



جمهورية العراق وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة  
قسم علوم الحياة

دراسة نسجية كيموحيوية مناعية للدور الوقائي للمستخلص المائي  
والنانوي لجذور نبات الاشواغندا في أناث الجرذان المعاملة بمادة  
**propyl4-hydroxybenzoate**

رسالة مقدمة

إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة  
الماجستير في علوم الحياة

كتبت بواسطة

أية حسين عذاب فزع

بكالوريوس تربية علوم حياة - جامعة كربلاء / 2021

بإشراف

أ.م. د علاء حسين مهدي الصافي

أ.م. د قيصر عبد السجاد محمد حسين

اب / 2024م

ربيع الاول / 1446 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿أَفَرَأَيْتُمُ الْمَاءَ الَّذِي تَشْرَبُونَ \* أَأَنْتُمْ أَنْزَلْتُمُوهُ مِنَ الْمُزْنِ أَمْ نَحْنُ

الْمُنزِلُونَ \* لَوْ نَشَاءُ جَعَلْنَاهُ أُجَاجًا فَلَوْلَا تَشْكُرُونَ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة الواقعة / آية 68-70

## الأهداء

الى الغائب الذي طال غيابه تاركاً لعيوننا ضمناً الأشتياق ....

الإمام صاحب العصر والزمان ....

إلى من سعى وشقى وترك ترف الحياة وراحته وعمر الأرض ليمزج ترابها بمائها لينتج الجنان بإذن  
لله لأنعم بالراحة والهناء وعلمي التواضع طبع الاتقياء وعلمي أن اسير بطريق الحياة بحكمة وصبر إلى  
من كلله الله بالهيبة والوقار ومن علمني العطاء بدون أنتظار وأحمل اسمه بكل أفتخار ...

أبي رحمه الله ....

إلى خيمة الحنان والدفء الى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى المعطاء بدون  
مقابل التي آثرت نفسها بتضحياتها لترسم طريق سعادتنا وجعلتني بداخل قلبها ...

عمتي الحنونة وأمي ...

إلى مَنْ كانا سنداً لي وحبهم يجري في عروقي ويلهج بذكرهم فوادي الى اجمل قدر في حياتي وسر  
قوتي الى التي أرى نفسي بها وسعادتها من سعادتي الى الباب الأول الذي أقرعه في صعابي ...

أختي زينب وآيات وايلاف ...

إلى من غمروني بالحب والعطاء الى سندي في الحياه

أخواني .....

إلى من يسعده نجاحي الى رفيق الدرب

حيدر ....

إلى الأزهار اليانعة الفواحة بحب الخلاق

ميّار وملاك وعلي ومسك ...

إلى كل من علمني حرفاً ....

إلى أهلي واحبتي جميعاً .....

## شكر وتقدير

الحمد لله الواحد الأحد الفرد الصمد الذي لم يلد ولم يولد ولم يكن له كفواً أحد تعالى عن الصحابة والولد ، واستغنى عن العدة والعدد ، والصلاة والسلام على أفضل أنبيائه وخيرة أصفياؤه . محمد المصطفى وعلى آله الطيبين الطاهرين أعلام الهدى والعروة الوثقى وأولي الحجة والنهي الحمد لله الذي جعل العلم ضياءً والقران نوراً ، إلهي ما بي من نعمة فمنك وحدك لا شريك لك ، فلك الحمد والشكر على نعمائك كلها .

كما اتقدم بجزيل الشكر وعظيم الامتنان لرئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة والمتمثلة بالدكتور ه. ا. د حميدة عيدان ورئاسة قسم علوم الحياة لأتاحتهم الفرصة لي لأكمال دراستي وشكري الخاص لرئيس القسم المحترم الاستاذ المساعد ا.م.د نصير ميرزا و الاستاذ ا.د. لقاء **حسون صكبان** لما قدموه لي من العون والجهد لتذليل الصعاب التي واجهتني اثناء الدراسة

اتقدم بوافر الشكر وجزيل الامتنان الى استاذي المشرف الاستاذ ا.م.د. علاء مهدي حسين لاقتراحه مشروع البحث وأشرافه المباشر لمساعدتي وتدريبتي والذي لم يتوانى ولو للحظة في تقديم النصيحة والمشورة العلمية لي فلم أجد منه سوى الصدر الرحب والخلق الطيب والعلم الغزير فجزاه الله خير الجزاء. كما أدين بالشكر والامتنان العميق لأستاذي ومشرفي ا.م.د قيصر عبد **السجاد محمد حسين** لما بذله من جهد فقد كان شرف لي أن اعمل معه وأستفيد من خبرته ومعلوماته والتي لم يتوانى في ابداء النصيحة او تعزيز ثقتي بنفسي زادك الله عطاء ووفقك لكل خير . كما أتقدم بالشكر والتقدير الى ا.د سيف محمد و ا.م.د هبة علوان و م.د شكرية حاتم لما قدموه من العون والمساعدة وتقديم النصيحة والمشورة العلمية فجزاهم الله خير الجزاء واتقدم بفائق امتناني واعتزازي لعائلتي الحبيبة واطمن بالذکر نعمتي في دنياي عمتي وفخري وسندي اخوتي كرار **وذوالفقار وعلي وليث وامير وغيث** ، وأخواتي لما بذلوه معي من جهود حثيثة داعية الله أن يحفظهم ويوفقهم لما يحب ويرضى إنه مجيب الدعاء. كما اتقدم بجزيل الشكر الى زميلتي في الدراسة **الست الاء علي شاهين** لمساعدتها لي في المختبر. والى زميلتي وصديقتي القريبه من القلب التي الجأ اليها دائماً **الست زينب عدوان** . وبكل امتنان اشكر كل من مد يد العون والمساعدة لأنجاز هذا البحث.

آية

## إقرار المشرف على الرسالة

أشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة: (دراسة نسجية كيموحيوية مناعية للدور الوقائي للمستخلص المائي والناذوي لجذور نبات الأشواغندا في أنث الجردان المعاملة بمادة *propyl4-hydroxybenzoate*) قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان.

  
التوقيع

الاسم: د. قيصر عبد السجاد محمد حسين

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة-جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2024

  
التوقيع:

الاسم: د. علاء حسين مهدي

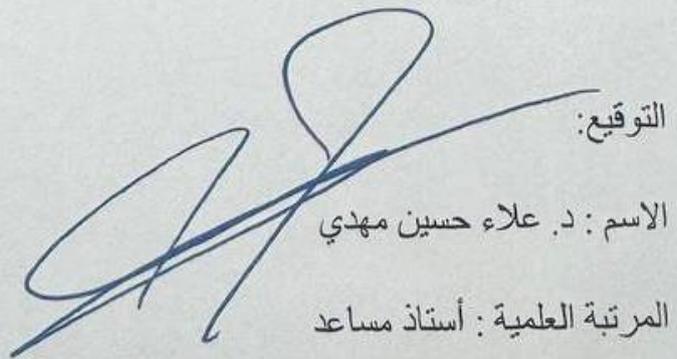
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2024

## توصية رئيس قسم علوم الحياة

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

  
التوقيع:

الاسم: د. علاء حسين مهدي

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

مكان العمل: كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2024

## إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة نسيجية كيموحيوية مناعية للدور الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لجذور نبات الاشواغندا في أنتاج الجرذان المعاملة بمادة *propyl4-hydroxybenzoate*) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ماورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:-

الاسم :- د.مسلم مالك الاسدي

المرتبة العلمية:- أستاذ

مكان العمل :- جامعة كربلاء / كلية العلوم الإسلامية

التاريخ: / / 2024

### إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد بأننا قد أطلعنا على الرسالة الموسومة (دراسة نسجية كيموحيوية مناعية للدور الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لجذور نبات الاشواغندا في أنثا الجرذان المعاملة بمادة propyl4-hydroxybenzoate) المقدمة من قبل الطالبة (اية حسين عذاب فزع) كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير / علم الحيوان/علم الانسجة، وبعد إجراء المناقشة العلمية وجد إنها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير (امتياز).

#### عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم: د. هيام عبد الرضا كريم

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

مكان العمل: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024 / /

#### رئيس لجنة المناقشة

التوقيع:

الاسم: جبار عبادي محمد

المرتبة العلمية: أستاذ

مكان العمل: جامعة الكوفة / كلية العلوم

التاريخ: 2024 / /

#### عضو ومشرفا اول

التوقيع:

الاسم: د. علاء حسين مهدي

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

مكان العمل: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024 / /

#### عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم: د. بتول عباس حسين

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

مكان العمل: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024 / /

#### عضو ومشرفا ثاني

التوقيع:

الاسم: د. قيصر عبد السجاد محمد حسين

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

مكان العمل: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024 / /

#### مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع:

الاسم: د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية: أستاذ

التاريخ: 2024 / 12 / 28

## الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم كفاءة المستخلص المائي والمركب النانوي الأخضر لجذور نبات الاشواغندا (*Withania somnifera*) ضد التغيرات الفسلجية والنسجية لنسيج الكبد والكلية والمبايض والمستحثة بمادة البارابين 4-propylhydroxybenzoate في إناث الجرذان البيض.

أجريت الدراسة الحالية في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء من تشرين الثاني 2023 إلى شباط 2024، تم استخدام 30 من إناث الجرذان البيض وقسمت عشوائياً الى ست مجموعات وبواقع خمس حيوانات لكل مجموعة، جرعت المجموعة الأولى (G1) 1 مل/كغم من المحلول الفسيولوجي وعدت مجموعة السيطرة ، بينما جرعت المجموعة الثانية (G2) بجرعة 500 ملغم /كغم من وزن الجسم بمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا. في حين جرعت المجموعة الثالثة (G3) بجرعة 4.6 ملغم/كغم من وزن الجسم بمادة البارابين 4-propylhydroxybenzoate. أما المجموعة الرابعة قد جرعت بالمركب النانوي الأخضر لجذور نبات الاشواغندا بجرعة 150 ملغم/كغم كما جرعت المجموعة الخامسة بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا 500 ملغم /كغم و مادة البارابين بجرعة 4.6 ملغم/كغم من وزن الجسم اما المجموعة السادسة فقد جرعت بالمركب النانوي الأخضر 150 ملغم /كغم و مادة البارابين بجرعة 4.6 ملغم/كغم . أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن التجريع الفموي لأناث الجرذان بمادة البارابين يومياً بجرعة 4.6 ملغم/كغم أدى الى حدوث ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستويات GRA و RBC و LYM و MDA و (IL-10) (IL-17) مقارنة مع مجموعة السيطرة, وحصول انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستويات Hb و GSH و SOD ، E2 ، Progesterone بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما نلاحظ عدم وجود فرق معنوي ( $P > 0.05$ ) في مستوى WBC مقارنة مع مجموعة السيطرة .

اما المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا 500 ملغم/كغم فقد أظهرت وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستويات GRA، Hb، RBC، LYM، SOD، E2 ، Progesterone، (IL-10) مقارنة مع مجموعة السيطرة ، حصول انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى MDA بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما لوحظ عدم وجود فرق معنوي ( $P > 0.05$ ) في مستويات GSH ، (IL-17)، WBC مقارنة مع مجموعة السيطرة .

اما المجموعة التي جرعت بالمركب النانوي الأخضر بجرعة 150 ملغم/كغم فقد أظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستويات GRA ، RBC ، WBC ، LYM ، SOD ، Progesterone مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما نلاحظ وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في

مستوى (IL-10) مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما تبين عدم وجود فروق معنوية ( $P>0.05$ ) في مستويات Hb , GSH MDA , E2 , (IL-17) مقارنة مع مجموعة السيطرة . والمجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا 500 ملغم/كغم ومادة البارابين 4.6 ملغم/كغم من وزن الجسم الى وجود ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستويات GRA , RBC , Hb , Progesterone , E2 , (IL-10) (IL-17) مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما نلاحظ وجود انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى LYM مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما تبين عدم وجود فروق معنوية ( $P>0.05$ ) في مستويات E2 , GSH, MDA , (IL-17) , WBC , SOD مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما نلاحظ ان المجموعة التي جرعت بالمركب النانوي الأخضر 150 ملغم /كغم ومادة البارابين 4.6 ملغم/كغم من وزن الجسم الى وجود ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستويات GRA , RBC , Progesterone , SOD مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما نلاحظ وجود انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستويات E2 , GSH , MDA مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما تبين عدم وجود فروق معنوية ( $P>0.05$ ) في مستويات Hb , LYM , (IL-10) , WBC , (IL-17) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

أظهرت نتائج الدراسة النسجية للكلية في المجموعة المجرعة بالمادة الحافظة بجرعة 4.6 ملغم/كغم ضمور شديد في الكبيبة مع ضرر في جدران النبيبات البولية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، كما كان هناك اتساع في فسحة بومان مع وجود احتقان شديد في الاوعية الدموية ، أما المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا بتركيز 500 ملغم /كغم والمجموعه المجرعة بالمركب النانوي بتركيز 150 ملغم /كغم أظهرت تقلص قليل في حجم الكبيبة هناك زيادة في فسحة بومان تركيب طبيعي لمحفظه بومان وانتظام النبيب الملثوي الداني والنبيب الملثوي القاص مع عدم وجود تغييرات نسجية عند المقارنة مع مجموعة السيطرة ، بينما أظهرت المجموعة المجرعة بالمستخلص وبعدها بساعتين المادة الحافظة نلاحظ تأثير بسيط في تركيب للكبيبة ومحفظه بومان وعدم انتظام النبيب الملثوي الداني والنبيب الملثوي القاصي وزيادة في فسحة بومان مع وجود احتقان شديد في منطقة النبيبات مقارنة مع مجموعة السيطرة ، أما المجموعة المجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وبعده ساعتين تم تجريعها بالمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم نلاحظ الشكل الطبيعي لحجم الكبيبة G وفسحة بومان تركيب طبيعي لمحفظه بومان وانتظام النبيب الملثوي الداني والنبيب الملثوي القاصي مقارنة مع المجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا بتركيز 500 ملغم/كغم بعدها بساعتين المادة الحافظة وكذلك المجموعة المعاملة بالمركب النانوي بتركيز 150 ملغم/كغم وبعدها بساعتين المادة الحافظة أظهرت أيضا الشكل الطبيعي لكل من النبيبات البولية الدانية والقاصية والشكل الطبيعي لكل من محفظه بومان وفسحة

بومان والكبيبة مقارنه مع مجموعة المادة الحافظة. كما أظهرت التغيرات في نسيج الكبد للجرذان الجرعة بالمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم يلاحظ احتقان الوريد المركزي وتغلظ الانوية وتوسع الجيبانيات وجود خلايا التهابية مزمنة حول الوريد وجود تغلظ النوى وعدم انتظام الحبال الكبدية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة . أما المجموعة الجرعة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا بتركيز 500 ملغم /كغم والمجموعه الجرعة بالمركب النانوي بتركيز 150 ملغم /كغم حيث ظهر التركيب النسيجي للكبد مقارباً للأنسجة الطبيعية، اذ يتكون من الوريد المركزي وانتظام الحبال الكبدية المؤلفة من خلايا كبدية مضلعة ونوى كروية الشكل مع وجود الجيبانيات الكبدية ، مقارنة بمجموعة السيطرة كما بينت نتائج نسيج الكبد لمجموعة الجرذان المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم وبعد ساعتين تم إعطائها مادة الحافظة 4.6 ملغم / كغم حيث وجد أنه يقلل من التغيرات النسيجية، حيث يتكون من الوريد المركزي مع وجود الجيبانيات الكبدية، كما أن الحبال الكبدية التي تمثلها الخلايا الكبدية تكون متعددة الأضلاع والنوى كروية نلاحظ وجود احتقان طفيف في الخلايا عند مقارنتها بمجموعة السيطرة. اما نتائج نسيج الكبد لمجموعة الجرذان المعاملة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وبعد ساعتين تم إعطائها مادة حافظة 4.6 ملغم /كغم تبين وجود خلايا التهابية مزمنة حول الوريد تظهر الشكل الطبيعي لخلايا الكبد بشكلها السداسي المنتظم وانتظام في الجيبانيات . هذه التغيرات التي كانت شبه طبيعية في نسيج الكبد في كلتا المجموعتين ومقارنتها مع مجموعة السيطرة ،أما المجموعة الجرعة بمستخلص جذور الاشواغندا 500ملغم/كغم ولعدها بساعتين المادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم وكذلك المجموعة الجرعة بالمركب النانوي 150ملغم/كغم وبعدها بساعتين ماد حافظة 4.6 لاحظنا الشكل الطبيعي لخلايا الكبد بشكلها السداسي المنتظم وانتظام في الجيبانيات مقارنة مع مجموعة المادة الحافظة. أما بالنسبة للتغيرات في نسيج مبايض الجرذان الجرعة بالمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم نلاحظ تأثر أنسجة المبيض وظهور الجريبات المبيضية وبمراحل مختلفة لكن بعدد قليل ومتكيسة مقارنة مع السيطرة، أما المجموعة الجرعة بالمستخلص لجذور الاشواغندا 500 ملغم/كغم وبعدها بساعتين مادة حافظة 4.6 ملغم /كغم ومجموعة المركب النانوي 150 ملغم/كغم وبعدها يساعتين مادة حافظة 4.6 ملغم /كغم لاحظنا ظهور نسيج المبيض يظهر بصورة طبيعية ونلاحظ ظهور الجريبات المبيضية بصورة جيدة وكذلك بأعداد كثيرة وفي أشكالها المتعددة وكذلك ظهور الجسم الأصفر مقارنة مع مجموعة السيطرة.

