجيني في الخلايا السرطانية بسبب تراكم الطفرات في الحامض النووي والتي يمكن أن تكون هذه الطفرات في الخلايا الجرثومية او الجسمية لكن تنجم غالبية الاورام الخبيثة عن الطفرات الجسمية التي تحدث بسبب عوامل داخلية وبيئية مختلفة إذ إن الجينات الكابحة للورم (Tumor suppressor genes) والجينات الورمية الاولية (Proto-oncogenes) هما فئتان رئيسيتان من الجينات التي تتغير عادة في السرطان ويعد اختلال التوازن بين تنشيط وتعطيل هذين النوعين من الجينات يؤدي دوراً رئيسياً في تطور السرطان (Alqahtani et al.; 2019).

تعد الجينات الكابحة للورم (مضادات الاورام) متحيزة وتعمل كجينات قابلة للإصابة بالسرطان ويتم التعبير عنها في الخلايا الطبيعية وتنظم تكاثر الخلايا وتمايزها ويمكن أن تمنع هذه الجينات الخلايا من دخول دورة الخلية وتحفز التمايز النهائي وموت الخلايا المبرمج وهي ضرورية للحفاظ على سلامة جينوم الكائن الحي وتثبيط نمو الورم والجينات  $p53$  و  $Rb$  و  $p21$  و  $PTEN$  هي أكثر الجينات المضادة للاورام شيوعاً (Grabinski et al.; 2012). أما الجينات الورمية الاولية تنشط الخلايا لتدخل في دورة الخلية وتمنع موت الخلايا المبرمج وتمنع التمايز وفي الخلايا السليمة يتم التعبير عنها عند مستويات منخفضة جداً ولا لكن يمكن أن تتسبب التأثيرات البيئية مثل الإشعاع المؤين والأضرار الفيزيائية والمواد الكيميائية في حدوث طفرات جينية في هذه الجينات مما يؤدي إلى تنشيط الجينات الورمية الاولية إلى الجينات الورمية وفي سرطان الكبد يعد الجين الذي يشفر بروتين N-ras أكثر الجينات الورمية الاولية شيوعاً (Chen & Wang, 2015).

بلغ العدد الإجمالي للطفرات الجسدية 190,099 طفرة جسدية عن طريق فحص 1061 عينة من أنسجة سرطان الكبد من ضمنها 3750 طفرة هوائية و 59990 طفرة خطأ و 2465 طفرة في موقع لصق مع 5533 طفرة إدخال / حذف قصير وكان متوسط حدوث الطفرات حوالي 2.11 طفرة لكل مليون قاعدة نيتروجينية (megabase) (Li et al.; 2018). وقد تحدث طفرات في مسار Wnt/ $\beta$ -

catenin بنسبة 40-50% من سرطانات الكبد أما جين *TP53* الذي يحافظ على الجينوم وجد إن هذا الجين يتحور بنسبة 30-40% من سرطانات الكبد وأيضاً هنالك العديد من الجينات التي تتعرض للطفرات أو التحوير وتكون سبباً في حدوث سرطان الكبد مثل الجينات التي تشفر بروتينات التمثيل الغذائي و الجين *TERT* الذي يشفر انزيم telomerase المسؤول عن استطالة التيلومير وكذلك جين RAS الذي يتحكم بنمو الخلايا وتمايزها (Nakagawa *et al.*; 2019).

## 9.2: العلاج Treatment

أصبح علاج سرطان الكبد متعدد التخصصات ويتم اختيار خيارات العلاج بشكل عام على أساس فردي وفقاً للتفاعل المعقد لمرحلة الورم ومدى الإصابة بأمراض الكبد الكامنة فضلاً عن الصحة العامة للمريض (Liu *et al.*; 2015). أما طرق العلاج فهي الإستئصال الجراحي والعلاجات الموضعية أي (الإستئصال بالترددات الراديوية / الميكروويف و الانصمام عبر الشريان والعلاج الإشعاعي) والعلاجات الجهازية مثل (العلاج الكيميائي ومثبطات التيروسين كيناز (TKIs) والعلاج المناعي) وزرع الكبد هي الخيارات المتاحة (Couri & Pillai, 2019). يظل الإستئصال الجراحي الذي يتضمن الإستئصال والزرع هو الخيار العلاجي الوحيد لمعظم أنواع أورام الكبد وقد تم إثبات زراعة الكبد لأول مرة في أوائل الثمانينيات كوسيلة للتخلص المتزامن من ورم الكبد ولكن الحاجة إلى تثبيط المناعة أعاقت استخدامه على نطاق واسع أما اليوم تعد زراعة الكبد متوفرة لعلاج العديد من المرضى المصابين بسرطان الكبد الاولي أو الثانوي (Petrowsky *et al.*; 2020). تم تطوير تقنيات الإستئصال الموضعي المتعددة لعلاج الاورام واعتمادها في الممارسة السريرية و تعتمد كل تقنية على مبدأ عمل مختلف للحث على السمية الخلوية ويعد الإستئصال الموضعي سواء كان بالناظور أو بالترددات الراديوية لأورام الكبد قليلة التوغل ( أي لايتجاوز قطرها 3سم) أفضل من الإستئصال الجراحي وأقل تكلفة (Li *et al.*; 2014). وعلى الرغم من أن الميزات التقنية لاجتثاث الترددات الراديوية والإستئصال بالموجات الدقيقة (الميكروويف) متشابهة إلا إن الاختلافات تنشأ من الظاهرة الفيزيائية المستخدمة لتوليد الحرارة يتمتع الإستئصال بالميكروويف بالعديد من المزايا مقارنة بالترددات الراديوية مما قد يجعله أكثر جاذبية لعلاج أورام الكبد (Izzo *et al.*; 2019). ظهر العلاج الإشعاعي كنهج واعد لبعض المرضى ومع ذلك فإن خطر الإصابة بأمراض الكبد الناجمة عن الإشعاع يظل عاملاً مقيداً لبعض المرضى وبالتالي فإن اكتشاف المؤشرات الحيوية والتحقق من صحتها لقياس

استجابة العلاج والسمية أمراً بالغ الأهمية لإحراز تقدم في تخصيص العلاج الإشعاعي لسرطانات الكبد (Hauth *et al.*; 2022). أما تثبيط ما يسمى بنقاط التفتيش المناعية هو حالياً الدعامة الأساسية للعلاج المناعي للسرطان و تبشر مثل هذه التدخلات بأن تكون فعالة في المرضى الذين يقاومون أو أصبحوا مقاومين لتثبيط نقطة التفتيش المناعية التقليدية فمن المرجح أن يستفيد المرضى الذين لم تتسلل الخلايا المناعية المستجيبة إلى أورامهم مثل الخلايا القاتلة الطبيعية أو الخلايا التائية فبتثبيط نقاط التفتيش المناعية تعزز من تسلل الخلايا المناعية إلى الاورام (Foerster & Galle, 2021). إن حدوث حداث السمية التي تنتجها ادوية العلاج الكيميائي من تطبيقاتها في البيئات السريرية ومن أجل تحسين فعاليتها العلاجية في علاج سرطان الكبد تم استكشاف العديد من أنظمة توصيل الأدوية النانوية إذ يوفر التصوير القائم على الجسيمات النانوية وسائل قيمة لتشخيص سرطان الكبد بدقة وهكذا في السنوات الأخيرة أدى ظهور الطب النانوي إمكانات كبيرة وتقدمًا في تغيير نهج تشخيص وعلاج سرطان الكبد بشكل كبير (Singh *et al.*; 2020).

## 10.2: تقنية النانو Nanotechnology

تعد تقنية النانو مجال بحثي معروف منذ سنين إذ تشير كلمة نانو Nano في اليونانية إلى الشيء الصغير جداً أو القزم (الف مليون من المتر  $10^{-9}$  m) ويختلف علم النانو عن تقنية النانو إذ ان علم النانو هو دراسة الهياكل والجزيئات على المقياس النانو متري أي من 1 إلى 100 نانومتر أما تقنيّة النانو هي الاجهزة المستخدمة في التطبيقات العمليّة (Bayda *et al.*; 2019). ومنذ أن تم تقديم "تقنية النانو" من قبل الحائز على جائزة نوبل ريتشارد فاينمان خلال محاضراته الشهيرة عام 1959 "هناك مساحة كبيرة في الاسفل" ويقصد بها الجزيئات النانوية، أحدثت تطورات ثورية مختلفة في مجال تكنولوجيا النانو إذ أدركت أهمية هذه المواد عندما وجد الباحثون أن الحجم يمكن أن يؤثر على الخصائص الفيزيوكيميائية لمادة ما (Khan *et al.*; 2019).

إن تصغير حجوم المواد إلى أقل من 100 نانومتر تعطي تخصص عالي على المستوى الخلوي واعطت جودة ملحوظة من التقدم التكنولوجي بسبب خصائصها الفريدة ادى إلى دخولها بحزم في مجال التطبيق بشكل واسع وتستخدم المعادن النانوية في مجالات مختلفة مثل البيئة والطب والهندسة تعتمد على نوع طريقة التصنيع الفيزيائية و الكيميائية والتخليق الاخضر، إن أول طريقتين قد تكون لها آثار غير مقصودة مثل التلوث البيئي والاستهلاك الكبير للطاقة أو قد تؤدي إلى أمراض محتملة

للإنسان مثل السرطان بسبب استخدام مواد خطرة مثل المذيبات العضوية (Gupta & Xie, 2018). أما الطريقة التخليق الخضراء للمواد النانوية فهي أكثر الطرق فائدة وأمان وأقل تكلفة فهو يقلل من التلوث واستهلاك الطاقة ويحسن سلامة البيئة وصحة الإنسان (Ying *et al.*; 2022). تمت الإشارة في الكثير من الدراسات إلى استخدام معادن مختلفة كالذهب والفضة والرصاص واوكسيد الزنك والحديد والنحاس وغيرها في التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية مع احياء (بدائية أو حقيقية النواة) أو مستخلصات نباتية اعتمادا على مركبات التمثيل الغذائية او الانشطة الانزيمية والقدرة على الاختزال الحيوي للمعادن مما يؤدي إلى تخليق الجسيمات النانوية (Zhang *et al.*; 2020b).

### 1.10.2: التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية من المستخلصات النباتية Biosynthesis of nanoparticles from plant extracts

لتطوير جزيئات نانوية آمنة وصديقة للبيئة تم استخدام المستخلصات النباتية إذ تعرف النباتات بأنها المصانع الكيميائية الطبيعية التي تتسم بالكفاءة من إذ الكلفة والفعالية وتحتاج القليل من الصيانة فقد كشفت النباتات عن إمكانات بارزة في ازالة السموم وتراكم الملوثات في البيئة وتتميز عملية التصنيع الجسيمات النانوية من النباتات بسهولة تصنيعها بينما تصنيعها من كائنات حية أخرى تتطلب تنميتها في وسط معين لمدة معينة مع ظروف معينة (Shahid *et al.*; 2017). كذلك هي غير مسببة للأمراض مقارنة بالميكروبات ويتم معرفة مساراتها الحيوية بدقة أما الجسيمات الناتجة فتمتاز باستقراريتها العالية (Zhang *et al.*; 2020b). ولتخليق جزيئات نانوية يمكن أخذ جزء من النبات وغسله بالماء المقطر ثم تركه ليحفظ بدرجة حرارة الغرفة واستعماله بإضافته إلى أحد املاح المعادن المستخدمة لتخليق الجسيمات النانوية (Wang *et al.*; 2019). وأشارت دراسة إلى إن المستخلصات النباتية تخفف من ايونات المعادن وذلك لأنها تحتوي على جزيئات وظيفية مثل الفينول والتربينويدات والكيثونات والأحماض الكربوكسيلية والالديهيدات والانزيمات والاميد والفلافونويد (Prabhu & Poulouse, 2012). تؤدي هذه المواد الكيميائية الطبيعية أدوارًا مهمة في تثبيت الجسيمات النانوية المعدنية المركبة و حتى الآن تم تصنيع الجسيمات النانوية من الفضة والذهب والزنك والعديد من المعادن الأخرى بنجاح باستخدام النباتات (Hu & Xianyu, 2021).

يعد الزنك (Zn) وأكسيده (ZnO) من أكثر المواد المعدنية النانوية إثارة للاهتمام فهو عنصر نشط إلى حد ما وفي نفس الوقت عامل اختزال قوي يمكن أن يتأكسد بسهولة مكونًا أكسيد الزنك ، وهو

مفيد جداً في تحضير جزيئات أكسيد الزنك النانوية ويؤدي الزنك دوراً مهماً في الكائنات الحية البشرية باعتباره أحد العناصر الدقيقة الأساسية فهو موجود في جميع أنسجة الجسم (Król *et al.*; 2017). فقد استخدمت جسيمات اوكسيد الزنك نانوية باستخدام مستخلصات نباتية لأجزاء مختلفة من النبات مثل الأوراق والسيقان والبذور والجنور والأزهار، إذ تتفاعل أيونات الزنك مع المركبات النشطة مثل البروتينات الموجودة في المستخلص مما يؤدي إلى تكوين مركب الزنك فضلاً عن ذلك تؤدي الوصلات المرنة للجزيئات والبروتينات النشطة إلى تخليق جسيمات نانوية كروية مستقرة (Ahmadi & Shadmehri & Namvar, 2020). ويوفر التصنيع الأخضر لجسيمات اوكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) باستخدام المستخلصات النباتية بديلاً واعدًا وصديقاً للبيئة ومن المتوقع أن يكون لها تطبيقات في العلاج الحيوي وتوصيل الأدوية والمجالات الطبية الأخرى (Agarwal *et al.*; 2019).

### 2.10.2: تطبيقات الجسيمات النانوية في المجال الاحيائي

#### Applications of nanoparticles in the biological field

توجد مجالات واسعة النطاق لتطبيقات علم النانو في المجال الإحيائي وقد تم دمجها في الوقت الحاضر بعدة طرق مفيدة كالهندسة الوراثية والتي تعتمد على أساس اضافة جين أو حذفه أو تعديله للقضاء على الخصائص أو الصفات الغير مرغوب فيها أو الارتباط بالأمراض أو لتعزيز الصفات المرغوبة (Qiu *et al.*; 2021). من تطبيقات الجسيمات النانوية هي توصيل الادوية لأنها ذات دقة عالية في التوصيل إذ يمكنها التغلغل ضمن الحواجز بسهولة وهي بذلك تساهم في توصيل الادوية إلى الخلايا المريضة وهنا يمكن تقليل أو حتى تزيل الآثار الجانبية على الأنسجة السليمة، وللنانو أيضاً تطبيقات في علم الأعصاب والوراثة وغيرها (Mitchell *et al.*; 2021). وفي العقود القليلة الماضية ظهرت أجهزة نانوية لتقييم وعلاج الأمراض المختلفة عن طريق أخذ العينات وإطلاق الدواء في خلايا وأنسجة الجسم (Sheng *et al.*; 2021).

من تطبيقات تكنولوجيا النانو التي تؤثر على جوانب مختلفة من حياة الإنسان مثل تطبيقات في مجال صناعة الاغذية وتطبيقات في مجال معالجة المياه ومجال حفظ الطاقة والتطبيقات في مجال الكهرباء الضوئية وصناعة الإلكترونيات وقد تم استخدام المواد النانوية من أكسيد الزنك لإنتاج نظارات واقية من الشمس لتعزيز كفاءة وعمر الزجاج القياسي (Nasrollahzadeh *et al.*; 2019).

## 11.2: نبات الخرفيش *Silybum marianum*

نبات الخرفيش *Silybum marianum* هو نبات عشبي شوكي بري يتواجد في مناطق البحر المتوسط وكذلك في قارة آسيا وقد تم زراعته في جنوب وغرب أوروبا وأمريكا الجنوبية وأمريكا الشمالية في شرق الولايات المتحدة الأمريكية وكاليفورنيا، وهو من النباتات الحولية أو ثنائية الحول التي يبلغ ارتفاعها من خمسة إلى عشرة أقدام ، صلبة ، خضراء ، أوراقها لامعة ذات حواف شوكية وخطوط بيضاء على طول الأوردة، و تكون رؤوس الأزهار المنفردة ذات لون أرجواني محمر وتنتهي الورقة في أشواك حادة ، الثمرة الصلبة الصغيرة في الأزهار ، والمعروفة تقنيًا باسم الاوجين (Zonoubi et al.; 2019). وكما موضح بالشكل (4-2)



الشكل (4-2) يوضح المظهر العام لنبات الخرفيش (Zonoubi et al.; 2019).

## 12.2: تصنيف وتسمية النبات Plant classification and naming

يعد نبات الخرفيش من النباتات الطبية المهمة والتي تنتمي إلى العائلة النجمية Asteraceae والجنس يحتوي على نوعين هما *Silybum marianum* و *Silybum eburneum* ذات أوراق

متنوعة بعضها يحمل أزهار ارجوانية والبعض الآخر أزهار بيضاء ولا يوجد اختلاف وراثي بين النوعين عدا الاختلاف في الشكل الخارجي (Qavami et al.; 2013).

Domain: Eukaryota,

Kingdom: Plantae,

Subkingdom: Viridiaeplantae

Phylum: Tracheophyta,

Subphylum: Euphyllophytina,

Infraphylum: Radiatopses,

Class: Magnoliopsida,

Subclass: Asteridae,

Superorder: Asteranae,

Order: Asterales,

Family: Asteraceae,

Genus: *Silybum*,

Species: *Marianum*,

Botanical name: *Silybum marianum*,

Synonyms: *Carduus marianus* L.

(Porwal et al.; 2019).

يمتلك نبات الخرفيش أسماء شائعة عديدة يُعرف باسم شوك الحليب وشوك الحليب المبارك و الشوك البكر المبارك و تاج المسيح و شفاء الشوك و الشوك المقدس و الشوك المريمي و شوك سانت ماري و شوك القديسة مريم و شوك سيدتنا وزرع الشوك و الشوك المتنوع وشوك الحليب المتوسطي والخرشوف او الخرشوف البري (Eita, 2021). وله أسماء مختلفة حسب الدول مثلاً يسمى بالهولندية (فروينديستل) وبألمانيا (جيمين مارنديستل) وبالإسبانية (كاردو أسنال) وبالفرنسية (شاردون أرجنت) وبالبرتغالية (كاردو ليتيرو) و بإيطاليا (كاردو ماريانو) وبالسويد (ماريا تستل) وباللغوية (سايليون) وفي مالطا (الشوك المبارك) وبالرومانية: (أرموراريو) وبالروسية (أوستروبيسترو) وبالسويدية (سيمبيرتين) (Porwal et al.; 2019).

### 13.2: تاريخ النبات وانتشاره Plant history and spread

يعود أصل شوك الحليب إلى حوض البحر الأبيض المتوسط داخل منطقة واسعة تمتد من جنوب أوروبا إلى آسيا الصغرى وشمال إفريقيا على الرغم من تجنيسه أيضاً في قارات أخرى، ويُعرف منذ فترة طويلة بأنه من الأنواع المفيدة فقد أثبتت المسوحات الأثرية منذ العصر الحجري الحديث في بيئة البحر الأبيض المتوسط استخدام بذور شوك الحليب للأغراض الطبية منذ أكثر من 2000 عام ومعظمها لعلاج أمراض الكبد (Marceddu *et al.*; 2022). وكان عدد قليل من الأشخاص الأكثر دقة في استخدام الخرفيش والكتابة عنه هم أطباء وأخصائيو الأعشاب اليونانيون والرومانيون القدماء وكان لكل منهم لقبه الخاص بالعشب فقد سماه ديوسكوريدس (silybon) وأطلق عليها بليني الأكبر اسم (silybum) وسماه عليها ثيوفراستوس (pternix) و أحد أفضل علماء النبات المعروفين في ذلك الوقت هو جون جيرارد اوصى بالخرفيش لطرد الكآبة وكذلك الالتهابات (Zonoubi *et al.*; 2019). ووجد نبات الخرفيش في العصر الروماني في صقلية ثم نشره العرب لاحقاً في جميع أنحاء حوض البحر الأبيض المتوسط الغربي كإيطاليا وإسبانيا وشمال اليونان (Mattalia *et al.*; 2020).

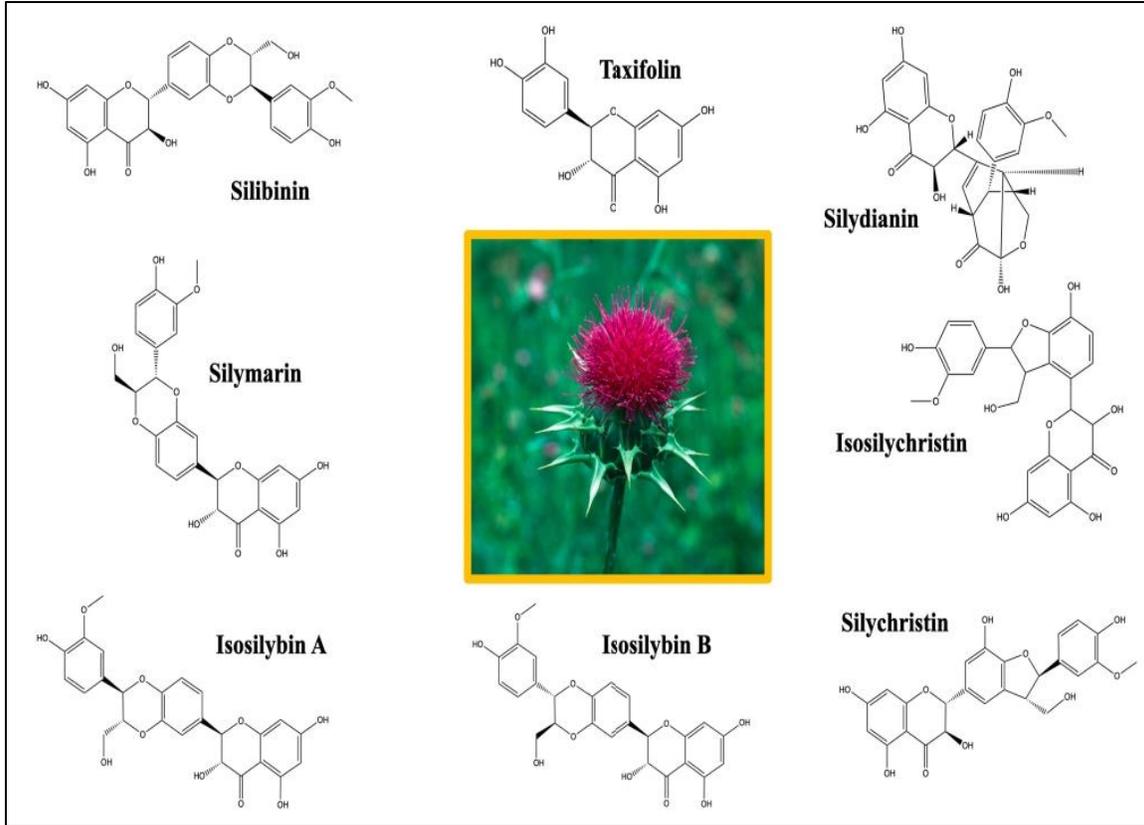
يتكيف الخرفيش مع الظروف المناخية المختلفة فيمكن زراعته في المناخات الشمالية وكذلك في الظروف الجنوبية والجافة لأنه قوي وقابل للتكيف وقد وجد إن أعلى محتوى من سيلبين وهو المكون الرئيسي للسيليمارين يوجد في النباتات من المناخات شبه الاستوائية وذات درجات الحرارة العالية لأن درجات الحرارة المرتفعة يبدو أنها تعزز تراكم هذا المركب وأيضاً ينمو الخرفيش في أنواع التربة المختلفة وخاصة الغنية بالنيتروجين (Shah *et al.*; 2020). ويُزرع نبات الخرفيش في أوروبا وخاصة في بولندا، وكذلك يُزرع بشكل أساسي في التربة الصخرية الجافة في البلدان الأوروبية وأستراليا وكندا والصين وأمريكا الشمالية والجنوبية كنبات طبي (Hammami *et al.*; 2020). وقد تم نقل النبات إلى أمريكا الشمالية من قبل المستعمرين الأوروبيين خلال القرن التاسع عشر وهو الآن متجنس في الولايات المتحدة وأمريكا الجنوبية (Porwal *et al.*; 2019). في العراق ينمو جنس *Silybum marianum* (L.) في إقليم كردستان بشكل واسع وطبيعي وينمو بشكل أقل في وسط وجنوب العراق هذا بسبب الجفاف السائد في معظم مناطق العراق بسبب قلة الأمطار لعدة سنوات متتالية وقد انتشرت ثقافة استخدامه في العراق كدواء لعلاج الكثير من الأمراض وأيضاً يستخدمه البعض الآخر كغذاء (Al-Dulaimi, 2022).

## 14.2: التركيب الكيميائي والمركبات الفعالة في النبات

## Chemical composition and active compounds in the plant

يحتوي نبات الخرفيش على العديد من المركبات الكيميائية النشطة بايولوجياً والتي تستخدم كمكملات غذائية أو كدواء لعلاج الأمراض المختلفة وبشكل خاص أمراض الكبد والتي تتواجد في أجزاء مختلفة من النبات كالأوراق والسيقان والبذور فقد يحتوي على الكربوهيدرات والدهون والبروتينات والفيتامينات والأملاح المعدنية (Denev *et al.*; 2020). ويحتوي النبات على المواد الكيميائية الحيوية والتي غالباً ما يشار إليها باسم نواتج الايض الثانوية التي تكون مفيدة لنظام الطب التقليدي وهذه المواد الكيميائية الحيوية تشمل القلويدات ، الفلافونويد ، التانينات ، الفينول و جليكوسيدات و الأنتراكينونات وغيرها من المركبات الأخرى (Padma *et al.*; 2019). ومن أهم المركبات الفعالة الموجودة في نبات الخرفيش والذي يعزى إليها الأهمية الطبية للنبات في علاج الأمراض هي مجموعة (flavonolignans) والتي تعرف مجتمعة بإسم السلمارين (silymarin) إذ يوجد في جميع أجزاء النبات ولكن بنسب متفاوتة (Khazaei *et al.*; 2022). وتنطوي تحت السلمارين العديد من المركبات مثل سيلبين A و B وسيلبينين A و B وسيليكريستين وسيليديانين وأبيجينين وديهيدروسيلبين وديوكسي سيلينكريستين وديوكسي سيليديانين وغيرها و تشمل الفلافونوليجنان الأخرى الموجودة في مستخلص هذا النبات السيلاندرين ، سايلينوم ، سايليهيرمين ، و المايرستك و البالمك والأحماض الدهنية والتي قد يكون لها خصائص واقية للكبد فضلاً عن ذلك تحتوي بذور النبات المجففة على ما يصل إلى 20٪ زيت بدون خصائص طبية (Bahmani *et al.*; 2015). يحتوي نبات الخرفيش على كميات كبيرة نسبياً (حوالي 20-25٪) من وزن الزيوت الدهنية التي تتكون من الدهون الفوسفورية الأساسية ذات المحتوى العالي من الأحماض الدهنية غير المشبعة مثل أحماض الأوليك واللينوليك وفيتامين E وفقاً لذلك تمتلك دهون الفاكهة الخرفيش قيمة غذائية عالية وفضلاً عن تكوين الأحماض الدهنية للبذور فقد احتل حامض اللينوليك أعلى نسبة مئوية (60٪) يليه حامض الأوليك (21٪) وحامض البالمتيك (13٪) ومع ذلك يعد الزيت منتجاً ثانوياً غير مرغوب فيه لإنتاج السيليمارين ويجب إزالته من الفاكهة قبل استخراج السيليمارين (AbouZid *et al.*; 2016). يمكن أن يتم استخراج المواد الخام من النبات باستخدام كل من الطرق الكلاسيكية والمتطورة حديثاً ويُعد الاستخلاص بالسوكسليت ( Soxhlet ) أسلوباً قياسيًّا مستخدماً لعقود من الزمن ويتم تطبيقه بشكل متكرر كمرجع لتقييم فعالية الطرق الأخرى و يعد فعالاً ولكن من عيوبه هي استهلاك المذيبات

الكبير نسبياً ووقت الاستخراج الطويل إلى حد ما ويمكن أن تؤثر طريقة الاستخلاص والمذيب المستخدم و قطبيته على وجه الخصوص على فعالية استخلاص المواد الفعالة من النباتات ( Nowak *et al.*; 2021). والشكل (2-5) يوضح التركيب الكيميائي لبعض المركبات الفعالة الموجودة في نبات الخرفيش.



الشكل (2-5) المركبات الفعالة الرئيسية لنبات الخرفيش وتركيبها الكيميائي (Marmouzi *et al.*; 2021).

## 15.2: الأهمية الطبية لنبات الخرفيش

### The medicinal importance of the *silybum marianum*

تعود دراسة الأعشاب إلى السومريين لأكثر من 5000 عام و الذين وصفوا الاستعمالات الطبية الراسخة للنباتات وكذلك المصريون القدماء والصينيون وتم إحياء نظام طب الأعشاب منذ ذلك الوقت عن طريق الممارسة اليومية لتأثيره العلاجي طويل الأمد وسهولة التوفر والطريقة الطبيعية للشفاء وقلة الآثار الجانبية (Abou Seif, 2016). ويعد الخرفيش من الأعشاب التي تتنوع خصائصها الطبية

فقد استخدم هذا النبات لعدة قرون كعلاج طبيعي لأمراض الجهاز الهضمي والقناة الصفراوية فقد تحتوي بذور الخرفيش على البيتين وهوبروتين وقائي للكبد، كما تحمي بذور الخرفيش الخلايا الكبدية من أنواع مختلفة من السموم بما في ذلك الأسيتامينوفين والإيثانول ورباعي كلوريد الكربون والآليات التي توفرها حبيبات الخرفيش تنتج تأثيرات كبدية خاصة بها بما في ذلك مضادات الأكسدة وإزالة السموم (Abbaszadeh *et al.*; 2018). كذلك استخدم الخرفيش لأكثر من 2000 عام في اليونان القديمة وأوصى الأطباء بشرب الخرفيش كعلاج للدغات الأفاعي وفي القرن السادس عشر ذكر المعالج الإنكليزي جون جيرارد شوك الحليب كعشب مضاد للاكتئاب في كتابه "تشریح النباتات" وفي القرن السابع عشر ادعى الطبيب والعشاب نيكولاس كولبير أن الخرفيش يمكن أن يساعد الكبد عن طريق فتح انسداد القنوات الصفراوية ويمنع تراكم الصفراء في الكبد وتطور اليرقان بسبب زيادة مستوى البيليروبين في الدم (Mehrandish *et al.*; 2019). ويعد سيليمارين المكون النشط لهذا النبات وله مجموعة واسعة من التأثيرات البيولوجية والدوائية بما في ذلك نشاط مضادات الأكسدة و يحفز سيليمارين تخليق البروتين وتجديد خلايا الكبد مما يجعله مفيداً في علاج تلف الكبد السام والالتهابات المزمنة وأمراض الكبد وتليف الكبد و يُقال أيضاً إنه يمارس نشاطاً مضاداً للسرطان ضد بعض خطوط الخلايا السرطانية البشرية (Gad *et al.*; 2020). كما أن سيليمارين يحمي الخلايا العصبية الدوبامينية من السمية العصبية التي تسببها السكريات المتعددة الدهنية عن طريق تثبيط نشاط الخلايا الدبقية الصغيرة وكذلك يثبط إنتاج الوسائط الالتهابية مثل عامل نخر الورم الفا وأكسيد النيتريك وبهذه الطريقة يقلل من تلف الخلايا العصبية الدوبامينية المحفز بالسكريات المتعددة الدهنية وكذلك السيليمارين له تأثير قوي مضاد للالتهابات عن طريق تثبيط انزيمات الأكسدة الحلقية 2 والبروستاغلاندين E2 والسينوكينات الالتهابية (Esmaeil *et al.*; 2017). ومن الخصائص الطبية للسيليمارين ومكونه الأساسي سيليبينين إنه يعالج مرض الزهايمر ومرض باركنسون والإنتان والحروق وهشاشة العظام والسكري والركود الصفراوي وفرط كوليسترول الدم ونظراً لتأثيره الغير سام للخلايا فهو يمتلك تطبيقات محتملة في علاج مختلف أنواع السرطان ويعد أيضاً عاملاً وقائياً للأعصاب والكلى والقلب فضلاً عن ذلك فهو يحمي الجنين (Milić *et al.*; 2013). وقد يرافق تناول الجرعات العالية ( $\leq 1500$  مجم / يوم) من مستخلصات نبات الخرفيش بعض الاعراض الجانبية الخفيفة المتمثلة بعسر الهضم والألم الشرسوفي وانتفاخ البطن والغثيان والبراز غير المنتظم ويلاحظ أيضاً الصداع والأعراض الجلدية ولوحظت تفاعلات تحسسية خفيفة (حكة ، شرى ، ألم مفصلي)

ولكنها لا تستمر طويلاً (Bhattacharya, 2020). وسنتطرق إلى بعض الخصائص الطبية لنبات الخرفيش بشيء من التفصيل وهي كما يلي :

### 1.15.2: التأثير المضاد للسرطان Anti-cancer effect

يعد نبات الخرفيش من النباتات التي تحوي مركبات فعالة ذات نشاط مضاد لأنواع مختلفة من السرطان التي تصيب جسم الإنسان مثل سرطان الجلد والبروستاتا والقولون والمستقيم فضلاً عن سرطان الكبد وقد يكون هذا النشاط وقائياً أو علاجياً (Emadi *et al.*; 2022). وقد ثبت أن سيليمارين يحمي الكبد في كل من النماذج التجريبية والدراسات السريرية وأظهر النشاط الوقائي الكيميائي للسيليمارين بعض الفعالية ضد السرطان في المختبر وفي الجسم الحي و يمكن أن يعدل سيليمارين موت الخلايا المبرمج عن طريق التدخل في التعبير عن منظمات دورة الخلية والبروتينات المرتبطة بالاستماتة، فضلاً عن نشاطه المضاد للنفائل (Fallah *et al.*; 2021). وفي دراسة اجراها Won وجماعته (2018) لتقييم تأثير السلمارين المضاد لسرطان الفم إذ وجد إن سيليمارين ثبط من تكاثر خلايا سرطان الفم ويعزز موت الخلايا المبرمج المعتمد على انزيمات الكاسباز (Caspase) وأشارت الدراسة إلى إن مستقبل الموت المبرمج 5 قد يكون السبب الرئيسي في موت الخلايا المبرمج الناجم عن سيليمارين و زاد سيليمارين من caspase-8 المشقوق مما أدى إلى تراكم السيروتوكروم C فضلاً عن ذلك إن سيليمارين قد قمع نمو الورم وحجمه دون أي سمية كبدية اوكلوية في الجسم الحي. أما الجانب الوقائي للنبات المضاد لسرطان الكبد فقد اثبتت دراسة Tag وجماعته (2019) إن السلمارين الموجود بالنبات غني بمركبات الفينول والتي لها القدرة على تحفيز تجديد خلايا الكبد وتثبيت غشاء الخلية والتي كان لها دور رئيسي في منع العوامل السامة للكبد من دخول خلايا الكبد وأشارت الدراسة نفسها إلى إن لنبات الخرفيش أهمية كبيرة للوقاية من سرطان الكبد ودور علاجي فعال في التخفيف من سرطان الخلايا الكبدية المستحث.