يستنتج من الدراسة الحاليه أن المعاملة بالمستخلص المائي والمركب النانوي الأخضر كان له دور فعال في تقليل التأثيرات السمية على بغض المعايير الدمية والفسلجية والهرمونية والمناعية كذلك انسجة الكلى والكبد والمبايض ونؤكد على أفضلية المركب النانوي الأخضر على المستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا.

قائمة المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع	ت
VIII	الخلاصة	
XII	المحتويات	
XVI	قائمة الجداول	
XVII	قائمة الأشكال والصور	
XIX	المختصرات	
	الفصل الأول	
1-3	المقدمة	
	الفصل الثاني	
5-23	استعراض المراجع	
5	Medical plants النباتات الطبية	1.2
5	Withania Somnifera أشواغندا	2.2
6	Medical importance of Withania Somnifera الأهمية الطبية للأشواغندا	.1.2.2
8	..... Withania Somnifera nutritional uses استعمالات الأشواغندا الغذائية	.2.2.2
8	..... Use of plant antioxidant استخدامات النبات كمضاد للأكسدة	3.2.2.
9	انواع مضادات الأكسدة	2.2.4.
9	Enzymatic antioxidants مضادات الاكسدة الأنزيمية	.1
9	Non-enzymatic antioxidants مضادات الاكسدة غير الأنزيمية	.2
11	Nanotechnology تقنية النانو	.3.2
11	Nanoparticles Classification تصنيف الدقائق النانوية	.1.3.2
12	Characteristics of nanomaterials خصائص المواد النانوية	.2.3.2
13	Green Nano Technology تقنية النانو الخضراء	.3.3.2
14	Preservatives material المواد الحافظة	.4.2
14	Types of Preservatives material انواع المواد الحافظة	.1.4.2
14	مواد حافظة طبيعية المصدر	أ-
14	مواد حافظة ذات مصادر صناعية	ب
15	Propyl4-hydroxybenzoate البارابين	2.4.2.
16	Liver الكبد	2.5
17	Kidney الكلى	2.6
18	Histological of the kidneys الوصف النسيجي للكليتين	1.6.2
18	Ovaries المبايض	7.2.
19	تأثير مادة البارابين على بعض أعضاء الجسم	.1.7.2

19	تأثير مادة البارابين على الكبد	1.1.7.2
19	تأثير مادة البارابين على الجهاز التناسلي الانثوي	2.1.7.2
20	تأثير مادة البارابين على الجهاز التناسلي الذكري	3.1.7.2
20	تأثير مادة البارابين على الجهاز البولي	4.1.7.2
21	Immune protein البروتينات المناعية	8.2
21	Cytokines السيتوكينات	.9.2
22	IL-10	.1.9.2
23	IL-17	.2.9.2
<b>الفصل الثالث</b>		
<b>42-25</b>	Materials and Methods المواد وطرق العمل	.1.3
26	الأجهزة المستعملة	.1.1.3
27	الأدوات المستعملة	2.1.3
28	المواد الكيميائية المستعملة	3.1.3
28	طرائق العمل Methods	2.3
28	تحضير جذور نبات الاشواغندا	1.2.3
28	المستخلص النباتي لجذور نبات الاشواغندا	2.2.3
29	تخليق جسيمات الفضة النانوية باستعمال مستخلص جذور نبات الاشواغندا	3.2.3
29	المادة الحافظة (البارابين) Propyl 4-hydroxybenzoate	<b>4.2.3</b>
29	تشخيص جسيمات الفضة النانوية المخلقة حيويًا Biosynthesized silver Nanoparticles	<b>5.2.3</b>
29	مطياف الأشعة تحت الحمراء Fourier-transform infrared (FTIR)	أ-
29	التشخيص باستعمال مجهر القوة الذرية Atomic Force (AFM) Microscopy	ب-
30	Animals of the experiment حيوانات التجارب	<b>6.2.3</b>
30	Design Experience تصميم التجربة	7.2.3

32	Collection of Blood Samples جمع عينات الدم	8.2.3
32	Estimation of Estrogen هرمون الاستروجين hormone Concentration	أ-
34	Estimation of progesterone هرمون البروجستيرون hormone Concentration	ب-
35	طريقة عمل IL-17 و IL-10.	ت-
35	Histological preparations التحضيرات النسجية	9.2.3
36	Dehydration and Clearing الانكاز والترويق	1.9.2.3
36	Infiltration الارتشاح	2.9.2.3
36	Embedding الطمر	3.9.2.3
36	Trimming and Sectioning التشذيب والتقطيع	4.9.2.3
37	Staining التلوين	5.9.2.3
38	Mounting الارساء	9.2.3 6
38	Microscopic study and الفحص والتصوير المجهرى photography	7.9.2.3
38	Statistical analysis التحليل الاحصائي	3.3
81-39	<b>الفصل الرابع / النتائج والمناقشة</b>	
40	نتائج تشخيص المركب النانوي الاخضر لجذور نبات الاشواغدا بمطياف الاشعة تحت الحمراء و مجهر القوة الذرية	1-4
40	طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب النانوي الاخضر FT-IR	1.1.4.
40	طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR لمادة البارابين بشكلها الحر:	أ-
40	طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR للمركب النانوي الحر	ب-
41	طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR للمستخلص النباتي الحر	ت-
41	طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR لمادة البارابين المحمل على المركب النانوي	ث-
42	طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR لمادة البارابين المحمل على المستخلص :	ج-

45	Atomic Force Microscope (AFM) مجهر القوة الذرية	2.1.4
45	Atomic force microscope لمستخلص الاشوغندا والمحمل على لمادة البارابين	أ-
48	Atomic force microscope (AFM) للمركب النانوي الحر والمحمل على مادة البارابين	ب-
51	Physical properties of therapeutic agents الخصائص الفيزيائية للمعاملات العلاجية	ت-
52	Effect of treatments on blood parameters levels in the blood of female albino rats تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستويات المعايير الدمية في دم اناث الجرذان البيض	2-4
56	MDA مستوى في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب النانوي الاخضر /	أ-
57	GSH مستوى في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب النانوي الاخضر /	ب-
59	SOD مستوى في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب النانوي الاخضر	ت-
60	Ovarian hormones الهرمونات المبيضية	3-4
60	الحافظة البارابين على مستوى الاستروجين (Estrogen) في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب الاشواغندا النانوي	أ-
62	البارابين على مستوى البروجستيرون (Progesterone) في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب الاشواغندا النانوي	ب-
63	Interleukins الانترولوكينات	4-4
63	البارابين على مستوى انترولوكين (IL-10) في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب الاشواغندا النانوي	أ-
65	البارابين على مستوى انترولوكين (IL-17) في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب الاشواغندا النانوي	ب-



61	جدول رقم (4- 8) يوضح تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستويات الاستروجين ((Estrogen و البروجستيرون (Progesteron) ) في اناث الجرذ
65	جدول رقم (4- 9) تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي بالمادة الحافظة البارابين على مستوى انترولوكين (IL-10) و مستوى انترولوكين (IL-17) في اناث الجرذ Mean± Std. Deviation

### قائمة الأشكال والصور

رقم الصفحة	الموضوع
41	للمادة الحافظة FTIR شكل رقم (4- 1) يوضح طيف الأشعة تحت الحمراء
42	للمركب الاشوغندا النانوي FTIR شكل رقم (4- 2) يوضح طيف الأشعة تحت الحمراء
42	لمستخلص الاشوغندا الحر FTIR شكل رقم (4- 3) يوضح طيف الأشعة تحت الحمراء
43	للمركب الاشوغندا النانوي FTIR شكل رقم (4- 4) يوضح طيف الأشعة تحت الحمراء والمادة الحافظة.
43	لمستخلص الاشوغندا FTIR شكل رقم (4- 5) يوضح طيف الأشعة تحت الحمراء والمادة الحافظة .
45	شكل رقم (4- 6) يوضح صورة ثلاثية الابعاد بمجهر القوى الذرية لمستخلص الاشوغندا .
46	شكل رقم (4- 7) يوضح صورة ثلاثية الابعاد بمجهر القوى الذرية لمستخلص الاشوغندا والمادة الحافظة.
48	شكل رقم (4- 8) يوضح صورة ثلاثية الابعاد بمجهر القوى الذرية للمركب النانوي
49	شكل رقم (4- 9) يوضح صورة ثلاثية الابعاد بمجهر القوى الذرية لمركب الاشوغندا النانوي والمادة الحافظة
رقم الصفحة	الموضوع
67	صورة رقم (4- 1) مقطع نسيجي مستعرض لكلى اناث الجرذان لمجموعة السيطرة
68	صورة رقم (4- 2) مقطع نسيجي مستعرض لكلى اناث الجرذان لمجموعة المعاملة بمستخلص الاشوغندا 500 ملغم /كغم
69	صورة رقم (4- 3) مقطع نسيجي مستعرض لكلية اناث الجرذان لمجموعة المعاملة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم

70	صورة رقم (4- 4) مقطع مستعرض لكلية اناث الجرذان لمجموعة المادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم
71	صورة رقم (4- 5) مقطع مستعرض لكلية اناث الجرذان المجموعة المعاملة المستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم بعد ساعتين تم تجريعها بالمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم
71	صورة رقم (4- 6) مقطع نسجي مستعرض لكلية اناث الجرذان لمجموعة المعاملة (بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وبعده ساعتين تم تجريعها بالمادة الحافظة 4.6
72	صورة رقم (4- 7) مقطع مستعرض لنسيج الكبد في اناث الجرذان لمجموعة السيطرة
73	صورة رقم (4- 8) مقطع مستعرض لنسيج الكبد في اناث الجرذان المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم
74	صورة رقم (4- 9) مقطع نسجي مستعرض لكبد اناث الجرذان التي تم إعطائها المركب النانوي 150 ملغم /كغم
75	صورة رقم (4- 10) مقطع نسجي مستعرض لكبد اناث الجرذان التي تمت معاملتها بالمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم
76	صورة رقم (4- 11) مقطع مستعرض لكبد اناث الجرذان التي تمت معاملتها بمستخلص نبات الاشواغندا 500 ملغم /كغم وبعده ساعتين تم إعطائها مادة الحافظة 4.6 ملغم /كغم
77	صورة رقم (4- 12) مقطع مستعرض لنسيج كبد اناث الجرذان التي تم معاملتها بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وبعده ساعتين تم إعطائها مادة حافظة 4.6 ملغم /كغم
78	صورة رقم (4- 13) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض لمجموعة السيطرة
79	صورة رقم (4- 14) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض لمجموعة المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم
79	صورة رقم (4- 15) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض لمجموعة المعاملة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم
80	صورة رقم (4- 16) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض لمجموعة المادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم
81	صورة رقم (4- 17) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض التي تمت معاملتها بمستخلص نبات الاشواغندا 500 ملغم /كغم وبعده ساعتين تم إعطائها مادة الحافظة 4.6 ملغم /كغم
82	صورة رقم (4- 18) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض التي تم معاملتها بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وبعده ساعتين تم إعطائها مادة حافظة 4.6 ملغم /كغم

## قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح
ADI	Acceptable daily intake
AFM	Atomic force microscope
ALP	Alkaline Phosphatase
ALT	Alanine Aminotrans Ferase
AST	Aspartate Aminotrans Ferase
CAT	Catalase
DPX	Dextrin plasticizer xylene
EFSA	European Food Safety
ES	Estrogen
FDA	Food and drug administration
FSH	Follicle Stimulating Hormone
FTIR	Fourier-transform infrared spectroscopy
GRA	Granulocyte
GRd	Glutathione Reductase
GSH	<i>Glutathione</i>
GSSG	Glutathione disulfide
H&E	Hematoxylin & Eosin
Hb	Hemoglobin
IgA	Immunoglobulin A
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
IL-10	Interleukin-10
IL-17	Interleukin-17
LYM	Lymphocytes
MOD	malondialdehyde
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
PR	Progesteron
RBC	Red Blood cell
ROS	Reactive Oxygen Species
SEM	Search engine marketing
SOD	Super Oxide Dismutase
WBC	White Blood cell

الفصل الأول

المقدمة

**Introduction**

## 1.1 المقدمة Introduction

تعد النباتات الطبية من أهم وأقدم النباتات التي عرفها الإنسان وأستخدمها لأجل الغذاء والدواء على مر العصور ، وتعد النباتات الطبية من المصادر الصحية للإنسان إذ تم استخدامها كثيراً لفوائدها العظيمة ولتجنب التأثيرات السلبية الخطرة الذي يسببها العقار والمواد الحافظة المضافة للأغذية (Adetuyi *et al.*, 2024). إذ تمتلك النباتات الطبية مضادات الأكسدة لها القدرة على مكافحة الجذور الحرة للحد من الأجهاد التأكسدي الناتج عن التعرض للمواد الكيميائية. و تم مؤخراً الاهتمام بتطوير واستخدام مضادات الأكسدة ذات الفعالية غير السامة والمستخلصة من مصادرها الطبيعية ، و استخدام المكملات العشبية للعديد من الأمراض فقد أنتشر الطب التكميلي والبدل بين عامة البلدان العربية والأجنبية (Izah *et al.*, 2023).

ان نبات الاشواغاندا *Withania Somnifera* هو نبات عشبي قديم وله أسماء أخرى وهي الجنسنغ الهندي أو الكرز الشتوي ويسمى الععبب أيضاً. ينتشر نبات الاشواغاندا طبيعياً في الكثير من المناطق الوسطى والجنوبية للعراق وفي بساتين النخيل في محافظة البصرة وحدائق الحمضيات (Sharma *et al.*, 2021). ، يتم استخدام جذر *Withania somnifera* كمقوي عام للجسم بسبب خصائصه المضادة للأكسدة والمضادة لموت الخلايا المبرمج ، والمضادة للالتهابات وتساعد في نشاط العمليات الحيوية التي تحدث داخل الجسم ، من خلال خفض مستويات المألون ثنائي الالديها Malondialdehyde واوكسيد النتريك Nitric oxide وتحسين مستويات هذه المضادات ومنها سوبر اوكسايد دسميوتيز superoxide dismutase ، والكاتاليز catalase ، وكلوتاثيون بيروكسيديز glutathione peroxidase (S. Paul *et al.*, 2021) ولها فوائد أخرى للجسم ومنها السيطرة على ارتفاع ضغط الدم ، مرض السكري ، الربو ، تعديل المناعة الطبيعية ، معالجة لأمراض الشرايين والقلب ، ومثيرة للشهوة الجنسية. كذلك أستخدم كمسكن للألام ، ومحسن للذاكرة ، وعامل مضاد للأورام ، وعامل مضاد للميكروبات (Uthirapathy & Tahir, 2021).

المضافات الغذائية هي مواد كيميائية ضارة إذا تم استخدامها بكميات كبيرة جداً لذا يجب أضافتها وفقاً للقواعد القياسية للأغذية ولذلك وضعت هيئة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) Food and drug administration شروطاً صارمة للموافقة على استخدام المضافات الغذائية الصناعية (Wu & Rodricks, 2020). والمواد الحافظة Preservation material هي مواد كيميائية عضوية أو غير عضوية تضاف الى المنتجات الغذائية لمنع تحلل الغذاء بواسطة النمو

الميكروبي أو التغييرات الكيميائية غير المرغوب فيها وبالتالي تعمل على حماية المستهلك وتقليل الأصابة بالأمراض إذ تقوم هذه المواد أما بتأخير نمو الميكروبات أو تمنعها من النمو مما يؤدي الى أطالة تخزين الطعام فيصبح الطعام الذي يفسد سريعاً متوافر بالأسواق لمدة طويلة (Gopakum & Gopakumar, 2020).

مادة البارابين هي مادة تستخدم لحفظ الأغذية ومنتجات التجميل والمنتجات الصيدلانية لأوقات طويلة دون تلفها نتيجة لمنع نمو الكائنات الدقيقة. ولمادة البارابين تأثير سام هو ميتوهيموغلوبينية الدم والذي يسبب نقص الأوكسجين في أعضاء الجسم المختلفة و يحفز الأنسجة ويحطم الجذور الحرة المتكونة بواسطة تفاعلات البارابين في الجسم، إذ تعد إحدى أسباب الإصابة بمختلف الأمراض ومنها السرطانية (Torfs & Brackman, 2021).

تقنية النانو (Nanotechnology) تعد مجالاً مهماً للبحث الحديث الذي يتعامل مع التركيب والاستراتيجية والتلاعب بهيكل الجسيمات التي يتراوح حجمها بين (1- 100) نانومتر، وقد ظهرت تقنية النانو في نهاية القرن العشرين و تعد من أحدث التقنيات التي لها دور كبير في التغلب على العديد من المشاكل التي تسببها المواد الكيميائية وذلك من خلال تحسين الأمتصاص والذوبانية وزيادة الثباتية وكذلك أوصول الدواء الى الموقع المستهدف بالإضافة الى التقليل من الأثار الجانبية لها (Dolai et al., 2021).

## 2.1 هدف الدراسة Aim of study

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم كفاءة المستخلص المائي والمركب النانوي الأخضر لجذور نبات الاشواغندا (*Withania somnifera*) ضد التغيرات الفسلجية والنسجية لنسيج الكبد والكلى والمبايض والتأثيرات المناعية المستحثة بمادة البارابين propyl4-hydroxybenzoate في إناث الجرذان البيض من خلال دراسة المحاور التالية :

### أولاً : المحور الفسلجي

دراسة المعايير الآتية :

- 1- دراسة مستويات المعايير الدموية (Red Blood ، Hemoglobin(Hb)) ، cell(WBC) ، Whit Blood، cell(RBC) ، Granulocyte(GRA)،Lymphocytes(LYM) ،والفسلجية (GSH) Glutathion ، Malondialdehyde (MOD) و Super Oxide Dismutase (SOD) في إناث الجرذان البيض .
- 2- قياس مستوى بعض الهرمونات الانثوية وتشمل قياس مستوى هرموني Progesterone ، Estrogens.
- 3- دراسة مستوى بعض المعايير المناعية التي تشمل (Interleukin(IL-10) ، Interleukin(IL-17) .