### 2.15.2: التأثير المضاد للاكسدة Antioxidant effect

يمتلك النبات نشاط مضاد للأكسدة ففي دراسة اجراها Lucini وجماعته (2016) للكشف عن المركبات الكيميائية النباتية ومضادات الأكسدة لخمس عشرة نوعاً وراثياً مختلفاً من الخرفيش عن طريق قياس محتوى الفينولات الكلي والفلافونويد والفلافونول فضلاً عن القدرة المضادة للأكسدة وجد

إن النبات يحتوي على مضادات أكسدة بنسب متفاوتة حسب الطراز الجيني وقد ارتبطت قدرة مضادات الأكسدة بشكل أساسي مع الفينولات والفلافونويدات الكلية. وفي دراسة أخرى لتقييم الفعالية الوقائية لزيت بذور الخرفيش ضد الإصابة برباعي كلوريد الكربون اثبتت الدراسة نجاح زيت بذور الخرفيش في منع الإجهاد التأكسدي واستعادة المعلمات البيوكيميائية والبنية الكبدية وأشارت النتائج إلى أن النبات كان فعالاً في مواجهة الآثار الضارة للإصابة الناجمة عن  $CCl_4$  في خلايا الكبد ربما بسبب خصائصه المضادة للأكسدة المتأصلة (Hermenean *et al.*; 2015). وأيضاً أظهر السيليمارين المستخلص من النبات قدرة مضادة للأكسدة أعلى بكثير من خليط الفلافونويد / الفلافونوليجنان المحضر صناعياً وأيضاً وجود عشرات المركبات غير السيليمارين ذات النشاط المضاد للأكسدة في كل مستخلصات نبات الخرفيش (Viktorova *et al.*; 2019).

### 3.15.2: التأثير المضاد للميكروبات Antimicrobial effect

يمتلك النبات نشاط مضاد للميكروبات فقد اكدت دراسة Doğan وجماعته (2022) إن الزيوت العطرية الموجودة في بذور النبات أدت إلى تثبيط نمو البكتيريا الموجبة لصبغة اكرام (*Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis*) والسالبة لصبغة اكرام (*Escherichia coli* و *Streptococcus sp.*) وأظهرت الزيوت أيضاً نشاطاً مبيداً للفطريات ضد *Candida tropicalis* و *Candida glabrata*. وفي دراسة أخرى وجدت إن للسيليبينين نشاطاً كبيراً ضد الإشريكية القولونية وأظهرت نتائج النشاط المضاد للفطريات لسيليمارين والسيليبينين لجميع السلالات المدروسة وبينت أن سيليمارين وسيليبينين لهما إمكانات واعدة إذ يظهران خصائص تآزرية عند دمجها مع الأدوية المضادة للبكتيريا (Rakelly de Oliveira *et al.*; 2015). فضلاً إلى النشاط المضاد للبكتيريا إذ اشارت دراسة Evren & Yurtcu (2015) إلى إن سيليمارين أظهر نشاطاً مضاداً للاتصاق ضد السلالة المكونة للغشاء الحيوي إذ يتضمن تكوين الأغشية الحيوية الرقيقة خطوات متعددة، الخطوة الاولى والأكثر أهمية هي الالتصاق او الالتصاق بسطح حيوي او غير حيوي والتي تُعزى الطبيعة المزمنة للعديد من الأمراض المعدية إلى تكوين الأغشية الحيوية البكتيرية والتي تمكنها من مقاومة المضادات الحيوية. وأيضاً إن المركبات الفعالة في النبات لها تأثير مبيد للجراثيم ويمكن أن يساهم في التحكم في الاستجابة المناعية وتأسيسها ضد العدوى بـ *Mycobacterium tuberculosis* عن طريق تحفيز الخلايا التائية المساعدة على إنتاج السيتوكينات مثل كما انتفيريون

وعامل النخر الورمي الفا وانترلوكين 12 وبالتالي فإن النبات يقدم إمكانات واعدة كعلاج مساعد في علاج مرض السل (Rodríguez-Flores *et al.*; 2019).

أما فيما يخص الفيروسات فأشارت دراسة إلى إن للسليمارين ومشتقاته نشاطاً قوياً مضاداً للفيروسات بما في ذلك فايروس التهاب الكبد C و فايروس التهاب الكبد B وفيروس حمى الضنك و عائلة الفيروسات المعوية و فايروس Mayaro و فايروس شيكونغونيا (Antika & Dewi, 2021).

المواد وطرائق العمل

**MATERIALS and**

**METHODS**

أجريت التجربة في البيت الحيواني التابع لكلية التربية للعلوم الصرفة للفترة من 2022/3/1 إلى 2022/7/1.

### 1.3. الأجهزة والمواد والادوات المستعملة

#### 1.1.3. الأجهزة المستعملة

الجدول (1-3) الأجهزة المستخدمة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ.

المنشأ Origin	الشركة Company	الأجهزة Devices	ت
فرنسا	Concord	Refrigerator ثلاجة	1
كوريا	Daihan Labtech	جهاز السكسوليت Sexhlet apparatus	2
المانيا	Hermile	جهاز الطرد المركزي Centerfuge	3
يابان	Apple 203	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer	4
ايطاليا	Histo-Line Lab. Mod.MRS 3500	جهاز المشراح الدوار Rotary microtome	5
بريطانيا	Clever scientific	جهاز قياس تألق بالأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet radiation device	6
امريكا	Chicago surgical	حمام مائي water bath	8
الهند	Glassco	خلاط Blender	9
الهند	Sartorius	صفيحة ساخنة Hot plate	10
كوريا	Daihan- lab.Tech	فرن Oven	11
كندا	Bio Basic	ماصة pipette	12
المانيا	Hermile	طاحونة Blender	13
يابان	PMPHD 60 f	كاميرا رقمية Digital Camera	14
المانيا	Human scope	مجهر ضوئي مركب Compound microscope	15
الصين	SGS	ميزان balance	16

المانيا	Sartorius	Sensitive balance ميزان حساس	17
اليابان	National	محرك مغناطيسي Magnatic stirrer	18
ايطاليا	PEAK	حاضنة هزازة shaker incubate	19

2.1.3: الأدوات المستعملة :

جدول (2-3) الأدوات المستعملة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ

المنشأ Origin	الشركة Company	الادوات Tools	ت
امريكا	Oxford	أداة تجريع Gavage	1
الاردن	AFCO-Dispo	أنابيب بلاستيكية حاوية على مادة مانعة للتخثر EDTA tube	2
الصين	Mheco	أنابيب شعرية Capillary tubes	3
الصين	Sail Brand	أوراق ترشيح Filter paper	4
انكلترا	Volac	زجاجيات مختلفة Pyrex	5
باكستان	S.I.E.	سيت تشريح Anatomy set	6
الصين	Sail Brand	شراح زجاجية Slides	7
الصين	Sail Brand	اغطية شرائح زجاجية cover slides	8
تركيا	Kardelen Hidrophile Pamuk	قطن طبي Medical cotton	9
الاردن	AFCO-Dispo	انابيب خالية من EDTA Gel tube	10
مصر	Enteplin	محاقن طبية Disposable syringes	11
صيني	Lab-Tech	انابيب حفظ الامصال Eppendorf Tubes	12

## 3.1.3: المواد الكيميائية المستعملة:

جدول (3-3) المواد الكيميائية المستعملة تبعاً لاسم الشركة والمنشأ.

المنشأ Origin	الشركة Company	المواد Materials	ت
كندا	Santa Cruz Biotechnology	Thioacetamide	1
اسبانيا	Scharlau	ايثانول 96% Ethanol	2
انكلترا	BDH	Trichlor acetic acid	3
انكلترا	BDH	Thiobarbituric acid(TBA)	4
اسبانيا	Scharlau	زايلين Xylene	5
ايطاليا	Histo-Line OWax Lab	شمع البارافين Paraffin Wax	6
انكلترا	BDH	ملون الايوسين Eosin Stain	7
انكلترا	BDH	ملون هيماتوكسيلين Hemotoxyline Stain	8
اسبانيا	Biosystems	عدة فحص الالبومين (Albumin)	9
فرنسا	Biolabosa	عدة فحص البروتين الكلي Total Protein	10
المانيا	Spectrum	عدة فحص المألون دياليهايد MDA	11
فرنسا	Biomerieux	عدة فحص الكلوتاثيون GSH	12
فرنسا	Biomerieux	عدة فحص السوبر اوكسيديز SOD	13
فرنسا	Biomerieux	عدة فحص انزيم ALP	14
بريطانيا	Randox	عدة فحص انزيم ALT	15
بريطانيا	Randox	عدة فحص انزيم AST	16
العراق	Iraqi co.	فورمالين Formalin	17
امريكا	Laboratory reagent	اوكسيد الزنك النانوي	18
الهند	Himedia Lab. Pvt. Ltd.	كلوروفورم Chloroform	19
الهند	Himedia Lab. Pvt. Ltd	مادة DPX	20

## 2.3: طرائق العمل Methods

## 1.2.3. الحيوانات المستعملة في الدراسة:

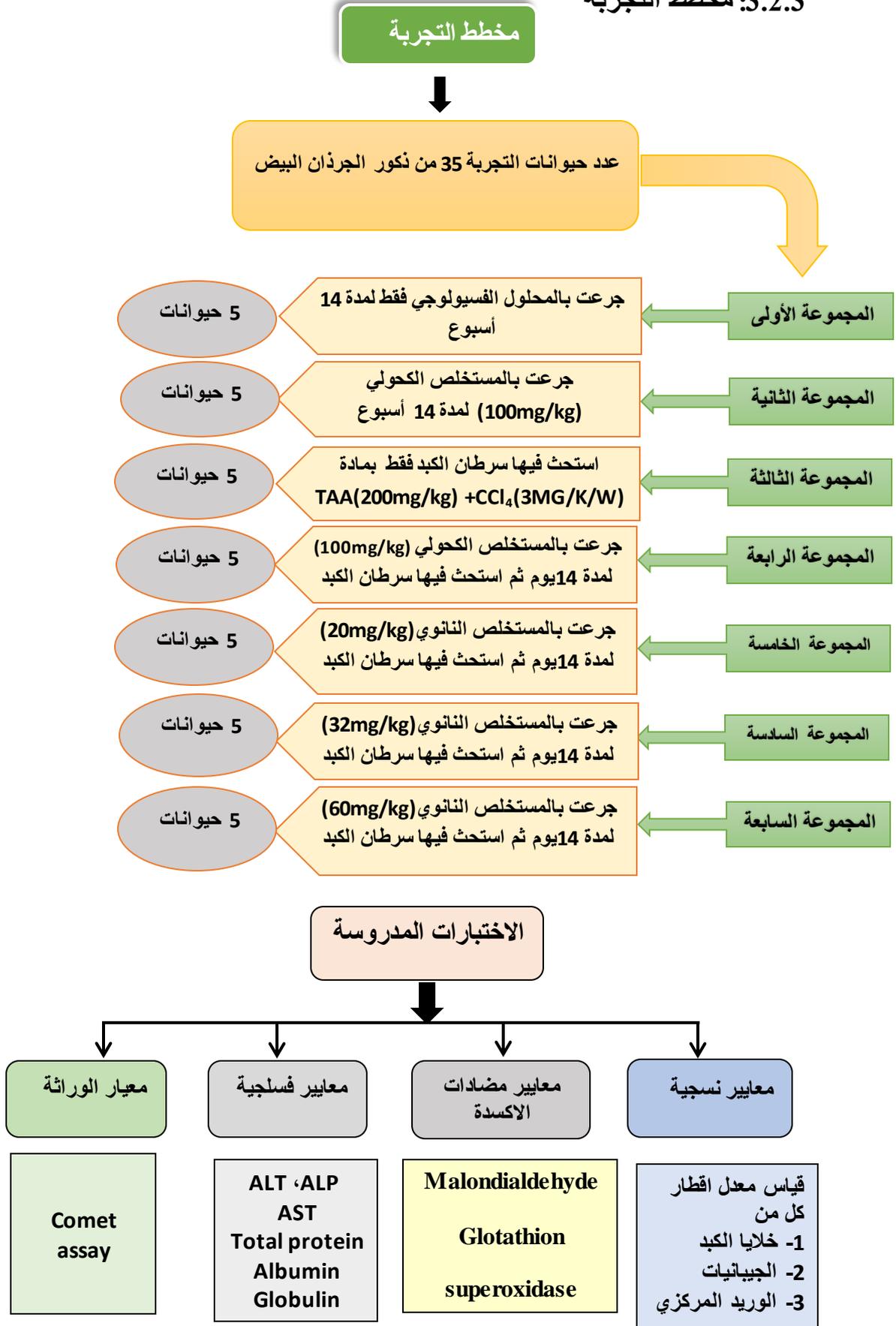
استخدمت في هذه الدراسة ذكور الجرذ الأبيض المختبرية *Rattus rattus* والبالغ عددها (35) جرذاً تراوحت اوزانها من 200-250 غرام وأعمارها (10-12 اسبوعاً) والتي جلبت من البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة – جامعة كربلاء ، للفترة من 2022/3/1 ولغاية 2022/7/1 ، ووضعت في أقفاص بلاستيكية ذات أغطية معدنية مخصصة لتربية الجرذان وفرشت أرضية الأقفاص بنشارة الخشب مع مراعاة تبديلها من حين إلى آخر إذ تم توفير الماء والغذاء المكون من العليقة الحيوانية *ad libitum* وهي عبارة عن علف يتم شراؤه من الأسواق المحلية ، تحت ظروف تهوية مناسبة ودرجة حرارة (25) درجة مئوية واعتمدت مدة الإضاءة 12 ساعة ومدة الظلام 12 ساعة وتركت الحيوانات لمدة أسبوعين للتأقلم قبل بدء التجربة .

## 2.2.3. تصميم التجربة :

قسمت حيوانات التجربة عشوائياً إلى سبع مجاميع وبواقع 5 حيوانات لكل مجموعة وعلى النحو التالي :

- 1- المجموعة الاولى : مجموعة السيطرة تعطى فقط normal saline (0.9 % NaCl) لمدة 14 اسبوع
- 2- المجموعة الثانية: تعد سيطرة سالبة فقط تأخذ المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش (100 mg/kg) لمدة 14 اسبوع (Balamurugan *et al.*; 2021)
- 3- المجموعة الثالثة: مجموعة الاصابة تحقق بمادة (TAA Thioacetamide بجرعة 200 mg/kg) تنوب بماء مقطر وتعطى لمدة اسبوعين بعدها تحقق بمادة  $CCL_4$  بمقدار (3mg/kg/week) لمدة 12 أسبوع لاستحداث السرطان.
- 4- المجموعة الرابعة : المجموعة الوقاية الأولى تجرع بالمستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش (100 mg/kg) لمدة اسبوعين بعدها تعطى المزيج TAA+CCl4 حتى نهاية التجربة وهي 14 أسبوع ويستمر إعطاء المستخلص الكحولي .
- 5- المجموعة الخامسة : المجموعة الوقاية الثانية تجرع بالمستخلص النانوي لبذور نبات الخرفيش (20 mg/kg) لمدة اسبوعين بعدها تعطى المزيج TAA+CCl4 حتى نهاية التجربة وهي 14 اسبوع ويستمر إعطاء المستخلص النانوي.
- 6- المجموعة السادسة : المجموعة الوقاية الثالثة تجرع بالمستخلص النانوي لبذور نبات الخرفيش (32 mg/kg) لمدة اسبوعين بعدها تعطى المزيج TAA+CCl4 حتى نهاية التجربة وهي 14 أسبوع ويستمر إعطاء المستخلص النانوي.
- 7- المجموعة السابعة : المجموعة الوقاية الرابعة تجرع بالمستخلص النانوي لبذور نبات الخرفيش (60 mg/kg) لمدة اسبوعين بعدها تعطى المزيج TAA+CCl4 حتى نهاية التجربة وهي 14 أسبوع ويستمر إعطاء المستخلص النانوي.

## 3.2.3: مخطط التجربة



### 4.2.3: استحداث سرطان الكبد

تم استحداث سرطان الكبد في ذكور الجرذان على مرحلتين : المرحلة الاولى تم حقنها تحت البريتون بمادة Thioacetamid بجرعة (200 mg/kg) بعد أن تذوب بماء مقطر وتعطى لمدة أسبوعين، فقد ثبت إن هذه المادة تعد من المواد السامة و المسرطنة للكبد ( Anwer & Baker, 2021). ويعد TAA مركب عضوي يستخدم في معالجة الجلود وفي المختبرات وصناعات النسيج والورق وهو مادة سامة كبدية نموذجية يتم استهلاكها للحث على إصابة الكبد الحادة والمزمنة بسبب آثارها على تخليق البروتين والحمض النووي RNA والحمض النووي DNA ويؤدي تناوله لفترات طويلة إلى حدوث عقيدات الكبد الكبيرة والاورام الغدية لخلايا الكبد والاورام الصفراوية والاورام الكبدية (Akhtar & Sheikh, 2013).

أما المرحلة الثانية عززت هذه الجرعات بمادة رابع كلوريد الكربون  $CCL_4$  بمقدار (3mg/kg/week) لمدة 12 اسبوع وهي أيضاً من المواد السامة للخلايا الكبدية وتنتج تأثيرات مسرطنة لخلايا الكبد (Uehara *et al.*; 2014)

### 5.2.3: تحضير المستخلص الكحولي لنبات الخرفيش.

تم الحصول على بذور نبات الخرفيش من محل لبيع الأعشاب الطبية في محافظة كربلاء المقدسة ، نظفت و غسلت هذه البذور جيدا بالماء ولعدة مرات و تركت لتجف لمدة أسبوع ، وطحنت في طاحونة الأعشاب لكي يتم الحصول على مسحوق ناعم .حضر المستخلص الكحولي حسب طريقة (Kulkarni *et al.* ( 2012) عن طريق وزن 50 غرام من مسحوق البذور الجاف وأضيف إلى 250 مل من الكحول الأيثيلي المطلق الذي استخدم كمذيب ووضع الخليط في جهاز السكسوليت Soxhlet لبدء عملية الاستخلاص إذ استمرت هذه العملية لمدة 24 ساعة ، ومن ثم تم تبريد المستخلص الناتج وتجفيفه للحصول على المستخلص الجاف. ثم اعطي للحيوان بعد إذابته بالماء المقطر بجرعة مقدارها 100 ملغم/كغم.

### 6.2.3: تحضير المستخلص النانوي

حضر المستخلص النانوي عن طريق اضافة 1 غم من اوكسيد الزنك إلى 50 مل من الماء المفرغ الايونات ومن ثم اضافة 1 غم من المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش ومع تحريك المزيج بواسطة المحرك المغناطيسي Magnetic stirrer وبدرجة حرارة الغرفة لمدة (24 ساعة) وبعد ذلك وضع المزيج في الحاضنة الهزازة Shaker incubator عند درجة حرارة 40 درجة مئوية ولمدة 18 ساعة ومن ثم فصل الراسب بواسطة جهاز الطرد المركزي

بسرعة 3000 دورة ولمدة 20 دقيقة وبعدها تم الغسل بالماء المفرغ منه الايونات عدة مرارة ومن ثم يجفف الراسب بالفرن الكهربائي عند درجة حرارة 50 درجة مئوية وبعدها يتم طحنه بالهاون الخزفي جيداً للحصول على مسحوق ناعم ، يحفظ هذا المسحوق في الثلاجة لحين استخدامه وحسب طريقة (Bashi *et al.*; (2013) .

### 7.2.3: تشخيص المستخلص النانوي

استخدمت ثلاث طرق للتأكد من التخليق الحيوي للمستخلص النانوي من بذور نبات الخرفيش وهي مجهر القوة الذرية (Atomic Force Microscopie (AFM) وتحليل طيف الأشعة تحت الحمراء (Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) فضلاً عن المجهر الإلكتروني الماسح (Scanning Electron Microscope (SEM).

#### 1.7.2.3: مجهر القوة الذرية (AFM) Atomic force microscope

استخدم مجهر القوة الذرية AFM في فحص مستخلص نبات الخرفيش بعد تحميله على مركب اوكسيد الزنك النانوي وقياس خشونة السطح وحجوم واقطار وتجمعات الجزيئات النانوية إذ تم ارسال النماذج إلى الجمهورية الإسلامية الإيرانية لغرض فحصها وحسب طريقة (Kaman & Dutta, 2019) لتحديد شكل وحجم جسيمات النانويه فقد تم وضع غشاء رقيق للعينة من الجسيمات النانوية على شريحة زجاجية بإسقاط 100 مايكروليتر من العينة على الشريحة، وتم السماح لها بالجفاف لمدة 5 دقائق ثم مسح الشرائح ضوئياً باستعمال AFM.

#### 2.7.2.3: تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR)

#### Fourier transform infrared spectromete

يستخدم هذا التحليل لغرض تحديد المجاميع الفعالة في المستخلص النباتي وتعد هذه المجاميع الفعالة كمواد مغلفة ومختزلة ومثبتة لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي، وحضرت النماذج عن طريق ترسيب قطرة من النموذج على شريحة زجاجية وتجفف بدرجة حرارة (60) درجة مئوية في داخل الفرن الكهربائي لمدة (30) دقيقة ثم تحضر على شكل عجينة مع مادة سائلة عالية اللزوجة مثل زيت البرافين النوجول (Nujol) ثم توضع كمية بسيطة من هذه العجينة بين قرصين من بروميد البوتاسيوم (KBr) تكون طبقة رقيقة جداً وتفحص بجهاز (Fourier transform infrared) وحسب طريقة (Bobbu *et al.*; 2016) .

**3.7.2.3: المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) Scanning Electron Microscope**

استخدم المجهر الإلكتروني الماسح لمعرفة أشكال وأحجام واقطار جسيمات اوكسيد الزنك النانوي (ZnO) المحمل عليها المستخلص الكحولي لنبات الخرفيش إذ تم إسقاط 100 ميكرو لتر من العينة المستخلص النانوي على شريحة زجاجية ومن ثم تركها بعد ذلك لتجف لمدة 5 دقائق من أجل تشكيل طبقة رقيقة وبعدها يتم ارسال حزمة من الالكترونات إلى العينة لغرض اظهار شكل وحجم الجسيمات النانوية .

**4.7.2.3: الطيف المشتت للطاقة (EDS) Energy dispersive spectroscopy**

يستخدم جهاز طيف الاشعة السينية المشتتة للطاقة لمعرفة التركيب الكيميائي للجسيمات النانوية ونسبة كل مكون من مكوناتها .

**8.2.3: تشخيص المركبات الفعالة بجهاز كروماتوغرافيا الغاز ومطياف الكتلة****Gas chromatography-Mass Spectrometry Analysis(GC-MS)**

شخص مستخلص نبات الخرفيش كيميائياً بواسطة جهاز كروماتوغرافيا الغاز -مطياف الكتلة (GC-Mass) في كلية العلوم جامعة القادسية وحسب الظروف التالية:

- 1- استعمل غاز الهليوم بنقاوة 99.99 كحامل للمواد الفعالة.
- 2- استعمل عمود الفصل من نوع HP-5ms ultra Inert بحسب الأبعاد (بطول 30متراً وقطرها 25مليمتر وبقطر داخلي 0.25مايكرومتر) يعمل في وضع -70 Electron Affect Mode EV(كاشف ثابت إلكترونياً)
- 3- حقن الجهاز بـ 1مايكرو لتر من مستخلص نبات الخرفيش.
- 4- ضبطت درجة حرارة الحاقن عند 250مئوية في مدى مسح 500 -50مئوية/ضغط.
- 5- الضغط 11.93رطل/ بوصة مربعة.
- 6- درجة حرارة AUX 310مئوية.
- 7- تبدأ درجة حرارة الفرن من 80مئوية، ثم ترتفع بمعدل 10م° / الدقيقة لمدة 10دقائق لتصل إلى 180م° في المنحدر الاول، ثم ترتفع بمعدل 10م° / دقيقة ولمدة 10دقائق لتصل إلى 280 مئوية في المنحدر 2 ، ثم ترتفع بمعدل 5 مئوية /الدقيقة لتصل إلى 300درجة مئوية في المنحدر.

8- بلغ إجمالي الوقت المستغرق في تحليل العينة 24 دقيقة.

9- تم تحديد المركبات بمقارنة أطيافها بتلك الموجودة في مكتبات الطيف الكتلي عن طريق مقارنة مؤشرات الاحتفاظ بها وأنماط تجزئة أطياف الكتلة بتلك المخزنة على مكتبة الكمبيوتر.

### 7.2.3. جمع عينات الدم Collection of The Blood 's Samples

بعد تجويع الحيوانات لمدة 12 ساعة جمعت عينات الدم عن طريق تخدير الحيوانات باستعمال مادة التخدير الكلوروفورم عن طريق وضع قطنة حاوية على المادة المخدرة في علبة كبيرة موجودة فيها الحيوان ليتم تخديره عن طريق التنفس بعدها تم سحب 5 مل من الدم مباشرة من القلب عن طريق طعنة القلب Cardiac puncture للحصول على أكبر كمية من الدم ، وضعت كمية من الدم في أنابيب اختبار خالية من المادة المانعة للتخثر وحاوية على مادة الجل هلامية ( Gel Tubes) الخاصة بإجراء الفحوصات انزيمات الكبد (AST,ALT,ALP) وبروتينات (الالبومين والكلوبولين والبروتين الكلي) ومضادات الاكسدة ( المألون ديالديهيد والكلوتاثيون والسوبر اوكسيديز دسميوتيز، بعدها تم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / الدقيقة ولمدة 15 دقيقة، نقل المصل المفصول إلى أنابيب بلاستيكية صغيرة Eppendorf Tubes معلمة نظيفة وجافة ، بعدها حفظت هذه الأنابيب الحاوية على المصل في حالة تجميد عند درجة حرارة منخفضة تقدر بـ 20- مئوية لحين إجراء الفحوصات انزيمات الكبد وبروتينات الدم ومضادات الاكسدة عليها لاحقاً.

بعد أخذ عينات الدم منها شرحت الحيوانات واستأصلت الأنسجة والأعضاء المطلوبة ، عزلت أنسجة الكبد من جسم الحيوان ومن ثم تم غسلها بالماء لإزالة الدم الموجود عليها ، بعدها تم تجفيفها عن طريق وضعها على ورق نشاف، ثم تقطيع هذه الأعضاء إلى قطع صغيرة بشكل طولي وعرضي لكي يتم حفظها لضمان وصول المادة الحافظة اليها ، وحفظت العينات في عبوات معلمة نظيفة وجافة محكمة الغطاء وحاوية على مادة الفورمالين Formalin 10% ، وبعد ذلك تركت هذه العبوات لحين إجراء عملية التقطيع النسيجي عليها .

## 3.3. الفحوصات المختبرية:

## 1.3.3. قياس مستوى انزيمات الكبد

## 1.1.3.3. تقدير فعالية الانزيمين الناقلين لمجموعة الامين في المصل ALT و AST

## Alanine transaminase(ALT) &amp; Aspartate transaminase(AST)

تم قياس مستوى فعالية إنزيمي ALT، AST في مصل دم الجرذان باستخدام عدة تقدير جاهزة Kit وعلى أساس التفاعلين الآتيين:



إذ يعتمد تقدير فعالية الانزيم ALT على البايروفيت المتحرر من التفاعل المحفز بواسطة تفاعل الإنزيم مع ثنائي فنييل الهيدرازين. وكذلك تم تقدير فعالية الانزيم AST من الاوكزالوأسيتيت المتحرر من التفاعل المحفز بواسطة الإنزيم مع ثنائي فنييل الهيدرازين (Bergmeyer et al.; 1986)، وأجريت التجربة و كما يأتي (جميع الحجم محسوبة بالملتر).

المحلول الكفاء Blank	العينة Sample	المحاليل Solutions
----- 0.5 ml	0.1 ml 0.5 ml	العينة (المصل) محلول الفوسفات الدائري
مزجت محتويات الأنابيب جيدا وحضنت لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 37 مئوية		
0.5 ml	0.5 ml	محلول ثنائي فنييل الهيدرازين العينة (المصل)
مزجت محتويات الأنابيب وحضنت لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة 20-25 مئوية		
5.0 ml	5.0 ml	محلول هيدروكسيد الصوديوم

بعد مزج محتويات الأنابيب جيدا تترك لمدة خمس دقائق في درجة حرارة الغرفة ، وبعدها يتم قياس الامتصاص لها عند طول موجي 546 نانومتر.

واستعملت المحاليل في التجربة وتشمل :

1- محلول الفوسفات الدارئ:

أ- لإنزيم ALT ويتكون من الانين (200mM) والفاكيتوكلوتاريت (2.0 mM) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (pH 7.4).

ب- لإنزيم AST ويتكون من حامض الاسبارتيك (100 mM) والفاكيتوكلوتاريت (2.0 mM) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (pH 7.4).

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

3- محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.4 N): خفف هذا المحلول عشر مرات بواسطة الماء المقطر قبل استعماله .

4- محلول البايروفيت القياسي (2.0 mM) .

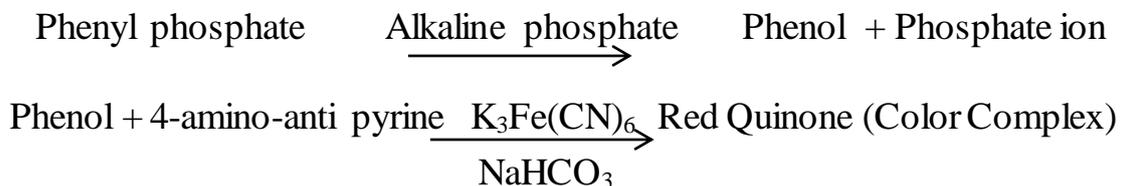
**الحسابات:**

تم حساب فعالية الانزيمين ALT وAST في العينة وفق الآتي:

فعالية الانزيم = التغير في الامتصاصية لكل دقيقة X 1745

### 2.1.3.3: قياس فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline phosphatase(ALP))

تم تقدير مستوى فعالية إنزيم ALP باستعمال طريقة انزيمية وذلك اعتماداً على طريقة Belfield & Golderg, (1971) وهي طريقة لونية تستند على استعمال المادة الأساس Substrate التي يعمل عليها إنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase إذ يضاف محلول Phenyl phosphate للمادة الأساس إلى مصل الدم ويحضن التفاعل لمدة ربع ساعة في درجة حرارة 37°م فيقوم الإنزيم بتحويل المادة الأساس إلى الفينول الذي يمكن الكشف عنه وتقديره كميًا ذلك بإضافة المحلول 4-amino-anti pyrine والذي يكون معقداً أحمر اللون يعرف بالكينون وهو ذو شدة تتناسب طردياً مع فعالية الانزيم في مصل الدم. ويمكن قراءة الامتصاصية لمركب الكينون عند طول موجي قدره 510 نانوميتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي . ويمكن توضيح التفاعل بالمعدلات الآتية:



## طريقة العمل:

تم وضع (2مليتر) من المحلول المنظم كاربونات – بيكاربونات الصوديوم بتركيز mmol/L 50 وبدالة قاعدية 10 المحتوى على المادة الأساس فوسفات الفنيل الثنائية الصوديوم mmol/L 5 في أنبوبة اختبار في حمام مائي بدرجة حرارة 37 مئوية مدة 5 دقائق بعد ذلك يضاف إليها 50 مايكرولتير من مصل الدم ثم تمزج وتترك في حمام مائي مدة 15 دقيقة . بعدها يضاف 0.5 مليلتر من كاشف 4-amino-anti pyrine . mmol/L 6 وصوديوم ارسينيت 70 g/l ويمزجان جيدا ، أما بالنسبة للمحلول الكفى يضاف 50 مايكرولتير من الماء المقطر بدل المصل ثم توضع جميع الأنابيب في مكان مظلم ولمدة 10 دقائق إذ يتكون لون وردي يميل إلى الاحمرار ذو شدة تتناسب طرديا مع تركيز الإنزيم في مصل الدم . تقاس شدة اللون الوردي عند طول موجي 510 نانوميتر مقابل محلول الكفى ومحلول قياس 500µl من المحلول القياسي .

الحسابات : تم حساب فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي في العينة وفق القانون الآتي :

$$\text{Activity of enzyme} = \frac{\text{oD Serum sampl} - \text{oDserm blank}}{\text{oD standard}} \times n(\text{UL})$$

$$n=142$$

## 2.3.3: قياس بعض المعايير الكيموحيوية

## 1.2.3.3: تقدير تركيز البروتين الكلي Total Protein

## مبدأ التجربة Principle:

تم استعمال عدة الاختبار الجاهزة Kit في قياس مستوى البروتين الكلي في مصل الدم وهي طريقة انزيمية تعتمد على استعمال كاشف بايوريت (Biuret) . تعتمد هذه الطريقة على تفاعل ايونات النحاسيك (Cu<sup>+2</sup>) مع الأصرة الببتيدية في محيط قاعدي إذ يؤدي إلى تكوين معقد ذي لون أزرق وتعتمد كثافة اللون على تركيز البروتين في النموذج (Yatizid, 1987).

## طريقة العمل:

العينة Sample	القياسي Standard	الكفاء Blank	المحاليل Solutions
----	----	0.02 ml	ماء مقطر
----	0.02 ml	----	المحلول القياسي
0.02 ml	----	----	مصل الدم
2 ml	2 ml	2 ml	كاشف البايوريت

تمزج جيدا وتترك لمدة 5 دقائق في الحاضنة بدرجة حرارة 37م° ويترك لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة . ثم تقرأ الامتصاصية لأنبوبة العينة عند طول موجي مقداره 546 نانومتر .

### 2.2.3.3: تقدير تركيز الالبومين Albumin

#### مبدأ التجربة Principle:

تم قياس مستوى الالبومين في مصلى الدم وذلك بالاعتماد على طريقة Friedman & Young (2001) . ويتضح ذلك في خطوات طريقة العمل الآتية:

#### طريقة العمل:

المحلول القياسي Standard	محلول العينة Sample	المحاليل Solutions
----	10 µl	محلول العينة
10 µl	----	المحلول القياسي
2 ml	2 ml	الكاشف

بعد ذلك تم وضع الأنابيب في الحاضنة (Incubator) لمدة 5 دقائق في درجة حرارة تراوحت من 20-25 مئوية، ثم قراءة درجة الامتصاصية باستعمال جهاز المطياف الضوئي وعلى طول موجي مقداره 628 نانومتر.

**الحسابات:** تم حساب مستوى بروتين الالبومين في المصل بالاعتماد على المعادلة الآتية:

$$\text{مستوى الالبومين (g/l)} = \frac{\text{امتصاصية العينة}}{\text{امتصاصية المحلول القياسي}} \times 50x \text{ (تركيز المحلول القياسي)}$$

**3.2.3.3: تقدير تركيز الكلوبولين Globulin**

تم استخراج تركيز بروتين الكلوبولين في مصل الدم عن طريق طرح قيمة بروتين الالبومين المستخرجة سابقا من قيمة البروتين الكلي لجميع العينات وحسب المعادلة الاتية:

$$\text{تركيز الكلوبولين (g/dl)} = \text{تركيز البروتين الكلي} - \text{تركيز الالبومين}$$

(Scimone & Rothstein, 1978).

**3.3.3: تقدير مضادات الاكسدة Antioxidants****1.3.3.3: تقدير تركيز المالوندايالديهايد (MDA) Malondialdehyde**

تم قياس تركيز المالوندايالديهايد (MDA) وهو أحد النواتج الرئيسية لعملية أكسدة الدهون ويعد مستواه مؤشرا لهذه العملية ، إذ استعملت طريقة تفاعل حامض الثايوباربيتورك Thiobarbituric acid (TBA) ، إذ يعتمد القياس على التفاعل بين المالوندايالديهايد مع حامض الثايوباربيتورك (Muslih *et al.*; 2001).

**المحاليل المستعملة:**

1- محلول الثايوباربيتورك (Thiobarbituric acid- solution): يحضر من إذابة (0.6 غم) من مادة (TBA) في 100 مل من الصودا الكاوية بتركيز 0.05 مولالي باستعمال القليل من التسخين ، ويحضر هذا المحلول عند الاستعمال .

2- محلول حامض الخليك الثلاثي الكلور (Trichloro Acetic Acid(TCA-solution) : حضر هذا المحلول بتركيزين ، التركيز الاول 17.5% إذ حضر هذا التركيز بإذابة 17.5 غم من مادة TCA في 100 مل من الماء المقطر ، أما التركيز الثاني 70% يحضر بإذابة 70 غم من المادة TCA في 100 مل من الماء المقطر وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال .

**طريقة العمل:**

1- يؤخذ 150 مايكرومتر من مصل الدم ويضاف اليه 1 مل من محلول TCA تركيز 17.5% ، ثم إضافة 1 مل من محلول TBA إلى الخليط ، ورج جيدا وتحضن الأنابيب في ماء مغلي لمدة 15 دقيقة .

2- تبرد العينات ويضاف إليها 1 مل من محلول TCA بتركيز 70% ويترك الخليط بدرجة حرارة 37° لمدة 20 دقيقة.

3- يفصل الراشح باستعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة /دقيقة ولمدة خمس دقائق.

4- تقرأ الامتصاصية عند طول موجي 532 نانومتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي ويحسب تركيز MDA حسب المعادلة الآتية:

$$\text{serum MDA} = \frac{\text{Absorbance}}{d \times \epsilon} \times D.F$$

الحسابات: نستخرج تركيز المألوندايالديهايد حسب المعادلة أعلاه

serum MDA = تركيز المألوندايالديهايد .

Absorbance = الامتصاصية (من الجهاز).

d = عرض الخلية (1 سم وهو ثابت).

$\epsilon$  = معامل الامتصاصية ( $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

D.F = معامل التخفيف ويساوي 5.15.

### 2.3.3.3: قياس مستوى تركيز الكلوتاثيون (GSH) في مصل الدم

تم قياس مستوى تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم باستعمال طريقة كاشف المان Ellman المتبعة من قبل (Moron et al.; 1979).

المحاليل المستعملة:

1- محلول حامض السلفوساليسيليك Solution sulfosalicylic acid

يحضر بإذابة 4 غرام من حامض السلفوساليسيليك في 100 مليلتر من الماء المقطر ويحفظ في الثلاجة .

2- محلول دارى الفوسفات solution phosphate buffer.

يحضر بمزج ( $0.6 \text{ M KH}_2\text{PO}_4$ ) و ( $0.08 \text{ M Na}_2\text{HPO}_4$ ) ويضبط الاس الهيدروجيني عند 8.

3- ملول كاشف المان Elman's

يحضر بتركيز 0.1 ملي مول بإذابة 0.00396 غم من مادة 5-5 dithiobis 2- nitrobenzoic acid(DTNB) في 100 ملليلتر من المحلول المنظم ويحفظ الكاشف في الثلاجة.

#### طريقة العمل:

1- مزج حجم متساوي (150) مايكروليتر من مصل الدم ومحلول حامض sulfosalicylic acid بتركيز 4% .

2- فصل الراشح بجهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة /دقيقة لمدة 5 دقائق .

3- سحب 150 مايكروليتر من الراشح إلى انبوبة الاختبار ، واضيف اليها 4.5 ملليلتر من كاشف المان Ellman's 0.1 ملي مول وتترك لمدة 5 دقائق .

4- قرأت الامتصاصية للمحلول باستعمال جهاز الطيف الضوئي عند طول موجي 412 نانومتر وتم حساب تركيز الكلوتاتايون في مصل الدم حسب المعادلة الآتية :

$$\frac{\text{Absorbance}}{E^{\circ} \times L} = \text{تركيز الكلوتاتايون (ميكرومول/مول)}$$

$$E^{\circ} = 13600 \text{ M}^{-1} \text{ CM}^{-1}$$

$$L = \text{light path (Cm)}$$

3.4.3.3: قياس مستوى تركيز السوبر اوكسايد دسميوتاز (SOD) في مصل الدم

تم تقدير فعالية انزيم سوبر اوكسايد دسميوتاز حسب طريقة ( Marklund & Marklund, 1974)

المبدأ الأساسي:

تم قياس فعالية (SOD) في المصل باستخدام طريقة التفاعل الكيميائي –الضوئي Nitroblue tetrazolium (NBT) باستخدام سيانيد الصوديوم كمنشط للبيروكسيديز.

#### المحاليل الكيميائية:

1- محلول الفوسفات المنظم ويحضر من 50Mn وph=8 يحتوي على 0.1Mn و triton-100 (A.025) وتحضر كالتالي :

- a- محلول A فوسفات الهيدروجين ثنائية البوتاسيوم  $K_2HPO_4$  وهذه المحاليل جهزت بإذابة 8.709 غرام من  $K_2HPO_4$  في 250 مل ماء مقطر منزوع الايونات وإكمال الحجم إلى 1 لتر.
- b- محلول B فوسفات الهيدروجين ثنائية البوتاسيوم 50Mn وتحضر من إذابة 6.805 غرام من  $K_2HPO_4$  في 250 مل ماء مقطر منزوع الايونات وإكمال الحجم إلى 1 لتر ثم خلط 800 مل من المحلول A مع 200 مل من المحلول B مع ضبط الحموضة عند  $PH=7.8$ .
- 2- Triton 1% يذاب في ماء منزوع الايونات.
- 3- Nitroblue tetrazolium- 2HCL (1.37nm) و جهزت بإذابة 0.0141 غم من NBT- 2HCL في 10 مل من الماء منزوع الايونات
- 4- محلول الميثونين L- Methionine solution (0.2M) وحضر من إذابة 0.3 غرام من L- Methionine solution في 10 مل من الماء منزوع الايونات.
- 5 محلول سيانيد الصوديوم (2nm) Sodium cyanide وحضر بإذابة 0.011 غرام من سيانيد الصوديوم في 10 مل من الماء منزوع الايونات.
- 6- محلول ريبوفالين Riboflavin solution (117nm) وحضر من إذابة 0.0011 غرام من Riboflavin في 25 مل من الماء منزوع الايونات.
- 7- خليط التفاعل Reaction mixture solution وتم تحضير عن طريق مزج 117 مل من محلول الفوسفات المنظم 0.75 مل من Triton و 1ml من NBT-2HCL و 1.25 مل من محلول الميثونين.

## طريقة العمل :

تم تجهيز ثلاثة من الأنابيب على النحو التالي:-

sample	Control	Blank	Reagent
3ml	3ml	3ml	خليط التفاعل
0.04ml	0.04ml	0.04ml	سيانيد الصوديوم
0.15ml	-----	-----	العينة
0.25ml	0.67	0.67	محلول العمل
مزجت جيدا ثم اضيف لها			
0.038ml	0.038ml	0.038ml	ريبوفالين

مزجت جميع الانابيب وقرأت امتصاصية العينة والسيطرة عند طول موجي 560 نانوميتر باستخدام جهاز spectrophotomete.

عرضت كل الانابيب عدا Blank إلى مصدر ضوئي محكم لمدة عشر دقائق بعد نهاية مدة الإضاءة تم قراءة الامتصاصية عند طول موجي 560 نانومتر. الحسابات: وتم حساب تركيز الأنزيم وفق المعادلات الآتية:

$$\text{Inhibition} = \% \text{ CI-IT/IC IX } 100$$

### 4.3.3: التحضيرات النسجية Histological preparations

حفظت عينات الكبد بعد استئصالها من جسم الحيوان في محلول الفورمالين بتركيز 10% وبعد 48 ساعة استخرجت من محلول الفورمالين ووضعت على ورق ترشيش ومن ثم نقلت إلى الكحول الايثيلي بتركيز 70% وبعدها أجريت عليها سلسلة من العمليات وحسب الطريقة الموصوفة لـ Suvarna وجماعته (2013) مع بعض التعديل.

#### 1.4.3.3: الانكاز والترويق Dehydration and Clearing

تم سحب الماء من النسيج وذلك عن طريق تمرير النماذج في سلسلة من التراكيز التصاعديّة من الكحول الايثيلي (70%، 80%، 90%، 100%، 100%) لمدة ساعة لكل تركيز بعدها روقت النماذج بوضعها في الزايلين لمدة عشر دقائق.

#### 2.4.3.3: التشريب Infiltration

نقلت النماذج بعد ترويقها إلى خليط من الزايلين وشمع البرافين Paraffin wax المنصهر (ذي درجة انصهار 57-60 مئوية) والمرشح بنسبة 1:1 لمدة ساعتين داخل فرن كهربائي بدرجة حرارة 58 مئوية وذلك لغرض بقاء الشمع منصهرا وكذلك لضمان عملية التشريب ثم بعد ذلك نقلت إلى قناني حاوية على شمع البرافين لمدة ساعة ونصف ثم إلى قناني أخرى حاوية على شمع البرافين أيضاً ولمدة ساعة أيضاً.

#### 3.4.3.3: الطمر Embedding

تم عمل قوالب من شمع حاوية على النماذج وذلك عن طريق صب الشمع في قوالب بلاستيكية خاصة طمرت فيها النماذج وتركنت لتتصلب بدرجة حرارة الغرفة ثم فصلت عن القالب وحفظت حتى وقت تقطيعها.

**4.4.3.3: التقطيع Sectioning**

تم استعمال جهاز المشراح اليدوي Rotary Microtome لتقطيع النماذج والحصول على أشرطة بسماك 5µm ، ثم حملت أشرطة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة بعد أن وضعت في حمام مائي درجة حرارته 45-50م° لمدة دقيقة إلى دقيقتين لضمان فرش المقاطع وتركت بعدها على صفيحة ساخنة Hot Plate لتجف بدرجة حرارة 37 مئوية .

**5.4.3.3: التصبغ والتحميل Staining and Mounting**

صبغت جميع المقاطع النسجية باستخدام ملون Haematoxylin- Eosin stain إذ وضعت الشرائح في الزايلين لمدة خمس دقائق للتخلص من الشمع ثم مررت بسلسلة تراكيز تنازلية من الكحول الايثيلي (100%، 100، 90%، 80%، 70%) لمدة 5 دقائق لكل تركيز بعدها صبغت الشرائح بملون الهيماتوكسيلين لمدة 4 دقائق وبعدها غسلت بالماء الجاري لمدة 10 دقائق ثم بالكحول الحامضي مرتين إلى ثلاث مرات لازالة الصبغة الزائدة وبعدها صبغت بملون الايوسين لمدة 6 دقائق ونقلت بعدها إلى الماء المقطر لمدة دقيقة ثم إلى سلسلة تصاعدية من الكحول الايثيلي (70%، 80%، 90%، 100%، 100%) ولمدة دقيقتين في كل تركيز ماعدا التركيز الأخير وضعت فيه لمدة خمس دقائق ثم روقت بالزايلين لمرحلتين في كل مرحلة لمدة 10 دقائق بعدها أجريت عليها عملية التحميل باستعمال مادة DPX لتثبيت غطاء الشريحة ثم تركت لتجف الى اليوم الثاني لتكون جاهزة للفحص.

**6.4.3.3: التصوير المجهرى Microphotography**

تم تصوير المقاطع النسجية باستعمال المجهر الضوئي من النوع Olympus light microscope مزود بكامرة رقمية Digital Camera عالية الدقة نوع Olympus.

**5.3.3: القياسات النسجية Histological morphomtry**

سجلت القياسات النسجية للشرائح المحضرة من نسيج الكبد بواسطة المقياس العيني المترى الدقيق (ocular micrometer, OM) تحت قوة تكبير 40X المثبت في المجهر الضوئي بعد معايرة ocular على Micrometer stage لكل قوة تكبير وتم قياس معدل اقطار الخلايا الكبدية والوريد المركزي والجيبانيات (Galigher & Kozloff, 1964).

### 6.3.3. اختبار المذنب Comet assay

اختبار المذنب Comet assay يستخدم هذا الاختبار لقياس مقدار الضرر في الـ DNA استخدمت العدة oxiselect comet assay kit لاجراء هذا الاختبار كما استخدم برنامج Comet score لاجراء قياسات مختلفة لكل عينة (Olive & Banáth, 2006; Speit & Rothfuss, 2012).

#### تحضير الكواشف Reagent preparation

يجب أن تكون الكواشف المحضرة عليها علامات تميزها عن غيرها ، فقد حضر (PBS) Phosphate buffered saline من مزج PBS10 مع الماء الأيوني لتجهيز هذا المركب وحفظت بدرجة حرارة الغرفة وكان التحضير ببقية المحاليل كالتالي:-

1- Lysis solution محلول التحلل لتحضير أكثر من عشرة شرائح زجاجية نموذجين في كل شريحة ويحضر من اضافة كل من :

a- محلول حل الخلايا Lysis solution ( 40 ml).

b- DMSO ( اختياري) 4 مل تم التبريد على درجة حرارة 4 درجة مئوية اوفي الثلج لمدة 20 دقيقة على الأقل قبل الاستعمال أما اضافة DMSO فهي اختيارية وهي فقط في حالة الخلايا الحاوية على مادة الحديد كالدّم والأنسجة .

2- هلام المذنب Comet LMAgarose يحضر الهلام الخاص بالفحص وهو صالح للاستعمال مرة واحدة عند إذابته ويتم إذابة الهلام بوضع العلبة في حمام مائي من 90-100 مئوية لمدة خمس دقائق أو حتى ذوبان الهلام مع ازالة غطاء العلبة من أجل السماح للهلام بالتمدد نتيجة الحرارة بعد ذلك تم وضع الهلام في حمام مائي لخفض درجة حرارته وحفظ هذه الدرجة لحين اتمام تحضير العينة.

3- محلول التصبغ Stanning Solution: استخدمت صبغة SAF RED لتصبغ الخلايا

4- محلول منع التلاشي (اختياري) يحضر في حالة حدوث تلاشي اختفاء في العينات نمزج 500 ملغم من Phenulenedi aminedihydro chloride مع XPBS 1 (4.5) ملغم حتى الذوبان في انبوبة بحجم 10 مل.

5- محلول فك الالتفات التحلزن القاعدي Alkaline unwinding solution عند تحضير هذا المحلول يوجب الحذر وارتداء القفازات ويحضر هذا المحلول من 4.0 غم من NaOH و 250

مايكرو mM غرام EDTA و 200 ملغم من  $dH_2O$  لكل 50 مل . ويحرك حتى اتمام عملية الذوبان ، و ثم يترك حتى يكون بدرجة حرارة الغرفة قبل الاستعمال .

6- تحضير محلول الترحيل الكهربائي القاعدي لاختبار المذنب ولتحضير 1 لتر من محلول الترحيل الكهربائي 8 غرام من NaOH مسحوق 2 مل EDTA 500Mm و pH 8  $dH_2O$  بعد ذلك يحفظ في الثلاجة بدرجة 4 درجة مئوية .

### اختبار تحلل المذنب Comet Assay

- 1- يحضر محلول التحلل ويبرد على درجة 4 درجة مئوية لمدة 20 دقيقة قبل الاستخدام .
- 2- إذابة الهلام في بيكر ماء مغلي لمدة 5 دقائق ثم يوضع في حمام مائي على درجة 37 درجة مئوية قبل 20 دقيقة من العمل .
- 3- مزجت الخلايا بتركيز  $1 \times 10^5$  مع الهلام الذائب في درجة حرارة 37 درجة مئوية وبنسبة 1:10 (حجم/حجم) و سحبت مباشرة بالماصة إلى شريحة المذنب وإذا كان من الضروري نستخدم المساحة الجانبية للفوهة البلاستيكية للماصة لنشر الهلام والخلايا فوق مساحة العينة للشريحة لتأكد من تغطية كافة مساحة العينة وإذا لم تتوزع بشكل متساوي تدفئ الشريحة بدرجة 37 درجة مئوية قبل اكمال التطبيق.
- 4- في حالة العمل مع عدة عينات يجب تقسيم الهلام في قناني او انابيب بدرجة 37 درجة مئوية و اضافة الخلايا وتمزج بلطف بطريقة التقليب ونشر 50  $\mu l$  في مساحة العينة توضع العينات على سطح مستوي ومنظم وعند درجة 4 مئوية في الثلاجة لمدة 10 دقائق إذ ستظهر قطرة واضحة بقطر 0.55mm في حافة المساحة المحددة للعينة ان زيادة وقت التبلور إلى 30 دقيقة يزيد من التصاق العينات في حالة الرطوبة العالية.
- 5- غمرت العينات في محلول التحلل بدرجة 4 مئوية لمدة 30-60 دقيقة ولغرض زيادة حساسية الاختبار يمكن استمرار مدة الحضان بنفس الدرجة لمدة 12 ساعة.
- 6- يجب ازالة المحلول الزائد من العينة وغمر بمحلول منع الالتفات القاعدي على ان يحضر قبل الاستعمال مباشرة .
- 7- يستمر الغمر في المحلول السابق لمدة 20 دقيقة في درجة حرارة الغرفة اولمدة ساعة بدرجة 4 م وفي الظلام .

8- لإجراء اختبار المذنب يضاف 1 مل بدرجة 4 مئوية من محلول الترحيل القاعدي ثم ينقل النموذج إلى الترحيل الكهربائي ويغطى بالغطاء الخاص مع ضبط الجهاز على 21 فولت لمدة 30 دقيقة .

9- يزال محلول الترحيل الكهربائي الزائد بلطف وتغمر العينة بـ H<sub>2</sub>O لمدة خمس دقائق وتكرر العملية مرتين ثم يغمر في محلول كحولي 70% لمدة خمس دقائق.

10- يجفف النموذج في درجة 37 م° لمدة 10-15 دقيقة ويعمل التجفيف على جعل الخلايا في مستوى واحد مما يسهل عملت مراقبتها ثم تخزن النماذج في درجة حرارة الغرفة مع التجفيف المسبق لإجراء القياسات في المرحلة

11- وضع 100مل من صبغة Safe red في دائرة الأكاروز الجاف ولمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة في الظلام ثم يرفع النموذج برفق لإزالة الصبغة الزائدة ويغسل في الماء لمدة قليلة ثم يسمح للنموذج ان يجف بشكل كامل بدرجة 37 مئوية.

12- يوضع النموذج في المجهر الومضي Fluorescence إذ يكون مرشح الوميض كافي لإجراء الاختبار كما يمكن اجراء خمسين قياس مختلف في هذا الاختبار وتقاس من النسبة W/L دليل المذنب.

### 4.3: التحليل الإحصائي Statistical analysis

تم إجراء التحليل الإحصائي لتجربة 5x7 مكررات وفق التصميم العشوائي الكامل لدراسة تأثير المعاملة بالمستخلص الكحولي والنانوي لبذور نبات الخرفيش في المعايير المدروسة واختبار معنوية الفروقات بين متوسطات وفق اختبار أقل فرق معنوي (L.S.D) Revised Least Significant Differences على مستوى احتمالية ( $p \leq 0.05$ ) باستعمال برنامج Statistical Excel 2016 وبرنامج Package for the Social Science (SPSS) اصدار 26 وبرنامج Excel 2016 (Moder, 2010).

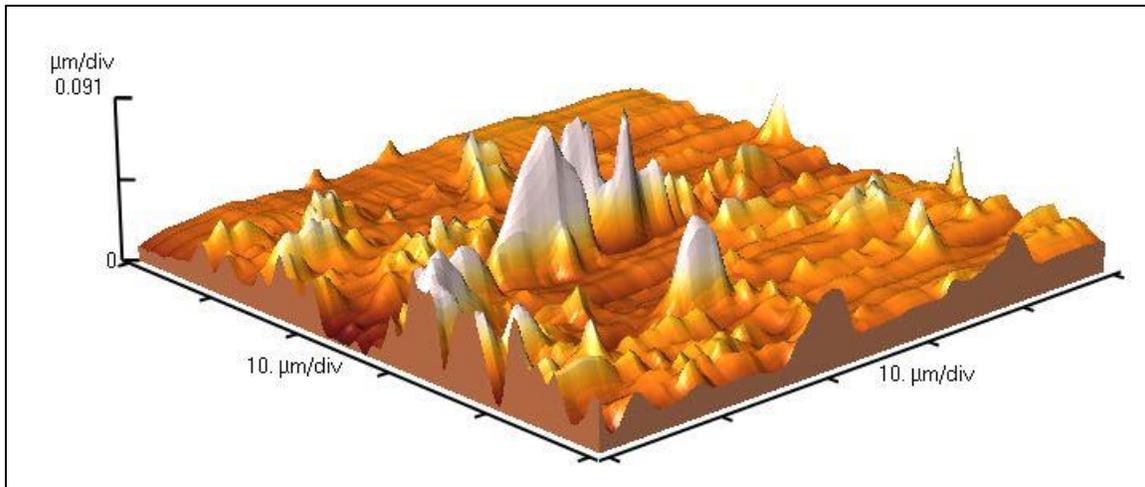
الفصل الرابع  
النتائج والمناقشة

**RESULTS**  
**and**  
**DISCUSSION**

#### 1.4: نتائج تشخيص المستخلص النانوي لنبات الخرفيش

##### 1.1.4: مجهر القوة الذرية (AFM) Atomic force microscope

بينت نتائج الدراسة الحالية لعملية الكشف عن طبيعة سطح الدقائق النانوية المصنعة والتي اظهرت خشونة السطح الجسيمات النانوية فضلا عن شكل وحجم الدقائق المتخلقة ومدى تكتلها وكما في الشكل (1-4) ، وأظهرت نتائج التحليل بواسطة مجهر القوة الذرية AFM إن معدل حجم الجزيئات النانوية بلغ (39.69nm) وكان ارتفاع السطح حسب الصورة ثلاثية الابعاد بلغ (0.091 $\mu\text{m}/\text{div}$ ) وكان معدل خشونة السطح (8.709nm).

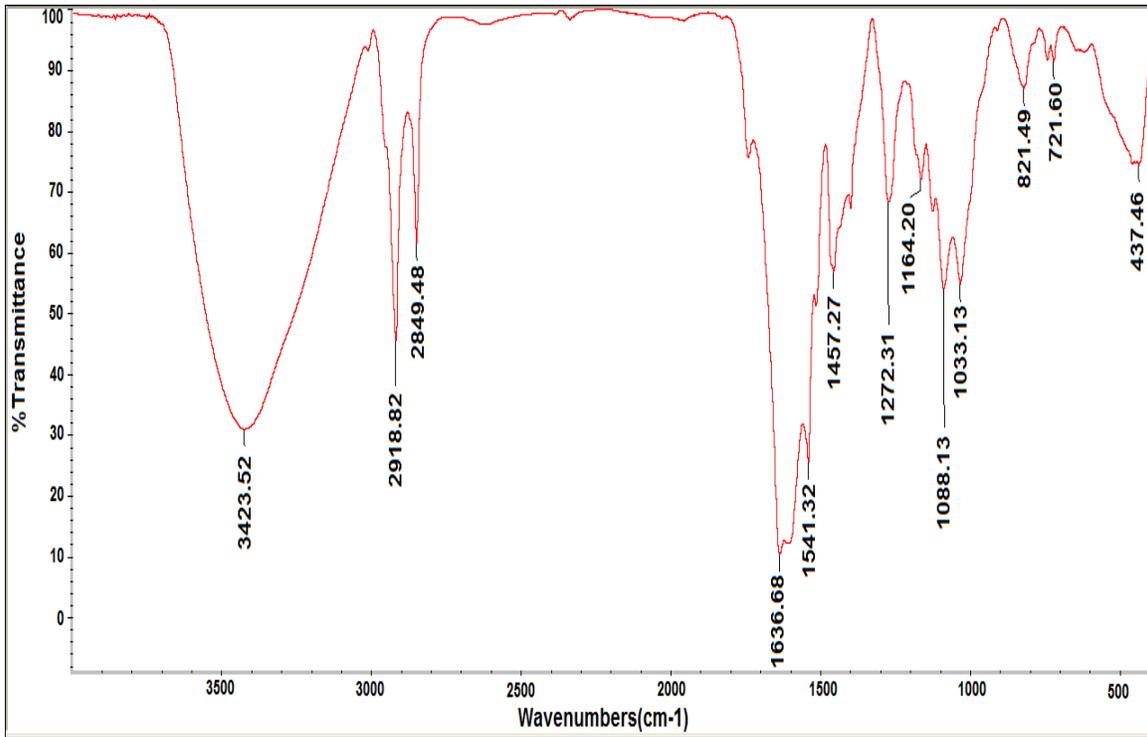


الشكل (1-4) صورة ثلاثية الابعاد تم التقاطها بواسطة مجهر AFM لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش

#### 2.1.4: تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء (FT-IR)

##### Fourier transform infrared spectrometer

اظهرت نتائج الشكل (2-4) للدراسة الحالية ظهور العديد من المنحنيات والتي تدل على وجود اواصر بين المستخلص الكحولي لنبات الخرفيش وجسيمات اوكسيد الزنك. فقد أثبت التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء وجود نطاقات امتصاص عند المدى يقع بين (437.46) و(3423.52) سم<sup>-1</sup> تشير النطاقات الاهتزازية الممتدة إلى المركبات المسؤولة عن حدوثها وابرزها مجاميع البولي فينول والفلافونات والأحماض الدهنية وبالتالي يمكن اعتبارها المسؤولة عن التغطية الفعالة وتثبيت ZnONPs.

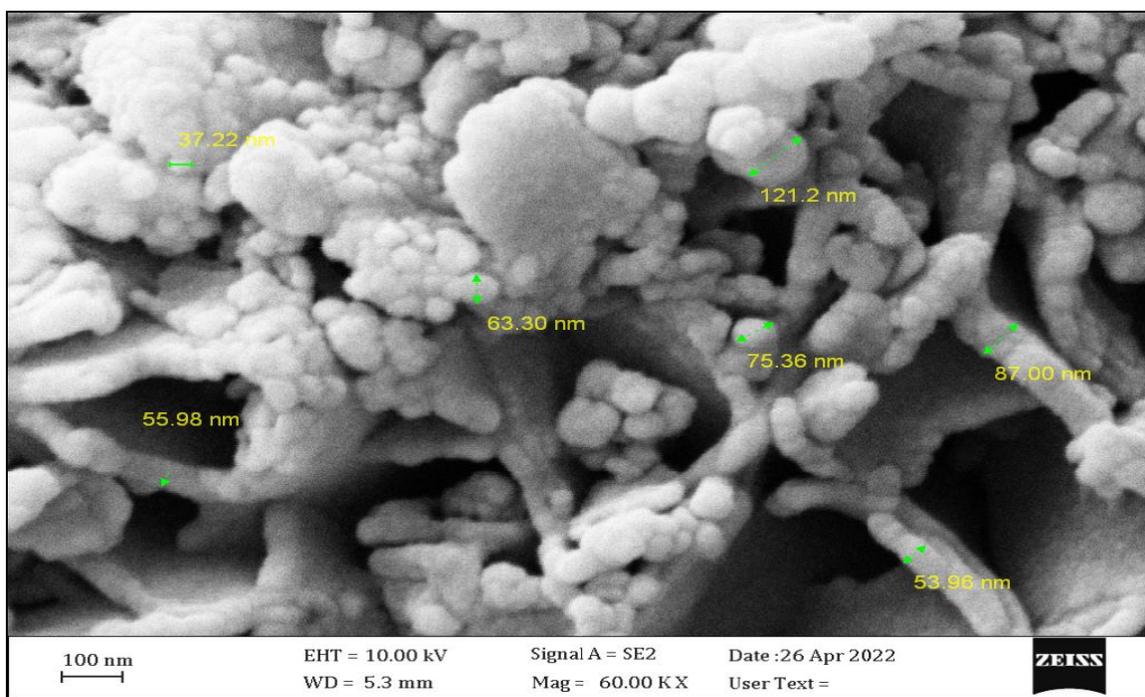


شكل (4-2) التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared لجسيمات  
او كسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش

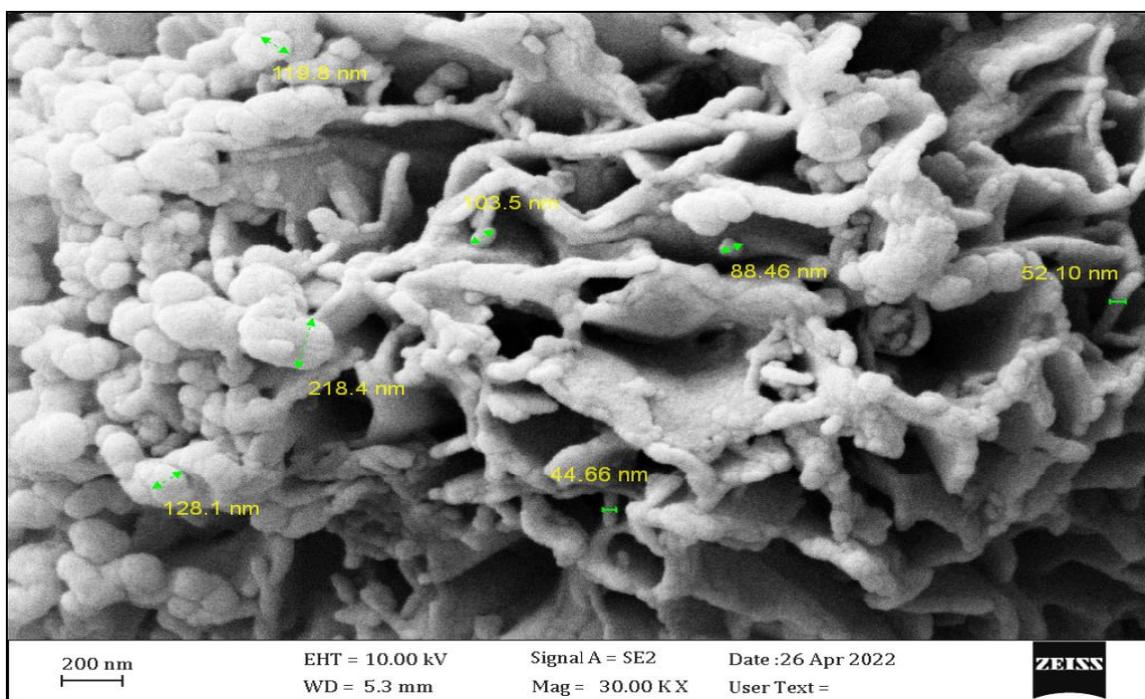
### 3.1.4: المجهر الالكتروني الماسح (SEM) Scanning Electron Microscope

اشارت نتائج الدراسة الحالية والتي اوضحتها الصور الملتقطة بواسطة المجهر الالكتروني الماسح  
إن أحجام جسيمات المستخلص النانوي المتكون من بذور نبات الخرفيش واوكسيد الزنك تراوحت بين  
(88.46nm - 37.22 nm) وكان متوسط حجم الجسيمات النانوية (62.004 nm) وكانت أشكال  
تلك الجسيمات كروية بصورة مفردة او متجمعة وكما موضح في الشكل رقم (4-3) و (4-4)

كانت النتائج الحالية مطابقة مع نتائج دراسة Abbasi وجماعته (2019) بلغ حجم الجسيمات  
النانوية المصنعة من بذور نبات الخرفيش بحدود 46nm. ويتراوح حجم الجسيمات النانوية ما بين (1-  
100) نانومتر وكلما كان حجم الجسيمات النانوية اصغر كلما كانت أكثر اختراقاً للأنسجة الهدف  
(Shehzad *et al.*; 2021).