### ثانياً : المحور النسجي

التغيرات النسجية المتمثلة بـ:

- 1- دراسة التغيرات ر النسجية في نسيج الكلى والكبد والمبايض .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

**Literature review**

**1-2- النباتات الطبية Medical plants**

تعد النباتات الطبية مصدر غني بالمركبات الطبية المتنوعة وأدى فحصها إلى اكتشاف العديد من المركبات الدوائية , وقد تراكت المعرفة بالنباتات الطبية على مدى قرون عديدة بناءً على الأنظمة الطبية التقليدية مثل الطب الهندي والطب الصيني التقليدي (Basu *et al.*, 2023). لم تظهر النباتات الطبية ومستخلصاتها عبر مئات السنين الا القليل من الآثار الجانبية وذلك لاحتوائها على عدد كبير جدا من المواد الفعالة طبيياً والتي تعكس الامكانيات العلاجية بالجدوى القصوى وبدون اثار جانبية فقد أدرجت منظمة الصحة العالمية World Health Organization (WHO) حوالي 21 ألف نبات يستخدم للأغراض الطبية حول العالم في علاج العديد من الامراض والسرطانات التي تنتج من عدة اسباب اهمها التعرض للمواد الكيميائية ومنها المضافات الغذائية Food additives و النكهات و المواد الحافظة preservatives (Martins *et al.*, 2019).

قام العلماء في الأونة الأخيرة الى اللجوء لإجراء ابحاث على النباتات للحصول على علاجات طبيعية لتقوية المناعة وتقليل الأخطار الناتجة عن الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية ، إن النباتات الطبية لها القدرة على تصنيع النواتج الأيضية الثانوية التي تتواجد في الجذور والأوراق، والتي ثبت دورها من الناحية الطبية فقد أشار إليها العديد من العلماء في دراستهم لدورها في معالجة العديد من الأمراض والميكروبات (Komiljonova, 2024).

**2.2. الأشواغندا Withania Somnifera**

ينتمي نبات الأشواغندا إلى العائلة الباذنجانية ، تضم هذه العائلة حوالي 84 جنساً والتي تشمل حوالي 3000 نوعاً وهي واحدة من أهم النباتات في مجالي الطب والاقتصاد. تنتشر على نطاق واسع في الهند وفي العديد من البلدان الأخرى، ولا سيما البلدان ذات المناخ الجاف مثل جنوب أفريقيا ومصر والمغرب والأردن وإيران وباكستان وأفغانستان والجزء الأوسط والجنوبي من العراق (عباس واخرون، 2016)، اذ ان الأشواغندا هي نبتة عشبية أو شجيرة صغيرة وناضجة وقصيرة تتراوح بين 30 و 150 سنتيمترا في الارتفاع. ويتميز النبات بجذع مستقيم وقوي مع فروع من الجانبين. أوراقها متبادلة ببيضاوية الشكل بسيطة ذات عنق مدببة عند القمة والسطح العلوي للأوراق ذات شعيرات رفيعة دقيقة ، مما يعطيها مظهراً أخضر مخملياً تنمو الأزهاراً على أطراف فروعها التي لها لون وردي فاتح وأزهار خضراء صغيرة (Nair, 2022)، وبعد إنتهاء موسم التزهير، تتشكل الثمار والتي تكون عبارة عن عنبيات كروية الشكل برتقالية اللون عند النضج تحيطها الأوراق الكأسية وتحتوي بداخلها على بذور صغيرة ذات لون بني فاتح، أما جذورها فتكون لحمية وعندما تجف يصبح شكلها اسطواني و تصبح شريطية بيضاء تميل إلى

السمره عند سحقه ، وقد ثبت دور هذه المركبات من الناحية الطبية فقد أشار إليها العديد من العلماء في دراستهم لدورها في معالجة العديد من الأمراض والميكروبات (Komiljonova, 2024). لقد شهد العلاج بالأعشاب خصوصاً في الصين والهند نجاح كبير وهي آمنة وأقل تكلفة من الأدوية الصيدلانية ذات الآثار الجانبية وأصبح الأطباء أكثر تقبلاً للعلاج بالأعشاب (Harikrishnan & Balasundaram, 2020).

### 1.2.2. الأهمية الطبية للأشواغندا *Withania somnifera* Medical importance of

أن نبات الأشواغندا يحتوي على عدد كبير من المركبات النشطة ذات الإمكانيات العلاجية الكبيرة، تم استخدام في الطب الهندي (Chaudhry, 2019). ويمكن العثور على الكثير من هذه المركبات الفعالة في أوراق النبات وجذوره - فضلاً من احتواؤها على العديد من المركبات Withanolides وهي مركبات لاكتونية ستيرويدية Steroidal lactones والتانينات Tannins والفلافونيدات Flavonoides و القلويدات Alkaloids ويعزى الطعم المر والرائحة المميزة لنبات الأشواغندا والتأثير الفسلجي الى وجود اللاكتونات وأيضا يحتوي على مركبات ثانوية تكمن أهميتها في دخولها بالصناعات الدوائية الخاصة بأمراض التوتر النفسي والعصبي، البدني، أمراض السرطان واستعملت مستخلصات الأوراق في الهند كمضادات للأكسدة ومعززة للجهاز المناعي إذ تؤدي الى زيادة إنتاج الغلوبولين المناعي الى تنظيم مستوى السكر في الدم وخفض مستويات الكوليسترول، كما أشارت الأبحاث أن العشبة فعالة في زيادة الذاكرة وزيادة القدرة على الاستيعاب وتحسين ردود الأفعال اللاإرادية (Oniscu et al., 2023). تم استخدام هذا النبات في الطب الهندي لفترات طويلة وتستخدم جذوره في أكثر من 200 تركيبه، يسمى ال *W.sominfera* أيضاً الجنسك الهندي Indian ginseng (HARI, 2020; J. Paul et al., 2021). هو النوع الأكثر أنتشاراً يستخدم في نطاق لأنه يساعد في علاج العديد من الأمراض المختلفة حيث يعمل على تقليل الأفات الجلدية وهشاشة العظام، تثبيط الخلايا السرطانية في سرطان الثدي والرئة والقولون، علاج الأرق والقلق بالإضافة الى تأثيره المضاد للشيوخه وأيضاً يستخدم في علاج قصور الغده الدرقية وأمراض القلب والاعوية الدموية (Muzammil et al., 2021). أن المركب الفعال للنبات المعزول من مستخلص جذور الأشواغندا نشاطاً كبيراً ضد الإجهاد التأكسدي في الجرذان (Kronenberg et al., 2022) ، حيث إنها تحمي من أنواع الاجهاد المختلفة كما أنها تقلل من الضغوط البيولوجية والفيزيائية والكيميائية (Washif et al., 2022). وقد أظهر المركب الفعال Withaferin A فعالية قوية إلى حد ما ضد التهاب المفاصل وله تأثير مماثل للهيدروكورتيزون Hydrocortisone ، كما أنه يعمل على كبح متلازمة التهاب المفاصل دون أي تأثير سام خلافاً للهيدروكورتيزون الذي يؤدي إلى قلة وزن

الجسم في الحيوانات المختبرية ، كما أن للمستخلص الكحولي لنبات الأشواغندا خاصية مضادة للالتهابات إذ أظهر سرعة الاستجابة و التقليل من درجة الالتهاب حيث يعمل على تثبيط الإنزيمات (Cyclooxygenases-1 (COX-1)،Lipoxygenase (5-LOX) وبذلك يمكن أن يكون بمثابة دواء محتمل ضد الالتهابات التي تشارك في تطور سرطان الرئة ( Saleem *et al.*, 2020).

كذلك وجد أن تناول مستخلص جذور نبات الأشواغندا يعزز من عدد خلايا الدم البيضاء، بالإضافة إلى ذلك، أن آلية التعديل المناعي لـ *W. Somnifera* تتضمن عدة مركبات الفعالة بيولوجياً والتي تستطيع تنظيم العديد من المسارات المناعية المختلفة (H. Liu *et al.*, 2021). وقد ثبت في الدراسات السابقة أن نبات *W. Somnifera* يمتلك قابلية فعالة مضادة للأورام حيث أن له طريقة عمل متعددة الاتجاهات من خلال عملها في تنشيط العديد من مسارات الأورام في أن واحد، كما وتساعد في تقليل اعراض مرض السرطان، قد أكدت بعض الدراسات الاهمية الطبية المختلفة لنبات الأشواغندا وسلامة استخدامها دون ظهور أي أعراض جانبية كبيرة وبالخصوص المركبات الفعالة لهذا النبات مثل Withaferin-A و Withanolides والذان يعدان من أكثر المركبات الفعالة المضادة للسرطان والذان لعبا دوراً رئيسياً في التحريض على الموت المبرمج للخلايا السرطانية (Evans *et al.*, 2021).

كما أن له دور في انخفاض مستويات الكلوكوز والكوليسترول في الدم لمرضى السكر من النوع الثاني (Bonilha *et al.*, 2021). استعملت جذوره في الغالب للأغراض العلاجية، وأوراقه ذات طعم مر ولها بعض الاستعمالات الطبية مثل تقليل الحمى وتخفيف الكدمات ، أما الزهور فتم استعمالها كمادة مطهرة ومدرة للبول فضلاً عن استخدام البذور كمادة مضادة وطاردة للديدان الطفيلية، تم استعمال الثمار تقليدياً لعلاج الدامل وتقرحات الجلد، وقد وجد أن للنبات فعالية في تحفيز الجهاز المناعي عن طريق إنتاج الخلايا اللمفاوية T والخلايا الالتهابية بالإضافة الى وجود زيادة عامه في عدد خلايا الدم البيضاء بعد تناول مستخلص جذور نبات الودانيا (Verma *et al.*, 2022).

### 2.2.2. استعمالات الأشواغندا الغذائية *W. Somnifera* nutritional uses

أن الأشواغندا مفيدة لمن يعانون من حالات الأرهاق المزمن والتعب الجسمي الحاد الناجم عن كثرة العمل و الأجهاد (Sukumar, 2021) يمكن تناول الأشواغندا في صورة بودرة تضاف الى الحليب الدافئ مع العسل أو تؤخذ ملعقة من خلاصة مسحوق خلاصة جذور الأشواغندا وتضاف الى كوب الشاي، وفي الطب الهندي يصرف للمصاب بالبهاق على شكل كبسولات لتقوية المناعة (Garcia, 2020). أن تناول الأشواغندا يجدد من نشاط الجهاز العصبي لأنها تحتوي على العديد من مضادات الأكسدة وهي سوبر أوكسيد دسميوتيز Superoxide dismutase، الكتاليز Catalase، والكلوتاثيون بيروكسيديز Glutathione peroxidase وهذا يفسر أهمية تناول الأشواغندا لدى مرضى الضغوط النفسية. لكن يؤدي تناول الكميات الكبيرة من النبات خلال فترة الحمل الى الأجهاض (Nunez, 2024).

تم استخدام هذا النبات في الطب الهندي لفترات طويلة وتستخدم جذوره في أكثر من 200 تركيبه، يسمى ال *W. Somnifera* أيضاً الجنسك الهندي (HARI, Indian ginseng, 2021; J. Paul et al., 2020). هو النوع الأكثر انتشاراً يستخدم على نطاق واسع لأنه يساعد في علاج العديد من الأمراض المختلفة، إذ يعمل على تقليل الأفات الجلدية وهشاشة العظام، تثبيط الخلايا السرطانية في سرطان الثدي والرئة والقولون، علاج الأرق والقلق بالإضافة الى تأثيره المضاد للشيخوخة وأيضاً يستخدم في علاج قصور الغده الدرقية وأمراض القلب والاعوية الدموية والسكري (Atluri & Thakur, 2022). كما أن له دور في انخفاض مستويات الكلوكوز والكوليسترول في الدم لمرضى السكر من النوع الثاني (Che, T., et.al. 2021)

### 3.2.2. استخدامات النبات كمضاد للأكسدة Use of plant as antioxidant

أن مضادات الأكسدة تلعب دوراً مهماً في نظام دفاع الجسم ضد Reactive Oxygen Species (ROS)، وتعرف مضادات الأكسدة بأنها "أي مادة تؤخر أو تمنع أو تزيل الضرر الحادث لأكسدة الجزيء الهدف، تعد مضادات الأكسدة هي مثبط لعملية الأكسدة حتى بتراكيز واطئة نسبياً وبالتالي يكون لها دور فسيولوجي متنوع في الجسم، أن مكونات مضادات الأكسدة من المواد النباتية تكون بمثابة مزيل أو كاسح للجذور الحرة وهذا يساعد في تحويلها إلى أنواع أقل تفاعلية وتوجد هذه المواد الكاسحة في النباتات و الفواكه والخضروات بصورة متنوعة وواسعة (Ezez et al., 2023).

## 4.2.2. انواع مضادات الأكسدة

## 1. مضادات اكسدة داخلية المنشأ (الأنزيمية) Endogenous (enzymatic) Antioxidants

تشمل مضادات الاكسدة الأنزيمية أنزيمات سوبر اوكسايد ديسميوتيز Superoxide dismutase (SOD) والكاتاليز Catalase (CAT) كلوتاثيون بيروكسديز (GSH - Px) Glutathione Peroxidase كلوتاثيون ريديوكتيز (GRd) Glutathione Reductase، وتتطلب بعض مضادات الأكسدة وجود عناصر غذائية دقيقة Micronutrient كعوامل مساعدة مثل السيلينيوم والحديد والنحاس والزنك والمنغنيز للنشاط التحفيزي وقد تبين بعض الدراسات أنه لو كان المدخول الغذائي لهذه المعادن Minerals منخفضة فقد يؤثر ذلك بفعالية آلية الدفاع المضادة للأكسدة (Sies *et al.*, 2022). إن الكاتاليز Catalase (CAT) عبارة عن إنزيمات معدنية Metalloenzymes تحمي الخلية من التلف التأكسدي بفعل بيروكسيد الهيدروجين الناتج أثناء عملية التمثيل الغذائي للأوكسجين O<sub>2</sub> يحفز إنزيم الكاتاليز تفكك بيروكسيد الهيدروجين الى الأوكسجين والماء كما ينظم استقلاب بيروكسيد الهيدروجين وهو إنزيم شائع يوجد في جميع الكائنات الحية تقريباً لأنه يمتلك القدرة على تحليل أكثر من مليون جزيء من بيروكسيد الهيدروجين (Ugya *et al.*, 2020)، لكل جزيء من الإنزيم في نظام الدفاع المضاد لأكسدة الخلايا، تختلف فعالية إنزيم الكاتاليز في الثدييات من نسيج الى آخر فتكون واطئة في الانسجة الرابطة وعالية في الكبد والكلية، يوجد إنزيم الكاتاليز وإنزيم الكلوتاثيون بيروكسديز في كريات الدم الحمراء حيث يمتلكان وظيفة حماية الهيموغلوبين والبروتينات، وكلما قل مستوى الكاتاليز في كريات الدم الحمراء تزداد فعالية العوامل المؤكسدة وخاصة البيروكسيد (Banu *et al.*, 2020).

## 2. مضادات الاكسدة خارجية المنشأ Exogenous Antioxidants

## أ- مضادات الأكسدة الغذائية / الطبيعية Dietary/Natural Antioxidants

وتشمل المواد المضادة للأكسدة الغذائية تربينويد الفينول (ثيمول وكارفاكرول)، وفلافينويدات (ديوسميتين، ولوتولين، وتانينات، وهيدروكينون)، وجليكوسيدات الفينول (أربوتين، وميثيل أربوتين)، (أحماض أورسوليك وأولينوليك)، تعد المركبات الفينولية من أهم المركبات التي تمت دراستها كمضادات الأكسدة التي تكسر السلسلة، حيث تتفاعل مع الاحماض الدهنية لتكوين جذور غير تفاعلية، (Panda *et al.*, 2021). تكون هذه المركبات قادرة على التبرع بالإلكترون أو ذرة هيدروجين لجذر الدهون المتكون أثناء مرحلة أكسدة الدهون وتظهر المركبات الفينولية قدراتها المضادة للأكسدة عن طريق ازالة جذور البروكسيل المتكونه نتيجة اعملية بيروكسيدية الدهون (Zahran *et al.*, 2020).

**Antioxidants Synthetic****ب- مضادات الأكسدة الاصطناعية**

يتم تصنيع مضادات الأكسدة الاصطناعية كيميائياً لأنها لا تتكون بشكل طبيعي وتضاف إلى المواد الحافظة للمساعدة في منع أكسدة الدهون، حيث تسبب عملية الأكسدة تغيير في التركيب الكيميائي والخواص الكيموحيوية مما يؤدي إلى فقدان قيمتها الغذائية تعمل مضادات الأكسدة على تقليل درجة التأكسد مسببة إطالة عمر المادة الغذائية (Liu & Mabury, 2020).

**Endogenous Antioxidants****2. مضادات الأكسدة الداخلية / غير الانزيمية**

يملك الجسم العديد من آليات الدفاع للمساعدة على الحماية من تلف الخلايا الناتج عن الجذور الحرة من أمثلتها :

أ- حامض اليوريك **Uric Acid**.

ب- البيليروبين **Bilirubin**.

ت- الألبومين **Albumin**.

ث- الكلوتاثيون **Glutathione**، ويعد الكلوتاثيون وهو من أهم مضادات الأكسدة غير الأنزيمية ويعد عاملاً مهماً في تقليل الضرر الناتج عن الاجهاد التأكسدي ويعمل على كسح الجذور الحرة ، إذ أنه يؤدي دوراً مهماً في المحافظة على الخلايا والأعضاء والأنسجة من الهدم التأكسدي، وان انخفاض مستوى الكلوتاثيون يعد من العوامل الرئيسية التي تؤدي إلى بيروكسيد الدهون (Pisoschi *et al.*, 2021).

الكلوتاثيون عبارة عن مركب ثلاثي الببتيد مؤلف من ارتباط ثلاثة أحماض أمينية هي السستين **cysteine** والكلوتاميت **glutamate** والكلايسين، ويحتوي على أصرة كما **Gama** بين الحامضين الأمينيين الأول والثاني لذلك فهو يقاوم التحلل بواسطة أنزيمات الببتايديز **Peptidase** داخل الخلية، تعد مجموعة الكبريت الموجودة في تركيب الكلوتاثيون المتمثلة بمجموعة الثايول (SH) للحامض الأميني السستين عاملاً مختزلاً جيداً وهي أهم مجموعة فعالة في الكلوتاثيون لقدرتها على وهب ذرة الهيدروجين إلى الجذور الحرة وذلك لضعف الاصرة بين الكبريت والهيدروجين S-H وقوة الاصرة بين C-H في الجذور الحرة لذلك فهي تقوم بحماية الاغشية الخلوية من ضرر الجذور الحرة، في حين تتأكسد مجموعة الثايول مكونة الكلوتاثيون ثنائي الكبريت **Glutathione disulfide (GSSG)** (Sarıkaya & Doğan, 2020). يعد الكلوتاثيون المادة الأساس التي يعمل عليها أنزيم كلوتاثيون بيروكسيدز فضلاً عن ذلك فإن الكلوتاثيون يعد مادة أساس لأنزيم آخر هو **(Glutathione – S – transferase (GST)** ، ويعد الكلوتاثيون الناتج النهائي لتفاعل أنزيم كلوتاثيون ريديوكتيز ، إذ يؤدي الأنزيم دوراً كبيراً في الحفاظ على التوازن بين الكلوتاثيون والشكل غير الفعال للكلوتاثيون (ثنائي الكبريت

Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) عن طريق الاعتماد على (Lee & Jose, 2021).

### 3.2. تقنية النانو Nanotechnology

تهتم تقنية النانو بدراسة وتوصيف المواد النانوية ودراسة خواصها الكيميائية والفيزيائية والميكانيكية مع دراسة الظواهر الناتجة عن صغر حجمها. كلمة "نانو" (Nano) مشتقة من الكلمة اليونانية Dwarf مما يعني قزم أو الشيء الصغير وعلمياً Nanometer وحدة قياس تساوي واحد من المليار  $10^{-9}$  من المتر في الحجم أي انه يمثل واحداً على ثمانين ألف من قطر شعرة واحدة من الإنسان. (Ochigbo, S. S., & Sadiku, R. E. (2024).

تتضمن تقنية النانو Nanotechnology تحضير مواد بأحجام نانومترية من 1 إلى 100 نانومتر. لقد أظهرت تقنية النانو مجالاً جديداً للعلوم الأساسية وهي تحظى بأهتمام عالمي بسبب تطبيقاتها الواسعة. تم تصنيع الجسيمات النانوية بأستعمال طرائق كيميائية وفيزيائية مختلفة لكن هذه الطرائق لها عيوباً وتعد غير آمنة للبيئة وهي باهظة الثمن، لذلك لجأ الباحثون إلى إيجاد طرائق آمنة مثل التخليق الحيوي للجسيمات النانوية بأستعمال النباتات (Dikshit *et al.*, 2021). إذ يظهر التخليق الحيوي للجسيمات النباتية بواسطة النباتات مواد نانوية، لأنها توفر طرقاً غير سامة ونظيفة وصديقة للبيئة مع خصائص فيزيائية وكيميائية مختلفة، وعلى مدى السنوات القليلة الماضية، حظيت تقنية النانو اهتماماً بحثياً كبيراً نظراً لخصائصها الميكانيكية والكهرومغناطيسية والبصرية المتميزة (Khan *et al.*, 2022).

تعد تقنية النانو مجالاً متعدد الأختصاصات يشمل المواد النانوية والالكترونيات النانوية والتكنولوجيا الحيوية النانوية بأعتبارها ثلاثة مجالات متداخلة على نطاق واسع، وقد استعملت في تحسين الذوبانية الضعيفة للأدوية والمحافظة على الكفاءة العلاجية للأدوية وفعاليتها، لقد جذب تطبيق الجسيمات النانوية الكثير من الاهتمام لاسيما في مجل الطب من خلال زيادة المؤشر العلاجي للأدوية وهي من أهم التقنيات الواعدة التي يعتمد عليها العلماء لإحداث اختراعات دوائية تغير مفهوم الطب والعلاج للعديد من الأمراض (Ananda *et al.*, 2022)، لقد زاد الاهتمام العالمي حالياً باستعمال المواد الحيوية الجديدة المصنوعة من الجسيمات النانوية لتحقيق هذا العمل بشكل كامل لعلاج الالتهابات المتسببة عن البكتريا المقاومة للأدوية، وجد أن الجسيمات النانوية قد تستخدم كبدايل فعالة أو كمكملات للمضادات الحيوية (Li *et al.*, 2023).

**Characteristics of nanomaterials****1.3.2 خصائص المواد النانوية**

إشارة العديد من الباحثين في دراستهم الى اهم خصائص المواد النانوية وكالاتي :

- 1- امتلاكها مساحة سطحية كبيرة (Baig *et al.*, 2021) High surface area
- 2- ذات نشاط او فعالية عالية (Mabrouk *et al.*, 2021) Highly active or effective
- 3- تمتلك سطح محفز للتفاعل (Chadha *et al.*, 2022) Catalytic surface
- 4- عرضة للامتصاص (Singh *et al.*, 2021) prone to adsorption
- 5- عرضة للتكتل (Saleh, 2020) Prone to agglomeration
- 6- تكون طبيعية او اصطناعية (Barhoum *et al.*, 2022) Be natural or synthetic
- 7- ذات مدى واسع من التطبيقات (Sajid & Płotka-Wasyłka, 2020) Related wide range of applications

**2.3.2 تقنية النانو الخضراء Green Nano Technology**

أن الاستعمال المفرط للمواد الكيميائية في التخليق الكيميائي أدى إلى تعريض الكائنات الحية للخطر، تطور تصنيع المواد النانوية عن طريق استغلال نشاط بعض الميكروبات والنباتات، الطرق البيولوجية التي هي صديقة البيئة وان هذه الأساليب تقضي على استخدام المواد الكيميائية باهظة الثمن وتستهلك طاقة اقل، اذ ان الطبيعة غنية بالموارد الطبيعية التي تتميز بتكلفة منخفضة، وقابلية عالية للتكاثر، وعملية تنقية دقيقة مقارنة بالطرق الحيوية الأخرى الصديقة للبيئة. أدى ذلك إلى استكشاف طرق بيئية أخرى مع الحد الأدنى من استعمال المواد الكيميائية، (Ying *et al.*, 2022).

استخدام المواد السامة يجعل البيئة غير آمنة وغير متوازنة، ولتجنب هذه المشكلات، لجأ الباحثون إلى التخليق الأخضر للجسيمات النانوية، تتضمن عملية التخليق الأخضر التقليل الحيوي للمعادن باستخدام الكائنات الحية الدقيقة المختلفة (الخمائر، الفطريات، البكتيريا) أو من خلال الأنسجة النباتية (الفاكهة، الزهرة، الأوراق، الساق، البذور، الجذر، قشور الفاكهة، الخ)، ويفضل دائما اختيار نبات يحتوي على مادة واحدة على الأقل من المواد الكيميائية التي تشمل البوليفينول Polyphenol والفلافونيدات Flavonoids، الفينولات والبروتينات. كعوامل لتحقيق الاختزال الحيوي لألاح المعادن وتشكل الجسيمات النانوية نشاط مهم لمكوناتها البيوكيميائية، (Roy *et al.*, 2019; Salayová *et al.*, 2021). هذه العمليات والمصادر المستدامة لها فوائد ملحوظة كبيرة مقارنة بالطرق الكيميائية والفيزيائية مثل التكلفة المنخفضة، وانخفاض السمية، والفعالية العالية، وتلائمها مع نمط الحياة، والتي تحدث في

وقت قصير ، واستهلاكها أقل قدر ممكن من الطاقة. (Irshad *et al.*, 2021). فإن النظر في مزايا التخليق الأخضر يمثل الخيار الأول المهم للباحثين لتصنيع (Dikshit *et al.*, 2021). تتمتع المستخلصات النباتية الطبية بفوائد أكبر من الكائنات الحية الدقيقة لتخليق الجسيمات النانوية الخضراء لأنها عملية من خطوة واحدة وغير مسببة للأمراض وقليلة الكلفة. وتساعد في التخلص من المنتجات الثانوية الخطرة وتساعد أيضا في ضبط حجم الجسيمات النانوية. احتلت النباتات الطبية دورًا أساسيًا في حياة الناس في جميع أنحاء العالم ، بدءًا من الطب الهندي القديم والطب التقليدي ، فقد تم استخدام العديد من النباتات الطبية في التخليق الحيوي الأخضر لجسيمات الفضة النانوية مثل الزعتر *Thymus vulgaris* ، النعناع الفلفلي *Metha piperita* ، الزنجبيل *Zingber officinale* (Abdellatif *et al.*, 2022). يحتوي الاشواغاندا على قائمة طويلة من الاستخدامات الطبية بما في ذلك مضادات البكتيريا (Gu *et al.*, 2021). مضاد للفطريات (Chhikara *et al.*, 2021). مضاد للالتهابات (Kandeel *et al.*, 2022) مضاد فيروسات (Gurunathan *et al.*, 2020).

#### 4.2. المواد الحافظة Preservatives material

المواد الحافظة هي عبارة عن مواد كيميائية تستعمل للحفاظ على المواد الغذائية طازجة لفترة أطول، حيث تحتوي على مضادات الميكروبات ومضادات الأكسدة وتمنع التسمم الغذائي الناتج عن الفطريات والبكتيريا وتحافظ على جودة الأغذية عند الاستيراد كما تحد من التلف في المنتج الغذائي على الرغم من وجود المواد الحافظة الطبيعية كالمح، الكحول، الخل، والسكر لكنه لوحظ استخدام المواد الحافظة الكيميائية في الصناعات الغذائية على الرغم من تأثيراتها السلبية على الصحة (Elbadawy *et al.*, 2020).

#### Types of Preservatives material

#### 1.4.2. انواع المواد الحافظة

##### أ- مواد حافظة طبيعية المصدر

وتضم العديد من المواد مثل الملح التوابل والسكر والزيوت وغيرها، وتستخدم في صناعة المرببات، العصائر، الحساء، الصلصات، المخلات، مثلا استعمال السكر والملح بتركيز عالية يساعد على إيقاف النشاط الميكروبي في المنتج الغذائي وايضا استعمالها في صناعة التوابل لاحتوائها على زيوت طيارة عطرية حيث تمنع نشاط الميكروبات (Amiri *et al.*, 2021)

##### ب- مواد حافظة صناعية المصدر

تشمل المواد الكيميائية التي تستخدم لحفظ المواد الغذائية لفترة أطول و تمنع التلف وتبطئ عملية النضوج الطبيعية تسمى بالمواد الحافظة الكيميائية Chemical preservatives تستخدم المواد الحافظة الكيميائية لمنع الفساد الكيميائي والحيوي للأغذية Biological and

(Prakash, 2020) Chemical deterioration . اذ يشمل الفساد الكيميائي اكسدة وتلون الغذاء باللون البني ، اما الفساد الحيوي فيشمل تحلل الاغذية بفعل الاحياء المجهرية ، كما تضاف إلى الغذاء الكثير من المواد لتحسين مظهره وتركيبه ومذاقه فمنها ما يضيف لون للغذاء تسمى الملونات colors ومنها ما يضاف لإعطاء نكهة معينة للغذاء تسمى بالنكهات Flavors (Kumari et al., 2019).

وقد اصدرت هيئة سلامة الاغذية الاوروبية (EFSA) European Food Safety Authority نشرات خاصة توضح الحدود المسموح اخذها من المضافات الغذائية خلال اليوم الواحد (ADI) Acceptable Daily Intake ، ووضعت برنامج لتقييم جميع المضافات الغذائية (Carocho et al., 2019).

وبازدياد أنواع المضافات الغذائية أظهرت العديد من الدراسات تأثيراتها السلبية على الصحة العامة ومخاطر استعمالها ، ففي عام 2001 أشار مركز الأمراض في الولايات المتحدة Center for Disease Control And Prevention Of United states ان حوالي 76 مليون حالة من الأمراض المنقولة سببها المضافات الغذائية مما أدى إلى موت 5000 شخص خلال عام واحد وهذا ما جعل هيئة الغذاء والدواء الاميركية (FDA) food and drug administration تضع شروط صارمة للموافقة على المكونات و المضافات الغذائية المصنعة (Abbas & Al-Hamadawi, 2022).

#### 2.4.2. البارابين Propyl4-hydroxybenzoate

البارابينات هو أحد أنواع المواد الحافظة ليس لها طعم أو رائحة ملحوظة ولديها قابلية للذوبان في الزيوت والماء ، يتعرض لها البشر عن طريق الفم للبارابينات عن طريق استهلاك الأطعمة المعالجة مثل الهلام والمشروبات والأطعمة المعلبة والفواكه المعلبة والمربى (Katavic et al., 2023).

تمتلك مركبات البارابين التي تستخدم بشكل يومي نتيجة لوجودها بمختلف المواد المستهلكة تأثيرات سلبية (Bräuner et al., 2022). فقد وضحت دراسة في الولايات المتحدة وفي كوريا أن البارابين موجود في كل عينات البول تقريباً المأخوذة في المختبر من البالغين، بغض النظر عن العرق. وجدت مركبات البارابين في حليب الام، مصل الدم، المشيمة، السائل المنوي، والأنسجة الدهنية، بسبب التعرض له من مصادر مختلفة قد تكون من الغذاء او الأدوية ومنتجات التجميل ومن البيئة من التربة والغبار. كما أن له تأثير على الجلد ودوره في الإصابة بالحساسية الجلدية ، فقد أوضحت بعض الدراسات ان البارابين له قدرة منخفضة على تحفيز الحساسية بنسبه تتراوح من 0-4.2% . حيث أوضحت نتائج دراستهم ان Propyl4-hydroxybenzoate يؤثر على الغدد

الصماء وكذلك الغدد اللبينية حيث أحدث التعرض له تأثير على الغدد اللبينية وأيضاً على أنسجة الجسم ولاسيما نسيج الكبد (Mogus *et al.*, 2021; Sarink *et al.*, 2021).

كما أشارت العديد من الدراسات الى دور البارابينات في حدوث الأصابة بالسرطان مثل سرطان الثدي وسرطان الرحم ومؤخرًا بشكل متزايد سرطان الجلد (Wei *et al.*, 2021). ومن الخصائص الكيميائية للبارابينات تحملها درجات الحرارة العالية، بالإضافة إلى ذلك تحتفظ بخصائصها ضمن القيم العالية من pH، والبارابينات لها تأثيرات مضادة للميكروبات حيث تعمل كعوامل مضادة للبكتيريا والفطريات (Katavic *et al.*, 2023). وأيضاً تأثيرها على الجهاز التكاثري الذكري والأنثوي حيث تظهر مركبات البارابين نشاطاً استروجينياً ومضاداً للأندروجين وكذلك العقم عند الذكور وبالتالي، يتم تحديد البارابين على أنه خطر على صحة الإنسان (Wei *et al.*, 2021). السبب في ذلك يعزو الى تداخل البارابين مع الغده التناسلية (-hypothalamic-pituitary-gonadal axis) وتتصرف بشكل مشابه للهرمونات الأنثوية، مما يمنع أو يزعزع استقرار العمل الهرموني الطبيعي، مما يؤثر سلباً على الوظيفة الإنجابية للذكور (Mitra *et al.*, 2021). يمكن أن تتداخل اضطرابات الغدد الصماء مع عمل الهرمونات الداخلية، والتمثيل الغذائي، والنقل، يمكن أن تؤثر هذه المركبات أيضاً في الأداء الطبيعي للجهاز العصبي المركزي والجهاز المناعي وتوازن الدهون ومستويات الجلوكوز ووظيفة الغدة الدرقية وتؤثر على التركيب الجيني ويمكن ان يستمر تأثيرها عبر الأجيال (Alkafajy & Abdul-Jabbar, 2020).

كما أثبتت دراسة اخرى أن تراكيز ميثيل بارابين وإيثيل بارابين وبوتيل بارابين في البول يرتبط بقلّة عدد الحيوانات المنوية وقلّة حركتها، أما مستقلبات البارابين الهيدروكسيلية (حمض ميثيل بروتوكاتيشويك وحمض إيثيل بروتوكاتيكويك) فقد كانت مرتفعة في عينات الأدرار والسائل المنوي لعدد كبير من الأشخاص، (Smarr *et al.*, 2018). في حين وجد أن البارابينات لم تؤثر بشكل كبير على الخصائص البيولوجية للحيوانات المنوية، مثل العدد والحركة والشكل والتركيزات، وذلك حسب نماذج الانحدار الخطي (Mínguez-Alarcón *et al.*, 2018).