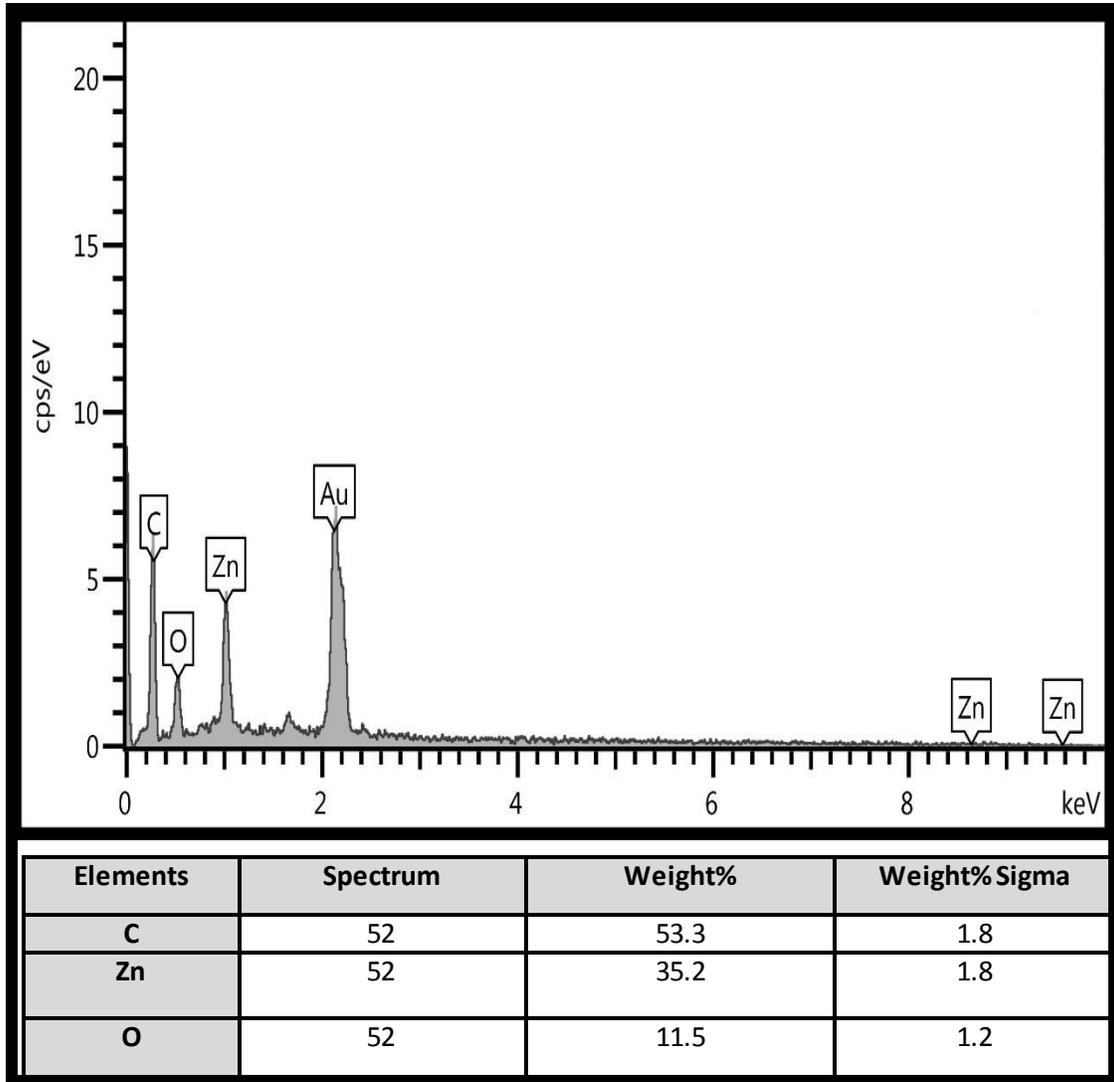
الشكل (3-4) صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش عند حدود 100 نانومتر.



الشكل (4-4) صورة بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص الكحولي لبذور نبات الخرفيش عند حدود 200 نانومتر.

## 4.1.4: الطيف المشتت للطاقة (EDS) Energy dispersive spectroscopy

هي تقنية تحليلية تستعمل لتحليل العناصر ومعرفة الخصائص الكيميائية للعينات إذ بين الشكل (5-4) وجود أكسيد الزنك النانوي عن طريق تحليل مطياف تشتت الطاقة Energy dispersive spectroscopy (EDS)



الشكل (5-4) الطيف المشتت للطاقة (EDS) لجسيمات اوكسيد الزنك النانوية المحمل عليها مستخلص بذور نبات الخرفيش .



الجدول (1-4) اسماء المركبات الفعالة للمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش والنسبة المئوية لمساحتها ووزنها في المستخلص حسب تحليل تقنية الـ GC-Mass

	Name	Area%	Height%	A/H
1	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	6.48	9.93	2.18
2	Hexadecen-1-ol,trans-9-	1.03	2	1.73
3	Diethyl Phthalate	4.58	7.58	2.02
4	Fluorene	1.53	2.1	2.44
5	Benzophenone	2.78	4.4	2.11
6	4-((1E)-3-Hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenol	5.08	6.87	2.47
7	1-Heneicosanol	1.16	2.38	1.63
8	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	1.84	3.06	2.01
9	1-Heptacosanol	1.12	1.92	1.95
10	Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-	69.23	54.62	4.24
11	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	2.67	2.73	3.26
12	3-(1,4-Dihydro-1,2-dimethylquinolin-4-ylidene)-1,5-trimethylpyrrolidin-2,4-dione	2.49	2.4	3.47

### 3.4: التغيرات في مستوى انزيمات الكبد AST, ALT, ALP

اظهرت نتائج الجدول (2-4) وجود ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى انزيم AST (113.80 ± 3.541) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 (68.80 ± 2.764) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 (66.60 ± 2.657) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما كان هنالك انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (20mg, 32mg, 60mg) (104.40 ± 3.124) (101.80 ± 3.639) (80.60 ± 3.187) (81.40 ± 3.092) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1، إذ بينت النتائج لا توجد هنالك فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5, G4 وكذلك بين المجموعتين G7, G6 ولكن توجد فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين (G5, G4) و (G7, G6).

اظهرت نتائج الجدول (2-4) وجود ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى انزيم ALT (  $60.80 \pm 2.107$  ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 (  $30.60 \pm 2.159$  ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 (  $33.20 \pm 1.960$  ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، وأيضاً لا يوجد فرق معنوي ( $p \leq 0.05$ ) بين G4 (  $57.20 \pm 1.594$  ) التي جرعت بالمستخلص الكحولي مقارنة بالمجموعة G3، بينما كان هنالك فروق معنوية في المجاميع الثلاث الأخرى G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (  $60\text{mg}, 32\text{mg}, 20\text{mg}$  ) (  $53.80 \pm 1.655$  ) (  $43.00 \pm 1.817$  ) (  $44.20 \pm 1.594$  ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1، إذ بينت النتائج لا توجد هنالك فروقات معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5, G4 وكذلك بين المجموعتين G7, G6 ولكن توجد فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين (G5, G4) و (G7, G6) .

اظهرت نتائج الجدول (2-4) وجود ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى انزيم ALP (  $266.40 \pm 2.441$  ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 (  $180.40 \pm 4.069$  ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 (  $183.40 \pm 3.415$  ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما كان هنالك انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (  $60\text{mg}, 32\text{mg}, 20\text{mg}$  ) (  $248.80 \pm 3.865$  ) (  $255.40 \pm 4.226$  ) (  $215.60 \pm 2.993$  ) (  $219.80 \pm 2.518$  ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1، إذ بينت النتائج لا توجد هنالك فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5, G4 وكذلك بين المجموعتين G7, G6 .

جدول رقم (2-4) تأثير المستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش على مستوى انزيمات الكبد (AST ، ALT ، ALP (U/L) في دم ذكور الجرذان البيض المستحث بها سرطان الكبد.

ALP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	المعايير المعاملات
180.40 ±4.069 A	30.60 ±2.159 A	68.80 ± 2.764 A	G1 مجموعة السيطرة
183.40 ±3.415 A	33.20 ±1.960 A	66.60 ± 2.657 A	G2 مجموعة المستخلص الكحولي (100mg/kg)
266.40± 2.441 B	60.80± 2.107 B	113.80 ± 3.541 B	G3 مجموعة السيطرة الموجبة (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
248.80 ±3.865 C	57.20 ±1.594 BC	101.80 ± 3.639 C	G4 مجموعة المستخلص كحولي + (100mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
255.40 ±4.226 C	53.80 ±1.655 C	104.40 ± 3.124 C	G5 مجموعة المستخلص نانوي + (20mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
215.60 ±2.993 D	43.00 ±1.817 D	80.60 ± 3.187 D	G6 مجموعة المستخلص نانوي + (32mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
219.80 ±2.518 D	44.20 ±1.594 D	81.40 ± 3.092 D	G7 مجموعة المستخلص نانوي + (60mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
9.56	5.17	7.47	LSD

تمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي n=5  
الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية (p ≤ 0.05)

كشفت نتائج الدراسة الحالية إن استحداث سرطان الكبد بمادة ثيوستاميد (TAA) ورابع كلوريد الكربون (CCl<sub>4</sub>) قد سبب ارتفاع في مستوى انزيمات الكبد وهذا يتفق مع نتائج دراسة Anwer و Baker (2021) و khalaf (2021) فمن المعروف إن TAA يعطل عمليات التمثيل الغذائي للكبد ويحفز الإجهاد التأكسدي الذي يؤدي إلى نخر الكبد ويمكن توضيح ذلك إن بيروكسيد الدهون الذي يسببه TAA يؤدي إلى تلف في الخلايا الكبدية ، والنخر وهذا يسأهم في إفراز الإنزيمات ثم رفع مستوى انزيمات الكبد في مصل الدم والذي يعد مؤشر على تنخر الكبد الخلوي الناجم عن استقلاب TAA الذي تسبب في تلف خلايا الكبد (Hussein et al.; 2020). ويؤدي ميلاتونين دوراً في تنظيم

إيقاع الساعة البيولوجية ونشاط الجهاز المناعي أثناء النوم والقضاء على جذور الأوكسجين الحرة ومن المعروف أن المِلاتونين يحمي الكبد من الإجهاد التأكسدي وتلف الكبد الناتج عن العوامل المختلفة، بعد زيادة الضرر يتدهور هذا التوازن ويؤدي إلى آليات مختلفة لموت الخلايا (موت الخلايا المبرمج والنخر والالتهام الذاتي وما إلى ذلك) مما يتسبب في تدمير الخلايا (Sayan *et al.*; 2020).

أما تلف الكبد الناجم عن  $CCl_4$  فقد يبدأ استقلاب  $CCl_4$  بتكوين الجذور الحرة عبر نشاط نظام الاوكسجيناز في السيتوكروم P450 في الشبكة الإندوبلازمية إذ تتفاعل هذه الجذور الحرة مع العديد من المواد البيولوجية الهامة مثل الأحماض الدهنية والبروتينات والدهون والأحماض النووية والأحماض الأمينية فيختل التوازن بين إنتاج أنواع الاوكسجين التفاعلية ونظام الدفاع المضاد للأكسدة بسبب الإجهاد التأكسدي الذي يعطل الوظائف الخلوية عن طريق بعض الأحداث ويسبب تلف الكبد ونخره (Mahmoodzadeh *et al.*; 2017). ويعمل تفاعل هذه الجذور الحرة على تغيير سلامة اوفناذية غشاء الخلية بسبب أكسدة الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة في الأغشية الخلوية و يتسبب هذا في تسرب إنزيمات الكبد مثل ALT و AST و ALP إلى الدورة الدموية وإرتفاع نسبتها في الدم (Hussain *et al.*; 2017) ويشير الارتفاع انزيمات الكبد إلى إصابة الخلايا الكبدية والذي يرجع في الغالب إلى انخفاض تدفق الدم الكبدي بسبب زيادة الضغط داخل البطن واسترواح الصفاق إذ يسبب استرواح الصفاق انخفاضاً في التدفق الوريدي البابي وانخفاضاً ملحوظاً في تروية الكبد وعدم كفاية إمدادات الأوكسجين (Mazahreh *et al.*; 2020).

أظهرت الدراسة وجود انخفاض في مستوى انزيمات الكبد في المجاميع التي جرعت بالمستخلص الكحولي و النانوي لنبات الخرفيش وهذا يتفق مع نتائج دراسة El Hassanen وجماعته (2021) و Feng وجماعته (2019). *Silybum marianum* هو نبات معروف يستخدم كدواء وغذاء وقد استخدم على نطاق واسع لعلاج الأمراض المختلفة وخاصة أمراض الكبد فقد تحتوي بذور وأوراق *Silybum marianum* على مركب فلافونوليجنان (flavonolignan) ويسمى أيضاً سيليمارين والمركبات النشطة التي تشمل سيليبين ، إيزوسيليبين ، سيليكريستين ، ديهيدروسيلين ، سيليديانين وهذه المركبات الفعالة الموجودة في نبات الخرفيش لها دور كبير في تخفيف الاجهاد التأكسدي الذي تتعرض له الخلايا الكبدية (Wang *et al.*; 2020b). فقد أظهرت الدراسات إن سيليمارين له تأثيرات محتملة على الكبد بسبب مضادات الأكسدة و التأثيرات المضادة للالتهابات

واستقرار الغشاء الخلوي وتعزيز تجديد خلايا الكبد وتثبيط التليف فضلاً عن ذلك ، يعد سيليمارين كعلاج داعم لحماية الكبد من التسمم الناجم عن المواد الكيميائية كما إن له تأثيرات ملحوظة في التخلص من أنواع الأكسجين التفاعلية ويمكن أن تقلل من سمية الأدوية (Tajmohammadi *et al.*; 2018). يبدو إن سيليمارين يمنع امتصاص السموم عن طريق الارتباط بمستقبلات الغشاء في خلايا الكبد مما يغير بنية مستقبلات الغشاء وعلى العكس من ذلك ، فإن الخصائص المضادة للأكسدة في الخرفيش تمنع الاضطرابات الأيضية لهذه الخلايا عن طريق تثبيط بيروكسيد الدهون في خلايا الكبد وأيضاً تأثير سيليمارين إيجابياً على منع استقلاب البروتين الدهني المتغير ، والذي يعد سبباً رئيسياً للمشاكل الخلوية والتمثيل الغذائي (Zaker-Esteghamati *et al.*; 2021). وكذلك فيتامين E هو العنصر النشط في *S. marianum* ، مع خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات ومضادة للاستماتة ووجد إن استخدام فيتامين E يقلل من إنزيمات الكبد مع تحسين الخصائص الكيميائية الحيوية وكشف الفحص النسيجي إن تناول فيتامين E يحسن الالتهاب الفصيبي والتكس الدهني الكبدي (Jiang *et al.*; 2022). تعد بذور الخرفيش غنية بالبروتين والدهون والألياف والأحماض دهنية وتحتوي البذور على مركبات نشطة بيولوجياً أخرى مثل البيتين والأبيجينين والسيليبونول والبروتينات والزيت الثابت والأحماض الدهنية الحرة التي تلعب دوراً جيداً في حماية الكبد أو علاجه من الالتهابات يستخدم سيليمارين حالياً لعلاج التهاب الكبد المزمن وتليف الكبد وأمراض الكبد المرتبطة باستهلاك الكحول والتعرض للسموم البيئية (Zaki *et al.*; 2019).

#### 4.4: التغيرات في بروتينات مصل الدم (الالبومين ، البروتين الكلي ، الكلوبولين)

اظهرت نتائج الجدول (3-4) وجود انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى الالبومين ( $2.270 \pm 0.044$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $4.222 \pm 0.136$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $4.042 \pm 0.197$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما وجد ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي ( $60\text{mg}, 32\text{mg}, 20\text{mg}$ ) ( $2.984 \pm 0.145$ ) ( $2.920 \pm 0.124$ ) ( $3.432 \pm 0.180$ ) ( $3.566 \pm 0.078$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1، إذ بينت النتائج لا توجد هنالك فروقات معنوية

( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5,G4 وكذلك بين المجموعتين G7,G6 ولكن توجد فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين (G5,G4) و(G7,G6) .

اظهرت نتائج الجدول (3-4) وجود انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى الكلوبيولين ( $1.468 \pm 0.069$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $2.480 \pm 0.138$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $2.572 \pm 0.041$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما وجد ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي ( $2.378$ ) ( $2.272 \pm 0.061$ ) ( $2.018 \pm 0.096$ ) ( $1.912 \pm 0.056$ ) ( $60\text{mg}, 32\text{mg}, 20\text{mg}$ ) ( $\pm 0.057$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 الا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1 عدا المجموعة G7، إذ بينت النتائج لا توجد هناك فروقات معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5,G4 وكذلك بين المجموعتين G7,G6 ولكن توجد فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين (G5,G4) و(G7,G6) .

بينت نتائج الجدول (3-4) وجود انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى البروتين الكلي ( $3.738 \pm 0.084$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $6.702 \pm 0.216$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $6.612 \pm 0.184$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما وجد ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي ( $5.944$ ) ( $5.704 \pm 0.157$ ) ( $4.938 \pm 0.154$ ) ( $4.896 \pm 0.116$ ) ( $60\text{mg}, 32\text{mg}, 20\text{mg}$ ) ( $\pm 0.062$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 الا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1، إذ بينت النتائج لا توجد هناك فروقات معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5,G4 وكذلك بين المجموعتين G7,G6 ولكن توجد فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين (G5,G4) و(G7,G6) .

جدول رقم (3-4) تأثير المستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش على مستوى الالبيومين والكلوبيولين والبروتين الكلي (g/dl) في دم ذكور الجرذان البيض المستحث بها سرطان الكبد

البروتين الكلي (g/dl)	الكلوبيولين (g/dl)	الالبيومين (g/dl)	المعايير المعاملات
6.702 ± 0.216 A	2.480 ± 0.138 A	4.222 ± 0.136 A	G1 مجموعة السيطرة
6.612 ± 0.184 A	2.572 ± 0.041 A	4.042 ± 0.197 A	G2 مجموعة المستخلص الكحولي (100mg/kg)
3.738 ± 0.084 B	1.468 ± 0.069 B	2.270 ± 0.044 B	G3 مجموعة السيطرة الموجبة (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
4.896 ± 0.116 C	1.912 ± 0.056 C	2.984 ± 0.145 C	G4 مجموعة المستخلص كحولي + (100mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
4.938 ± 0.154 C	2.018 ± 0.096 C	2.920 ± 0.124 C	G5 مجموعة المستخلص نانوي + (20mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
5.704 ± 0.157 D	2.272 ± 0.061 D	3.432 ± 0.180 D	G6 مجموعة المستخلص نانوي + (32mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
5.944 ± 0.062 D	2.378 ± 0.057 AD	3.566 ± 0.078 D	G7 مجموعة المستخلص نانوي + (60mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
0.41	0.22	0.38	LSD

تمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي n=5

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية ( $p \leq 0.05$ )

سبب استحداث سرطان الكبد بمادة ثيوستاميد (TAA) ورابع كلوريد الكربون (CCL<sub>4</sub>) انخفاض في مستوى بروتينات الدم (الالبيومين والكلوبيولين والبروتين الكلي) وهذا يتفق مع نتائج دراسة Abd-Elrahman وجماعته (2014) و Rahman وجماعته (2020). يعد الكبد عضواً أساسياً له دوراً محورياً في إزالة السموم والتمثيل الغذائي وتخزين الكلايوجين وإنتاج بروتينات البلازما وتنظيم مستويات الكوليسترول أمراض الكبد متنوعة. من بينها التليف وسرطان الخلايا الكبدية وتسمم الكبد الناجم عن الأدوية تؤدي هذه إلى حدوث تغييرات في الوظائف الفسيولوجية للجسم (EI- Kashef & Serrya, 2019). كذلك استخدم thioacetamide منذ سنين في أحداث سمية الكبد وهذه السمية ترجع إلى نشاط الاجهاد التأكسدي الذي يسببه TAA وتلف في خلايا الكبد وتسبب

جرعات مفردة منه تنخرأ مركزياً (El-Deberky *et al.*; 2021). يعد TAA عاملاً محددًا سأمًا للكبد لأنه يحتوي على مركب thionosulfur المعروف جيدًا بإحداث تلف الكبد عن طريق توليد أنواع الأكسجين التفاعلية التي تسبب إصابة الكبد واختلال وظيفي تتطلب السمية الحادة لـ TAA تأكسدها إلى اوكسيد الكبريت المستقر والذي يتأكسد بشكل أكبر إلى ثنائي اوكسيد الكبريت شديد التفاعل الذي يهاجم الدهون والبروتينات الكبدية مما يؤدي للتغيرات في نفاذية غشاء الخلايا الكبدية وزيادة الكالسيوم داخل الخلايا وتثبيط نشاط الميتوكوندريا وأخيرًا نخر الخلايا الكبدية الواسع (Mousa *et al.*; 2019).

يعد رابع كلوريد الكربون المحرض على تليف الكبد أو التشمع في حيوانات التجارب يشبه تشمع الكبد في الإنسان في بعض السمات المورفولوجية والفيزيولوجية المرضية، وفي كبد الثدييات ينتج الساييتوكروم الميكروسومي P450 مستقلبات تفاعلية ويمكن للجزيئات الخلوية المهمة بيولوجيًا مثل الدهون والبروتينات والأحماض النووية أن تتفاعل مع هذه المستقلبات مما يتسبب في ضعف وظائف الكبد وإصابة الخلايا الكبدية (Gazwi & Mahmoud, 2019). وتشير نتائج دراسة Dong وجماعته (2016) إلى إن السمية الأساسية لـ  $CCl_4$  هي تطوير التسلسل التهابي والتضخم الليفى في الكبد، وأيضاً وجدت الدراسة إن سمية  $CCl_4$  تشارك في مسارات متعددة الـ ريتينول ومشتقاته وحمض الـ ريتينويك إذ إن هذه المسارات لها أدوار حاسمة في تجديد الكبد والتسبب في المرض بما في ذلك الالتهاب والتكس الدهني وتليف الكبد والسرطان كذلك ادى مسار إشارات (PPAR) Peroxisome proliferator-activated receptor واستقلاب حامض الأراكيدونيك أيضاً دوراً رئيسياً في إصابة الكبد الناجمة عن  $CCl_4$ . ويؤدي تحريض اكسدة دهون غشاء الميتوكوندريا لخلايا الكبد بعد إعطاء  $CCl_4$  إلى إتلاف سلامة الخلية وزيادة نفاذية الغشاء مما يؤدي إلى موت الخلية لذلك تم تقليل التخليق الحيوي للبروتين (Shaban *et al.*; 2021).

سببت المعالجة بالمستخلص النانوي لاوكسيد الزنك مع بذور الخرفيش ارتفاع في مستوى بروتينات الدم (الالبومين والكلوبولين والبروتين الكلي) وهذا يتفق مع دراسة El-Ghany وجماعته (2022). لقد كان الخرفيش مفيداً في علاج مجموعة من اضطرابات الكبد والمرارة بما في ذلك التهاب الكبد واليرقان وتليف الكبد وحماية تسمم الكبد من السموم البيئية ويحتوي على العديد من الجزيئات النشطة بيولوجياً الواقية للكبد مثل الدهون في شكل حامض اللينوليك والاوليك والبالمتيك والفلافونيدات بما في ذلك كيرسيتين وإريوديكتيول وتاكسيبولين وكريسويريول، وثبت أن المكونات

المسؤولة عن هذا النشاط هي مركبات الفلافونوليجنان (مشتقات الفلافونون) (Othman *et al.*; 2020). فقد أشارت دراسة Hassaan وجماعته (2019) إلى إن سيليمارين وسيليبينين يحققان الحد من احتباس الدهون في الأحشاء عن طريق تثبيط التعبير الجيني المولد للدهون و / أو تحسين تحلل الدهون ومحتوى البروتين الدهني في البلازما عن طريق تنظيم البروتينات الدهنية في البلازما و يعمل سيليمارين كمضاد للأكسدة نظرًا لآثاره المضادة للالتهابات وقد استخدم في علاج العديد من تلف الكبد . وقد ثبت أن الفلافونوليجنان المستخرج من بذور الخرفيش تمتلك خصائص واقية للكبد مضادة للأكسدة ومضادة للتليف ومضادة للالتهابات ومثبتة للأغشية وخصائص مناعية ووقائية كيميائية وكذلك بذور الخرفيش غنية أيضاً بالعناصر الغذائية والألياف الغذائية والتي يبلغ محتواها 42% وتحتوي البذور على حوالي 20% بروتين غني بمعظم الأحماض الأمينية الأساسية ، خاصة في الليوسين والفالين والليسين تحتوي بذور الخرفيش أيضاً على كميات كبيرة من الزيت (20-23 %) ، والتي تعد منتجاً ثانوياً للإنتاج الصناعي للسيليمارين (Opyd & Jurgoński, 2021). ويمكن للسيليمارين تسريع عملية استعادة وتجديد الأنسجة التالفة عن طريق تحفيز تخليق البروتين وبذلك تستطيع أن تعيد الوظائف الطبيعية للكبد وهذا يساعد في رفع مستوى بروتينات في الدم لأن الكبد هو المسؤول عن تصنيع الالبومين والكلوبولين (Khazaei *et al.*; 2022).

#### 5.4: التغيرات في مستوى مضادات الاكسدة MDA, GSH, SOD

وضحت نتائج الجدول (4-4) وجود ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى المألون داي الديهايد (MDA) ( $20.787 \pm 0.989$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $13.103 \pm 0.770$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $12.328 \pm 0.695$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما وجد انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (20mg, 32mg, 60mg) ( $18.457 \pm 0.630$ ) ( $18.178 \pm 0.350$ ) ( $14.821 \pm 0.849$ ) ( $14.560 \pm 0.815$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1 في المجموعتين

G5,G4، إذ بينت النتائج لا توجد هنالك فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5,G4 وكذلك بين المجموعتين G7,G6 ولكن توجد فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين (G5,G4) و(G7,G6).

اشارت نتائج الجدول (4-4) وجود انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في مستوى كلوناثيون (GSH) ( $7.781 \pm 0.589$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $14.260 \pm 0.870$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $16.843 \pm 0.841$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش ولكن هنالك فرقاً معنوياً ( $p \leq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما وجد ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (20mg, 32mg, 60mg) ( $9.819 \pm 0.606$ ) ( $10.151 \pm 0.366$ ) ( $14.059 \pm 0.857$ ) ( $13.156 \pm 0.465$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1 في المجموعتين G5,G4، إذ بينت النتائج لا توجد هنالك فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5,G4 وكذلك بين المجموعتين G7,G6 ولكن توجد فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين (G5,G4) و(G7,G6).

اظهرت نتائج الجدول (4-4) وجود انخفاض معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في مستوى السوبر اوكسيديز دسماتيز (SOD) ( $7.716 \pm 0.465$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $12.518 \pm 0.267$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $13.152 \pm 0.167$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش ولكن هنالك فرق معنوي ( $p \leq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما وجد ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (20mg, 32mg, 60mg) ( $10.074 \pm 0.427$ ) ( $9.958 \pm 0.471$ ) ( $11.806 \pm 0.758$ ) ( $12.006 \pm 0.393$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1 في المجموعتين G5,G4، إذ بينت النتائج وجود فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين المجموعتين G5,G4 وكذلك بين (G5,G4) و(G7,G6) ولكن لا توجد فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G7,G6.

جدول رقم (4-4) تأثير المستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش على مستوى مضادات الاكسدة (SOD, GSH, MDA) في دم ذكور الجرذان البيض المستحث بها سرطان الكبد

SOD	GSH	MDA	المعايير
U/L	μmol/L	μmol/L	المعاملات
12.518±0.267 A	14.260 ± 0.870 A	13.103 ± 0.770 A	G1 مجموعة السيطرة
13.152±0.167 AB	16.843 ± 0.841 B	12.328 ± 0.695 AB	G2 مجموعة المستخلص الكحولي (100mg/kg)
7.716±0.465 C	7.781 ± 0.589 C	20.787±0.989 C	G3 مجموعة السيطرة الموجبة (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
10.074±0.427 D	9.819 ± 0.606 D	18.457 ± 0.630 D	G4 مجموعة المستخلص كحولي + (100mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
9.958±0.471 AE	10.151 ± 0.366 D	18.178 ± 0.350 D	G5 مجموعة المستخلص نانوي + (20mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
11.806±0.758 A	14.059 ± 0.857 A	14.821 ± 0.849 AE	G6 مجموعة المستخلص نانوي + (32mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
12.006±0.393 A	13.156 ± 0.465 A	14.560 ± 0.815 A	G7 مجموعة المستخلص نانوي + (60mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)
1.27	1.91	2.21	LSD

تمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي n=5

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية (p ≤ 0.05)

أدى استحداث سرطان الكبد بواسطة الثيواسيدامايد ورابع كلوريد الكربون إلى ارتفاع في مستوى الملون داي الديهايد وهذا يتفق مع دراسة Lebda وجماعته (2018) و Boshy وجماعته (2017). إن TAA يسبب زيادة كبيرة في التعبير الكبدي عن NF-jBp65 وانزيمات الاكسدة الحلقية مع ارتفاع كبير في مستويات TNF-a و IL-1b في الأنسجة. ويشير هذا إلى الاستجابات الالتهابية المتضخمة التي يسببها TAA في هذا الصدد ويرتبط بتنشيط كينازات في مسار NF-jB بالإجهاد التأكسدي ويؤدي نشاط انزيمات الاكسدة الحلقية إلى مستويات عالية من Eicosanoids مما يؤدي إلى التهاب ونخر خلوي (Algandaby, 2018). إذ تحدث أكسدة المواد الكيميائية الغريبة عبر إنزيم السيتوكروم

P450 ، كما أنه يستقلب  $CCl_4$  إلى جذور ثلاثي كلورو ميثيل مما يؤدي إلى بعض الآثار الضارة عندما تتفاعل مع البروتينات والدهون وكذلك تؤدي المواد السامة إلى انخفاض في انزيم السيتوكروم P450 (Alkinani *et al.*; 2021). في حين إن التأثير الوقائي للمستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش قد سبب في انخفاض مستوى المألون داي الديهايد وهذا يتفق مع دراسة Abd Elalal وجماعته (2022). ويعود الدور لخليط من مركبات الفلافونويد المستخرجة من نبات الخرفيش الذي لها خصائص مضادة للأكسدة مدهشة بسبب تركيبه البوليفينولي وشق الميثوكسي في إحدى حلقاته الفينولية وفي الواقع يُقترح أن تكون القدرات المضادات الأكسدة وللجذور الحرة في النبات أكبر من تلك الموجودة في فيتامين E وقدرتها على عكس تلف الأنسجة المرتبط بأمراض واضطرابات مختلفة مثل السمية الكبدية وتليف الكبد (Habotta *et al.*; 2021).

وقد سبب استحداث سرطان الكبد بواسطة الثيواسيتاميد ورابع كلوريد الكربون إلى انخفاض في مستوى الكلوتاثيون وهذا يتفق مع دراسة Hafez وجماعته (2019) و Safhi (2018). إن الثيواسيتاميد يحرض التليف الكبدي للفئران ومن العوامل المركزية للإصابة بالإجهاد التأكسدي وإن سيتوكروم 2اي 1 يتوسط إصابة الكبد التي يسببها TAA والتي خلالها كمية كبيرة من أنواع الأكسجين التفاعلية يتم إنتاجها يتبعه تأكسد الدهون في أغشية الخلايا ونخر خلايا الكبد ويؤدي إلى اختلال في نظام الدفاع المضاد للأكسدة مما يؤدي إلى انخفاض مضادات الأكسدة مثل الكلوتاثيون (Mi *et al.*; 2019). ويعد  $CCl_4$  كمصدر للجذور الحرة هو مركب سام للكبد يسبب أكسدة الدهون مما يؤدي إلى تلف الأنسجة والالتهابات، الالتهاب هو عملية ديناميكية تتضمن السيتوكينات المسببة للالتهابات مثل  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ) و IL-6 وعامل نمو بطانة الاوعية الدموية فتزداد الحاجة إلى مضادات الأكسدة مثل GSH ، أثناء التعرض للجذور الحرة ، مما يؤدي إلى انخفاض مستوى GSH في الجسم بعد التعرض لـ  $CCl_4$  (Saryono *et al.*; 2019). أما التأثير الوقائي للمستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش أدى إلى ازدياد مستوى الكلوتاثيون وهذا متفق مع دراسة Yassin وجماعته (2022). فقد يدخل سيليمارين إلى النواة ويعمل على إنزيمات RNA polymerase ونسخ RNA الريبوسومي مما يؤدي إلى زيادة تكوين الريبوسوم وهذا بدوره يسرع تخليق البروتين والحامض النووي مما يعزز جهاز التخليق الحيوي في السيتوبلازم مما يؤدي إلى زيادة معدل تخليق البروتينات الهيكلية والوظيفية قد يمكّن هذا التحفيز الخلايا من مواجهة فقدان الناقلات والإنزيمات التي

تحدث في ظل العديد من الظروف المرضية وهذا الإجراء له آثار علاجية مهمة في إصلاح خلايا الكبد التالفة واستعادة وظائف الكبد الطبيعية (Alassi & Allaw, 2020).

أدى استحداث سرطان الكبد بواسطة الثيوسايتاميد ورابع كلوريد الكربون إلى انخفاض في مستوى سوبر اوكسيد دسميوتيز (SOD) وهذا يتفق مع دراسة Lee وجماعته (2019a) و Choi وجماعته (2019). تؤدي الإصابة الكبدية إلى تنشيط الخلايا النجمية الكبدية (HSCs) من شكلها الهادئ مما يؤدي إلى ترسب المادة بين الخلايا والكولاجين وتنشيط الخلايا النجمية الكبدية يعد المصدر الرئيسي لبروتينات المادة بين الخلايا والتي تساهم بشكل كبير في تكوين تليف الكبد (Dwivedi *et al.*; 2020). ويتم تحويل  $CCl_4$  عن طريق النشاط التحفيزي لسيتوكروم الكبد P450 في الشبكة البلازمية الداخلية لتوليد الجذور الحرة بشكل أساسي الجذور الحرة لثلاثي كلورو ميثيل ( $CCl_3$ ) كمستقلبات لـ  $CCl_4$  السامة للكبد وهذه لديها القدرة على الارتباط بالبروتينات أو الدهون المختلفة وبدء أكسدة الدهون مما يؤدي إلى فقدان سلامة غشاء الخلية وإصابة الكبد (Lee *et al.*; 2019b). أما التأثير الوقائي للمستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش سبب في ارتفاع مستوى SOD وهذا متفق مع دراسة Mohammadi وجماعته (2022). فقد ثبت أن سيليمارين يمارس نشاطاً علاجياً فائقاً في علاج مجموعة متنوعة من اضطرابات الكبد مثل أمراض الكبد المزمنة وتليف الكبد وسرطان الخلايا الكبدية فضلاً عن ذلك الإمكانيات العلاجية للسيليمارين كعامل مضاد للالتهابات ومضاد للأكسدة ونقص سكر الدم ومضاد للسرطان ومضاد للفيروسات (Shriram *et al.*; 2022). صُنّف سيليمارين كدواء رسمي بخصائص كبدية من قبل منظمة الصحة العالمية منذ السبعينيات وهو عبارة عن خليط يحتوي على 25 مركباً ويتكون من مركبات الفلافونويد والفلافونوليجنان، يُعرف سيليمارين منذ فترة طويلة بآثاره الوقائية الكيميائية ومضادات الأكسدة على الكبد وغالباً ما يوصف كدواء تكميلي وبديل وقائي للكبد (Kesharwani *et al.*; 2020).