## 5.2. الكبد Liver

هو من الأعضاء المهمة في الجسم يقع في الجزء العلوي الأيمن من تجويف البطن اسفل الحجاب الحاجز ويقسم الى أربعة فصوص يعد الفص الأيمن أكبر الفصوص يحتوي الكبد على حبال كبدية متصلة داخل الفص هذه الحبال مكونة من خلايا كبدية تقع حول الوريد المركزي بشكل سداسي (Yao *et al.*, 2019). كذلك يحوي على الجيبانبات الكبدية التي تقع بين الحبال الكبدية مبطنه من الداخل بالخلايا الطلائية والياف شبكية والخلايا الدفاعية للكبد (Kupffer cell). داخل كل فص توجد فصيصات Lobules يتواجد داخل هذه الفصيصات فرع من الشريان الكبدي وفرع

من الوريد الكبدي وفرع صغير من قناة الصفراء ويلعب دورًا رئيسيًا في إزالة السموم وإفراز العديد من المركبات الداخلية والخارجية (Siwicki *et al.*, 2021). يلعب الكبد دور مهم وكبير في العمليات الفسلجية مثل توازن السكر في الدم، صناعة البروتين، الدهون وتصنيع وإفراز الأحماض الصفراوية والفيتامينات، تخزين الكلايوجين والاملاح (Eftekhari *et al.*, 2020).

## 6.2. الكلية Kidney

هي عبارة عن تركيب بيضوي الشكل متطاوول ذات لون احمر داكن تشبه حبة الفاصوليا تقع على الجدار الخلفي للجهة البطنية خارج الجوف الجسمي على جانبي العمود الفقري واحيانا تكون الكلية اليسرى أعلى من اليمنى بسبب وجود الجزء الأكبر من الكبد Liver في الجهة اليمنى. تؤدي الكلية دورًا مهم في تنظيم مكونات وحجم السائل خارج خلوي Extracellul fluid وبذلك تحافظ على توازن البيئة الداخلية للجسم من خلال طرح بعض المواد في البول بكميات تلائم حالة الجسم (Hall *et al.*, 2020) وهذه المواد لا تقتصر على نواتج الفضلات Waste products والمركبات الغريبة وإنما تشمل العديد من المواد المفيدة للجسم المتواجدة بشكل مفرط، نتيجة الأكل والشرب أو الأيض (Liu & Mabury, 2020) وتنجز الكلى العديد من الوظائف الحيوية للجسم من أهمها:

1. تنظيم الضغط الاوزموزي Osmotic pressure للسوائل الجسمية يتم الكشف عنه بواسطة مستقبلات ازموزية Osmotic receptors فيتم تنظيم الضغط عن طريق الطرح الاوزموزي Osmotic subtraction أو تركيز البول للمحافظة على الاتزان الداخلي للمحتوى المائي للكائن الحي (Madhavan Unny *et al.*, 2023).
2. تنظيم تركيز عدد من الأيونات في بلازما الدم بضمنها  $Na^+$ ،  $K^+$ ،  $Ca^{+2}$ ،  $Mg^{+2}$ ،  $Cl^-$ ،  $HCO_3^-$ ، S، تؤدي دورًا أساسيًا في التوازن الحامضي القاعدي من خلال إفراز  $H^-$  عندما يكون هناك زيادة في الحموضة أو إعادة امتصاص  $HCO_3^-$  عندما يكون هناك زيادة في القاعدية (Ritchison, 2023).
3. تساعد على تنظيم الضغط الدموي الشرياني بوساطة تنظيم طرح  $Na^+$  وإنتاج أنزيم الرنين Renin الذي يتحكم بمستوى ضغط الدم (Ertuglu *et al.*, 2021)
4. تقوم الكلى بطرح منتجات الأيض بضمنها اليوريا Urea التي تحوي على النتروجين الناتج عن أيض البروتينات، وحامض اليوريك Uric acid الناتج النهائي لأيض البيورين والكرياتينين الناتج النهائي لأيض العضلات (Abbiss *et al.*, 2019).

## 7.2. المبايض Ovaries

ويصنف المبيض على انه غدة مزدوجة كونها تقوم بالافراز الخارجي Exocrine والافراز الداخلي Endocrine على حد سواء, اي ان له وظيفتين مهمتين في التكاثر الانثوي وهما: تكوين الامشاج الانثوية Female Gametes (الخلايا البيضية Oocytes او البيوض Eggs), وتصنيع وافراز الهرمونات الستيرويدية (Jeong *et al.*, 2020). يمثل المبيض زوجاً من التراكيب تقع في اعلى التجويف الحوضي مقابل الجهة الخلفية لجدار الحوض وقرب الرحم, وتكون لوزية الشكل (Jiao *et al.*, 2021), بيضاء او مصفرة اللون و يتراوح طول المبيض الناضج من 5-2.5 سم, وسمكه من 3-1.5 سم, وعرضه 1.5-0.7 سم, اما وزنه فيتراوح بين 3-8 غرام (Ojasalu *et al.*, 2023), تتصل المبايض بالرحم Uterus وجدار الحوض Pelvic Wall بواسطة الاربطة الساندة Supportive والغدة الكظرية لذلك زيادة التعرض لمادة البارابين يؤثر على نسيج الغدة النخامية وفي انتاج الهرمونات المبيضية و ثم انخفاض الجريبات في المبيض وبالتالي انخفاض فرصة حدوث الحمل عند الأناث (Jiao *et al.*, 2021). يقوم المبيض بافراز الهرمونات الجنسية الانثوية الاستروجين Estrogen والبروجستيرون Progesteron (العلاجي, 2014), وهي المسؤولة عن نمو الاعضاء التناسلية الانثوية وظهور الصفات الجنسية الثانوية ونمو الغدد اللبنية وتسمك بطانة الرحم وزيادة الانسجة الدهنية (Brijesh, 2013). الاستروجين Estrogen (E) من الهرمونات الجنسية الانثوية, ويعد من مجموعة المركبات الستيرويدية, يفرز في الاناث من انسجة المبايض بكميات كبيرة من خلال الخلايا الحبيبية Granulosa cells في الغمد الداخلي Theca interna للجريبات وكذلك من الجسم الاصفر Corpus luteum, وبكميات ضئيلة من قشرة الكظرية Adrenal cortex في حالة الانثى غير الحامل, اما عند حصول الحمل فالمشيمة Placenta تفرز كميات هائلة من هرمون الاستروجين (Norman & Henry, 2014). ايضا يفرز هرمون الاستروجين من النسيج الدهني Adipose tissue والجلد Skin والكبد Liver (Gardner & Shoback, 2018).

كما هو معروف فان الاستروجين والبروجستيرون من الهرمونات الستيرويدية والتي تكون محبة للدهون, مما يسمح لها الدخول عبر الغشاء البلازمي للخلية والغشاء النووي بعملية الانتشار في النواة تقابل هذه الهرمونات بروتينات تعرف بالمستقبلات والتي لها ميل وخصوصية عالية للارتباط فيها, يرتبط هرمون الاستروجين بنوعين من المستقبلات (مستقبل الاستروجين الفا وبيتا Perkins, M. S., et.al, 2017)

## 1.7.2 تأثير مادة البارابين على بعض أعضاء الجسم

يلعب الكبد دورًا مهمًا في التمثيل الغذائي والتحول الأحيائي للمركب السام (Chi et al., 2019). لذلك، فإن أي نوع من الإصابة أو ضعف في وظائفه ينتج عنه تسمم كبد ويسبب مضاعفات صحية. لذا يجب علينا تجنب استعمال المواد الحافظة ومن ضمنها البارابينات الذي يستعمل في حفظ الأغذية. حيث أظهرت الدراسات السابقة ان أي خلل في الأنزيمات الحيوية للكبد ، التي تشمل AST و ALT و ALP ، ارتبطت بشكل شائع بخلل وتلف الكبد (Abu-El-Zahab et al., 2019). ذكر أن أحد مؤشرات تلف الكبد ووظيفته هو زيادة أنشطة (AST و ALT) في المصل لان وظيفة هذه الانزيمات تؤدي دورًا مهم في تقويض الأحماض الأمينية والتركيب الحيوي لها ، يصل ALP بشكل رئيسي إلى الكبد من العظام ، ويخرج في الصفراء ؛ لذلك يمكن أن يؤثر زيادة نسبة ارتفاع هذا الانزيم في المصل الى الإصابة بمرض الكبد الصفراوي (Loerracher & Braunbeck, 2021).

اقترح بعض الباحثين في الدراسات السابقة أن توليد الجذور الحرة يمكن أن يسبب الإجهاد التأكسدي في الكبد مما يؤدي إلى تلف الأعضاء، نتيجة زيادة بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية (Lipid Hydroperoxide) في كبد الجرذ عن طريق البارابينات والذي يسبب زيادة الإجهاد التأكسدي في الكبد. وقد وجدت دراسة أخرى ان استخدام حامض الاسكوربيك قد قلل من الإجهاد التأكسدي الناجم عن مادة البارابين عن طريق تقليل نسبة الجذور الحرة المتكونه نتيجة استخدام هذه المادة الحافظة (Guo et al., 2020).

ان استخدام المواد الحافظة في مجال الاغذية يسمح بتوفير أنواع من المنتجات الغذائية والمأكولات في غير موسمها، ويسمح للمنتجات الصيدلانية ومنتجات التجميل بأن تستخدم لأوقات طويلة من دون تلفها نتيجة نمو الكائنات الدقيقة. لكن في الآونة الأخيرة برزت عدة مزار لهذة المركبات ومن ضمنها البارابين لكثرة استخدامها ورخص اسعارها وسهولة الحصول عليها. اذ وجد في دراسات سابقة انها تؤثر على نسيج الكبد في ذكور الجرذ البيض فتؤدي الى فرط تضخم خلايا الكبد وتنكسها وتفجى الساييتوبلازم وأرتشاح خلوي لمفي وظهور خضاب الهيموسيدرين وفرط تنسج خلايا كوفر (Carocho et al., 2015). وأيضاً تؤدي المادة الحافظة الى انخفاض في تركيز ATP الذي يعد علامة أساسية لصلاحية الخلايا حيث يبين في الخلايا التي تفقد سلامة الغشاء وتفشل في تصنيع ATP ويتم استنفادها بسرعة في الساييتوبلازم بواسطة ATPases (Riss et al., 2016).

كما بينت الدراسات ان البارابين يؤثر على الجهاز التناسلي الانثوي وقد يعمل على تثبيط انزيم الاروماتيز الموجود في الخلايا الحبيبية واللوتينيه في مبايض الثدييات، حيث ان الانزيم

مسؤول عن تخليق الاستروجينات من خلال تحويل الاندروجين الى الاستروجين وبالتالي يعمل على تقليل الاسترويدات كما وجد انخفاض الهرمونات الستيرويدية نتيجة انخفاض مضادات الأوكسدة الاسترويدات (Alkafajy & Abdul-Jabbar, 2020). كما وضحت الدراسات تأثير مادة البارابين على الجهاز البولي حيث حفز الخلل الوظيفي في الكلية، اذ سبب ارتفاع في مستويات اليوريا والكرياتينين في الدم وقلل من اعادة الامتصاص في الانبوب القريب وهذا يؤدي الى تنشيط التغذية الكبيبية (Helal *et al.*, 2000), في دراسة أخرى وجد أن تجريع الذكور بمادة البارابين أدى الى ارتفاع في مستوى اليوريا والكرياتينين بسبب زيادة بيروكسيد الدهون وتكوين الجذور الحرة مما ادى الى تلف في أنسجة الجسم بما في ذلك الكلى (El-Nabarawy *et al.*, 2020).

## 8.2 البروتينات المناعية Immune protein

البروتينات المناعية، والمعروفة أيضًا باسم الغلوبولين المناعي أو الأجسام المضادة، هي مجموعة متنوعة من الجزيئات التي تنتجها خلايا متخصصة في الجهاز المناعي تسمى الخلايا الليمفاوية البائية (الخلايا البائية)، هذه البروتينات هي مكونات أساسية للاستجابة المناعية التكيفية، وهي آلية دفاع الجسم المصممة ضد مسببات الأمراض المحددة. بالإضافة إلى ذلك، تساهم الخلايا المناعية الأخرى مثل الخلايا الليمفاوية التائية (الخلايا التائية) والخلايا المقدمة للمستضد (APCs) في إنتاج وتنظيم البروتينات المناعية ومن أنواع البروتينات المناعية هي IgG هو النوع الأكثر وفرة من الأجسام المضادة في الدم وسوائل الأنسجة (Mukherjee *et al.*, 2023).

فهو يوفر مناعة طويلة الأمد من خلال التعرف على مسببات الأمراض مثل البكتيريا والفيروسات وتحبيدها. يمكن للأجسام المضادة IgG أيضًا تسهيل الاستجابات المناعية الأخرى، مثل البلعمة، أما ال IgM هو أول جسم مضاد يتم إنتاجه أثناء الاستجابة المناعية الأولية للعدوى. وهو فعال في تحييد مسببات الأمراض وتنشيط النظام التكميلي، مما يعزز إزالة مسببات الأمراض بواسطة الخلايا المناعية، أما IgA يوجد في الغالب في الإفرازات المخاطية مثل اللعاب والدموع وحليب الثدي. اذ يلعب دورًا مهمًا في منع ارتباط ودخول مسببات الأمراض إلى الأسطح المخاطية، وبالتالي الحماية من الالتهابات، كما يلعب IgE دوراً هاماً في تفاعلات الحساسية والدفاع ضد الالتهابات الطفيلية، أما IgD فهو يوجد على سطح الخلايا البائية الناضجة، حيث يعمل كمستقبل للتعرف على المستضد (Ahmad *et al.*, 2022).

## 9.2 السايٲوكينات Cytokines

السيتوكينات Cytokines (cyto تعني الخلية و kines تعني الحركة في اليونانية) وهي وسائٲ مهمة في الجهاز المناعي تعمل على تنظيم كلا من الاستجابة المناعية الفطرية والتكيفية، تفرز الخلايا المناعية Cytokines التي تعمل على تنشيط وتنظيم النمو (Growth) والتمايز (Differentiation) ويمكن أن يكون للسيتوكينات خصائص جذب كيميائي، أيضاً يوجد هناك أنواع من الخلايا تفرز Cytokines، مثل الخلايا البطانية والخلايا الليفية، كما أن هناك فئة واسعة من البروتينات الصغيرة تقريبا من 5-20 كيلو دالتون (C. Liu *et al.*, 2021). وهي عبارة عن بروتينات تنظيمية تفرز من خلايا الجهاز المناعي، قابلة للذوبان منخفضة الوزن الجزيئي، تلعب دورا أساسيا في تعديل توازن المناعة الخلوية وتنشيط الخلايا المناعية (Leppkes & Neurath, 2020)

يتم إنتاج السيتوكينات بواسطة الخلايا المناعية مثل الخلايا الليمفاوية البائية B-Lymphocyte، والخلايا اللمفاوية التائية المنشطة T-Lymphocyte، والخلايا البلعمية، الخلية القاتلة الطبيعية، وكذلك الخلايا الليفية، والخلايا البطانية، السيتوكينات ليس هرمونات أو عامل نمو، إنها تعمل بشكل مختلف مقارنة بالهرمونات، حيث تحتوي الهرمونات المتداولة على تراكيز أكثر قابلية للتنبؤ، كما أنها عادة ما تصنعها خلايا معينة (Hanna & Frangogiannis, 2020).

تشمل السيتوكينات الكيموكينات Chemokines، والإنترفيرون Interferons، والإنترلوكينات Interleukins، والليمفوكينات Lymphokines، وعامل التخر الورمي Tumor necrosis factor (Hanna & Frangogiannis, 2020). وتعمل السيتوكينات من خلال الارتباط بمستقبلات معينة على الخلايا المستهدفة والتعبير لهذه المستقبلات على خلايا الهدف يحدد مقدار الاستجابة ونوعها من عدمه (C. Liu *et al.*, 2021) ولها تأثيرات بيولوجية تأزرية ومسارات زائدة عن الحاجة ومتعددة الاتجاهات وتنقسم إلى سيتوكينات محفزة للالتهابات IL-17 و IL-18, TNF- $\alpha$ , FN- $\gamma$ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 Inflammatory cytokines وسيتوكينات مضادة للالتهابات IL-4, IL-10 Anti-inflammatory cytokines, TGF- $\beta$ ، ولها دورا أساسيا في التسبب في أمراض المناعة الذاتية، ان التوازن الديناميكي بين السيتوكينات المؤديه للالتهابات والمضادة للالتهابات في جهاز المناعة البشري يحدد استقطاب الخلايا التائية أثناء الاستجابة المناعية، ومع ذلك، فإن السيتوكينات المنشطة للالتهابات تساهم في بدء وانتشار المناعة الذاتية، حيث تعمل السيتوكينات المضادة للالتهابات على تقليل الالتهاب والتعافي من المرحلة الحادة من المرض. وتتجسد من خلال تفاعل T-helper1 T-helper2، والذي له تأثير



المحيطي و لها دور أساسي في حدوث واستمرار الحمل والحفاظ عليه ، على ما يبدو ، هناك علاقة متبادلة بينهما ، وبالتالي كان هناك خلل بالإضافة أن المستويات المرتفعة من IL-17A قد ارتبطت بعدم حدوث حمل و فشل الانغراس (Najafi & Mirshafiey, 2019) ظهرت العديد من الدراسات زيادة في تركيز IL-17 لدى النساء اللواتي يعانين من الإجهاض المتكرر المبكر مقارنة بالنساء ذوات الحمل الطبيعي . وتم تحديد الخلايا التائية المساعدة 17 (TH17) على أنها سلالة جديدة من الخلايا التائية المساعدة وقد ثبت أنها مهمة في أمراض المناعة الذاتية والأمراض الالتهابية المزمنة. في الأونة الأخيرة ، ثبت أيضاً أن خلايا TH17 تشارك في الحمل الناجح ، وكذلك في التسبب في أمراض الحمل ، مثل الإجهاض التلقائي المتكرر (RSA) وتسبب الحمل (PE)(Sugaya, 2020). كما وجد في دراسات سابقة ان تناول النباتات الطبية كالمورينجا يعزز من المناعة من خلال تنظيم العديد من السيتوكينات (Cerboni *et al.*, 2021).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

**Materials and Methods**

## 1.3. المواد وطرق العمل Materials and Methods

## 1.1.3. الأجهزة المستعملة

جدول رقم (1-3) يوضح الأجهزة المستعملة مع اسم الشركة المصنعة والمنشأ.

المنشأ Origin	الشركة Company	الأجهزة Devices	ت
Korea	Samsung	Refrigerator ثلاجة	1
Netherlands	thermo scientific	Axia chemi sem جهاز	2
U.S.A	BioTek	ELISA جهاز الاليزا	3
Germany	Heraeus Christ	Centrifuge جهاز الطرد المركزي	4
Italy	Histo-Line Lab. Mod. MRS 3500	Rotor Microtome جهاز المشراح الدوار	5
Sweden	Swelab Alfa	(Swelab Alfa) CBC جهاز فحص صورة الدم	6
U.S.A	Perkin Elmer	AFM workshop جهاز مجهر القوى الذرية	7
Korea	Labtech	Magnetic Stirrer جهاز مزج ذو الصفيحة الساخنة with hot plate	8
USA	Chicago Surgical and Electrical co.	Water Bath حمام مائي	9
India	Lassco	Hot Plate صفيحة ساخنة	10
Korea	Daihan-lab. Tech	Oven فرن	11
Japan	Canon	Digita Camera كاميرا رقمية	12
Germany	Hermile	blender ماكينة طاحنة للأعشاب	13
U.S.A	Perkin Elmer	Fourier Transform Infrared مجهر القوة الذرية (FTIR)	14
Japan	MEIJI	Compound Microscope مجهر ذو كاميرا	15
Germany	Human scope	Light Compound Microscope مجهر مركب ضوئي	16
Japan	National	Magnetic stirrer محرك مغناطيسي	17
India	Himedia	Burner مشعل	18
China	SGS	Balance ميزان	19
Germany	Sartorius	Electric Balance ميزان حساس	20

## 2.1.3 الأدوات المستعملة

جدول رقم (2-3) يوضح الأدوات المستعملة والشركة المصنعة والمنشأ .

المنشأ Origin	الشركة Company	المواد Materials	ت
USA	Oxford	Ingestion device	1 أداة تجريع
Jordan	AFCO – Dispo	أدوات بلاستيكية مختلفة الأحجام Plastic tools	2
China	Acon Laboratories.Inc	Eppendorf tubes	3 أنابيب إبندروف
Jordan	Gold star	EDTA	4 أنابيب بلاستيكية خالية من
Jordan	AFCO – Dispo	أنابيب زجاجية غير حاوية على مادة Gel tube	5 مانعة للتخثر
Jordan	Gold star	EDTA tubes	6 أنابيب مانعة للتخثر
Pakistan	S.I.E.	اواني تلوين زجاجية	7
England	Volac	زجاجيات مختلفة	8
England	Volac	Pyrex	9 زجاجيات مختلفة
Germany	Harshman	سلة اواني التصبيغ Basket Staining Gar	10
Pakistan	S.I.E.	سيت تشريح	11
S.A.R	Medical ject	شاش طبي	12
China	China MHECO	شرائح زجاجية واغطيتها	13
Germany	Sigma- Aldrich	فيلتر ميلي پور	14
Turkey	Kardelen Hidrophile Pamuk	Medical cotton	15 قطن طبي
Canada	Bio Basic	Micropipette	16 ماصة دقيقة
U.A.E	Medeco Inject	محاقن نبيذة	17
England	Volac	Ceramic mortar	18 هاون خزفي
China	Sail Brand	Filter paper	19 ورق ترشيح

## 3.1.3 المواد الكيميائية المستعملة

جدول رقم (3-3) يوضح المادة الكيميائية المستعملة والشركة المصنعة والمنشأ.

ت	المواد	الشركة	المنشأ
2	إيثانول 96 % Ethanol	Scharlau	Spain
1	ثنائي بوتيل الفثالات بوليسترين الزيلين Dibutyl phthalate DPX Polystyrene Xylene DPX	Himedia Lab. Put. Ltd	India
3	زايلين Xylene	Scharlau	Spain
4	شمع البارافين Paraffin Wax	Histo-Line Lab,OWax	Italy
5	عدة تقدير تركيز IL-10	BIOSORURCE	Europe S.A.
6	عدة تقدير تركيز IL-17	BIOSORURCE	Europe S.A.
7	فورمالين Formalin	BDH	England
8	كحول ايثيلي مطلق	Scharlau	Spain
9	كلوروفورم Chloroform	Scharlau	Spain
10	ماء مقطر Distilled Water		
11	ملونات هيماتوكسيلين وايبوسين Hemotoxyline and Eosin	BDH	England
12	نترات الفضة AgNo <sub>3</sub> Silver nitrate	Sigma- Aldrich	Germany

## 2.3 طرائق العمل Methods

## 1.2.3 تحضير جذور نبات الاشواغندا

تم جمع نبات الاشواغندا *Withania somnifera* في شهر ايلول (2023) من مناطق مختلفة من محافظة كربلاء المقدسة وتم تشخيص النبات من قبل ا.د. نيبال أمطير طراد التدريسية في قسم علوم الحياة /كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء , وقد استعملت الجذور بعد أن تم تنظيفها بصورة جيدة وطحنها بمطحنة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم

## 2.2.3 المستخلص النباتي لجذور نبات الاشواغندا

تم وزن 100 غم من جذور نبات الاشواغندا المجففة والمطحونة ومزجت مع 1000 مل من الماء المقطر وسخنت لمدة ساعتين عند درجة حرارة 50 م° بعدها رشح المحلول باستعمال قطع من الشاش بعدها بواسطة اوراق الترشيح Whatman no.1 بعد ذلك وضعت بجهاز الطرد المركزي ، ثم جفف الراشح للحصول على مستخلص جاف بشكل مسحوق ، وضع

المسحوق في أنبوبة محكمة الغلق ومعتمة وحفظ لحين استعماله وكررت العملية عدة مرات للحصول على كمية كافية من المستخلص الجاف (Karmila *et al.*, 2020).

### 3.2.3 تخليق جسيمات الفضة النانوية باستعمال مستخلص جذور نبات الاشواغندا

#### Synthesis of Silver Nanoparticles using *Withania somnifera*

اتبعت طريقة (Nah *et al.*, 2020) باخذ 1ملي مولاري من نترات الفضة على درجة حرارة 80 م° وتم تقطير المستخلص النباتي سبعة غرام من مستخلص النبات المجفف المجهز الى ( 100مل من الماء المقطر غير الايوني ) فوّه ولمدة ساعة وبنسبة (محلول نترات الفضة 80:مستخلص نباتي 20 V/V ) و (PH=7) ، تم ملاحظة بدأ التغيير اللوني حفظت في الظلام لمدة خمسة أيام الى ان تم استقرار اللون .

### 4.2.3 المادة الحافظة (البارابين) Propyl 4-hydroxybenzoate

تم استعمال مادة Propyl 4-hydroxybenzoate المعروفة باسم البارابين Paraben والتي تكون ذو ملمس ناعم لونها ابيض العبوة تحتوي على 10 غرام من المادة الحافظة تم شراؤها من المكتب العلمي في بغداد ، وتم التجريب بواسطة انبوب التجريب Cavage إذ تناولت الدراسة تأثير جرعة بتركيز 4.6mg/kg (Beriry *et al.*, 2022)

### 5.2.3 تشخيص جسيمات الفضة النانوية المخلفة حيويًا Characterization of

#### Biosynthesized silver Nanoparticles

#### أ- مطياف الأشعة تحت الحمراء Fourier-transform infrared (FTIR)

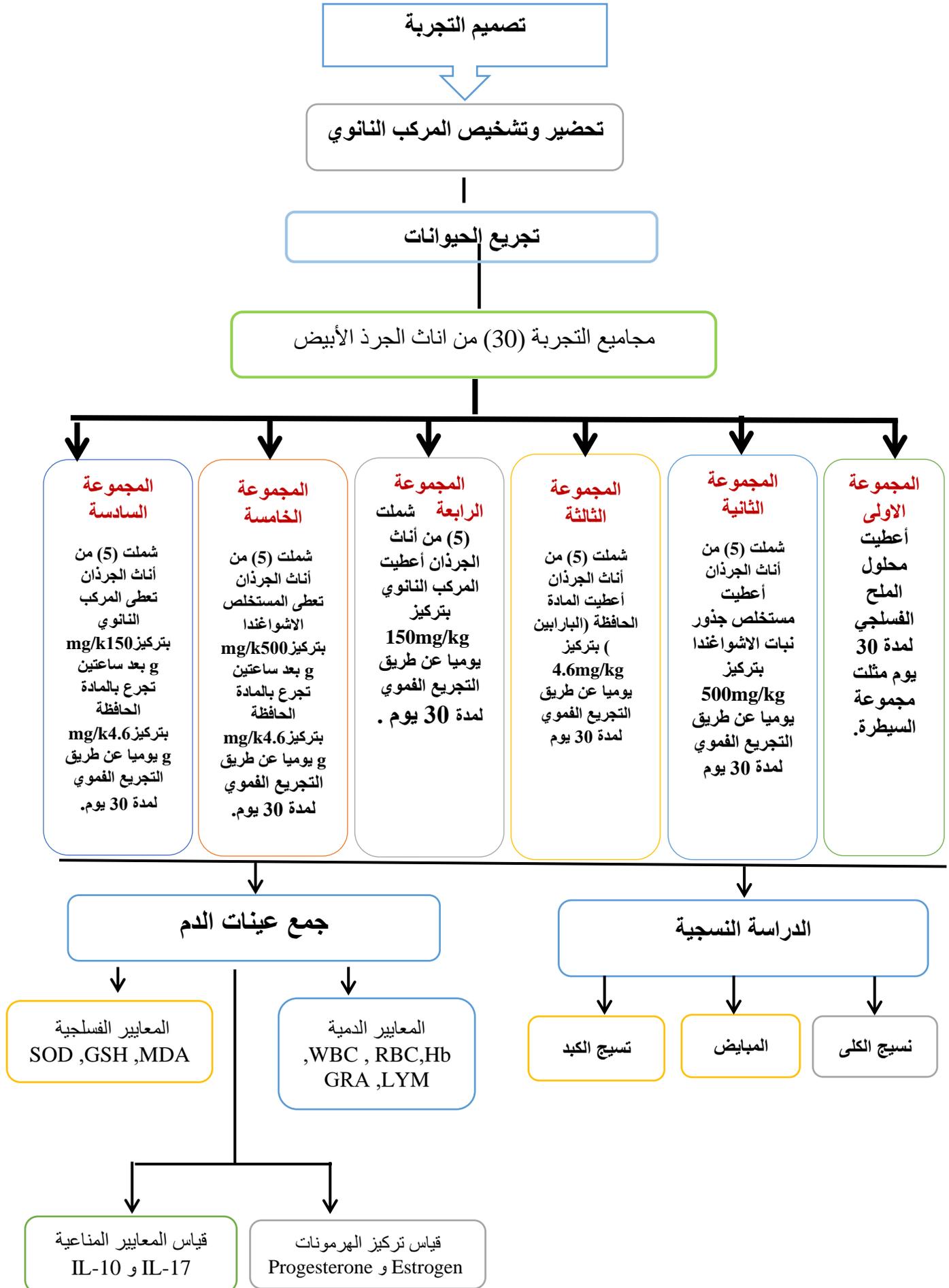
جُفّف المحلول النانوي ومزج مع بروميد البوتاسيوم KBr وبنسبة 1:100 ، تم تمرير المزيج على جهاز (SPECTRUM TWO N, PerkinElmer's, USA) ضمن مدى 500 الى 4000 سم<sup>-1</sup> تم هذا الفحص في وزارة العلوم والتكنولوجيا ( Beigel *et al.*, 2020).

#### ب- التشخيص باستعمال مجهر القوة الذرية Atomic Force Microscopy (AFM)

استعمل مجهر القوة الذرية في فحص المركبات النانوية الحرة بعد تحميلها على المركبات النانوية وتم قياس اقطار وحجوم والجزيئات النانوية إذ تم ارسال النماذج إلى مختبر انوار الرازي Anw Al Raazi Lab في بغداد لغرض فحصها ( Pakdel *et al.*, 2021).

### 6.2.3 حيوانات التجارب Animals of the experiment

استخدم في هذه الدراسة (30) جرد من اناث الجرذان البيضاء التي تم شراؤها من البيت الحيواني التابع لكلية العلوم /جامعة الكوفة ، وكانت أعمارها حوالي (8-10) أسابيع ، وأوزانها ما بين (250-265)غم . وقد وضعت الحيوانات في أقفاص مفروشة بنشارة الخشب والخاصة بتربية الجرذان ، وأخضعت لظروف مختبرية خاصة ، و تغذيتها على عليقة الدواجن والمكونة من (10% بروتين خام و20%جريش فول الصويا و35%طحين الحنطة و35%جريش ذرة إضافة الى فيتامينات ومعادن 1مللتر/كيلوغرام) و الماء بصورة وفيرة *ad libitum* وتركت الحيوانات للتأقلم لمدة أسبوعين.



### 8.2.3 جمع عينات الدم Collection of Blood Samples

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طوال الليل وذلك بعد 30 يوم من مدة التجربة ، حيث تم سحب 5 مل من الدم من القلب بطريقة طعنة القلب Heart puncture مباشرة ، وقد استخدمت محاقن طبية معقمة سعة 5 مل ، وضع 2مل من الدم بعد ذلك في أنابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة التخثر وذلك لقياس المعايير الدمية كما وضع 3مل من الدم في أنابيب جل تيوب بعدها تم فصل مصل للدم بواسطة جهاز الطرد المركزي centerfuge بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة ، وقد تم حفظ الأمصال في ثلاجة Refrigerator في درجة حرارة -20 °د لحين إتمام القياسات وذلك لقياس بعض المعايير التالية :

أ- تركيز بعض المعايير الدمية منها (Hemoglobin(Hb) ، Red Blood cell(RBC) ، White Blood cell(WBC) ، Lymphocytes(LYM) ، Granulocyte (GRA) و المعايير الفسلجية تركيز المالوندايالديهايد (MDA) Malondialdehyde ، تركيز الكلوتاثيون (GSH) Reduced Glutathion ، تركيز سوبر أوكسيد دسميوتيز Super oxide dismutase(SOD)

ب- تركيز بعض الهرمونات والتي شملت تركيز هرمون الاستروجين Estrogen و تركيز هرمون البروجستيرون Progesterone .

ت- تركيز بعض المعايير المناعية (IL-10) و (IL-17)

#### أ- قياس تركيز هرمون الاستروجين Estimation of Estrogen hormone Concentration

تم قياس تركيز الهرمون في مصل دم الجرذان وذلك بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة .

1. أشرطة (STR) الخاصة بهرمون Estradiol : وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز Estradiol لغرض تمييزها .
2. Solid phase receptacles (SPRs) وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (Tip) المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز Estradiol لغرض تمييزها ايضا .
3. control Estradiol (C1) ,calibrator Estradiol (S1) , dilutant (R1) Estradiol وهذه المواد جاهز للاستخدام.
4. بطاقة MIE وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستعملة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز الهرمون الاستروجين .

أعتمد مبدأ قياس تركيز الهرمون الاستروجين على طريقة

### Enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection

تعمل مسلمات الطور الصلب ( SPRs ) عمل الطور الصلب فضلا عن عملها بوصفها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة, أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة معلمة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً . أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل اتوماتيكي عن طريق جهاز Minividas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من وإلى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة . تم نقل العينة الى داخل الحفرة الحاوية على anti – Estradiol antibodies – المعلمة Alkaline phosphates الرابط . ويتحرك خليط ( العينة / الرابط ) بشكل دوري من وإلى SPRs وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة APR وكذلك بالربيط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich خلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس 4-Methyl-umbiliferyl phosphate بشكل دوري من وإلى SPRs . ويقوم الأنزيم بعد ذلك بتحلال المادة الأساس الى الناتج المشع وهو 4-methyl umbelliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي (450 نانوميتر ) , وتعتمد شدة الاشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة . وفي نهاية المعايرة حسب النتيجة أوتوماتيكيا عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضا .

### طريقة العمل Procedure

#### تتضمن طريقة العمل الخطوات التالية :

- 1 - وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل أوتوماتيكي إذ بدونها لا يتمكن الجهاز من اظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .
- 2 - تم استعمال شريط SPR & STR واحد لكل من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control و وضعت في المكان المخصص لها في الجهاز .
- 3 - تم سحب 100 µl من عينة مصل الدم و وضعت في الحفرة (1) الخاصة بها على الشريط (STR) Strip ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .
- 4 - تم أتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ MANUAL الخاص بالجهاز ليقوم الجهاز بالبدا بعملية المعايرة أوتوماتيكيا والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .
- 5- بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت SPR و STR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة حيث ان هذه الاشرطة تستعمل لمرة واحدة فقط.