#### 6.4: التغيرات في نسيج الكبد

أظهرت الصورة (4-1) الى مظهر عياني للكبد بالحالة الطبيعية ولكن الصورة (4-2) بينت المظهر العياني للكبد بعد استحداث سرطان الكبد في مجموعة السيطرة الموجبة G3 إذ يظهر وجود خلايا ورمية وحدوث تضخم في خلايا الكبد وفقدان المظهر الطبيعي للكبد. وأشارت الصورة (4-3) إلى مقطع مستعرض لنسيج الكبد لمجموعة السيطرة الطبيعية موضحاً فيه خلايا الكبد الطبيعية والوريد

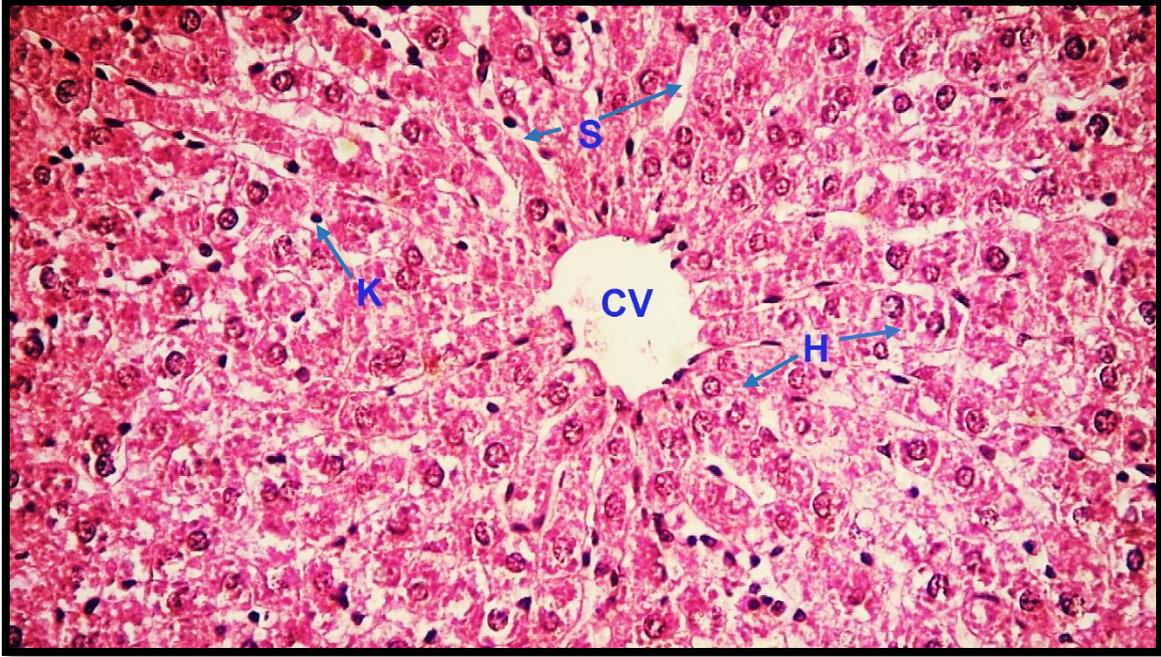
المركزي فضلاً عن الجيبانيات وخلايا كوبفر ، والصورة (4-4) وبينت مقطع مستعرض لنسيج الكبد لمجموعة المستخلص الكحولي لنبات الخرفيش إذ كانت الخلايا الكبدية طبيعية فضلاً عن الوريد المركزي والخلايا كوبفر و الجيبانيات أما الصورة (4-5) كانت مقطع مستعرض لنسيج الكبد لمجموعة السيطرة الموجبة و يلاحظ فيه خلايا ورمية وتنخر في خلايا الكبد مع وجود نزف في النسيج وعدم انتظام الجيبانيات وكذلك عدم انتظام لشكل الفصيص الكبدي و يظهر المقطع التهاب في بعض مناطق النسيج عند مقارنتها مع الصورة (4-4) لمجموعة السيطرة السالبة في حين الصورة (4-6) اظهرت مقطع مستعرض لنسيج الكبد للمجموعة الرابعة (المستخلص الكحولي + استحثاث سرطان الكبد) يظهر فيه تحلل في بعض الخلايا الكبدية ووجود تنخر في الخلايا أخرى مع عدم انتظام الجيبانيات مقارنة مع الصورة (4-4) لمجموعة السيطرة السالبة ، ووضحت الصورة (4-7) مقطع مستعرض لنسيج الكبد للمجموعة الخامسة (مستخلص نانوي 20mg/kg + استحثاث سرطان الكبد) إذ وجد تحلل في بعض خلايا الكبد مع انتظام الجيبانيات وكذلك يظهر الخلايا الكبدية الطبيعية والوريد المركزي وخلايا كوبفر مقارنة مع الصورة (4-5) لمجموعة السيطرة الموجبة ، في حين اشارت الصورة (4-8) إلى مقطع مستعرض لنسيج الكبد للمجموعة السادسة (مستخلص نانوي 32mg/kg + استحثاث سرطان الكبد) فيه التهاب خفيف في النسيج ويظهر كذلك الوريد الكبد المركزي والجيبانيات والخلايا الكبدية وخلايا كوبفر مقارنة مع السيطرة الموجبة الصورة (4-5) ، أما الصورة (4-9) فكانت للمجموعة السابعة (مستخلص نانوي 60mg/kg + استحثاث سرطان الكبد) ويظهر الوريد المركزي والخلايا الكبدية والجيبانيات وخلايا كوبفر بصورة طبيعية .



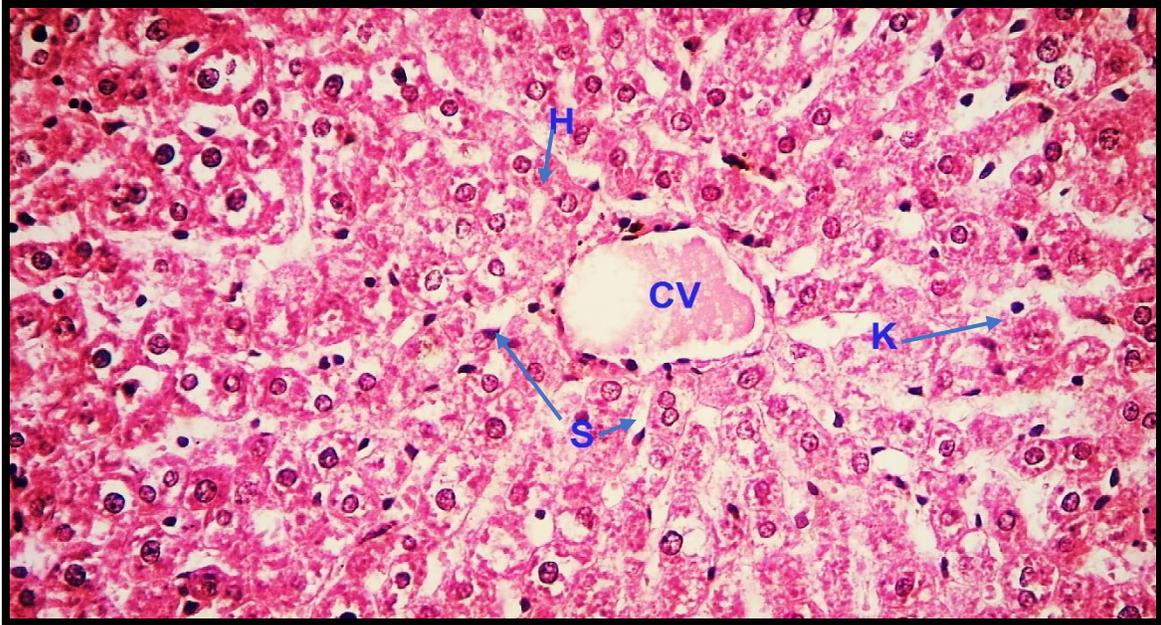
الصورة (1-4) تبين المظهر الخارجي للكبد لمجموعة السيطرة الطبيعية



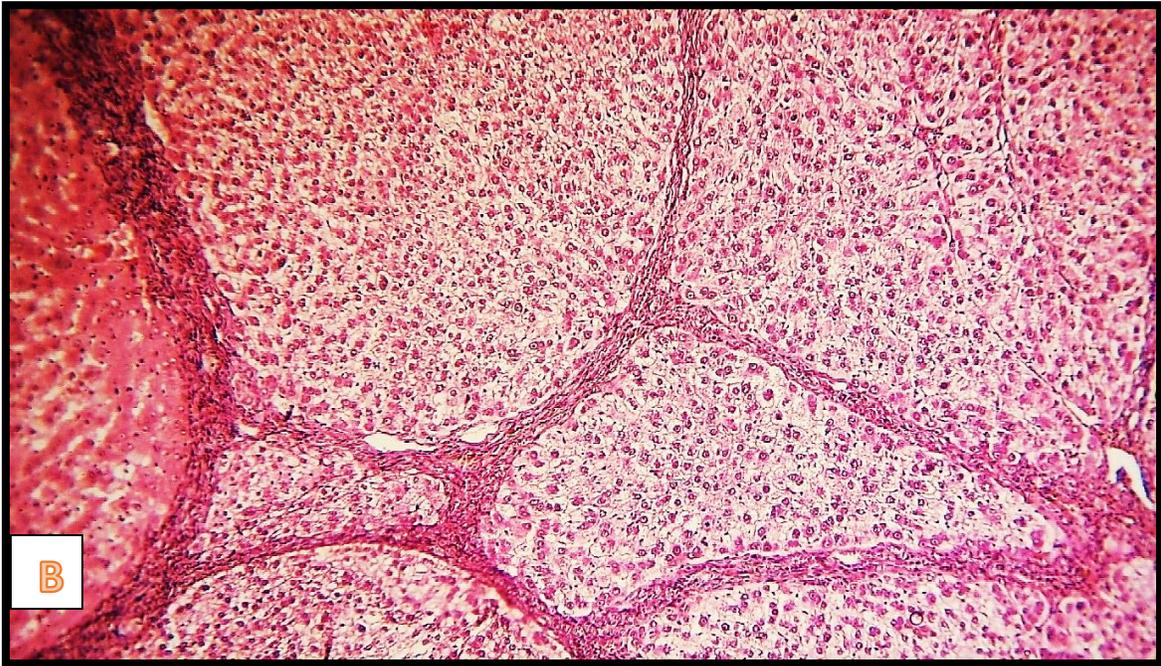
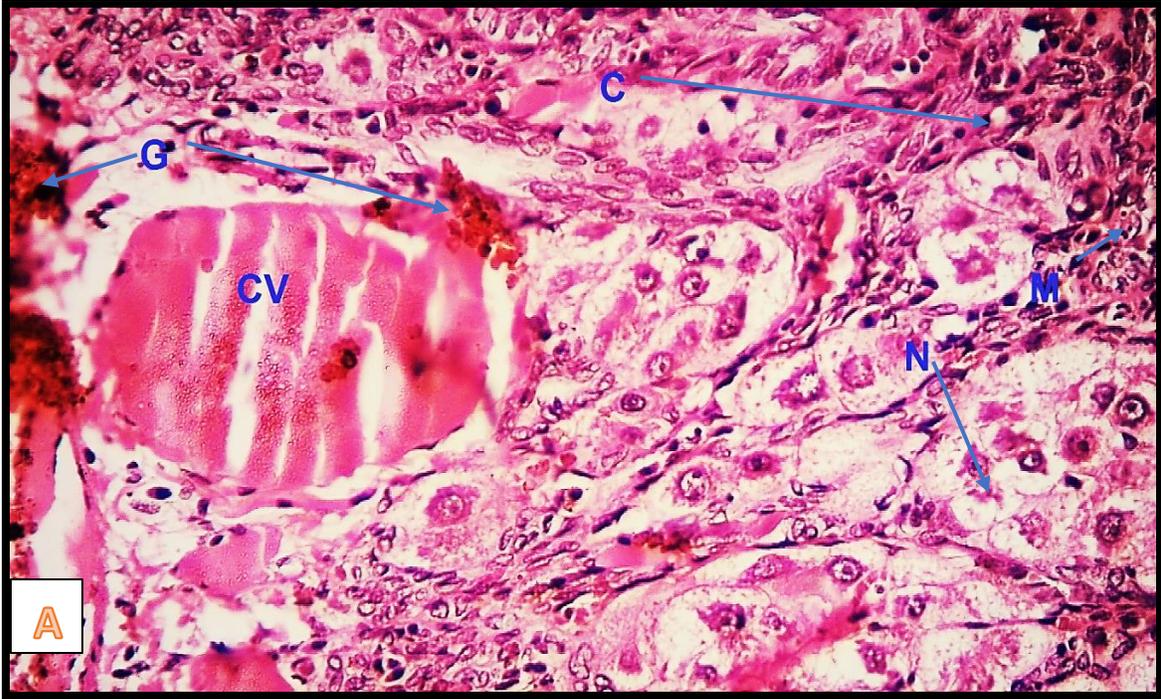
الصورة (2-4) تبين المظهر الخارجي للكبد لمجموعة السيطرة الموجبة المستحث بها سرطان الكبد



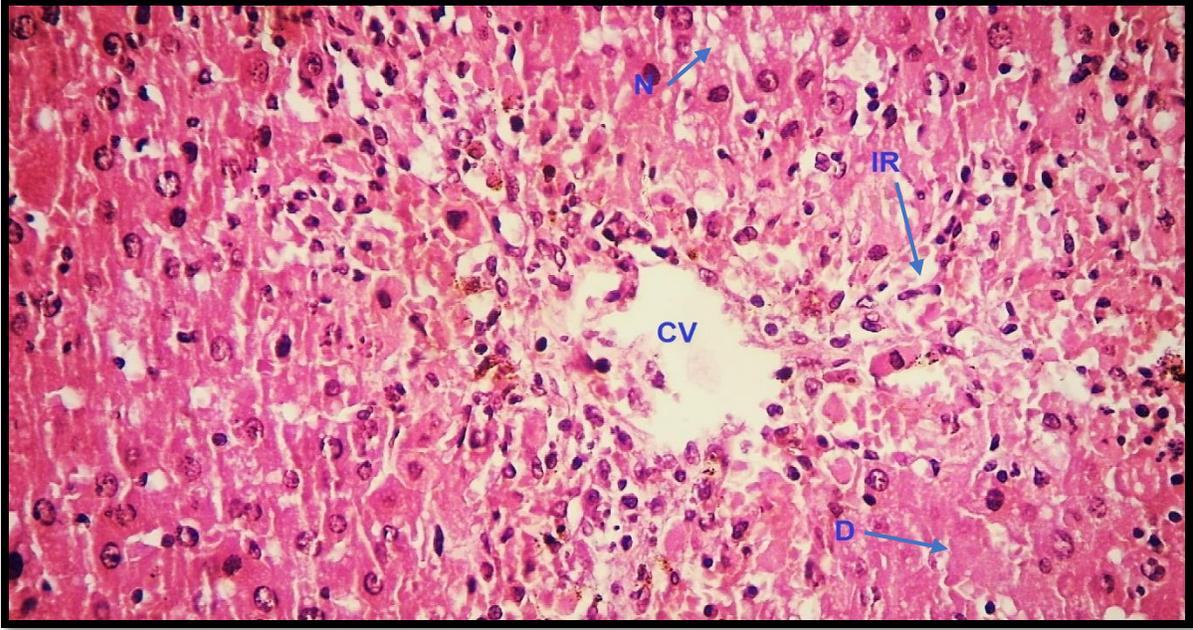
الصورة (3-4) مقطع عرضي في نسيج الكبد لمجموعة السيطرة موضح فيه الخلايا الكبدية (H) والوريد المركزي (CV) والجيبانيات (S) وخلايا كوبفر (K) (صبغة H&E قوة التكبير 400X).



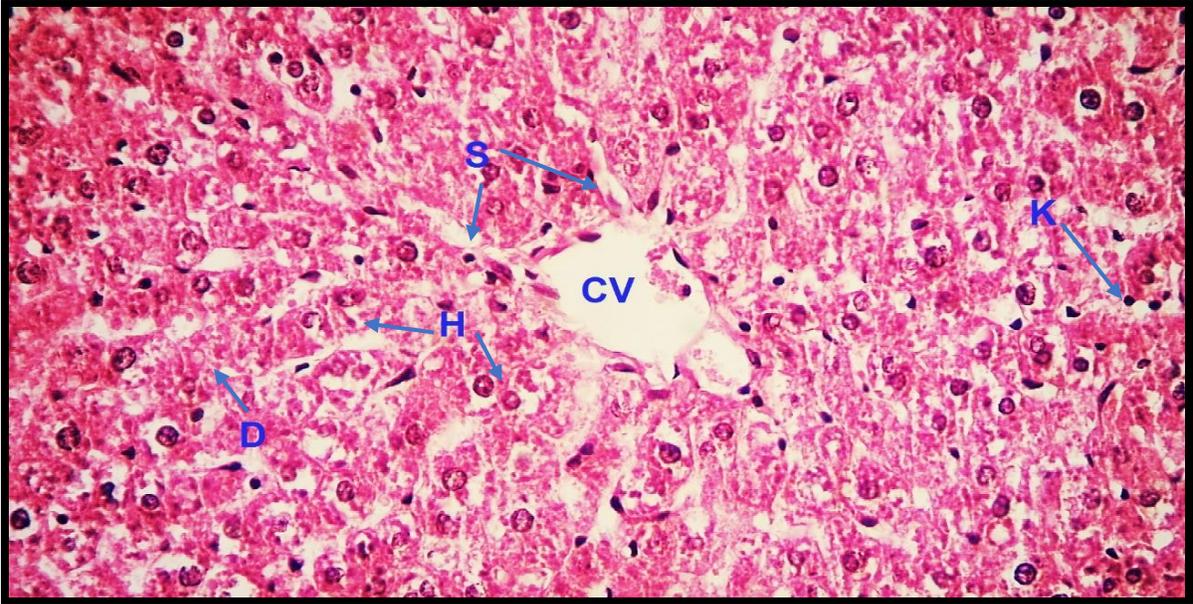
الصورة (4-4) مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة الثانية (مستخلص كحولي 100 ملغم/كغم) موضح فيه الخلايا الكبدية (H) والوريد المركزي (CV) والجيبانيات (S) وخلايا كوبفر (K) (صبغة H&E قوة التكبير 400X).



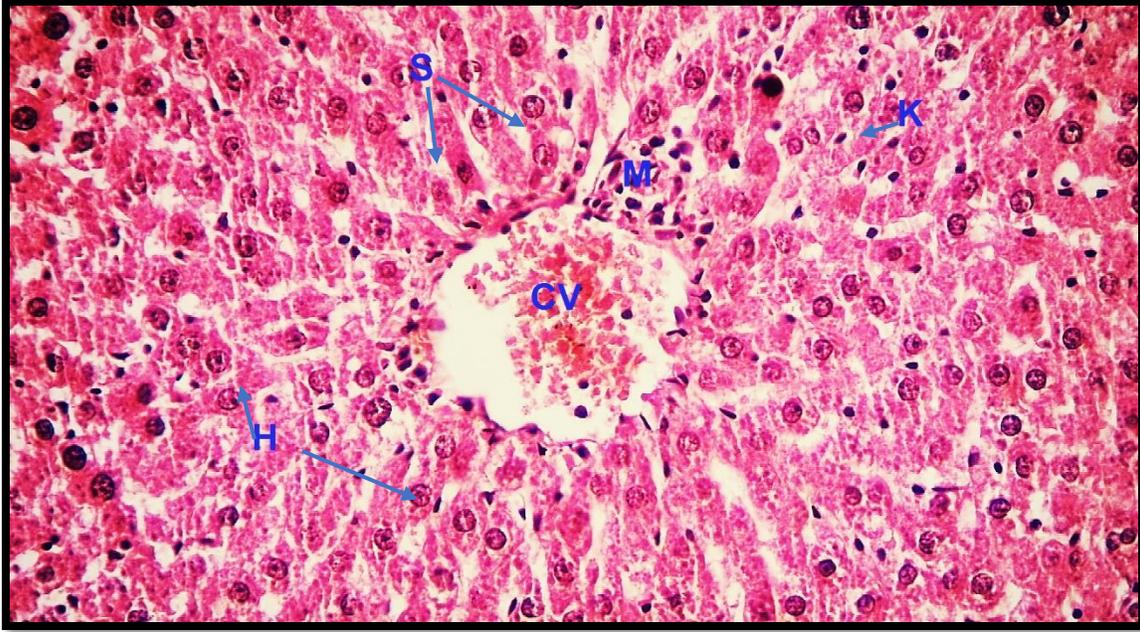
الصورة (5-4) مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة الثالثة (TAA 300mg/kg+ CCL<sub>4</sub>) (3mg/kg) موضح فيه وجود نزف (G) والوريد المركزي (CV) والخلايا الورمية (C) والخلايا الالتهابية (M) ووجود تنخر (N) (صبغة H&E قوة التكبير 400X=A , 100X=B).



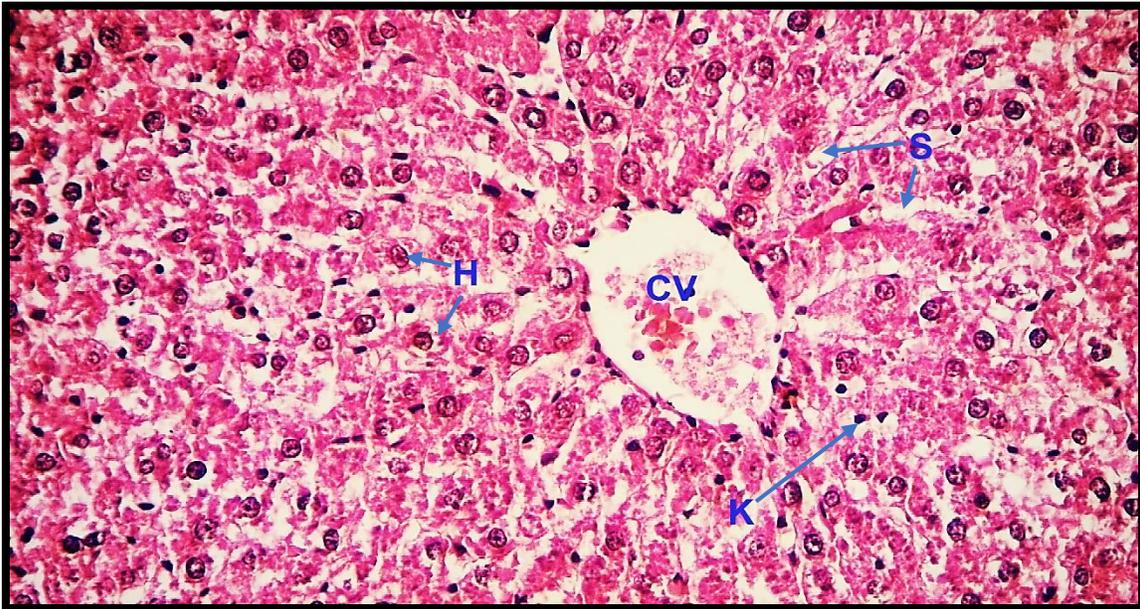
الصورة (4-6) مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة G4 مستخلص كحولي (100mg/kg) + (TAA 300mg/kg+ CCL<sub>4</sub> 3mg/kg) موضح فيه عدم انتظام الجيبانويات (IR) والوريد المركزي (CV) والخلايا متنكسة (D) و تنخر شديد (N) (صبغة H&E قوة التكبير 400X).



الصورة (4-7) مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة G5 مستخلص نانوي (20mg/kg) + (TAA 300mg/kg+ CCL<sub>4</sub> 3mg/kg) موضح فيه الخلايا الكبدية (H) والوريد المركزي (CV) والجيبانويات (S) وخلايا كوبفر (K) وتنكس في بعض الخلايا (D) (صبغة H&E قوة التكبير 400X).



الصورة (8-4) مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة G6 مستخلص نانوي (32mg/kg) + (TAA 300mg/kg+ CCL<sub>4</sub> 3mg/kg) موضح فيه الخلايا الكبدية (H) والوريد المركزي (CV) والجيبانيات (S) وخلايا كوبفر (K) مع وجود التهاب خفيف (M) (صبغة H&E قوة التكبير 400X).



الصورة (9-4) مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة G7 مستخلص نانوي (60mg/kg) + (TAA 300mg/kg+ CCL<sub>4</sub> 3mg/kg) موضح فيه الخلايا الكبدية (H) والوريد المركزي (CV) والجيبانيات (S) وخلايا كوبفر (K) (صبغة H&E قوة التكبير 400X).

بينت صور المقاطع النسجية إن استحداث سرطان الكبد بمادة ثيواستاميد (TAA) ورابع كلوريد الكربون (CCl<sub>4</sub>) قد سبب في حدوث تغيرات نسجية في نسيج الكبد وهذا يتفق مع نتائج دراسة Algardaby (2018). ثيواستاميد (TAA) هو مركب بلوري أبيض من الكبريت العضوي له تأثير ضار بالكبد ومسرطن عن طريق التسبب في تضخم الخلايا يتم استقلاب TAA إلى Thioacetamide-S-oxide وأسيتاميد فور إعطائه للفئران، يرتبط Thioacetamide-S-oxide بالجزيئات الكبيرة في الخلية المسؤولة عن التغيير في نفاذية الخلية وامتصاص الكالسيوم و يؤدي هذا الانقطاع في مخزون الكالسيوم إلى تضخم النوى ، وتثبيط نشاط الميتوكوندريا مما يؤدي في النهاية إلى نخر كبدي (Zargar *et al.*; 2017). ويسبب TAA نقص في الصفائح الدموية مع تراكم الثرموبلاستين والفيبرين في خلايا الكبد المحيطة بالمركز والتي قد تعكس انتقال الصفائح الدموية إلى موقع إصابة الكبد مما يسبب التندب والنخر والتسلل الالتهابي والتسلل الدهني في خلايا الكبد كذلك يسبب TAA تنشيط الخلايا الكبدية النجمية والتي تؤدي دوراً كبيراً في تليف الكبد ( Abdel-Bakky *et al.*; 2020). توجد الخلايا الكبدية النجمية في الفراغ المحيط بالحببيات الكبدية بطبيعتها الهائلة لكن الجذور الحرة توفر إشارات تنشيط *paracrine* التي تحفز تمايز الخلايا النجمية للكبد إلى خلايا تشبه الأرومة الليفية العضلية مما يتسبب في عدم توازن لتخليق المصفوفة خارج الخلايا *Extra Cellular Matrix (ECM)* وتدهورها وهذا يؤدي إلى استمرار عملية تليف الكبد وتطورها (Pulido-Hornedo *et al.*; 2022).

واتفقت النتائج الحالية مع دراسة Oke وجماعته (2019) والتي توصلت إلى إن CCl<sub>4</sub> يسبب تنخر في خلايا الكبد وقلة في أعدادها إضافة إلى تكوين حويصلات داخل سايتوبلازم خلايا الكبد وتنكس في الألياف الشبكية وتكون متقطعة وينخفض تكوينها وأيضاً تراكم ألياف الكولاجين في محيط المنطقة البوابية مع بعض ترسبات ألياف الكولاجين في محيط جدار الوريد المركزي. أما نتائج دراسة Elkhamesy وجماعته (2022) أكدت إن تعامل مع CCl<sub>4</sub> يظهر تسلل بؤري للخلايا الالتهابية وحيدة النواة مع وجود تجمعات للخلايا الكبدية وفجوات خالية من الخلايا . يعزز CCl<sub>4</sub> إفراز العديد من السيتوكينات الالتهابية ومستقبلاته تشكل جذور ثلاثي كلورو ميثيل وثلاثي كلورو ميثيل بيروكسيد وتكون هذه المنتجات الثانوية غير مستقر والتي بدورها ترتبط بالبروتين او الدهون ويسبب بيروكسيد الدهون مما يؤدي إلى تلف غشاء الخلية وهذا يساهم في إصابة الكبد وذلك يسبب استماتة خلايا الكبد (Yan *et al.* 2019).

سببت المعالجة بالمستخلص النانوي لأكسيد الزنك مع بذور الخرفيش وكذلك لمستخلص الكحولي للنبات إلى تحسن في نسيج الكبد وهذا يتفق مع ما توصلت إليه نتائج دراسة Khalili وجماعته (2021). يُظهر نبات الخرفيش خصائصه الواقية للكبد عن طريق ثلاث آليات رئيسية أولاً يعمل كمضاد للأكسدة وثانياً مضاد للالتهابات وثالثاً مادة مضادة للتليف وتُعزى الخصائص المضادة للالتهابات إلى قدرته على تنظيم السيتوكينات المسؤولة عن إحداث الالتهاب فقد ثبت أن النبات ينظم ويثبط التعبير عن COX-2 وهو وسيط رئيسي لمسارات الالتهاب (Achufusi & Patel, 2021). ويمكن أن يساهم سيليمارين في الدفاعات المضادة للأكسدة بطرق مختلفة منها الكسح المباشر للجذور الحرة وعن طريق منع تكوين الجذور الحرة وكذلك عن طريق تثبيط إنزيمات معينة مسؤولة عن إنتاج الجذور الحرة أو عن طريق الحفاظ على سلامة سلسلة نقل الإلكترون للميتوكوندريا في ظروف الإجهاد (Adetuyi *et al.*; 2021). وتعد مضادات الأكسدة الطبيعية التي تنتجها النباتات مستقبلات ثانوية للمستخلصات النباتية مثل الفينولات والفلافونويدات وتحتوي على خصائص مضادة للميكروبات ومضادة للفيروسات ومضادة للحساسية ومضادة للالتهابات ومضادة للطفرات ومضادة للسرطان ومضادة للشيخوخة وتشارك أيضاً في تجديد الأنسجة الكبدية التالفة (Javeed *et al.*; 2022). أما النشاط المضاد للتليف في سيليمارين يرجع في المقام الأول إلى قدرته على منع تحويل الخلايا النجمية الكبدية إلى أرومات ليفية عضلية عن طريق تثبيط المسارات الليفية مثل تكوين الهيكل الخلوي والكولاجين البروفايبرينوجيني وسلاسل نقل الإلكترون، فالسيليمارين ينظم نسخ TGF-β1 ويمنع العامل النووي (NF-kB)، ويمنع تحفيز الخلايا النجمية الكبدية إذ ثبت أن سيليمارين يبطل تقدم التليف المبكر (Tighe *et al.*; 2020).

#### 7.4: التغيرات في أقطار خلايا الكبد و الجيبانيات والوريد المركزي

أشارت نتائج الجدول (4-5) إلى وجود ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في أقطار خلايا الكبد ( $26.707 \pm 0.495$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $17.703 \pm 0.280$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $18.088 \pm 0.437$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما كان هنالك انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت

بالمستخلص النانوي (20mg, 32mg, 60mg) ( $24.178 \pm 0.704$ ) ( $23.857 \pm 0.992$ ) ( $19.021 \pm 0.495$ ) ( $19.120 \pm 0.704$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3، إذ بينت النتائج لا توجد هناك فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5, G4 وكذلك بين المجموعتين G7, G6 ولكن توجد فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين (G5, G4) و (G7, G6).

أظهرت نتائج الجدول (4-5) وجود ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في أقطار جيبانبات الكبد ( $23.381 \pm 0.786$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $13.156 \pm 0.465$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $14.260 \pm 0.870$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، وأيضاً كان هناك ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في G4 ( $22.567 \pm 0.951$ ) التي جرعت بالمستخلص الكحولي ولا يوجد بينها وبين المجموعة G3 فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ )، بينما كان هناك انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الثلاثة الأخرى G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (20mg, 32mg, 60mg) ( $18.951 \pm 0.378$ ) ( $15.643 \pm 0.677$ ) ( $15.259 \pm 0.639$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1، إذ بينت النتائج هناك فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين G5 و (G7, G6).

أظهرت نتائج الجدول (4-5) وجود ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في أقطار الوريد المركزي ( $116.942 \pm 1.973$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $72.118 \pm 0.984$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $73.352 \pm 0.904$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $p \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما كان هناك انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (20mg, 32mg, 60mg) ( $110.292 \pm 2.724$ ) ( $108.482 \pm 2.210$ ) ( $87.606 \pm 0.926$ ) ( $83.806 \pm 1.222$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1، إذ بينت النتائج لا توجد هناك فروق معنوية ( $p \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5, G4 وكذلك بين المجموعتين G7, G6 ولكن توجد فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين (G5, G4) و (G7, G6).

جدول رقم (4-5) تأثير المستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش على قياس اقطار خلايا الكبد والجيبانيات والوريد المركزي (ميكرومتر) في دم ذكور الجرذان البيض المستحث بها سرطان الكبد

اقطار الوريد المركزي (ميكرومتر)	اقطار الجيبانيات (ميكرومتر)	اقطار خلايا الكبد (ميكرومتر)	المعايير المعاملات
72.118 ±0.984 A	13.156 ±0.465 A	17.703 ±0.280 A	G1 مجموعة السيطرة
73.352 ±0.904 A	14.260 ±0.870 AD	18.088 ±0.437 A	G2 مجموعة المستخلص الكحولي (100mg/kg)
116.942±1.973 B	23.381 ±0.786 B	26.707 ±0.495 B	G3 مجموعة السيطرة الموجبة (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> ) (3mg/kg)
110.292±2.724 C	22.567 ±0.951 B	24.178 ±0.704 C	G4 مجموعة المستخلص كحولي + (100mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> ) (3mg/kg)
108.482±2.210 C	18.951 ±0.378 C	23.857 ±0.992 C	G5 مجموعة المستخلص نانوي + (5mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> ) (3mg/kg)
87.606 ±0.926 D	15.643 ±0.677 D	19.021 ±0.369 A	G6 مجموعة المستخلص نانوي + (8mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> ) (3mg/kg)
83.806 ±1.222 D	15.259 ±0.639 D	19.120 ±0.218 A	G7 مجموعة المستخلص نانوي + (15mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> ) (3mg/kg)
4.77	1.97	1.56	LSD

تمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي n=5  
الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية (p ≤ 0.05)

كشفت نتائج الدراسة الحالية إن استحداث سرطان الكبد بمادة ثيواستاميد (TAA) ورابع كلوريد الكربون ( $CCl_4$ ) قد سبب زيادة في اقطار خلايا الكبد والجيبانيات والوريد المركزي ، وهذا يتفق مع نتائج دراسة Abdelaal وجماعته (2019) التي اشارت إلى إن TAA يسبب توسع في الوريد المركزي ، إذ إن TAA هو مادة سامة كبدية قوية وعامل مسرطن في الفئران و إن تناول TAA بجرعة 100 مجم / كجم يسبب سمية كبدية و يعد الإجهاد التأكسدي المتزايد هو السبب الرئيسي للتسمم الكبدي الناجم عن TAA وأيضاً قد يتسبب التعرض المزمن لـ TAA في تليف الكبد في الفئران. ووجد إن  $CCl_4$  و TAA يؤثران على الخلايا البطانية التي لها أدواراً أساسية في الحفاظ على التوازن الكبدي ، بما في ذلك تنظيم توتر الاوعية الدموية والالتهاب والتخثر وهي ضرورية للسيطرة على الاستجابة المناعية الكبدية، وهذه الخلايا تشكل جدار للجيبانيات الكبدية و إصابة الكبد الحادة او المزمنة تؤثر على هذه الخلايا مما يؤدي إلى توسع الجيبانيات (Gracia-Sancho *et al.*; 2021). وتسبب مادة TAA تغيرات التهابية نخرية كبيرة في الخلايا الكبدية وتؤدي أيضاً إلى تسلسل خلوي التهابي كثيف مكون من الخلايا الليمفاوية الناضجة الصغيرة أظهرت الخلايا الكبدية زيادة في أحجامها أي تنكس منتفخ (Baraka *et al.*; 2020). وفي دراسة أجريت لبيان تأثير السلمارين ضد سمية  $CCl_4$  وجدت إن  $CCl_4$  يسبب انخفاض في وزن الجسم وزيادة في الوزن المطلق والنسبي للكبد وكان هناك زيادة في حجم خلايا الكبد وتراكم محتويات الدهون ونفاذ الكلايوجين وزيادة نشاط الفوسفاتيز القلوي وتراكم ألياف الكولاجين والخلايا الناعرة التي تتخللها الخلايا الليمفاوية (Rasheed *et al.*; 2017). وقد وجدت نتائج دراسة Goodarzi وجماعته (2018) إن  $CCl_4$  قد سبب زيادة في أحجام خلايا الكبد والجيبانيات والوريد المركزي. وأيضاً نتائج دراسة Naseri وجماعته (2019) أثبتت إن رابع كلوريد الكربون يسبب زيادة في حجم خلايا الكبد والجيبانيات إذ يزيد الإنتاج المكثف للجذور الحرة من حجم خلايا الكبد الجيبانيات مما يؤدي في النهاية إلى تضخم الكبد .