**ب- قياس تركيز هرمون البروجستيرون Estimation of progesterone hormone****Concentration**

- تم قياس تركيز الهرمون في مصل دم الجرذان وذلك بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة
- 1 -أشرطة (STR) Strips الخاصة بهرمون progesterone: وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10حفر wellsمغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز progesterone لغرض تمييزها ايضاً.
- 2:- (SPRs) Solid phase receptacles وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (Tip)المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز progesterone لغرض تمييزها ايضاً.
- 3 - control progesterone (C1) ,calibrator progesterone (S1) ,dilutant (R1) progesterone وهذه المواد جاهز للاستخدام.
- 4 - بطاقة MIE وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستعملة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز الهرمون البروجستيرون .

**طريقة العمل Procedure**

تتضمن طريقة العمل الخطوات التالية

- 1- وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل أوتوماتيكي إذ بدونها لا يتمكن الجهاز من اظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .
- 2- تم استعمال شريط STR & SPR واحد لكل من مصل الدم القياسي والسيطرة & Standard Control ووضعت في المكان المخصص لها في الجهاز .
- 3 - تم سحب 100 µl من عينة مصل الدم ووضعت في الحفرة (1) الخاصة بها على الشريط (STR) Strip ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .
- 4 - تم أتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ MANUAL الخاص بالجهاز ليقوم الجهاز بالبدا بعملية المعايرة أوتوماتيكي والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .
- 5 - بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة حيث ان هذه الاشرطة تستعمل لمرة واحدة فقط .

**ت- طريقة عمل الانترلوكين IL-17 و IL-10**

مبدأ العمل الجهاز الاليزا .

- 1 . تم تحضير كل الكواشف ووضعت على مكان نظيف تحت درجة حرارة الغرفة.

- 2 . ثبتت الصفيحة Plate على مكان مستوي .
- 3 . أضيف 100 مايكروليتر باستخدام الماصة الدقيقة Micropipette من دارى الحزن Incubation buffer إلى كل حفرة Wells .
- 4 . أضيف 100 مايكروليتر من المحلول القياسي Calibrators ، محلول السيطرة Control العينات Sample إلى كل الحفر Wells .
- 5 . أضيف 50 مايكروليتر من محلول الاقتران conjugate إلى كل حفرة Wells .
- 6 . حضنت لمدة 2 ساعة تحت درجة حرارة الغرفة محمول على هزاز الأطباق المناعية Shaker عند rpm700 = 100 rpm .
- 7 . تم إزالة السائل الزائد من كل حفرة .
- 8 . غسلت الصفيحة ثلاثة مرات خلال :
  - أضيف 0.4 مل من محلول الغسل إلى كل حفرة.
  - إزالة كل المكونات من الحفر .
- 9 . أضيف 200 مايكروليتر من محلول الاقتران substrate المحضر حديثا إلى كل حفرة لمدة 15 دقيقة متبوع بغسل الحفر .
- 10 . حضنت الصفيحة لمدة 30 دقيقة تحت درجة حرارة الغرفة محمول على هزاز الأطباق المناعية. Shaker عند rpm700 +100 rpm بالظلام .
- 11 . أضيف 50 مايكروليتر من محلول الايقاف ( Stop solution ) إلى كل حفرة .
- 12 . يقرأ طيف الامتصاصية عند طول موجي 450 nm.

### 9.2.3 التحضيرات النسجية Histological preparations

تم حفظ عينات الحاوية على الكبد والكلى والمبيض في البداية بعد استئصالها من الحيوان في محلول الفورمالين بتركيز 10% (فورمالين 38% 100مل في 900 مل ماء حنفية) وبعد 48 ساعة استخرجت من الفورمالين وغسلت عدة مرات بالماء اعتماداً على طريقة (Suvarna *et al.*, 2023).

### 1.9.2.3 الانكاز والترويق Dehydration and Clearing

تم سحب الماء من النسيج وذلك بتمرير العينات في سلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الايثيلي (70%، 80%، 90%، 100%، 100%) ولمدة ساعتين في كل تركيز بعدها روقت النماذج بوضعها في الزايلين لمدة خمس دقائق.

### 2.9.2.3 Infiltration الارتشاح

بعد الانتهاء من عملية الترويق نقلت النماذج الى أواني زجاجية حاوية على خليط من شمع البرافين Paraffin wax ذي درجة انصهار 57-60 م° المنصهر والمرشح والزابلين بنسبة 1:1 لمدة ساعة داخل فرن كهربائي درجة حرارته 60 م° وذلك لإبقاء الشمع منصهراً ولضمان تمام عملية التشريب الكامل للنماذج بالشمع نقلت بعدها الى قناني زجاجية اخرى حاوية على شمع البرافين داخل الفرن ايضاً لمدة ساعتين ثم نقلت مرة اخرى الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين لمدة ساعتين ايضاً.

### 3.9.2.3 Embedding الطمر

تم عمل قوالب من الشمع حاوية على نماذج العينات وذلك بصب الشمع في قوالب حديدية خاصة طمرت فيها النماذج وتركنت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ثم فصلت عن القالب وحفظت حتى وقت تقطيعها.

### 4.9.2.3 التشنيب والتقطيع Trimming and Sectioning

تم استعمال جهاز المشراح اليدوي الدوار Rotary Microtome لتقطيع النماذج وبسمك 5مايكروميتر، ثم حملت اشربة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة بعد ان وضعت في حمام مائي درجة حرارته 45-50 م° لمدة دقيقة- دقيقتين لضمان فرش المقاطع بعدها تركنت على صفيحة ساخنة Hot Plate لتجف بدرجة حرارة 37 م°.

### 5.9.2.3 التلوين Staining

استعملت الملونات التالية لتلوين المقاطع النسجية

#### أ- ملون هيماتوكسيلين هارس Harris' Hematoxylin

ملون قاعدي عام استعمل لتلوين النواة بلون ازرق غامق Dark blue ، مكوناته هي :

ت	المادة	الكمية
1	مسحوق الهيماتوكسيلين	2.5 غم
2	كحول اثيلي مطلق	25 مل
3	شب البوتاسيوم AIK(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .12H <sub>2</sub> O او شب الامونيا NH <sub>4</sub> AI(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .12H <sub>2</sub> O	50 غم
4	ماء مقطر دافئ	500 مل
5	أكسيد الزئبق الأحمر Red mercuric oxide	1.25 غم
6	حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid	20 مل

حضر الملون حسب الخطوات التالية واعتمادا على (Suvarna *et al.*, 2023) اذيب الهيماتوكسلين بالكحول المطلق ثم اضيف اليه الشب المذاب بالماء المقطر الدافئ وضع المزيج على النار حتى الغليان ثم اضيف اليه أوكسيد الزنبيق الأحمر ، برد مباشرة بوضع الدورق الذي يحوي المزيج بالماء البارد واضيف اليه حامض الخليك الثلجي ورشح الخليط قبل الاستعمال

### ب- ملون الايوسين الكحولي Eosin stain

حضر الملون حسب الخطوات التالية واعتمادا على (Suvarna *et al.*, 2023).

ت	المادة	الكمية
1	مسحوق الايوسين	1 غم
2	كحول اثيلي بتركيز 70%	99 مل
3	حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid	1 مل

اذيب الايوسين في الكحول بشكل جيد ثم اضيف اليه حامض الخليك الثلجي ورشح قبل الاستعمال في اليوم التالي. لونت المقاطع النسجية باستعمال ملون الهيماتوكسلين ايوسين واعتمادا على (Suvarna *et al.*, 2023) وكما يلي:

1- وضعت المقاطع النسجية داخل فرن بدرجة 60 م° لمدة خمس دقائق ثم ازيل الشمع من الشرائح باستعمال الزايلين وعلى مرحلتين ولمدة خمس دقائق لكل مرحلة ثم مررت بسلسلة تنازلية من الكحول الاثيلي ابتداءً (100%، 100%، 90%، 80%، 70%) لمدة خمس دقائق لكل تركيز .

2- وضعت المقاطع النسجية في ملون الهيماتوكسلين هارس ولمدة خمس دقائق .

3- غسلت بالماء الجاري لمدة عشر دقائق.

4- لونت بملون الايوسين لمدة سبع دقائق.

5- غسلت بالماء المقطر لمدة دقيقتين.

6- نقلت بعدها إلى سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%، 80%، 90%، 100%،

100%) ولمدة دقيقتين في كل تركيز ما عدا التركيز الأخير وضعت فيه لمدة خمس

دقائق ثم روقت بالزايلين لمدة ثلاث دقائق .

### 3. 9.2. 6 الارساء Mounting

بعد اكمال خطوات التلوين بالملونات المختلفة أجريت عليها عملية التحميل باستعمال Dibutylphthalate Polystyrene Xylene (DPX) لتثبيت غطاء الشريحة ثم تركت على صفيحة ساخنة لتجف لتكون جاهزة للفحص.

### 7.9.2.3 الفحص والتصوير المجهرى Microscopic study and photography

تم تصوير المقاطع النسجية باستعمال مجهر ضوئي نوع MEIJI light microscope مزود بكاميرا مجهر Digital Camera نوع Canon عالية الدقة.

### 3.3 التحليل الاحصائي Statistical analysis

تم تحليل النتائج وفق التصميم التام العشوائي ، وتم استخدام تحليل التباين حسب التصميم العشوائي الكامل واختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات باستخدام اختبار Least Significant Differences (LSD) تحت مستوى معنوية ( $P<0.05$ ) (الساهاوكي ووهيب،1990).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

**Results & Discussion**

#### 1-4 تشخيص المركب النانوي الاخضر لجذور نبات الاشواغندا بمطياف الاشعة تحت الحمراء و مجهر القوة الذرية

### Results of the complex diagnosis of the Nanoparticles green difference of *Withania sominifera* plant by infrared spectroscopy and nucle force microscopy

#### 1-1-4-1 طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR لمادة البارابين بشكلها الحر:

يلاحظ في طيف الامتصاص للمادة الحافظة شكل (1-4) وجود القمة الحادة العائدة لرابطة الهيدروكسيل OH تقع عند التردد 3437.01 سم<sup>-1</sup>, كما ان وجود حزمة النتريل في الموقع 2076.25 سم<sup>-1</sup> تعود للاصرة الثلاثية القوية C≡N للكربون والنتروجين وكذلك وجود الحزمة الكربوكسيلية عند التردد 1637.34 سم<sup>-1</sup>, اما الحزم الممتدة بين (1125.80) سم<sup>-1</sup> فهي تعود لروابط C-O الاحادية التي تكون قوية وهنا برزت بشكل خفيف وتكون خاصة بمكونات بالمادة الحافظة للجزيئات الفعالة الفعالة مثل الاسترات والكحولات والايثر, الحزمة الموجودة 566.96 سم<sup>-1</sup> وما بعدها فهي لاهتزاز الروابط الاحادية الهيدروجين -او كسجين في تركيب المادة الحافظة .

#### 1-1-4-2 طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR للمركب النانوي الحر :

تشير نتائج الشكل (2-4) الى وجود القمة المستعرضة الكبيرة والحادة 3437.01 سم<sup>-1</sup> بنفس التردد الموجي للمادة الحافظة والتي يعود سببها الى تركيب الكحولات ومجاميع الهيدروكسيل التي يحتويها التي يحتويها تعد نبات الاشواكندا المهمة في تحضير مركب الفضة النانوية منه بطريقة خضراء, كما ان الحزمة 2077.02 سم<sup>-1</sup> التي تعود هنا للاصرة الثلاثية C≡N للكربون والنتروجين التي تعزى الى استعمال النترات في نترات الفضة لتحضير المركب النانوي , ونلاحظ وجود الحزمة 1637.91 سم<sup>-1</sup> تعود الى تحول مجاميع الكربونيل المكونة للنبات التي تخص مجموعة تكوين الحامض , والترددات التي بعد الحزمة الموجية اعلاه تعود جميعها لمجاميع الحامض الكربوكسيلي وكذلك الكحولات , والحزمة الكبيرة المستعرضة الحادة (692.01) سم<sup>-1</sup> تعود الى الرابطة المعدنية للفضة مع الاوكسجين .

#### 1-1-4-3 طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR للمستخلص النباتي الحر :

تم تحليل الأشعة تحت الحمراء الشكل (3-4) لمحلول المستخلص النباتي الحر TFG اذ اظهر طيف الحزم المستعرضة عند التردد (3437.16) سم<sup>-1</sup> والتي تعود لرابطة الهيدروكسيل (O-H) الخاصة لمجموعة الـ H<sub>2</sub>O وكذلك المكونات الفينولية للنبات (Leon et al., 2017), ومنها يحدث استعراض الحزمة بسبب الجزيئات المائية و الكحولات , في المواد الفعالة والماء , اما الحزم الواقعة بتردد (2080.14) سم<sup>-1</sup> تعود إلى الاهتزاز العائد لمجموعات CH<sup>3</sup>, في حين أن الاهتزازات

بين (1637.62) سم<sup>-1</sup> فهي لروابط الاهتزازات العائدة للترددات الحلقات الاروماتية الخاصة باواصر الكربون الثنائية C=C القم بين الموجة (1142.24) سم<sup>-1</sup> الخفيفة فهي تعود إلى الاهتزازات لروابط C-O من المجموعات العضوية (الإيثيل، الأيثانول والحامض العضوي). اما الحزم التي تقع بين (687.27) سم<sup>-1</sup> وما بعدها تتوافق مع الاهتزازات للرابطة القوية C-C .

#### 4-1-4- طيف الأشعة تحت الحمراء FT-IR لمادة البارابين المحمل على المركب النانوي

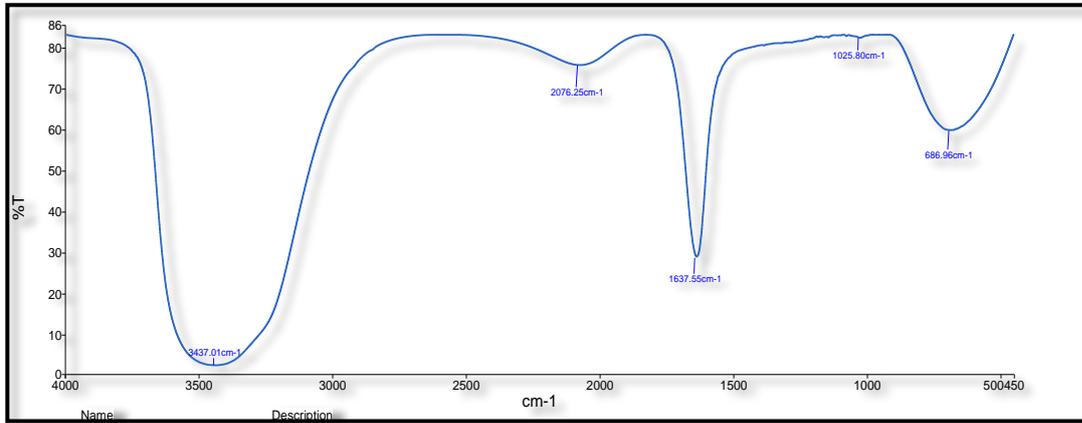
إن نتائج تحليل FTIR للمركب النانوي المحمل بالمادة الحافظة شكل (4-4) يظهر حزمة امتصاص مستعرضة تمت ازاحتها عند 3436.93 سم<sup>-1</sup> عن موقعها المسجل في المادة الحافظة والمركب النانوي الحر الذي عند تردد (3437.01) سم<sup>-1</sup> لكل منهما، والتي تعود لاهتزازات مجموعة الهيدروكسيل (H/O-) ومجموعات C-H الاروماتية وكذلك الترددات المسجلة في المادة الحافظة والمركب النانوي الحر (2076.25 , 2077.02) سم<sup>-1</sup> على التوالي شكل (2-4, 1-4) التي تعود للمادة الحافظة والمركب المحضر سجلت، اذ اظهرت مواقع ازاحة جديدة وامتطاط الرابطة لمجاميع الأمين (N-H) باتجاه المركب النانوي المحضر وظهرت عند التردد 2076.13، وبعدها ظهرت قمة حادة بتردد 1637.82 سم<sup>-1</sup> التي تعود الى لربطة C=O المزاحة الخاصة بتراكب الموجات للحامض الكربوكسيلي والكيونيات والالدهايدات، وكما نلاحظ ان التردد الموجي لحزمة امتطاط ضمن الموقع الوسطي بين حزمتي رابطة C=O لكل من المادة الحافظة والمركب المحضر (1637.55 , 1637.91) سم<sup>-1</sup> على التوالي، وظهرت الموجات (1024.21 , 1143.08 , 1076.98) سم<sup>-1</sup> بشكل واضح دلالة على ارتباط تراكب جزيئات المادة الحافظة مع المركب النانوي المحضر، كما اشارت نتائج الدراسة ان وجود الامتصاص عند الموجة 687.17 سم<sup>-1</sup> اختلف مع ما سجلته الموجة في الشكل (2-4, 1-4) التي ظهرت بترددين مختلفين عند (686.96 , 692.01) سم<sup>-1</sup> باتجاه المركب النانوي المحضر دلالة نجاح التحميل تداخل جزيئات المادة الحافظة ضمن اسطح جزيئات المركب النانوي المحضر .