سببت المعالجة بالمستخلص الكحولي والنانوي لبذور نبات الخرفيش تحسن واضح في نسيج الكبد إذ اخفض حجم اقطار الخلايا الكبدية والجيبانيات والوريد المركزي وكان نسيج الكبد اقرب إلى الحالة الطبيعية في المجاميع التي جرعت بالمستخلص النانوي ، والفضل يعود للمركبات الفعالة الموجودة في النبات التي تمنع التأثيرات الضارة للكبد الناتجة من المواد السامة . إن المستخلص النباتي يمنع بيروكسيد الدهون وكذلك تقليل محتوى الكولاجين المتزايد في تلف الكبد المزمن الناجم عن المواد السامة ومنها رابع كلوريد الكربون (Adetuyi *et al.*; 2021). إن نبات الخرفيش يمنع تحول الخلايا

الكبدية النجمية إلى الخلايا الليفية العضلية مما يؤدي إلى استعادة وظائف الكبد الطبيعية وإنتاج الإنزيمات بالمستوى الطبيعي أما فيما يتعلق بنشاط مضادات الأكسدة والمضادة للالتهابات ترجع إلى قدرة النبات على كسح الجذور الحرة مثل أنواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) ومثبطات بيروكسيد الدهون فهو يعمل في الواقع عن طريق قمع الإشارات المؤيدة للالتهابات (Guerrini & Tedesco, 2023). وتحتوي بذور النبات على مركبات نشطة بيولوجياً أخرى مثل البيتين والأبيجينين والسيليبونول والبروتينات والزيوت الثابتة والأحماض الدهنية الحرة التي تؤدي دوراً جيداً في حماية أو علاج الكبد من الالتهابات ويمكن أن يمارس سيليمارين تأثيرات مفيدة على توازن بقاء الخلية وموت الخلايا المبرمج عن طريق التأثيرات المضادة للالتهابات ومضادات الأكسدة للوقاية من أمراض الكبد وعلاجها (Zaki et al.; 2019).

#### 8.4: التغيرات في نسبة تحطم الحامض النووي DNA

بينت نتائج الجدول (4-6) وجود انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في نسبة الـ DNA غير المتحطم ( $36.867 \pm 3.269$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $48.467 \pm 0.786$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $49.733 \pm 1.714$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $P \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، وأيضاً لا يوجد فرق معنوي ( $P \geq 0.05$ ) بين G4 ( $41.433 \pm 1.233$ ) التي جرعت بالمستخلص الكحولي مقارنة بالمجموعة G3، بينما كان هناك ارتفاع معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في نسبة الـ DNA غير المتحطم في المجاميع الثلاث الأخرى G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (20mg, 32mg, 60mg) ( $45.767 \pm 1.299$ ) ( $47.433 \pm 0.722$ ) ( $46.833 \pm 0.328$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3، إذ بينت النتائج عدم وجود فروق معنوية ( $P \geq 0.05$ ) بين المجاميع G5 و G6 و G7.

أشارت نتائج الجدول (4-6) وجود انخفاض معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في نسبة الـ DNA قليل التحطم ( $31.600 \pm 0.702$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $40.333 \pm 0.333$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $39.967 \pm 0.606$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $P \leq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما كان هناك ارتفاع معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في

نسبة الـ DNA قليل التحطم في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (60mg,32mg ,20mg) ( $36.267 \pm 0.371$ ) ( $37.933 \pm 1.035$ ) ( $40.933 \pm 0.581$ ) ( $40.267 \pm 3.092$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1 في المجموعتين G4 و G5، إذ بينت النتائج لا توجد هنالك فروق معنوية ( $P \geq 0.05$ ) بين المجموعتين G5, G4 وكذلك بين المجموعتين G7, G6 ولكن توجد فروق معنوية ( $P \leq 0.05$ ) بين (G5, G4) و (G7, G6).

اشارت نتائج الجدول (4-6) وجود ارتفاع معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في نسبة الـ DNA ذات تحطم متوسط ( $17.230 \pm 1.178$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $6.033 \pm 0.318$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $5.267 \pm 0.267$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $P \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما كان هنالك انخفاض معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في نسبة الـ DNA ذات تحطم متوسط في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (60mg,32mg ,20mg) ( $12.197 \pm 1.196$ ) ( $9.530 \pm 0.784$ ) ( $6.197 \pm 0.754$ ) ( $7.733 \pm 0.197$ ) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1 في المجموعتين G4 و G5 إذ بينت النتائج إن هنالك فروق معنوية ( $P \leq 0.05$ ) بين المجموعة G4 وبقية المجاميع كذلك بين المجموعتين G6, G5 ولكن لا توجد فروق معنوية ( $P \leq 0.05$ ) بين G7, G6.

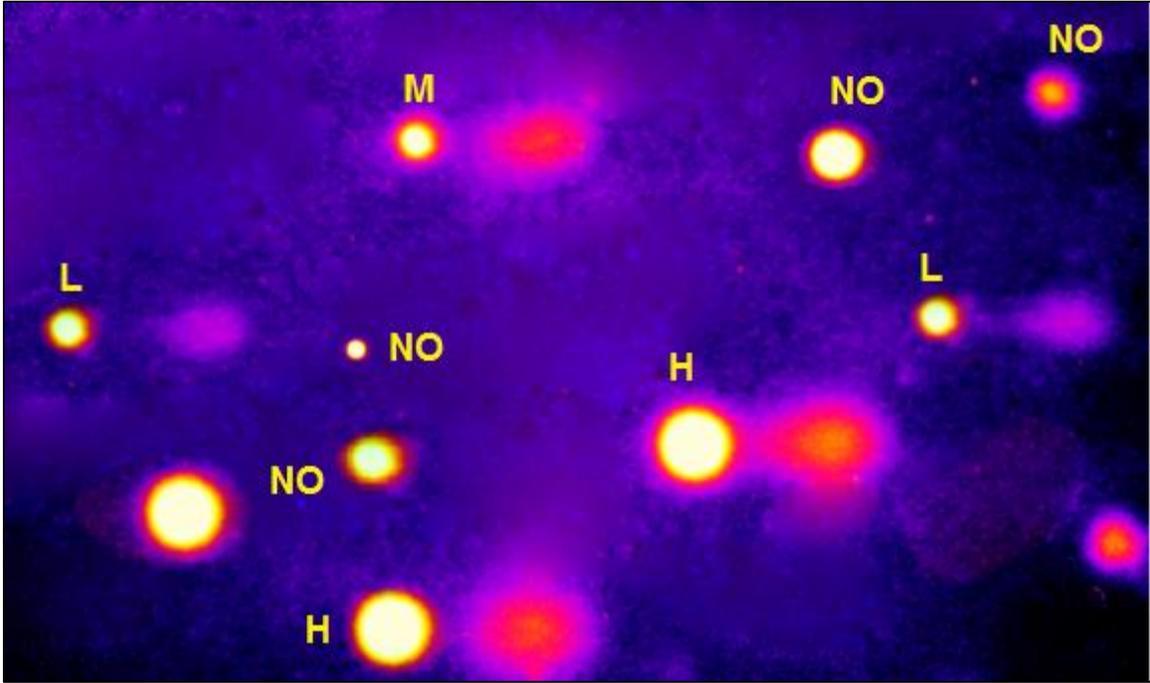
اشارت نتائج الجدول (4-6) وجود ارتفاع معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في نسبة الـ DNA ذات تحطم عالي ( $14.303 \pm 0.516$ ) في مجموعة السيطرة الموجبة G3 المستحدث فيها سرطان الكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة G1 ( $5.167 \pm 0.727$ ) التي لم تعطى أي مادة وكذلك مقارنة بمجموعة المستخلص G2 ( $5.033 \pm 0.579$ ) التي جرعت فموياً بالمستخلص الكحولي لنبات الخرفيش مع عدم وجود فرق معنوي ( $P \geq 0.05$ ) بين G1 و G2، بينما كان هنالك انخفاض معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في نسبة الـ DNA ذات تحطم عالي في المجاميع الأربعة الأخرى G4 التي جرعت بالمستخلص

الكحولي و G5 و G6 و G7 التي جرعت بالمستخلص النانوي (20mg, 32mg, 60mg) مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة G3 إلا إن هذا الانخفاض لم يصل إلى ما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة G1 في المجموعة G4 إذ بينت النتائج إن هنالك فروق معنوية ( $P \leq 0.05$ ) بين المجموعة G4 وبقية المجاميع ولكن لا توجد فروق معنوية ( $P \geq 0.05$ ) بين المجاميع G5, G6, G7.

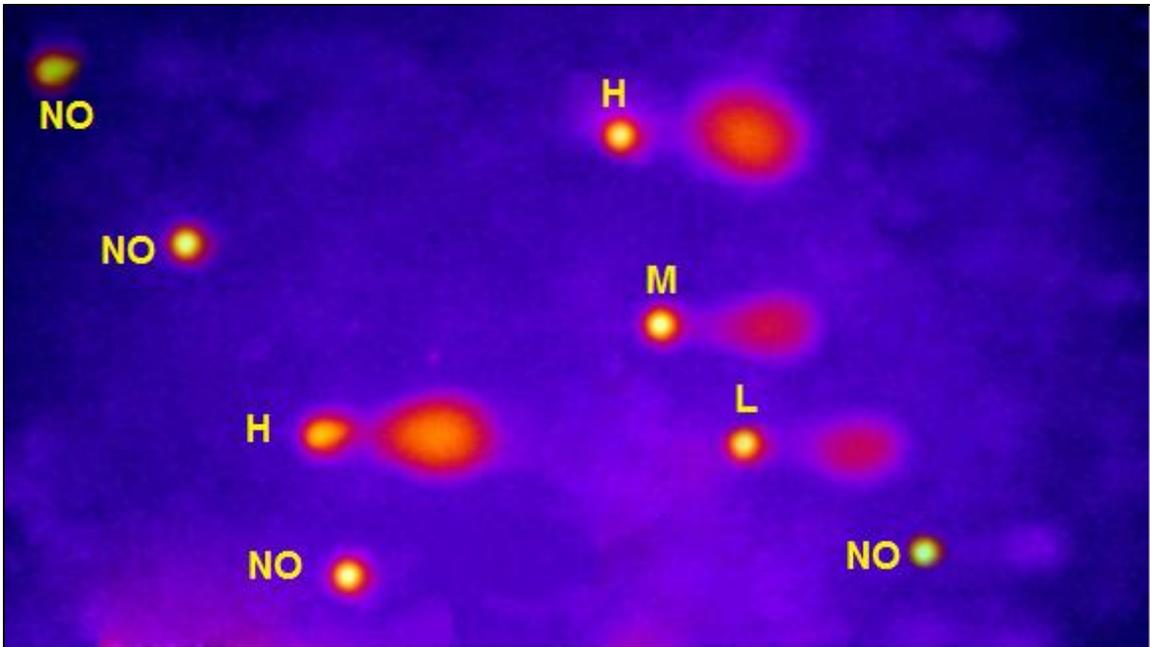
جدول رقم (4-2) تأثير المستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش على مستوى تحطم DNA (%) في خلايا كبد ذكور الجرذان البيض المستحث بها سرطان الكبد

المعايير المعاملات	غير متحطم (MEAN ± SE) %	تحطم قليل (MEAN ± SE) %	تحطم متوسط (MEAN ± SE) %	تحطم عالي (MEAN ± SE) %
G1 مجموعة السيطرة	48.467 ±0.786 A	40.333 ±0.333 A	6.033 ±0.318 A	5.167 ±0.727 A
G2 مجموعة المستخلص الكحولي (100mg/kg)	49.733 ±1.814 A	39.967 ±0.606 A	5.267 ±0.267 A	5.033 ±0.579 A
G3 مجموعة السيطرة الموجبة (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)	36.867 ±3.269 B	31.600 ±0.702 B	17.230 ±1.178 B	14.3030 ±0.516 B
G4 مجموعة المستخلص كحولي + (100mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)	41.433 ±1.383 B	36.267 ±0.371 C	12.197 ±1.196 C	10.103 ±0.669 C
G5 مجموعة المستخلص نانوي + (20mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)	45.767 ±1.299 AB	37.933 ±1.035 C	9.530 ±0.784 D	6.770 ±0.622 A
G6 مجموعة المستخلص نانوي + (32mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)	47.433 ±0.722 A	40.933 ±0.581 A	6.197 ±0.754 A	5.437 ±0.724 A
G7 مجموعة المستخلص نانوي + (60mg/kg) (TAA 300mg/kg+ CCL <sub>4</sub> 3mg/kg)	46.833 ±0.328 A	40.267 ±0.371 A	7.733 ±0.197 AD	5.167 ±0.727 A
LSD	4.67	1.61	2.03	1.79

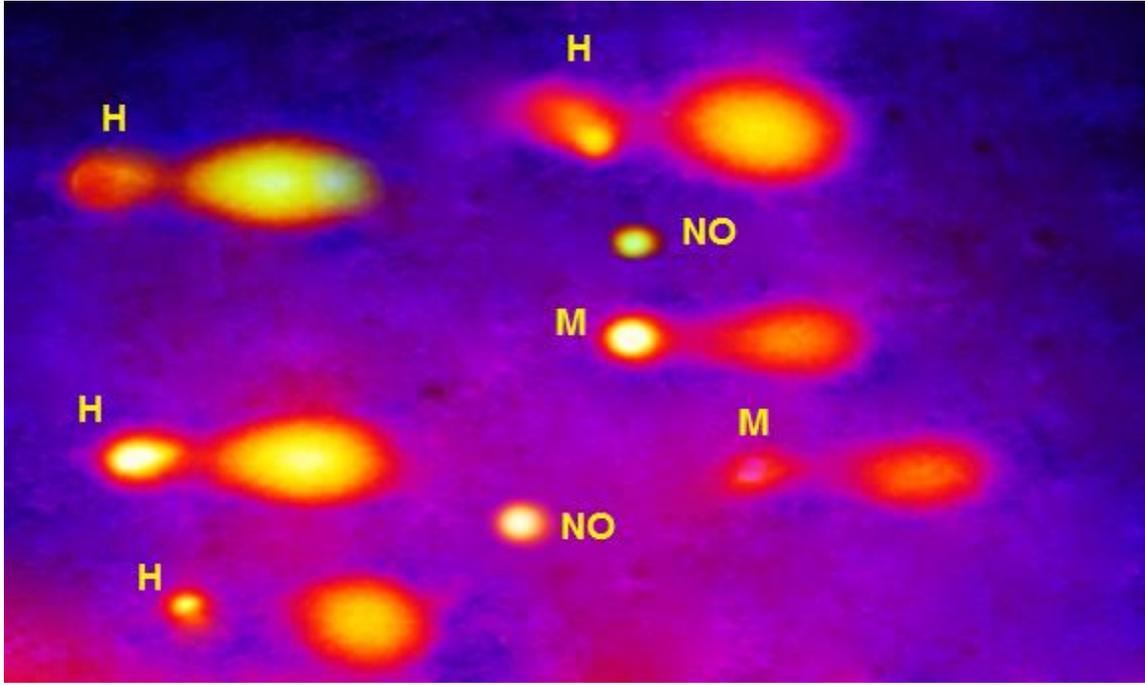
تمثل القيم المعدل ± الخطأ القياسي n=5 الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية ( $P \leq 0.05$ )



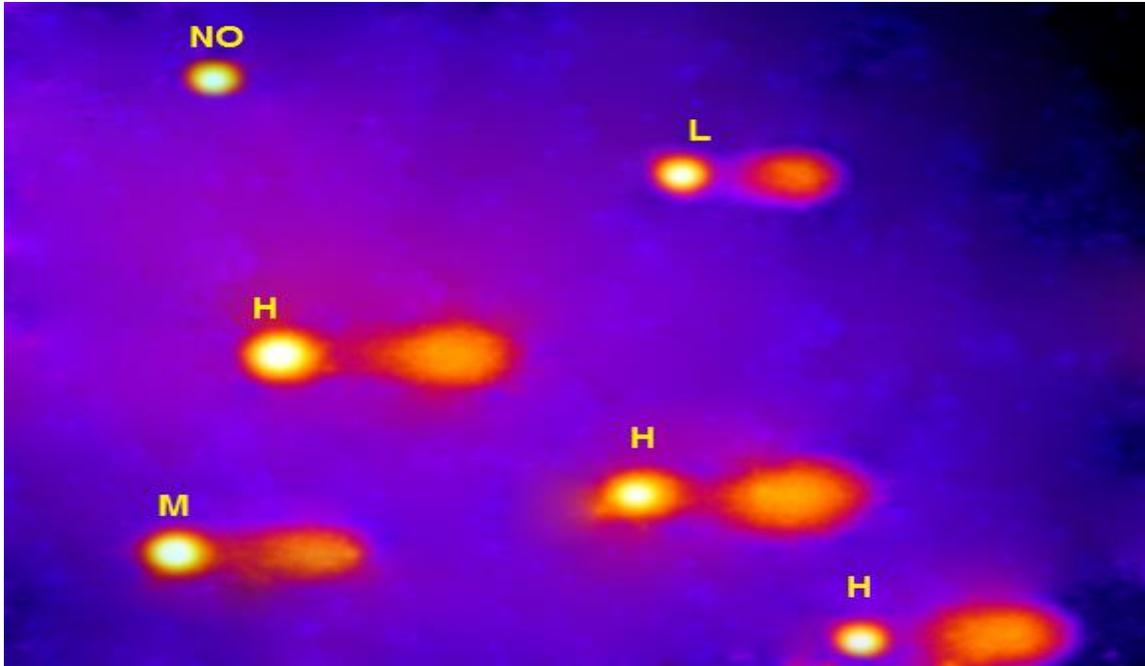
صورة (4-10) تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة السيطرة G1 (NO) خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات حطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .



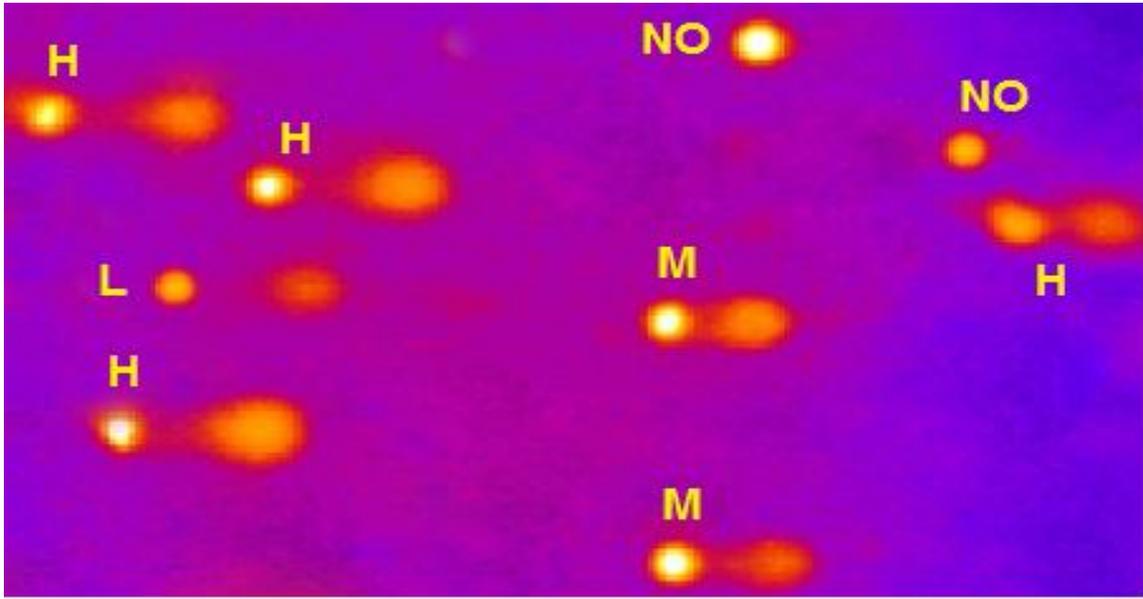
صورة (4-11) تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة المستخلص G2، (NO) خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .



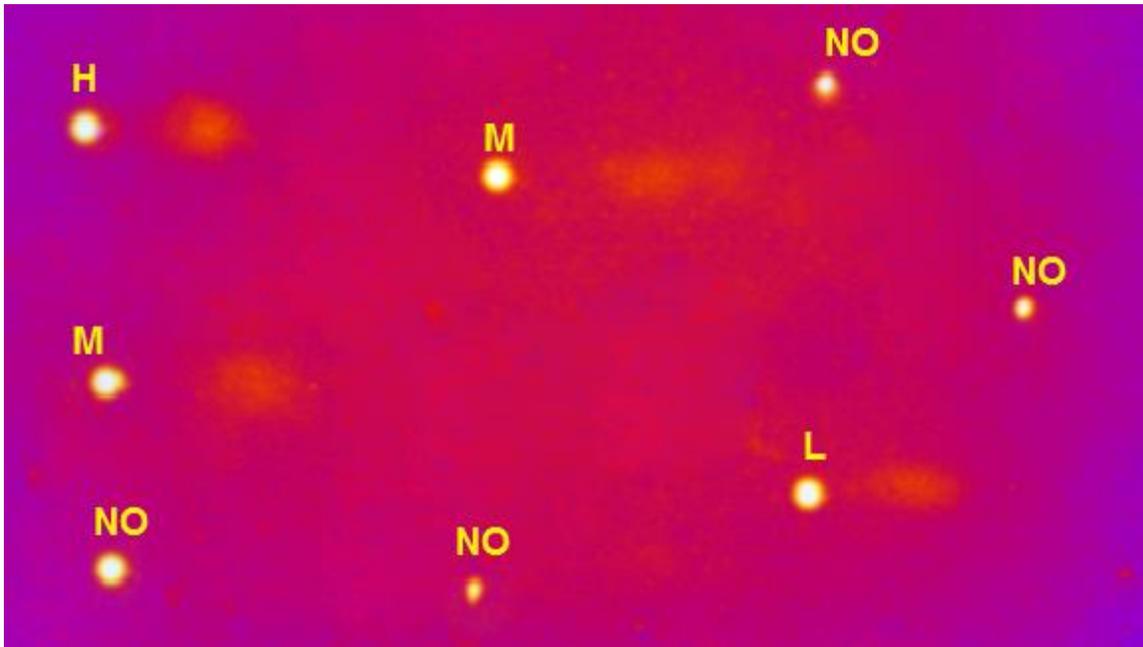
صورة (12-4) تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة السيطرة الموجبة G3 (NO) خلايا عديمة التحطم (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .



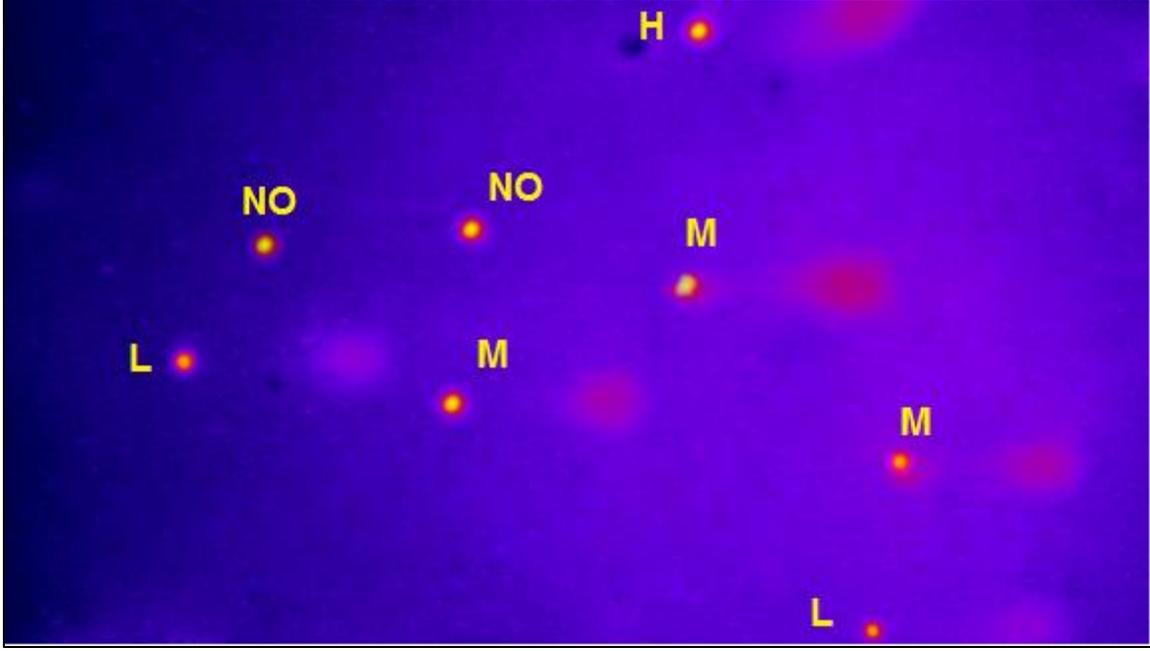
صورة (13-4) تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة المستخلص كحولي (100mg/kg) + خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم عالي .



صورة (4-14) تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة المستخلص النانوي (20mg/kg) + خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي . خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم (NO) خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .



صورة (4-15) تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة المستخلص النانوي (32mg/kg) + خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي . خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم (NO) خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات تحطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .



صورة (4-16) تظهر نسبة تحطم DNA لمجموعة المستخلص النانوي (60mg/kg) + G7 (TAA 300mg/kg+ CCL<sub>4</sub> 3mg/kg) خلايا عديمة التحطم (L) خلايا ذات حطم قليل (M) خلايا ذات تحطم متوسط (H) خلايا ذات تحطم عالي .

بينت النتائج الحالية إن استحثاث سرطان الكبد بواسطة الثيوأسيتاميد TAA ورابع كلوريد الكربون CCl<sub>4</sub> قد سبب ارتفاعاً في نسبة تحطم الحامض النووي DNA في المجموعة G3 وهذه النتيجة اتفقت مع دراسة Zargar وجماعته (2019) التي اوضحت إن TAA سبب تلف في الحامض النووي DNA فهو مادة مسرطنة من النوع B2 و مادة سامة قوية، أما السمية التي يسببها هذا المركب في الأنسجة المختلفة بسبب الإجهاد التأكسدي وزيادة علامات الالتهاب وموت الخلايا المبرمج . وفي دراسة أخرى لـ Wei وجماعته (2018) التي اشارت الى تكون الجذور الحرة تؤدي إلى إصابة الميتوكوندريا وحتى موت خلايا الكبد إذ يدخل البيليروبين في خلايا الكبد الميتة إلى الدم وظهور أعراض اليرقان في الفئران كما يتضح من المستويات العالية المتسقة بوضوح من Deoxycytidine العلامة الحيوية لمتلازمة اليرقان. و Deoxycytidine هو تركيبة من الحامض النووي وبالتالي فإن زيادته المستمرة تشير إلى تلف الحامض النووي في الفئران والذي لوحظ أيضاً في سمية أكاسيد ومستقلبات الثيوأسيتاميد (Lozano et al.; 2014).

واتفقت النتائج الحالية مع دراسة Pegoraro وجماعته (2021) التي اوضحت أن رابع كلوريد الكربون يتحلل بواسطة متماتلات الأنزيمات الميكروسومية الكبدي P450 عن طريق إزالة الهالوجين المختزلة في الشبكة الإندوبلازمية للخلايا الكبدية مما يؤدي إلى إنتاج الجذور الحرة غير المستقرة ثلاثي كلورو ميثيل وثلاثي كلورو ميثيل بيروكسيل مما يسبب بأكسدة دهون الغشاء ونضوب حالة مضادات الأكسدة وتلف الحامض النووي. يتم تنشيط  $CCl_4$  حيويًا لجذر ثلاثي كلورو ميثيل شديد التفاعل  $-CCL_3$ ، وثنائي كلورو ميثيل  $-CHCl_2$ ، هذان الجذران الحران متفاعلان للغاية ويمكنهما الارتباط بالجزيئات الكبيرة مثل الأحماض النووية والبروتينات والدهون فضلاً عن ذلك تغير الجذور الحرة بنية ووظيفة الأغشية الخلوية وداخل الخلايا والتي تنتج سمية كبدية وسمية جينية التي تسبب طفرات (Mosallam, 2022).

اوضحت النتائج الحالية إن التأثير الوقائي للمستخلص الكحولي والنانوي لنبات الخرفيش قد سبب في انخفاض نسبة تحطم الحامض النووي DNA وهذا يتفق مع دراسة Webster وجماعته (2018) والتي بينت إن السلمارين الموجود في نبات الخرفيش يمنع تحطم الحامض النووي DNA عن طريق منع المواد السامة من الدخول إلى خلايا الكبد وكذلك يثبط انزيم lipoxigenase الذي يدمر خلايا الكبد ، كذلك السلمارين يزيد من مضادات الأكسدة في الجسم. ويمكن تقدير الآليات الفسيولوجية الكامنة وراء التأثير الملحوظ عن طريق النظر في طبيعة المواد الكيميائية النباتية الواقية للخلايا التي ينتجها النبات وأشهر مركب نشط بيولوجيًا في الخرفيش هو السيليبينين وهو بوليفينول ينتجه النبات يتمتع بخصائص قوية لحماية الكبد ومضادة للاورام ويحتوي الخرفيش أيضاً على مادة البوليفينول المرتبطة بهيكلية والتي تسمى (فلافونوليجنان) وتشمل سيليديانين وسيليكريستين و إيزوسيليكريستين وسيليبينينات وإيزوسيليبينين أما تاكسيفولين فهو فلافونويد قوي للغاية (Kalantari et al.; 2019). ويؤدي السلمارين ومشتقاته دور مضاد لسرطان الكبد عن طريق تنظيم دورة الخلية وتثبيط تكاثر الخلايا عن طريق تثبيط تراكم بيتا كاتينين وتحفيز موت الخلايا المبرمج وأضعاف التكاثر الكبدي والتنظيم الأعلى لموت الخلايا المبرمج بوساطة Bax و p53 ومنع تلف DNA خلايا الكبد (Antika & Dewi, 2021). وفي دراسة Borges وجماعته (2018) لاستكشاف دور السلمارين في تنظيم التعبير الجيني وجدت الدراسة إن السلمارين مارس أنشطة سامة للمستضدات وضبط التعبير عن الجينات المتعلقة بحماية الخلية من تلف الحامض النووي وتنظيم التعبير عن PTEN و BCL2 ، وتقليل التعبير عن BAX و ABL1 .

الاستنتاجات  
والتوصيات

**Conclusions  
and  
Recommendations**

## Conclusions and Recommendations

## الاستنتاجات والتوصيات

## Conclusions

- 1- تحتوي بذور نبات الخرفيش على الكثير من المركبات الفعالة التي لها دور وقائي ضد المواد السامة للجسم وكان المستخلص النانوي لبذور النبات أكثر فعالية من المستخلص الكحولي في وقاية الكبد.
- 2- كان المركب الفعال Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- أكثر المركبات الفعالة الطيارة تواجداً في المستخلص .
- 3- إن استحثاث سرطان الكبد أدى الى ظهور تغيرات كبيرة في الحامض النووي DNA وتفي مستوى انزيمات الكبد والالبومين والكلوبيولين والبروتين الكلي ومضادات الاكسدة وكذلك أحدث تغيرات في نسيج الكبد .
- 4- إن مستخلصات نبات الخرفيش الكحولية والنانوية كان لها دور وقائياً كبيراً على الحامض النووي DNA وانزيمات الكبد والالبومين والكلوبيولين والبروتين الكلي ومضادات الاكسدة وكذلك لها تأثير وقائي على نسيج الكبد .

**التوصيات Recommendations**

- 1- تصنيع جسيمات نانوية أخرى كالفضة والذهب والنحاس وغيرها من مستخلصات نبات الخرفيش ودراستها على الأمراض المختلفة
- 2- دراسة فعالية السلبيين على المرضى المصابين بفقر الدم .
- 3- دراسة تأثير مستخلصات الخرفيش في معالجة الأمراض الجلدية .
- 4- دراسة تأثير المستخلص النانوي على جينات الموت المبرمج.
- 5- دراسة التأثير الوقائي والعلاجي لمستخلصات الخرفيش على الجهاز التكاثري .
- 6- فصل ودراسة المركبات الفعالة في اجزاء النبات (الاوراق ، الازهار ، الجذور) اختبار فعاليتها الوقائية ضد السرطان
- 7- دراسة أجزاء مختلفة من النبات ومعرفة المركبات الفعالة الموجودة فيها مع فصل لمادة السلمارين التي تعد المادة الفعالة الرئيسية في النبات .
- 8- زيادة الوعي والتثقيف الصحي بضرورة الاعتماد على النباتات الطبية كمكمل غذائي لعلاج مشاكل الكبد كونها متوفرة ورخيصة وليس لها آثار جانبية .
- 9- دراسة تأثير الجسيمات النانوية لنبات الخرفيش على جينات اصلاح ال-DNA وجينات دورة الخلية.

المصادر

**References**

المصادر العربية

- الحسن، احمد ابراهيم محمود (2019). معالجة موضوعات السرطان في الصحف الاردنية اليومية : دراسة تحليلية . رسالة ماجستير. كلية الاعلام – جامعة اليرموك – الاردن .
- الحورى، أحمد حسن طه، محمد، إيمان بهاء الدين بكرى، بابكر، خواطر عبدالرحمن عمر & ... , زاهر إبراهيم محمد. (2017). أهمية الأشعة السينية لعلاج السرطان . اطروحة دكتوراه- جامعة السودان للعلوم و التكنولوجيا.
- كرسوع، مريم عيسى حسين (2012). مرض السرطان في قطاع غزة. رسالة ماجستير. كلية الآداب- الجامعة الاسلامية – غزة – فلسطين.
- فتحي ، عبد الفتاح محمد (2012). مرض السرطان من منظور طبي – اجتماعي دراسة اجتماعية تحليلية . مجلة ابحاث كلية التربية الأساسية ، المجلد 12 (1).

المصادر الاجنبية

- Abbasi, B. H.; Shah, M.; Hashmi, S. S.; Nazir, M.; Naz, S.; Ahmad, W.; Khan, I. U.; & Hano, C. (2019). Green bio-assisted synthesis, characterization and biological evaluation of biocompatible ZnO NPs synthesized from different tissues of milk thistle (*Silybum marianum*). *Nanomaterials*, 9(8), 1171.
- Abbaszadeh, S.; Andevvari, A. N.; Koochpayeh, A.; Naghdi, N.; Alizadeh, M.; Beyranvand, F.; & Harsej, Z. (2018). Folklore medicinal plants used in liver disease: A review. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 12(03).
- Abd-Elrahman, N. M.; Farid, A. S.; & Fararh, K. M. (2014). Effect of gentamicin and thioacetamide toxicity on serum proteins. *Benha Veterinary Medical Journal*, 27 (2), 456-465.

- Abd Elalal, N. S.; Elsemelawy, S. A.; & Elhassaneen, Y. A. (2022). Potential Effects of Wild Milk Thistle (*Silybum marianum* L.) Seed Extract Intervention on Oxidative Stress Induced by Busulfan Drug in Different Organs of Rats. *International Journal of Healthcare and Medical Sciences*, 8(3), 19–34. <https://doi.org/https://doi.org/10.32861/ijhms>. 83. 19.34
- Abdel-Bakky, M. S.; Helal, G. K.; El-Sayed, E. M.; Alhowail, A. H.; Mansour, A. M.; Alharbi, K. S.; Amin, E.; Allam, S.; Salama, S. A.; & Saad, A. S. (2020). Silencing of tissue factor by antisense deoxyoligonucleotide mitigates thioacetamide-induced liver injury. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393(10), 1887–1898.
- Abdelaal, S.; E Mousa, H. S.; & Ahmed, S. M. (2019). Effect of Silymarin versus Silymarin and green coffee extract on Thioacetamide induced liver injury in adult male albino rats (histological and Immunohistochemical study). *Egyptian Journal of Histology*, 42(1), 133–146.
- Abou Seif, H. S. (2016). Physiological changes due to hepatotoxicity and the protective role of some medicinal plants. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(2), 134–146.
- AbouZid, S. F.; Chen, S.-N.; McAlpine, J. B.; Friesen, J. B.; & Pauli, G. F. (2016). *Silybum marianum* pericarp yields enhanced silymarin products. *Fitoterapia*, 112, 136–143.

- Acher, A. W.; Paro, A.; Elfadaly, A.; Tsilimigras, D.; & Pawlik, T. M. (2021). Intrahepatic cholangiocarcinoma: a summative review of biomarkers and targeted therapies. *Cancers*, 13(20), 5169.
- Achufusi, T. G. O.; & Patel, R. K. (2021). Milk Thistle. In StatPearls [Internet]. *StatPearls Publishing*.
- Adetuyi, B. O.; Omolabi, F. K.; Olajide, P. A.; & Oloke, J. K. (2021). Pharmacological, biochemical and therapeutic potential of milk thistle (silymarin): a review. *World News of Natural Sciences*, 37, 75–91.
- Agarwal, H.; Nakara, A.; Menon, S.; & Shanmugam, V. (2019). Eco-friendly synthesis of zinc oxide nanoparticles using Cinnamomum Tamala leaf extract and its promising effect towards the antibacterial activity. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101212.
- Ahmadi Shadmehri, A.; & Namvar, F. (2020). A Review on Green Synthesis, Cytotoxicity Mechanism and Antibacterial Activity of ZnO-NPs. *Journal of Research in Applied and Basic Medical Sciences*, 6(1), 23–31.
- Ahrabi, S. S.; & Advisor, T. (2018). Fractional Model of Cancer Immunotherapy and its Optimal Control for a PhD thesis. May.
- Akhtar, T.; & Sheikh, N. (2013). An overview of thioacetamide-induced hepatotoxicity. *Toxin Reviews*, 32(3), 43–46.
- Al-Dulaimi, F. H. (2022). Morphological and chemical study with geographical distribution of silymarin sp.(asteraceae) in iraq. Web of Scientist: *International Scientific Research Journal*, 3(8), 393–404.

- Alassi, S. B.; & Allaw, A. A. (2020). Effect of adding of the milk thistle (*Silybum marianum*) seed powder in the traits of biochemical blood of the quail. *Plant. Arch*, 20(1), 962–964.
- Aldujaily, E.; Duabil, A.; Abbas Zwain, K. M.; Fatlawi, H. K.; Al-Behadili, A.; saabery, E. Al, Alwaaely, Y. A.; Joboury, S. Al, Qassid, O. L.; & Kelabi, L. Al. (2020). Pattern and distribution of cancers in areas of Iraq exposed to Depleted Uranium. *MedRxiv*, 2020.04.10.20060475. <https://doi.org/10.1101/2020.04.10.20060475>
- Algandaby, M. M. (2018). Antifibrotic effects of crocin on thioacetamide-induced liver fibrosis in mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(4), 747–754.
- Alkinani, K. B.; Ali, E. M. M.; Al-Shaikh, T. M.; Awlia Khan, J. A.; Al-naomasi, T. M.; Ali, S. S.; Abduljawad, A. A.; Mosa, O. F.; & Zafar, T. A. (2021). Hepatoprotective Effects of (–) Epicatechin in CCl<sub>4</sub>-Induced Toxicity Model Are Mediated via Modulation of Oxidative Stress Markers in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 4655150. <https://doi.org/10.1155/2021/4655150>
- Alqahtani, A.; Khan, Z.; Alloghbi, A.; S. Said Ahmed, T.; Ashraf, M.; & M. Hammouda, D. (2019). Hepatocellular Carcinoma: Molecular Mechanisms and Targeted Therapies. *Medicina*, 55(9). <https://doi.org/10.3390/medicina55090526>
- Antika, L. D.; & Dewi, R. M. (2021). The Pharmacological Properties of Silymarin and Its Constituents. *Natural Product Sciences*, 27(2), 68–77.

- Anwer, M. I.; & Baker, L. A. A. (2021). Effect of *Annona Muricata* Extracts on Some Biochemical Parameters in Rats Exposed to Induced Liver Tumor. *Journal of education and science*, 30(1), 72–88.
- Awasthi, R.; Roseblade, A.; Hansbro, P. M.; Rathbone, M. J.; Dua, K.; & Bebawy, M. (2018). Nanoparticles in cancer treatment: opportunities and obstacles. *Current Drug Targets*, 19(14), 1696–1709.
- Azizi, A. A.; Hadjinicolaou, A. V, Goncalves, C.; Duckworth, A.; & Basu, B. (2020). Update on the genetics of and systemic therapy options for combined hepatocellular cholangiocarcinoma. *Frontiers in Oncology*, 10, 1938.
- Bahmani, M.; Shirzad, H.; Rafieian, S.; & Rafieian-Kopaei, M. (2015). *Silybum marianum*: beyond hepatoprotection. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 20(4), 292–301.
- Balamurugan, K.; Sathya, B.; & Anbazhagan, S. (2021). Enhanced antidepressant-like activity of Diosgenin and Silymarin in combination on phenobarbitone-induced sleeping time in rats. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(3), 1635–1638.
- Baraka, S. M.; Saleh, D. O.; Ghaly, N. S.; Melek, F. R.; Gamal el Din, A. A.; Khalil, W. K. B.; Said, M. M.; & Medhat, A. M. (2020). Flavonoids from *Barnebydendron riedelii* leaf extract mitigate thioacetamide-induced hepatic encephalopathy in rats: The interplay of NF- $\kappa$ B/IL-6 and Nrf2/HO-1 signaling pathways. *Bioorganic Chemistry*, 105, 104444. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104444>

- Bashi, A. M.; Hussein, M. Z.; Zainal, Z.; & Tichit, D. (2013). Synthesis and controlled release properties of 2, 4-dichlorophenoxy acetate–zinc layered hydroxide nanohybrid. *Journal of Solid State Chemistry*, 203, 19–24.
- Bayda, S.; Adeel, M.; Tuccinardi, T.; Cordani, M.; & Rizzolio, F. (2019). The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112.
- Bayrak, E. A.; Kırıcı, P.; & Ensari, T. (2019). Comparison of machine learning methods for breast cancer diagnosis. 2019 Scientific Meeting on Electrical-Electronics & Biomedical Engineering and Computer Science (*EBBT*), 1–3.
- Belfield, A.; & Golderg, G. M. (1971). Revised assay for serum phenyl phosphatase activity using 4-amino-antipyrine-Enzyme. 12, 561–573.
- Bergmeyer, H. U.; Herder, M.; & Ref, R. (1986). International federation of clinical chemistry (IFCC). *J. clin. Chem. clin. Biochem*, 24(7), 497-510.
- Bhattacharya, S. (2020). Milk thistle seeds in health. *In Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention* : 429–438. Elsevier.
- Bisteau, X.; Caldez, M. J.; & Kaldis, P. (2014). The Complex Relationship between Liver Cancer and the Cell Cycle: *A Story of Multiple Regulations. Cancers*, 6(1), 79-111. <https://doi.org/10.3390/cancers6010079>

- Blechacz, B. (2017). Cholangiocarcinoma: Current Knowledge and New Developments. *Gut and Liver*, 11(1), 13–26. <https://doi.org/10.5009/gnl15568>
- Blüher, M. (2020). Metabolically healthy obesity. *Endocrine Reviews*, 41(3), bnaa004.
- Bobbu, P.; Netala, V. R.; Aishwarya, S.; Reddy, I. R. M.; Kotakadi, V. S.; & Tartte, V. (2016). Rapid synthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Achyranthes aspera* and study of their antimicrobial and free radical scavenging activities. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(5), 341–346.
- Borges, F. F. V.; e Silva, C. R.; Goes, W. M.; Godoy, F. R.; Franco, F. C.; Vêras, J. H.; Bailão, E. F. L. C.; e Silva, D. de M.; Cardoso, C. G.; & da Cruz, A. D. (2018). Protective Effects of Silymarin and Silibinin against DNA Damage in Human Blood Cells. *BioMed Research International*, 2018, 6056948. <https://doi.org/10.1155/2018/6056948>
- Boshy, M.; Abdelhamidb, F.; Richab, E.; Ashshia, A.; Gaitha, M.; & Qustya, N. (2017). Attenuation of CCl<sub>4</sub> induced oxidative stress, immunosuppressive, hepatorenal damage by fucoidan in rats. *J Clin Toxicol*, 7(348), 2161–2495.
- Bouvard, V.; Wentzensen, N.; Mackie, A.; Berkhof, J.; Brotherton, J.; Giorgi-Rossi, P.; Kupets, R.; Smith, R.; Arrossi, S.; & Bendahhou, K. (2021). The IARC Perspective on Cervical Cancer Screening. *New England Journal of Medicine*, 385(20), 1908–1918.

- Campbell, T. M. (2012). The role of HP1 $\alpha$  and HP1 $\beta$  in breast cancer progression: a thesis presented to Massey University in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science in Biochemistry at Massey University, Palmerston North, New Zealand. Massey University.
- Cao, F.; Hu, Y.; Chen, Z.; Han, W.; Lu, W.; Xu, J.; Ding, H.; & Shen, X. (2021). Circulating long noncoding RNAs as potential biomarkers for stomach cancer: a systematic review and meta-analysis. *World Journal of Surgical Oncology*, 19(1), 1–13.
- Chen, C.; & Wang, G. (2015). Mechanisms of hepatocellular carcinoma and challenges and opportunities for molecular targeted therapy. *World Journal of Hepatology*, 7(15), 1964–1970. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i15.1964>
- Chen, J.-G.; Zhu, J.; Zhang, Y.-H.; Chen, Y.-S.; Lu, J.-H.; Zhu, Y.-R.; Chen, H.-Z.; Shen, A.-G.; Wang, G.-R.; & Groopman, J. D. (2021). Liver cancer mortality over six decades in an epidemic area: what we have learned. *PeerJ*, 9, e10600.
- Choi, R.-Y.; Ham, J. R.; Ryu, H.-S.; Park, K.-W.; Kang, K.-Y.; & Lee, M.-K. (2019). The effects of defatted *Tenebrio molitor* larva ferment extract on CCl<sub>4</sub>-induced liver damage in mice.
- Connell, L. C.; Harding, J. J.; Shia, J.; & Abou-Alfa, G. K. (2016). Combined intrahepatic cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma. *Chinese Clinical Oncology*, 5(5), 66.

- Couri, T.; & Pillai, A. (2019). Goals and targets for personalized therapy for HCC. *Hepatology International*, 13(2), 125–137.
- Denev, P.; Ognyanov, M.; Georgiev, Y.; Teneva, D.; Klisurova, D.; & Yanakieva, I. Z. (2020). Chemical composition and antioxidant activity of partially defatted milk thistle (*Silybum marianum* L.) seeds. *Bulg. Chem. Commun*, 1, 182–187.
- Desai, A.; Sandhu, S.; Lai, J.-P.; & Sandhu, D. S. (2019). Hepatocellular carcinoma in non-cirrhotic liver: A comprehensive review. *World Journal of Hepatology*, 11(1), 1.
- Dhamija, E.; Paul, S. B.; & Kedia, S. (2019). Non-alcoholic fatty liver disease associated with hepatocellular carcinoma: An increasing concern. *The Indian Journal of Medical Research*, 149(1), 9.
- Dildar, M.; Akram, S.; Irfan, M.; Khan, H. U.; Ramzan, M.; Mahmood, A. R.; Alsaiani, S. A.; Saeed, A. H. M.; Alraddadi, M. O.; & Mahnashi, M. H. (2021). Skin cancer detection: a review using deep learning techniques. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(10), 5479.
- Dimitroulis, D.; Damaskos, C.; Valsami, S.; Davakis, S.; Garmpis, N.; Spartalis, E.; Athanasiou, A.; Moris, D.; Sakellariou, S.; & Kykalos, S. (2017). From diagnosis to treatment of hepatocellular carcinoma: An epidemic problem for both developed and developing world. *World Journal of Gastroenterology*, 23(29), 5282.

- Diori Karidio, I.; & Sanlier, S. H. (2021). Reviewing cancer's biology: an eclectic approach. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 33(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s43046-021-00088-y>
- Doğan, G.; Nazan, K.; Seher, G. Ü. R.; & Bağci, E. (2022). Chemical Composition and Biological Activity of Milk Thistle Seeds (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.). *International Journal of Nature and Life Sciences*, 6(2), 90–98.
- Dong, S.; Chen, Q.-L.; Song, Y.-N.; Sun, Y.; Wei, B.; Li, X.-Y.; Hu, Y.-Y.; Liu, P.; & Su, S.-B. (2016). Mechanisms of CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis with combined transcriptomic and proteomic analysis. *The Journal of Toxicological Sciences*, 41(4), 561–572.
- Dutta, A.; & Dubey, A. (2019). Detection of liver cancer using image processing techniques. *2019 International Conference on Communication and Signal Processing (ICCSP)*, 315–318.
- Dwivedi, D. K.; Jena, G.; & Kumar, V. (2020). Dimethyl fumarate protects thioacetamide-induced liver damage in rats: Studies on Nrf2, NLRP3, and NF-κB. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 34(6), e22476.
- Eichenmüller, M.; Trippel, F.; Kreuder, M.; Beck, A.; Schwarzmayr, T.; Häberle, B.; Cairo, S.; Leuschner, I.; von Schweinitz, D.; Strom, T. M.; & Kappler, R. (2014). The genomic landscape of hepatoblastoma and their progenies with HCC-like features. *Journal of Hepatology*, 61(6), 1312–1320. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.08.009>

- Eita, A. A. B. (2021). Milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.): An overview about its pharmacology and medicinal uses with an emphasis on oral diseases. *Journal of Oral Biosciences*.
- El-Deberky, D.; Rizk, M.; Elsayd, F.; Amin, A.; & El-Mahmoudy, A. (2021). Protective potential of *Cynara scolymus* extract in thioacetamide model of hepatic injury in rats. 6(2).
- El-Ghany, A.; Nagib, R. M.; & Hashem, H. A. (2022). Hepatotreatment Effect of *Silybum*, *Spirulina* and Propolis Consumption Compared to Silymarin Drug in Experimental Rats. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 13(1), 17–24.
- El-Kashef, D. H.; & Serrya, M. S. (2019). Sitagliptin ameliorates thioacetamide-induced acute liver injury via modulating TLR4/NF-KB signaling pathway in mice. *Life Sciences*, 228, 266–273.
- El Hassanen, Y. A.; Badran, H.; Abd EL-Rahman, A. N. A.; & Badawy, N. M. (2021). Potential Effect Of Milk Thistle (*Silybum marianum*) On Liver Disorders Induced By Carbon Tetrachloride. *Journal of Home Economics*, 31(1), 83–93.
- Eldalawy, R.; & Al-Ani, W. M. K. (2020). GC-MS analysis of Iraqi *Silybum marianum* Flowers, Leaves and Seeds Extracts. *Al Mustansiriyah Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(4), 93–112.
- Elkhamesy, A.; Refaat, M.; Gouida, M. S. O.; Alrdahe, S. S.; & Youssef, M. M. (2022). Diminished CCl<sub>4</sub>-induced hepatocellular carcinoma, oxidative stress, and apoptosis by co-administration of curcumin or selenium in mice. *Journal of Food Biochemistry*, 46(4), e13845.

- Emadi, E.; Ghasemzadeh Rahbardar, M.; Mehri, S.; & Hosseinzadeh, H. (2022). A review of therapeutic potentials of milk thistle (*Silybum marianum* L.) and its main constituent, silymarin, on cancer, and their related patents. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*.
- Esmaeil, N.; Anaraki, S. B.; Gharagozloo, M.; & Moayedi, B. (2017). Silymarin impacts on immune system as an immunomodulator: One key for many locks. *International Immunopharmacology*, 50, 194–201.
- Evren, E.; & Yurtcu, E. (2015). In vitro effects on biofilm viability and antibacterial and antiadherent activities of silymarin. *Folia Microbiologica*, 60(4), 351–356.
- Fallah, M.; Davoodvandi, A.; Nikmanzar, S.; Aghili, S.; Mirazimi, S. M. A.; Aschner, M.; Rashidian, A.; Hamblin, M. R.; Chamanara, M.; & Naghsh, N. (2021). Silymarin (milk thistle extract) as a therapeutic agent in gastrointestinal cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 142, 112024.
- Feng, M.; Pan, Y.; Kong, R.; & Shu, S. (2020). Therapy of primary liver cancer. *The Innovation*, 1(2), 100032.
- Feng, R.; Chen, J.-H.; Liu, C.-H.; Xia, F.-B.; Xiao, Z.; Zhang, X.; & Wan, J.-B. (2019). A combination of Pueraria lobata and *Silybum marianum* protects against alcoholic liver disease in mice. *Phytomedicine*, 58, 152824.
- Foerster, F.; & Galle, P. R. (2021). The current landscape of clinical trials for systemic treatment of HCC. *Cancers*, 13(8), 1962.

- Friedman, & Young. (2001). Effects of disease on clinical laboratory tests (4th ed.). AACC press.
- Fukumitsu, N.; Okumura, T.; Takizawa, D.; Numajiri, H.; Ohnishi, K.; Mizumoto, M.; Aihara, T.; Ishikawa, H.; Tsuboi, K.; & Sakurai, H. (2017). Proton beam therapy for liver metastases from gastric cancer. *Journal of Radiation Research*, 58(3), 357–362.
- Gad, D.; Elhaak, M.; Pompa, A.; Mattar, M.; Zayed, M.; Fraternali, D.; & Dietz, K.-J. (2020). A New Strategy to Increase Production of Genoprotective Bioactive Molecules from Cotyledon-Derived *Silybum marianum* L. Callus. *Genes*, 11(7), 791.
- Galicia-Moreno, M.; Silva-Gomez, J. A.; Lucano-Landeros, S.; Santos, A.; Monroy-Ramirez, H. C.; & Armendariz-Borunda, J. (2021). Liver cancer: therapeutic challenges and the importance of experimental models. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2021.
- Galigher, A. E.; & Kozloff, E. N. (1964). Essentials of practical microtechnique.
- Gallagher, E. J.; & LeRoith, D. (2020). Hyperinsulinaemia in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 20(11), 629–644.
- Ganne-Carrié, N.; & Nahon, P. (2019). Hepatocellular carcinoma in the setting of alcohol-related liver disease. *Journal of Hepatology*, 70(2), 284–293.

- Gazwi, H. S. S.; & Mahmoud, M. E. (2019). Restorative activity of aqueous extract *Mangifera indica* leaves against CCl<sub>4</sub> induced hepatic damage in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 164, 112–118.
- Golubnitschaja, O.; & Sridhar, K. C. (2016). Liver metastatic disease: new concepts and biomarker panels to improve individual outcomes. *Clinical & Experimental Metastasis*, 33(8), 743–755.
- Goodarzi, N.; Doorgard, E.; & Pournaghi, P. (2018). The ameliorative potential of *Sophora alopecuroides* essential oil on CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in mice; a stereological study. *Research Journal of Pharmacognosy*, 5(1), 47–54.
- Grabinski, N.; Ewald, F.; Hofmann, B. T.; Staufer, K.; Schumacher, U.; Nashan, B.; & Jücker, M. (2012). Combined targeting of AKT and mTOR synergistically inhibits proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *Molecular Cancer*, 11, 85. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-11-85>
- Gracia-Sancho, J.; Caparrós, E.; Fernández-Iglesias, A.; & Francés, R. (2021). Role of liver sinusoidal endothelial cells in liver diseases. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18(6), 411–431. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00411-3>
- Groopman, J. D.; Smith, J. W.; Rivera-Andrade, A.; Alvarez, C. S.; Kroker-Lobos, M. F.; Egner, P. A.; Gharzouzi, E.; Dean, M.; McGlynn, K. A.; & Ramírez-Zea, M. (2021). Aflatoxin and the Etiology of Liver Cancer and Its Implications for Guatemala. *World Mycotoxin Journal*, 14(3), 305.

- Guerrini, A.; & Tedesco, D. E. A. (2023). Restoring Activity of Milk Thistle (*Silybum marianum* L.) on Serum Biochemical Parameters, Oxidative Status, Immunity, and Performance in Poultry and Other Animal Species, *Poisoned by Mycotoxins: A Review. Animals*, 13(3), 330.
- Guo, H.; Li, H.; Chen, Z.; Zhou, W.; Li, J.; Zhang, J.; Wang, J.; Luo, X.; Zeng, T.; & Shi, Z. (2021). NAMPT promotes hepatitis B virus replication and liver cancer cell proliferation through the regulation of aerobic glycolysis. *Oncology Letters*, 21(5), 1–9.
- Gupta, R.; & Xie, H. (2018). Nanoparticles in daily life: applications, toxicity and regulations. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 37(3).
- Habib, A.; Jaffar, G.; Khalid, M. S.; Hussain, Z.; Zainab, S. W.; Ashraf, Z.; Haroon, A.; Javed, R.; Khalid, B.; & Habib, P. (2021). Risk Factors Associated with Prostate Cancer. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 11(2), 188–193.
- Habotta, O. A.; Ateya, A.; Saleh, R. M.; & El-Ashry, E. S. (2021). Thiamethoxam-induced oxidative stress, lipid peroxidation, and disturbance of steroidogenic genes in male rats: Palliative role of *Saussurea lappa* and *Silybum marianum*. *Environmental Toxicology*, 36(10), 2051–2061.
- Hafez, H. M.; Ibrahim, M. A.; Zedan, M. Z.; Hassan, M.; & Hassanein, H. (2019). Nephroprotective effect of cilostazol and verapamil against thioacetamide-induced toxicity in rats may involve Nrf2/HO-1/NQO-1

- signaling pathway. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(2), 146–152.
- Hammami, H.; Saadatian, B.; & Hosseini, S. A. H. (2020). Geographical variation in seed germination and biochemical response of milk thistle (*Silybum marianum*) ecotypes exposed to osmotic and salinity stresses. *Industrial Crops and Products*, 152, 112507.
- Hassaan, M. S.; Mohammady, E. Y.; Soaudy, M. R.; El-Garhy, H. A. S.; Moustafa, M. M. A.; Mohamed, S. A.; & El-Haroun, E. R. (2019). Effect of *Silybum marianum* seeds as a feed additive on growth performance, serum biochemical indices, antioxidant status, and gene expression of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Aquaculture*, 509, 178–187.
- Hassanpour, S. H.; & Dehghani, M. (2017). Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of Cancer Research and Practice*, 4(4), 127–129.
- Hauth, F.; Roberts, H. J.; Hong, T. S.; & Duda, D. G. (2022). Leveraging Blood-Based Diagnostics to Predict Tumor Biology and Extend the Application and Personalization of Radiotherapy in Liver Cancers. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 1926.
- Hermenean, A.; Stan, M.; Ardelean, A.; Pilat, L.; Mihali, C. V.; Popescu, C.; Nagy, L.; Deák, G.; Zsuga, M.; & Kéki, S. (2015). Antioxidant and hepatoprotective activity of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) seed oil. *Open Life Sciences*, 10(1).

- Hu, J.; & Xianyu, Y. (2021). When nano meets plants: A review on the interplay between nanoparticles and plants. *Nano Today*, 38, 101143.
- Hussain, A. M. A.; & Lafta, R. K. (2021). Cancer Trends in Iraq 2000–2016. *Oman Medical Journal*, 36(1), e219.
- Hussain, F.; Malik, A.; Ayyaz, U.; Shafique, H.; Rana, Z.; & Hussain, Z. (2017). Efficient hepatoprotective activity of cranberry extract against CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in Wistar albino rat model: Down-regulation of liver enzymes and strong antioxidant activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(11), 1054–1058.
- Hussein, R. M.; Anwar, M. M.; Farghaly, H. S.; & Kandeil, M. A. (2020). Gallic acid and ferulic acid protect the liver from thioacetamide-induced fibrosis in rats via differential expression of miR-21, miR-30 and miR-200 and impact on TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling. *Chemico-Biological Interactions*, 324, 109098.
- Izzo, F.; Granata, V.; Grassi, R.; Fusco, R.; Palaia, R.; Delrio, P.; Carrafiello, G.; Azoulay, D.; Petrillo, A.; & Curley, S. A. (2019). Radiofrequency ablation and microwave ablation in liver tumors: an update. *The Oncologist*, 24(10), e990–e1005.
- Javeed, A.; Ahmed, M.; Sajid, A. R.; Sikandar, A.; Aslam, M.; Hassan, T. ul, Samiullah, Nazir, Z.; Ji, M.; & Li, C. (2022). Comparative Assessment of Phytoconstituents, Antioxidant Activity and Chemical Analysis of Different Parts of Milk Thistle *Silybum marianum* L. *Molecules*, 27(9). <https://doi.org/10.3390/molecules27092641>

- Jiang, G.; Sun, C.; Wang, X.; Mei, J.; Li, C.; Zhan, H.; Liao, Y.; Zhu, Y.; & Mao, J. (2022). Hepatoprotective mechanism of *Silybum marianum* on nonalcoholic fatty liver disease based on network pharmacology and experimental verification. *Bioengineered*, *13*(3), 5216–5235.
- Jiao, Y.; Li, Y.; Fu, Z.; Hou, L.; Chen, Q.; Cai, Y.; Jiang, P.; He, M.; & Yang, Z. (2019). OGDHL expression as a prognostic biomarker for liver cancer patients. *Disease Markers*, 2019.
- Jouida, A.; McCarthy, C.; Fabre, A.; & Keane, M. P. (2021). Exosomes: a new perspective in EGFR-mutated lung cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, *40*(2), 589–601.
- Kalantari, A.; Salimi, A.; Kalantari, H.; Broojeni, J. E.; Rashidi, I.; Vanani, A. R.; & Bácskay, I. (2019). The hepatoprotective effect of livergol microemulsion preparation (nanoparticle) against bromobenzene induced toxicity in mice. *Toxicology Reports*, *6*, 444–448.
- Kaman, P. K.; & Dutta, P. (2019). Synthesis, characterization and antifungal activity of biosynthesized silver nanoparticle. *Indian Phytopathology*, *72*(1), 79–88. <https://doi.org/10.1007/s42360-018-0081-4>
- Kesharwani, S. S.; Jain, V.; Dey, S.; Sharma, S.; Mallya, P.; & Kumar, V. A. (2020). An overview of advanced formulation and nanotechnology-based approaches for solubility and bioavailability enhancement of silymarin. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *60*, 102021.

- Khajornjiraphan, N.; Thu, N. A.; & Chow, P. K. H. (2015). Yttrium-90 microspheres: a review of its emerging clinical indications. *Liver Cancer*, 4(1), 6–15.
- khalaf, H. M. (2021). Hepatoprotective activity of Ruta chalepensis ethanolic extract and histo-architecture of liver on CCL 4 damaged albino male mice. *Journal of Biotechnology Research Center*, 15(1), 11–16.
- Khalili, A.; Fallah, P.; Hashemi, S. A.; Ahmadian-Attari, M. M.; Jamshidi, V.; Mazloom, R.; Beikzadeh, L.; & Bayat, G. (2021). New mechanistic insights into hepatoprotective activity of milk thistle and chicory quantified extract: The role of hepatic Farnesoid-X activated receptors. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 11(4), 367–379. <https://doi.org/10.22038/AJP.2020.17281>
- Khan, I.; Saeed, K.; & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908–931.
- Khazaei, R.; Seidavi, A.; & Bouyeh, M. (2022). A review on the mechanisms of the effect of silymarin in milk thistle (*Silybum marianum*) on some laboratory animals. *Veterinary Medicine and Science*, 8(1), 289–301.
- Kibaru, J.; Kotecha, P.; Iya, A. M.; Russell, B.; Abdullahi, M.; Alhassan, S. U.; Mustapha, M. I.; Bryan, R. T.; & Van Hemelrijck, M. (2021). Scoping review protocol: bladder cancer in Nigeria: what are the gaps in clinical care and research? *BMJ Open*, 11(1), e041894.
- Kim, B. H.; & Park, J.-W. (2018). Epidemiology of liver cancer in South Korea. *Clinical and Molecular Hepatology*, 24(1), 1.

- Komuta, M.; & Yeh, M. M. (2020). A review on the update of combined hepatocellular cholangiocarcinoma. *Seminars in Liver Disease*, 40(02), 124–130.
- Król, A.; Pomastowski, P.; Rafińska, K.; Railean-Plugaru, V.; & Buszewski, B. (2017). Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. *Advances in Colloid and Interface Science*, 249, 37–52.
- Kulkarni, S. J.; Maske, K. N.; Budre, M. P.; & Mahajan, R. P. (2012). Extraction and purification of curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.). *International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology*, 1(2), 81–84.
- Lebda, M. A.; Sadek, K. M.; Abouzed, T. K.; Tohamy, H. G.; & El-Sayed, Y. S. (2018). Melatonin mitigates thioacetamide-induced hepatic fibrosis via antioxidant activity and modulation of proinflammatory cytokines and fibrogenic genes. *Life Sciences*, 192, 136–143.
- Lee, H.-Y.; Lee, G.-H.; Yoon, Y.; & Chae, H.-J. (2019b). *R. verniciflua* and *E. ulmoides* extract (ILF-RE) protects against chronic CCl<sub>4</sub>-induced liver damage by enhancing antioxidation. *Nutrients*, 11(2), 382.
- Lee, Y. H.; Son, J. Y.; Kim, K. S.; Park, Y. J.; Kim, H. R.; Park, J. H.; Kim, K.-B.; Lee, K. Y.; Kang, K. W.; & Kim, I. S. (2019a). Estrogen deficiency potentiates thioacetamide-induced hepatic fibrosis in Sprague-Dawley rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15), 3709.

- Li, D.; Kang, J.; Golas, B. J.; Yeung, V. W.; & Madoff, D. C. (2014). Minimally invasive local therapies for liver cancer. *Cancer Biology & Medicine*, *11*(4), 217.
- Li, X, Xu, W.; Kang, W.; Wong, S. H.; Wang, M.; Zhou, Y.; Fang, X.; Zhang, X.; Yang, H.; & Wong, C. H. (2018). Genomic analysis of liver cancer unveils novel driver genes and distinct prognostic features. *Theranostics*, *8*(6), 1740.
- Li, Xin, Ramadori, P.; Pfister, D.; Seehawer, M.; Zender, L.; & Heikenwalder, M. (2021). The immunological and metabolic landscape in primary and metastatic liver cancer. *Nature Reviews Cancer*, *21*(9), 541–557.
- Liu, C.-Y.; Chen, K.-F.; & Chen, P.-J. (2015). Treatment of liver cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *5*(9), a021535.
- Loomba, R.; Friedman, S. L.; & Shulman, G. I. (2021). Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell*, *184*(10), 2537–2564.
- Lozano, E.; Sanchez-Vicente, L.; Monte, M. J.; Herraiz, E.; Briz, O.; Banales, J. M.; Marin, J. J. G.; & Macias, R. I. R. (2014). Cocarcinogenic Effects of Intrahepatic Bile Acid Accumulation in Cholangiocarcinoma Development. *Molecular Cancer Research*, *12*(1), 91–100. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-13-0503>
- Lucini, L.; Kane, D.; Pellizzoni, M.; Ferrari, A.; Trevisi, E.; Ruzickova, G.; & Arslan, D. (2016). Phenolic profile and in vitro antioxidant power of different milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] cultivars. *Industrial Crops and Products*, *83*, 11–16.

- Mahdi, H.; Mula-Hussain, L.; Ramzi, Z. S.; Tolba, M.; Abdel-Rahman, O.; Abu-Gheida, I.; Khorshid, O.; Al Sukhun, S.; Siddiqi, N. P.; & Al Mandhari, Z. (2022). Cancer Burden Among Arab-World Females in 2020: Working Toward Improving Outcomes. *JCO Global Oncology*, 8, e2100415.
- Mahmoodzadeh, Y.; Mazani, M.; & Rezagholizadeh, L. (2017). Hepatoprotective effect of methanolic *Tanacetum parthenium* extract on CCl<sub>4</sub>-induced liver damage in rats. *Toxicology Reports*, 4, 455–462.
- Makarova-Rusher, O. V, Altekhruse, S. F.; McNeel, T. S.; Ulahannan, S.; Duffy, A. G.; Graubard, B. I.; Greten, T. F.; & McGlynn, K. A. (2016). Population attributable fractions of risk factors for hepatocellular carcinoma in the United States. *Cancer*, 122(11), 1757–1765.
- Mao, D.; Lau, E. S. H.; Wu, H.; Yang, A.; Fan, B.; Shi, M.; Tam, C. H. T.; Chow, E.; Kong, A. P. S.; & Ma, R. C. W. (2022). Risk Associations of Glycemic Burden and Obesity With Liver Cancer—A 10-Year Analysis of 15,280 Patients With Type 2 Diabetes. *Hepatology Communications*.
- Marceddu, R.; Dinolfo, L.; Carrubba, A.; Sarno, M.; & Di Miceli, G. (2022). Milk Thistle (*Silybum marianum* L.) as a Novel Multipurpose Crop for Agriculture in Marginal Environments: A Review. *Agronomy*, 12(3), 729.
- Marklund, S.; & Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47(3), 469–474.

- Marmouzi, I.; Bouyahya, A.; Ezzat, S. M.; El Jemli, M.; & Kharbach, M. (2021). The food plant *Silybum marianum* (L.) Gaertn.: Phytochemistry, Ethnopharmacology and clinical evidence. *Journal of Ethnopharmacology*, 265, 113303.
- Massarweh, N. N.; & El-Serag, H. B. (2017). Epidemiology of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Control*, 24(3), 1073274817729245.
- Mattalia, G.; Sõukand, R.; Corvo, P.; & Pieroni, A. (2020). Wild food thistle gathering and pastoralism: An inextricable link in the biocultural landscape of Barbagia, Central Sardinia (Italy). *Sustainability*, 12(12), 5105.
- Mattiuzzi, C.; & Lippi, G. (2019). Current cancer epidemiology. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 9(4), 217.
- Mazahreh, T. S.; Aleshawi, A. J.; Al-Zoubi, N. A.; Altabari, M.; & Aljarrah, Q. (2020). Comparison of postoperative liver function between different dissection techniques during laparoscopic cholecystectomy. *Future Science OA*, 6(4), FSO462.
- McGlynn, K. A.; & London, W. T. (2011). The global epidemiology of hepatocellular carcinoma: present and future. *Clinics in Liver Disease*, 15(2), 223–243.
- Mehrandish, R.; Rahimian, A.; & Shahriary, A. (2019). Heavy metals detoxification: A review of herbal compounds for chelation therapy in heavy metals toxicity. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 8(2), 69–77.

- Méndez-Sánchez, N.; Valencia-Rodriguez, A.; Vera-Barajas, A.; Abenavoli, L.; Scarpellini, E.; Ponciano-Rodriguez, G.; & Wang, D. Q.-H. (2020). The mechanism of dysbiosis in alcoholic liver disease leading to liver cancer. *Hepatoma Research*, 6.
- Mi, X.; Hou, J.; Jiang, S.; Liu, Z.; Tang, S.; Liu, X.; Wang, Y.; Chen, C.; Wang, Z.; & Li, W. (2019). Maltol mitigates thioacetamide-induced liver fibrosis through TGF- $\beta$ 1-mediated activation of PI3K/Akt signaling pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(5), 1392–1401.
- Milić, N.; Milošević, N.; Suvajdžić, L.; Žarkov, M.; & Abenavoli, L. (2013). New therapeutic potentials of milk thistle (*Silybum marianum*). *Natural Product Communications*, 8(12), 1934578X1300801236.
- Mitchell, M. J.; Billingsley, M. M.; Haley, R. M.; Wechsler, M. E.; Peppas, N. A.; & Langer, R. (2021). Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(2), 101–124.
- Moder, K. (2010). Alternatives to F-test in one way ANOVA in case of heterogeneity of variances (a simulation study). *Psychological Test and Assessment Modeling*, 52(4), 343.
- Moeini, A.; Sia, D.; Zhang, Z.; Camprecios, G.; Stueck, A.; Dong, H.; Montal, R.; Torrens, L.; Martinez-Quetglas, I.; & Fiel, M. I. (2017). Mixed hepatocellular cholangiocarcinoma tumors: cholangiolocellular carcinoma is a distinct molecular entity. *Journal of Hepatology*, 66(5), 952–961.

- Mohammadi, M.; Ariaifar, S.; Talebi-Ghane, E.; & Afzali, S. (2022). Comparative efficacy of silibinin and nano-silibinin on lead poisoning in Male Wistar rats. *Toxicology*, 475, 153242.
- Mokhatri-Hesari, P.; & Montazeri, A. (2020). Health-related quality of life in breast cancer patients: review of reviews from 2008 to 2018. *Health and Quality of Life Outcomes*, 18(1), 1–25.
- Morgan Auld, F.; & Sergi, C. M. (2022). Surgical Pathology Diagnostic Pitfalls of Hepatoblastoma. *International Journal of Surgical Pathology*, 10668969211070178.
- Moron, M. S.; Depierre, J. W.; & Mannervik, B. (1979). Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 582(1), 67–78.
- Mosallam, S. A. E.-R. (2022). Micronucleus and Comet Assay as An Index for Carbon Tetrachloride Genotoxicity in Rats. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology*, 14(1), 325–336. <https://doi.org/10.21608/eajbsc.2022.231278>
- Mousa, A. A.; El-Gansh, H. A. I.; Eldaim, M. A. A.; Mohamed, M. A. E.-G.; Morsi, A. H.; & El Sabagh, H. S. (2019). Protective effect of Moringa oleifera leaves ethanolic extract against thioacetamide-induced hepatotoxicity in rats via modulation of cellular antioxidant, apoptotic and inflammatory markers. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(31), 32488–32504.

- Mula-Hussain, L.; Mahdi, H.; Ramzi, Z. S.; Tolba, M.; Zaghloul, M. S.; Benbrahim, Z.; Abusanad, A.; Al-Shamsi, H.; Bounedjar, A.; & Jazieh, A.-R. (2022). Cancer Burden Among Arab World Males in 2020: The Need for a Better Approach to Improve Outcome. *JCO Global Oncology*, 8, e2100407.
- Muslih, B.; Mizil, Y. O.; & Al-Nimmer, M. S. (2001). Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction. *National.J.Chemistry*, 4, 625–637.
- Mustafa, S. W. (2020). Environmental pollution and its impact on the increase in child cancer cases in Basra Governorate. *Journal of Basra Researches for Human Sciences*, 45(4).
- Nakagawa, H.; Fujita, M.; & Fujimoto, A. (2019). Genome sequencing analysis of liver cancer for precision medicine. *Seminars in Cancer Biology*, 55, 120–127.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.03.004>
- Naseri, L.; Khazaei, M.; Ghanbari, E.; & Bazm, M. A. (2019). Rumex alveollatus hydroalcoholic extract protects CCL4-induced hepatotoxicity in mice. *Comparative Clinical Pathology*, 28, 557–565.
- Nasrollahzadeh, M.; Sajadi, S. M.; Sajjadi, M.; & Issaabadi, Z. (2019). Applications of nanotechnology in daily life. *Interface Science and Technology*, 28, 113–143.
- Negash, D. (2018). A review of aflatoxin: occurrence, prevention, and gaps in both food and feed safety. *Journal of Applied Microbiological Research*, 1(1), 35–43.

- Nowak, A.; Florkowska, K.; Zielonka-Brzezicka, J.; Duchnik, W.; Muzykiewicz, A.; & Klimowicz, A. (2021). The effects of extraction techniques on the antioxidant potential of extracts of different parts of milk thistle (*Silybum marianum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 20(1), 37–46.
- Nugraha, A.; Khotimah, K.; & Rietjens, I. M. C. M. (2018). Risk assessment of aflatoxin B1 exposure from maize and peanut consumption in Indonesia using the margin of exposure and liver cancer risk estimation approaches. *Food and Chemical Toxicology*, 113, 134–144.
- Nunes, V. S.; Andrade, A. R.; Guedes, A. L. V, Diniz, M. A.; Oliveira, C. P.; & CanÇado, E. L. R. (2020). Distinct phenotype of non-alcoholic fatty liver disease in patients with low levels of free copper and of ceruloplasmin. *Arquivos de Gastroenterologia*, 57, 249–253.
- Oke, G. O.; Abiodun, A. A.; Imafidon, C. E.; & Monsi, B. F. (2019). Zingiber officinale (Roscoe) mitigates CCl4-induced liver histopathology and biochemical derangements through antioxidant, membrane-stabilizing and tissue-regenerating potentials. *Toxicology Reports*, 6, 416–425. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.05.001>
- Olive, P. L.; & Banáth, J. P. (2006). The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nature Protocols*, 1(1), 23–29.
- Opyd, P. M.; & Jurgoński, A. (2021). Intestinal, liver and lipid disorders in genetically obese rats are more efficiently reduced by dietary milk thistle seeds than their oil. *Scientific Reports*, 11(1), 1–11.

- Organization, W. H. (2021). Overweight and obesity. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Othman, S.; Ali, S. M.; & Deeb, N. M. E. (2020). Protective effect of *Silybum marianum* extract against doxorubicin induced toxicity in male rats. *PSM Biol. Res*, 5(1), 14–21.
- Padma, M.; Ganesan, S.; Jayaseelan, T.; Azhagumadhavan, S.; Sasikala, P.; Senthilkumar, S.; & Mani, P. (2019). Phytochemical screening and GC–MS analysis of bioactive compounds present in ethanolic leaves extract of *Silybum marianum* (L). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(1), 85–89.
- Patrone, R.; Izzo, F.; Palaia, R.; Granata, V.; Nasti, G.; Ottaiano, A.; Pasta, G.; & Belli, A. (2021). Minimally invasive surgical treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma: A systematic review. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 13(12), 2203.
- Pegoraro, C. M. R.; Nai, G. A.; Garcia, L. A.; Serra, F. de M.; Alves, J. A.; Chagas, P. H. N.; Oliveira, D. G. de, & Zocoler, M. A. (2021). Protective effects of *Bidens pilosa* on hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by carbon tetrachloride in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 44(1), 64–74. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1526182>
- Petrick, J. L.; & McGlynn, K. A. (2019). The changing epidemiology of primary liver cancer. *Current Epidemiology Reports*, 6(2), 104–111.
- Petrowsky, H.; Fritsch, R.; Guckenberger, M.; De Oliveira, M. L.; Dutkowski, P.; & Clavien, P.-A. (2020). Modern therapeutic approaches for the

- treatment of malignant liver tumours. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(12), 755–772. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0314-8>
- Phipps, O.; Brookes, M. J.; & Al-Hassi, H. O. (2021). Iron deficiency, immunology, and colorectal cancer. *Nutrition Reviews*, 79(1), 88–97.
- Pinter, M.; Trauner, M.; Peck-Radosavljevic, M.; & Sieghart, W. (2016). Cancer and liver cirrhosis: implications on prognosis and management. *ESMO Open*, 1(2), e000042.
- Plaz Torres, M. C.; Bodini, G.; Furnari, M.; Marabotto, E.; Zentilin, P.; Strazzabosco, M.; & Giannini, E. G. (2020). Surveillance for hepatocellular carcinoma in patients with non-alcoholic fatty liver disease: universal or selective? *Cancers*, 12(6), 1422.
- Porwal, O.; Ameen, M. S. M.; Anwer, E. T.; Uthirapathy, S.; Ahamad, J.; & Tahsin, A. (2019). *Silybum marianum* (Milk Thistle): Review on Its chemistry, morphology, ethno medical uses, phytochemistry and pharmacological activities. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(5), 199–206.
- Prabhu, S.; & Poulouse, E. K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2(1), 1–10.
- Pucci, C.; Martinelli, C.; & Ciofani, G. (2019). Innovative approaches for cancer treatment: Current perspectives and new challenges. *Ecancermedicalscience*, 13.

- Pulido-Hornedo, N. A.; Ventura-Juárez, J.; Guevara-Lara, F.; González-Ponce, H. A.; Sánchez-Alemán, E.; Buist-Homan, M.; Moshage, H.; & Martínez-Saldaña, M. C. (2022). Hepatoprotective effect of *Opuntia robusta* fruit biocomponents in a rat model of thioacetamide-induced liver fibrosis. *Plants*, *11*(15), 2039.
- Qavami, N.; NAGHDI, B. H.; Labbafi, M. R.; & Mehrafarin, A. (2013). A review on pharmacological, cultivation and biotechnology aspects of milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.).
- Qiu, M.; Glass, Z.; Chen, J.; Haas, M.; Jin, X.; Zhao, X.; Rui, X.; Ye, Z.; Li, Y.; Zhang, F.; & Xu, Q. (2021). Lipid nanoparticle-mediated codelivery of Cas9 mRNA and single-guide RNA achieves liver-specific in vivo genome editing of *Angptl3*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *118*(10). <https://doi.org/10.1073/pnas.2020401118>
- Rahman, F.; Sarma, J.; Mohan, P.; Barua, C. C.; Nath, R.; Rahman, S.; & Sarma, M. (2020). Role of Nano-curcumin on carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *9*(2), 2168–2176.
- Rajesh, Y.; & Sarkar, D. (2021). Association of adipose tissue and adipokines with development of obesity-induced liver cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(4), 2163.
- Rakelly de Oliveira, D.; Relison Tintino, S.; Morais Braga, M. F. B.; Boligon, A. A.; Linde Athayde, M.; Douglas Melo Coutinho, H.; de Menezes, I. R. A.; & Fachineto, R. (2015). In vitro antimicrobial and modulatory

- activity of the natural products silymarin and silibinin. *BioMed Research International*, 2015.
- Rasheed, S.; Tabassum, R.; Hussain, S.; & Mustafa, K. (2017). Effect Of Silymarin On Hepato-Toxicity In Albino Rats. *Medical Channel*, 33(1), 17–25.
- Rodríguez-Flores, E. M.; Mata-Espinosa, D.; Barrios-Payan, J.; Marquina-Castillo, B.; Castañón-Arreola, M.; & Hernández-Pando, R. (2019). A significant therapeutic effect of silymarin administered alone, or in combination with chemotherapy, in experimental pulmonary tuberculosis caused by drug-sensitive or drug-resistant strains: In vitro and in vivo studies. *PloS One*, 14(5), e0217457.
- Rodriguez-Peralvarez, M.; Luong, T. V.; Andreana, L.; Meyer, T.; Dhillon, A. P.; & Burroughs, A. K. (2013). A systematic review of microvascular invasion in hepatocellular carcinoma: diagnostic and prognostic variability. *Annals of Surgical Oncology*, 20(1), 325–339.
- Safhi, M. M. (2018). Nephroprotective Effect of Zingerone against CCl<sub>4</sub>-Induced Renal Toxicity in Swiss Albino Mice: Molecular Mechanism. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 2474831. <https://doi.org/10.1155/2018/2474831>
- Saha Turna, N.; & Wu, F. (2019). Risk assessment of aflatoxin-related liver cancer in Bangladesh. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36(2), 320–326.

- Salmerón-Manzano, E.; Garrido-Cardenas, J. A.; & Manzano-Agugliaro, F. (2020). Worldwide research trends on medicinal plants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(10), 3376.
- Saryono, S.; Taufik, A.; Proverawati, A.; & Efendi, F. (2019). Dietary supplementation of Phoenix dactylifera L. seeds decreases pro-inflammatory mediators in CCl4-induced rats. *Journal of Herbmед Pharmacology*, 8(3), 212–217.
- Sayan, M.; Karabulut, D.; & Özdamar, S. (2020). Assessment of the protective and therapeutic effect of melatonin against thioacetamide-induced acute liver damage. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 34(4), e22450.
- Schlageter, M.; Terracciano, L. M.; D'Angelo, S.; & Sorrentino, P. (2014). Histopathology of hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(43), 15955.
- Scimone, J.; & Rothstein, R. (1978). Laboratory Manual of Clinical Chemistry. *AVI publishing company, Inc.*; U.S.A.
- Scott, K. (2022). Survival Time Prediction with Radiographic Images for Primary and Metastatic Liver Cancers.
- Seo, W.; Gao, Y.; He, Y.; Sun, J.; Xu, H.; Feng, D.; Park, S. H.; Cho, Y.-E.; Guillot, A.; & Ren, T. (2019). ALDH2 deficiency promotes alcohol-associated liver cancer by activating oncogenic pathways via oxidized DNA-enriched extracellular vesicles. *Journal of Hepatology*, 71(5), 1000–1011.

- Shaban, N. Z.; El-Kot, S. M.; Awad, O. M.; Hafez, A. M.; & Fouad, G. M. (2021). The antioxidant and anti-inflammatory effects of *Carica Papaya* Linn. seeds extract on CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in male rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 302. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03479-9>
- Shah, M. S.; Shraddha, K.; Dashrath, G.; Sneha, S.; & Oswal, R. J. (2020). A Systemic Phytopharmacological Review Of Multipotential Medicinal Plant Milk Thistle.
- Shahid, M.; Dumat, C.; Khalid, S.; Schreck, E.; Xiong, T.; & Niazi, N. K. (2017). Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. *Journal of Hazardous Materials*, 325, 36–58.
- Shehzad, M. aamir, Khan, M. A.; Ali, A.; Mohammad, S.; Noureldeen, A.; Darwish, H.; Ali, A.; Ahmad, A.; Khan, T.; & Khan, R. S. (2021). Interactive effects of zinc oxide nano particles and different light regimes on growth and silymarin biosynthesis in callus cultures of *Silybum marianum* L. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 49(1), 523–535. <https://doi.org/10.1080/21691401.2021.1946069>
- Sheng, A.; Lin, L.; Zhu, J.; Zhuang, J.; Li, J.; Chang, L.; & Cheng, H. (2021). Micro/nanodevices for assessment and treatment in stomatology and ophthalmology. *Microsystems & Nanoengineering*, 7(1), 1–19.
- Shriram, R. G.; Moin, A.; Alotaibi, H. F.; Khafagy, E.-S.; Al Saqr, A.; Abu Lila, A. S.; & Charyulu, R. N. (2022). Phytosomes as a Plausible Nano-

- Delivery System for Enhanced Oral Bioavailability and Improved Hepatoprotective Activity of Silymarin. *Pharmaceuticals*, 15(7), 790.
- Singh, A.; Shafi, S.; Upadhyay, T.; Najmi, A. K.; Kohli, K.; & Pottou, F. H. (2020). Insights into nanotherapeutic strategies as an impending approach to liver cancer treatment. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 20(20), 1839–1854.
- Smith, J. W.; Kroker-Lobos, M. F.; Lazo, M.; Rivera-Andrade, A.; Egner, P. A.; Wedemeyer, H.; Torres, O.; Freedman, N. D.; McGlynn, K. A.; & Guallar, E. (2017). Aflatoxin and viral hepatitis exposures in Guatemala: Molecular biomarkers reveal a unique profile of risk factors in a region of high liver cancer incidence. *PLoS One*, 12(12), e0189255.
- Soerjomataram, I.; & Bray, F. (2021). Planning for tomorrow: Global cancer incidence and the role of prevention 2020–2070. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 18(10), 663–672.
- Sohn, W.; Lee, H. W.; Lee, S.; Lim, J. H.; Lee, M. W.; Park, C. H.; & Yoon, S. K. (2021). Obesity and the risk of primary liver cancer: A systematic review and meta-analysis. *Clinical and Molecular Hepatology*, 27(1), 157.
- Speit, G.; & Rothfuss, A. (2012). The comet assay: a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. In *DNA Repair Protocols* : 79–90. *Springer*.
- Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R. L.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Jemal, A.; & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN

- estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249.
- Sung, P. S.; & Shin, E.-C. (2021). Immunological mechanisms for hepatocellular carcinoma risk after direct-acting antiviral treatment of hepatitis C virus infection. *Journal of Clinical Medicine*, 10(2), 221.
- Suresh, M.; & Menne, S. (2021). Application of the woodchuck animal model for the treatment of hepatitis B virus-induced liver cancer. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 13(6), 509.
- Suvarna, S. K.; Layton, C.; & Bancroft, J. D. (2013). Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. In *Elsevier* , 11–36. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4226-3.00002-0>
- Tag, H. M.; Bargougui, A.; Alshayyal, S. G.; Kamal, A.; Tantawy, H. M.; & El-Naggar, M. S. (2019). Chemopreventive Efficacy of *Punica granatum* and *Silybum marianum* Extracts on Chemically-induced Hepatocellular Carcinoma in Rats. *Asian Journal of Applied Sciences*, 7(2).
- Tajmohammadi, A.; Razavi, B. M.; & Hosseinzadeh, H. (2018). *Silybum marianum* (milk thistle) and its main constituent, silymarin, as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: A review. *Phytotherapy Research*, 32(10), 1933–1949.
- Tighe, S. P.; Akhtar, D.; Iqbal, U.; & Ahmed, A. (2020). Chronic Liver Disease and Silymarin: A Biochemical and Clinical Review. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 8(4), 454–458. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2020.00012>

- Uehara, T.; Pogribny, I. P.; & Rusyn, I. (2014). The DEN and CCl<sub>4</sub>-induced mouse model of fibrosis and inflammation-associated hepatocellular carcinoma. *Current Protocols in Pharmacology*, 66(1), 14–30.
- Valery, P. C.; Laversanne, M.; Clark, P. J.; Petrick, J. L.; McGlynn, K. A.; & Bray, F. (2018). Projections of primary liver cancer to 2030 in 30 countries worldwide. *Hepatology*, 67(2), 600–611.
- Vijgen, S.; Terris, B.; & Rubbia-Brandt, L. (2017). Pathology of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Hepatobiliary Surgery and Nutrition*, 6(1), 22–34. <https://doi.org/10.21037/hbsn.2016.11.04>
- Viktorova, J.; Stranska-Zachariasova, M.; Fenclova, M.; Vitek, L.; Hajslova, J.; Kren, V.; & Ruml, T. (2019). Complex evaluation of antioxidant capacity of milk thistle dietary supplements. *Antioxidants*, 8(8), 317.
- Wang, G.; Wang, Q.; Liang, N.; Xue, H.; Yang, T.; Chen, X.; Qiu, Z.; Zeng, C.; Sun, T.; & Yuan, W. (2020a). Oncogenic driver genes and tumor microenvironment determine the type of liver cancer. *Cell Death & Disease*, 11(5), 1–13.
- Wang, X.; Zhang, Z.; & Wu, S.-C. (2020b). Health benefits of *Silybum marianum*: Phytochemistry, pharmacology, and applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(42), 11644–11664.
- Wang, Y.; O'Connor, D.; Shen, Z.; Lo, I. M. C.; Tsang, D. C. W.; Pehkonen, S.; Pu, S.; & Hou, D. (2019). Green synthesis of nanoparticles for the remediation of contaminated waters and soils: Constituents, synthesizing methods, and influencing factors. *Journal of Cleaner Production*, 226, 540–549.

- Webster, C. A. M.; Odewumi, C. O.; Badisa, V. L. D.; & Latinwo, L. M. (2018). Inhibitory effect of Milk thistle seed extract on cadmium chloride induced DNA damage in liver cells. *Journal of PeerScientist*, 1(2), e1000007.
- Wei, D.-D.; Wang, J.-S.; Duan, J.-A.; & Kong, L.-Y. (2018). Metabolomic Assessment of Acute Cholestatic Injuries Induced by Thioacetamide and by Bile Duct Ligation, and the Protective Effects of Huang-Lian-Jie-Du-Decoction . *In Frontiers in Pharmacology* (Vol. 9). <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.00458>
- Shahab, Z. A. (2019). ALcoholic extraction of silymarin oil from seeds of local Milk thistle plant (*silynum marianum*) at room temperature. *Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences*, 10(2).
- Won, D.-H.; Kim, L.-H.; Jang, B.; Yang, I.-H.; Kwon, H.-J.; Jin, B.; Oh, S. H.; Kang, J.-H.; Hong, S.-D.; & Shin, J.-A. (2018). In vitro and in vivo anti-cancer activity of silymarin on oral cancer. *Tumor Biology*, 40(5), 1010428318776170.
- Xia, C.; Dong, X.; Li, H.; Cao, M.; Sun, D.; He, S.; Yang, F.; Yan, X.; Zhang, S.; & Li, N. (2022). Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants. *Chinese Medical Journal*, 135(05), 584–590.
- Xie, Y. (2017). Hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Infectious Agents Associated Cancers: Epidemiology and Molecular Biology*, 11–21.

- Yagci, T.; Cetin, M.; & Ercin, P. B. (2017). Cancer stem cells in hepatocellular carcinoma. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 48(3), 241–245.
- Yan, Y.; Jun, C.; Lu, Y.; & Jiangmei, S. (2019). Combination of metformin and luteolin synergistically protects carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: Mechanism involves antioxidant, anti-inflammatory, antiapoptotic, and Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Biofactors*, 45(4), 598–606.
- Yang, T.; Whitlock, R. S.; & Vasudevan, S. A. (2019). Surgical management of hepatoblastoma and recent advances. *Cancers*, 11(12), 1944.
- Yassin, N. Y. S.; AbouZid, S. F.; El-Kalaawy, A. M.; Ali, T. M.; Almeahmadi, M. M.; & Ahmed, O. M. (2022). *Silybum marianum* total extract, silymarin and silibinin abate hepatocarcinogenesis and hepatocellular carcinoma growth via modulation of the HGF/c-Met, Wnt/ $\beta$ -catenin, and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 145, 112409.
- Yatizid, H. L. (1987). No Title. *J. Clin. Chem.*; 23, 908.
- Yi, Z.; & Yuan, Z. (2017). Hepatitis C Virus-Associated Cancers. *Infectious Agents Associated Cancers: Epidemiology and Molecular Biology*, 129–146.
- Ying, S.; Guan, Z.; Ofoegbu, P. C.; Clubb, P.; Rico, C.; He, F.; & Hong, J. (2022). Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environmental Technology & Innovation*, 26, 102336.

- Younossi, Z. M.; Marchesini, G.; Pinto-Cortez, H.; & Petta, S. (2019). Epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: implications for liver transplantation. *Transplantation*, *103*(1), 22–27.
- Yu, L.-X.; Ling, Y.; & Wang, H.-Y. (2018). Role of nonresolving inflammation in hepatocellular carcinoma development and progression. *NPJ Precision Oncology*, *2*(1), 1–10.
- Zaker-Esteghamati, H.; Seidavi, A.; & Bouyeh, M. (2021). The effects of *Cynara scolymus* and *Silybum marianum* on growth, carcass and organ characteristics, immunity, blood constitutes, liver enzymes, jejunum morphology, and fatty acid profile of breast meat in broilers. *Food Science & Nutrition*, *9*(12), 6692–6706.
- Zaki, D. A.; Abdel-Ghany, A. S.; & Gomaa, A. (2019). Therapeutic effect of milk thistle (*Silybum marianum* L) seeds on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Alexandria Science Exchange Journal*, *40*(JANUARY-MARCH), 19–29.
- Zargar, S.; Alonazi, M.; Rizwana, H.; & Wani, T. A. (2019). Resveratrol reverses thioacetamide-induced renal assault with respect to oxidative stress, renal function, DNA damage, and cytokine release in Wistar rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019.
- Zargar, S.; Wani, T. A.; Alamro, A. A.; & Ganaie, M. A. (2017). Amelioration of thioacetamide-induced liver toxicity in Wistar rats by rutin. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, *30*(3), 207–214. <https://doi.org/10.1177/0394632017714175>

- Zhang, C.; Yang, M.; & Ericsson, A. C. (2020a). The potential gut microbiota-mediated treatment options for liver cancer. *Frontiers in Oncology*, 10, 524205.
- Zhang, D.; Ma, X.; Gu, Y.; Huang, H.; & Zhang, G. (2020b). Green synthesis of metallic nanoparticles and their potential applications to treat cancer. *Frontiers in Chemistry*, 8, 799.
- Zhang, H.; Yang, T.; Wu, M.; & Shen, F. (2016). Intrahepatic cholangiocarcinoma: epidemiology, risk factors, diagnosis and surgical management. *Cancer Letters*, 379(2), 198–205.
- Zia-Ul-Haq, M.; Ahmad, S.; Calani, L.; Mazzeo, T.; Rio, D. Del, Pellegrini, N.; & Feo, V. De. (2012). Compositional study and antioxidant potential of *Ipomoea hederacea* Jacq. and *Lepidium sativum* L. seeds. *Molecules*, 17(9), 10306–10321.
- Zonoubi, A.; Perumal, D. V.; Prasad, P.; Chandy, V.; & Mafibaniyadi, Z. (2019). Milk thistle-morphology, chemistry and pharmacological action. *International Journal of Innovative Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(2), 14–40.

## Summary

---

### Summary

The current study aimed to know the protective effect of alcoholic and nano-synthesized zinc oxide extract of *Silybum marianum* seeds to reduce the effect of liver cancer induced by thioacetamide (TAA) and carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) in male white rats, *Rattus Rattus*, by studying some changes in parameters. Physiological, histological and genetic. The study was conducted in the animal house of the College of Education for Pure Sciences - University of Karbala for the period from 1/3/2022 to 1/7/2022, it included 35 male white rats with weights (200-250) grams and their ages were (10-12) weeks. It was divided into seven groups of 5 animals per group. The first group, G1, was a negative control group that was dosed with physiological salt solution for a period of 14 weeks, and the second group, G2, was dosed with an alcoholic extract of plant seeds at a dosage of 100mg/kg for a period of 14 weeks. The third group, G3, was a positive control that was injected intraperitoneally with thioacetamide at a dose 200mg/kg daily for two weeks, then injected with carbon tetrachloride at a dose of 3mg/kg once a week for 12 weeks, and the fourth group, G4, was dosed with alcoholic extract at a dose of 100 mg/kg for two weeks, after which the mixture of thioacetamide and carbon tetrachloride was given by injection until the end of the experiment. It is 14 weeks, while the fifth group (G5), the sixth (G6) and the seventh (G7) were dosed with the nano-extract (20,32,60 mg/kg), respectively, for two weeks, and then injected with a mixture of thioacetamide and carbon tetrachloride until the end of the experiment, which is 14 weeks. Blood and tissue samples were collected after sacrificing the animals at the end of the experiment to measure the following parameters : Measuring the level of liver enzymes Alanine transaminase

## Summary

---

(ALT), Aspartate transaminase (AST), Alkaline phosphatase (ALP), Total protein, Albumin, Globulin, Malondialdehyde, Glutathione, and Superoxide dismutase, as well as evaluating the pathological changes of the liver tissue by measuring the diameters of each of the hepatocytes, sinusoids, and central vein, and measuring the percentage of DNA damage. We obtained the following results:

1- The study revealed the presence of 12 active compounds present in the alcoholic extract of artichoke seeds by using GC-Mass technology, and the active compound was Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- has The highest surface area in the extract, while the active compound Hexadecen-1-ol,trans-9- had the lowest surface area in the extract.

2- There was a significant increase ( $p \leq 0.05$ ) in the level of liver enzymes AST, ALT, ALP and malonaldehyde in the positive control group G3 compared with the negative control group G1, while there were no significant differences ( $p \geq 0.05$ ) between G1 and G2, while there was a decrease Significant ( $p \leq 0.05$ ) in the level of liver enzymes AST, ALT, and ALP in male rats in group G4 that were dosed with alcoholic extract of artichoke seeds, as well as in groups G7, G6, and G5 that were dosed with nanoextract, as well as a significant decrease ( $p \leq 0.05$ ). In the level of total protein, albumin, globulin, cotathione, and superoxide dismutase in the positive control group G3 compared with the negative control group G1, while there were no significant differences ( $p \geq 0.05$ ) between G1 and G2 except for the level of glutathione, there was a significant difference ( $p \leq 0.05$ ) between G1 and G2. While there was a significant increase ( $p \leq 0.05$ ) in the level of total protein, albumin, globulin, cotathione, and superoxide dismutase in male rats in the

## Summary

---

G4 group that were dosed with the alcoholic extract of the milk thistle plant, as well as in the groups G7, G6, and G5 that were dosed with the nano extract of the plant.

3- There were changes in the liver tissue of the positive control group G3 compared to the negative control group G1 and group G2, and it included the presence of tumor cells and necrosis in the liver cells with hemorrhage in the tissue and irregular sinusoids as well as irregular shape of the hepatic lobule with inflammation in some areas of the tissue, while the group G4 Histopathology shows degeneration in some hepatocytes and necrosis in other cells with irregular sinusoids. As for the groups G7, G6, and G5 that were dosed with the nanoextract, they showed simple histological changes compared to the positive control group represented by degeneration in some liver cells in G5 and mild inflammation in G6. The histological sections are regular in the sinusoids, and the shape of the tissue was normal.

As well as the presence of a significant increase ( $p \leq 0.05$ ) in the diameters of liver cells, sinusoids and central vein in the positive control group G3 compared with the negative control group G1, while there were no significant differences ( $p \geq 0.05$ ) between G1 and G2, while there was a significant decrease ( $p \leq 0.05$ ) in the diameters of liver cells and the central vein in male rats in group G4 that were dosed with alcoholic extract of the milk thistle plant, and there was a significant decrease ( $p \leq 0.05$ ) in the diameters of liver cells, sinusoids and central vein in male rats in groups G7, G6, and G5 that were dosed with the extract. nanoparticles.

4- There was a significant increase ( $p \leq 0.05$ ) in the percentage of DNA breakdown in the positive control group G3 compared to the negative control

## Summary

---

group G1, while there were no significant differences ( $p \geq 0.05$ ) between G1 and G2, while there was a significant decrease ( $p \leq 0.05$ ). In the percentage of DNA breakdown in male rats in group G4 that were dosed with alcoholic extract of artichoke seeds, as well as in groups G7, G6, and G5 that were dosed with nanoextract, compared to the positive control group, G3.

We conclude from the foregoing that the induction of liver cancer in male white rats by injecting them subperitoneally with TAA and CCl<sub>4</sub> leads to changes in some physiological, histological and genetic parameters when the animals were dosed orally with the alcoholic and nano extract of the seeds of the Artemisia plant. It had a protective effect against liver cancer and the nano extract with Higher protective efficacy than the alcoholic extract of the plant's seeds, especially at the dose (32mg/kg).



**Kerbala university**

**Study of the protective effect of alcoholic and nano-extract of *Silybum marianum* seeds on some physiological, histological and genetic parameters in male rats induced liver cancer**

**A Thesis**

**submitted to Council of the College of Education Pure Science -  
Karbala University, as a partial fulfillment of the requirements  
for Doctor of Philosophy degree in  
Biology-Zoology**

**Written by**

**Karrar Hussein Hnaiyt AL-Graiti**

**Supervised By**

**Prof.Dr.**

**Yasemin Khudair Khelef**

**Prof.Dr**

**Dr.Rasha Abdul Amir Jawad**

**1444 A . H.**

**2023.A.D.**