#### 4-1-5- طيف الأشعة تحت الحمراء FT-IR للمادة البارابين و مستخلص المائي لجذور نبات

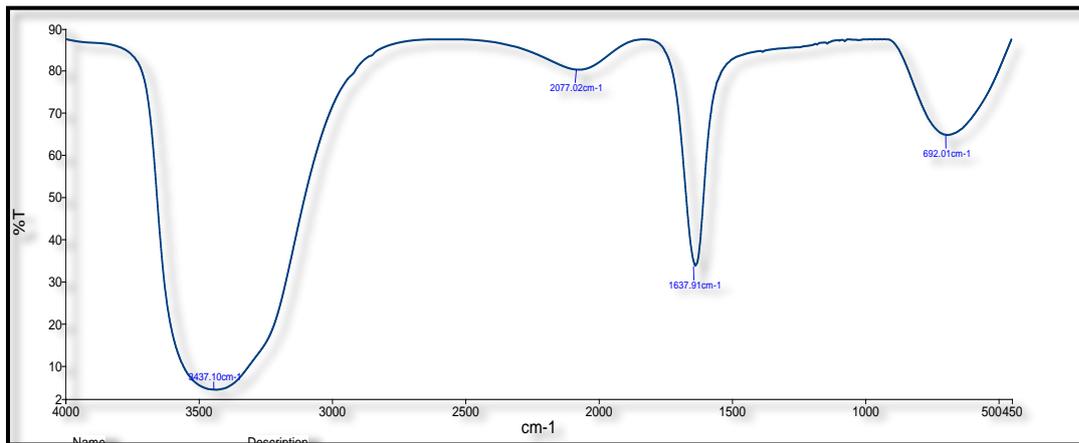
##### الاشواغندا :

عند قراءة تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) في الشكل (5-4) الذي يظهر موجات المادة الحافظة المحملة مع المستخلص، نلاحظ ان الحزمة (3437.01) سم<sup>-1</sup> شكل (1-4) التي تعود لمجاميع الهيدروكسيل (OH) المختلفة للمادة الحافظة وكذلك امتزاز جزيئات الماد والكحولات بقيت في نفس موقعها بالمقارنة مع الموجة التي سجلتها الحزمة (3437.03) سم<sup>-1</sup> التي تعود للمادة الحافظة بعد التحميل المستخلص شكل (5-4) التي سجلت (3437.01) سم<sup>-1</sup> مع ازاحة بسيطة

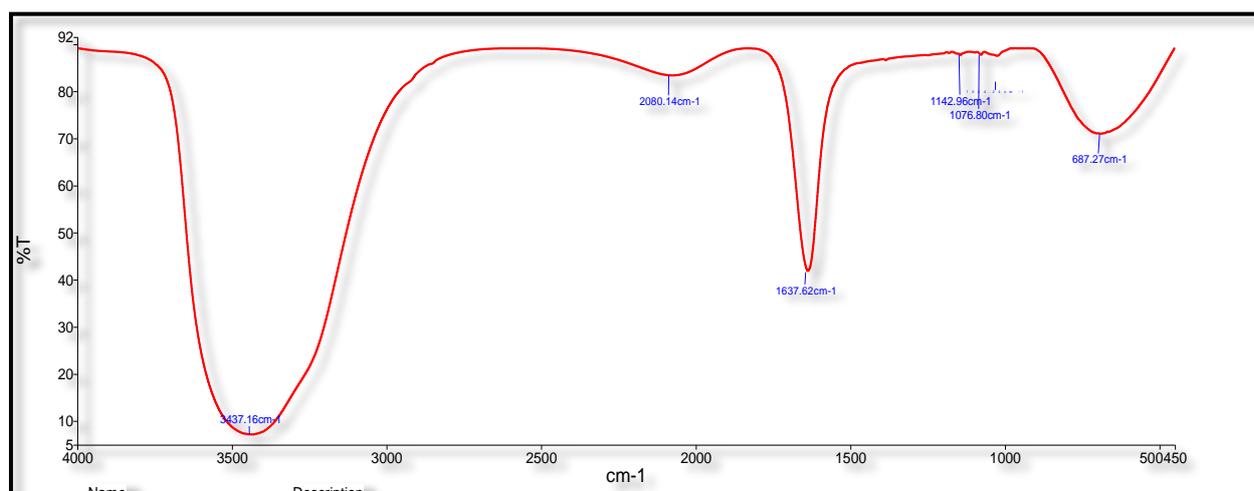
بالنسبة للموجة التي سجلتها نتيجة فحص المستخلص قبل التحميل (سم<sup>-1</sup> 3437.01) شكل (3-4) في حين ان الحزمة (2077.98) سم<sup>-1</sup> التي سجلها المستخلص بعد التحميل شكل (4-5) اختلفت عما سجلته المادة الحافظة وكذلك المستخلص الحر قبل التحميل (2076.25, 2080.14) سم<sup>-1</sup> شكل (3-4,1-4) تم ازاحتها وامتطت باتجاه المستخلص المحمل بالمادة الحافظة بسبب تحميل المضاد وتراكب الموجات في هذا التردد , وكذلك ظهرت عند تحميل المادة الحافظة مع المركب النانوي حزم جديدة اكدت التفاعل بينهما بعد التحميل لتسجل ترددات (1076.65 , 1026.99) سم<sup>-1</sup> التي تعود لمجاميع CH التي يتضمنها تركيب المادة و لاهتزاز الرابطة CH=CH المتباين , اما الحزم (687.27 - 686.96) سم<sup>-1</sup> التي سجلتها المادة الحافظة والمستخلص بشكلهما الحر قبل التحميل تم ازاحتها وتراكبت لتعطي تردد جديد 691.39 سم<sup>-1</sup> والعايدة لتكوين الحامض الكربوكسييلي في المركب مع المادة الحافظة .



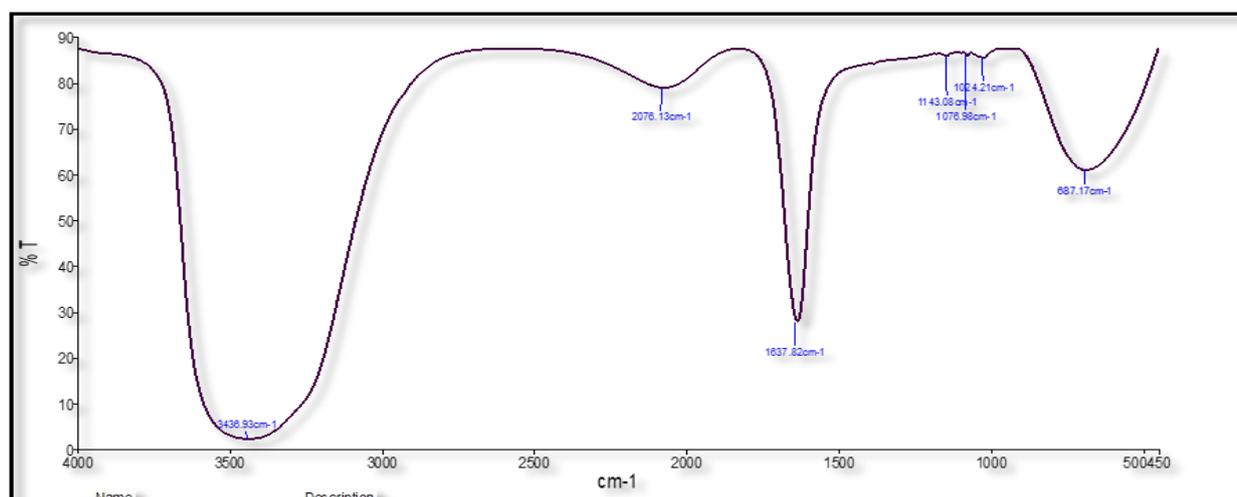
شكل رقم (1-4) طيف الاشعة تحت الحمراء FTIR لمادة البارابين



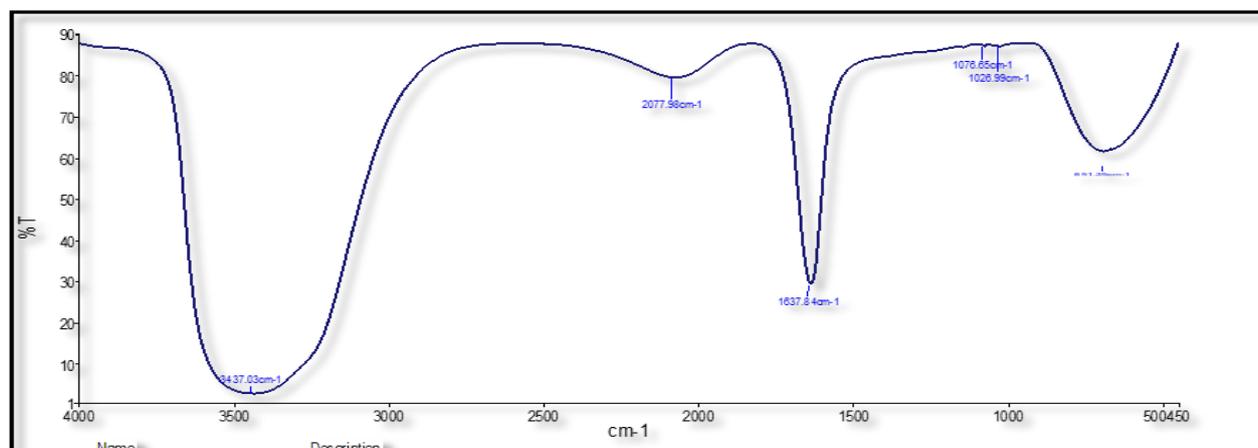
شكل رقم (2-4) طيف الاشعة تحت الحمراء FTIR للمركب الاشوغندا النانوي



شكل رقم (3-4) طيف الاشعة تحت الحمراء FTIR لمستخلص الاشوغندا الحر .



شكل رقم (4-4) طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR لمادة البارابين المحمل على المركب النانوي



شكل رقم (4-4) طيف الاشعة تحت الحمراء FTIR لمستخلص الاشوغندا و مادة البارابين

## Atomic Force Microscope (AFM)

## 2-4 مجهر القوة الذرية

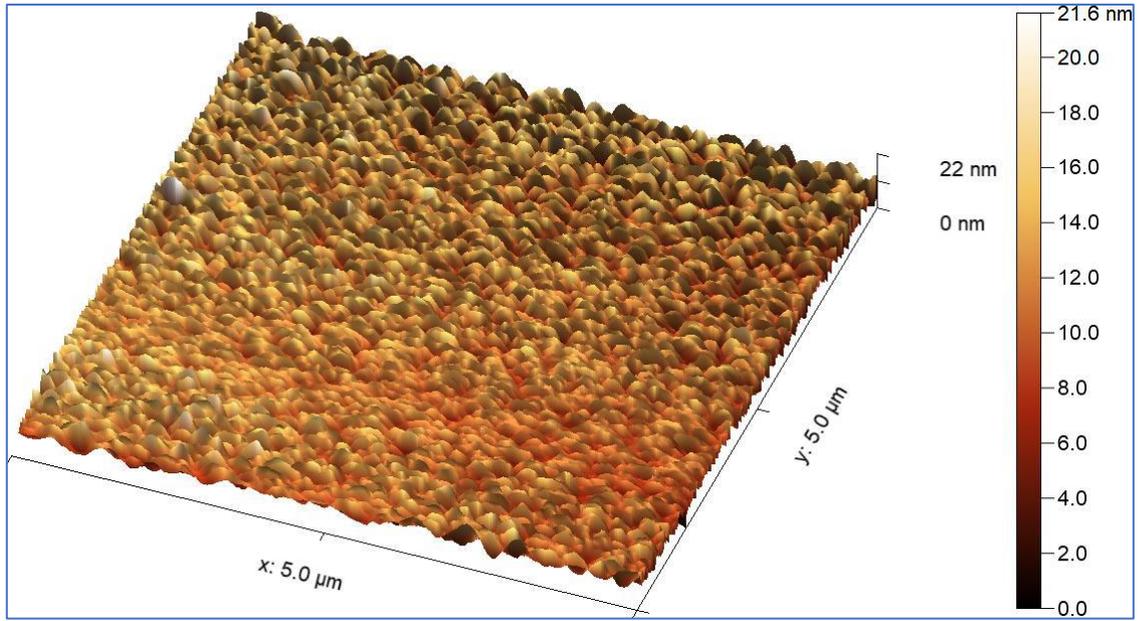
## 1-2-4 صور مجهر القوة الذرية Atomic force microscope لمستخلص الاشوغندا والمحمل على لمادة البارابين

شكل (6-4) يوضح السطح الخارجي للمستخلص الاشوغندا ، كان معامل الخشونة (Sa) Arithmetic mean height لسطح المستخلص 2.49811 nm . كما موضح ان جدول (2-4) عند تحميل المادة الحافظة فقد اصبح معامل الخشونة 2.42466 nm اي اصبح الفرق قبل وبعد التحميل قليل وهنا قد يرجع السبب الى ان سطح المستخلص لدية معامل خشونة عالي ادى الى تحميل كميات من المادة الحافظة الذي تمتلك معامل خشونة كبير غيرت السطح وجعلته يحافظ على معدل الخشونة السابق بفرق بسيط كما موضح في جدول (1-4) ،

حيث وضح الجدول 1-4 معدل جذر التربيعي Sq للمستخلص قبل التحميل 2.958 nm اما بعد التحميل كان معدل الجذر التربيعي 3.57157nm وهذا يشير الى زيادة التفاعل بين المستخلص والمادة الحافظة.

ان الاشارة الى شكل السطح هي ايضاً تكون باتجاه عدم التجانس لتوزيع الجزيئات في الحالتين قبل وبعد التحميل كما في 1-4 و 2-4 اعتماداً على سطح المساحة (Ssk) اذا سجلت معدل 0.065 ، 0.513 nm على التوالي للمستخلص قبل وبعد التحميل مما يشير الى عدم تجانس المركب وقلة استقراره .

اشارت النتائج الحالية التي من خلالها تم تحميل المادة الحافظة مع المستخلص وجود زيادة في معدل عامل القمم من 11.57 nm الى 32.46 nm وكذلك ارتفاع الحفر سجل معدل للمستخلص 10.029 nm الى 26.55 nm بينما نتائج معدل الحجم الجزيئي للمستخلص قبل التحميل وصل لحدود 21.6 nm اما بعد التحميل مع المادة الحافظة كان قد وصل الى 59.0 nm وفي هذا اشارة الى ان المادة الحافظة تفاعل مع المستخلص النباتي مما ادى الى اضافة طبقة جديدة من السمك مقدارها 37 nm ادت الى زيادة معدل الحجم الاول للمستخلص قبل التحميل 21.6 nm .

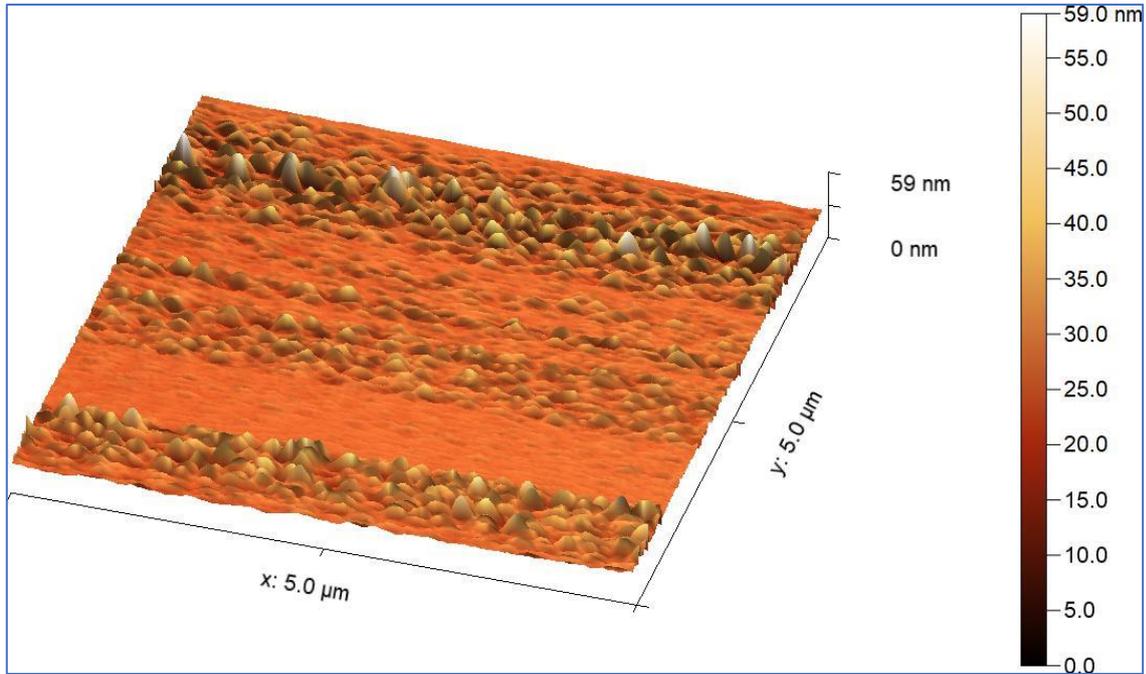


شكل رقم (4-5) صورة ثلاثية الابعاد بمجهر القوى الذرية لمستخلص الاشوغندا .

جدول رقم (4-1) تحليل نتائج مجهر القوة الذرية لمستخلص الاشوغندا ، إذ يبين تفاصيل خصائصه الفيزيائية .

#### Statistical Quantities

Average value:	10.0291 nm
RMS roughness (Sq):	2.95814 nm
RMS (grain-wise):	2.95814 nm
Mean roughness (Sa):	2.49811 nm
Skew (Ssk):	0.0656497
Excess kurtosis:	-0.778965
Minimum:	0.0000 nm
Maximum:	21.6083 nm
Median:	9.9764 nm
Maximum peak height (Sp):	11.5792 nm
Maximum pit depth (Sv):	10.0291 nm
Maximum height (Sz):	21.6083 nm



شكل رقم (4-6) صورة ثلاثية الابعاد بمجهر القوى الذرية لمستخلص الاشوغندا و لمادة البارابين.

جدول رقم (4-2) تحليل نتائج مجهر القوة الذرية لمستخلص الاشوغندا و مادة البارابين، إذ يبين تفاصيل خصائصه الفيزيائية.

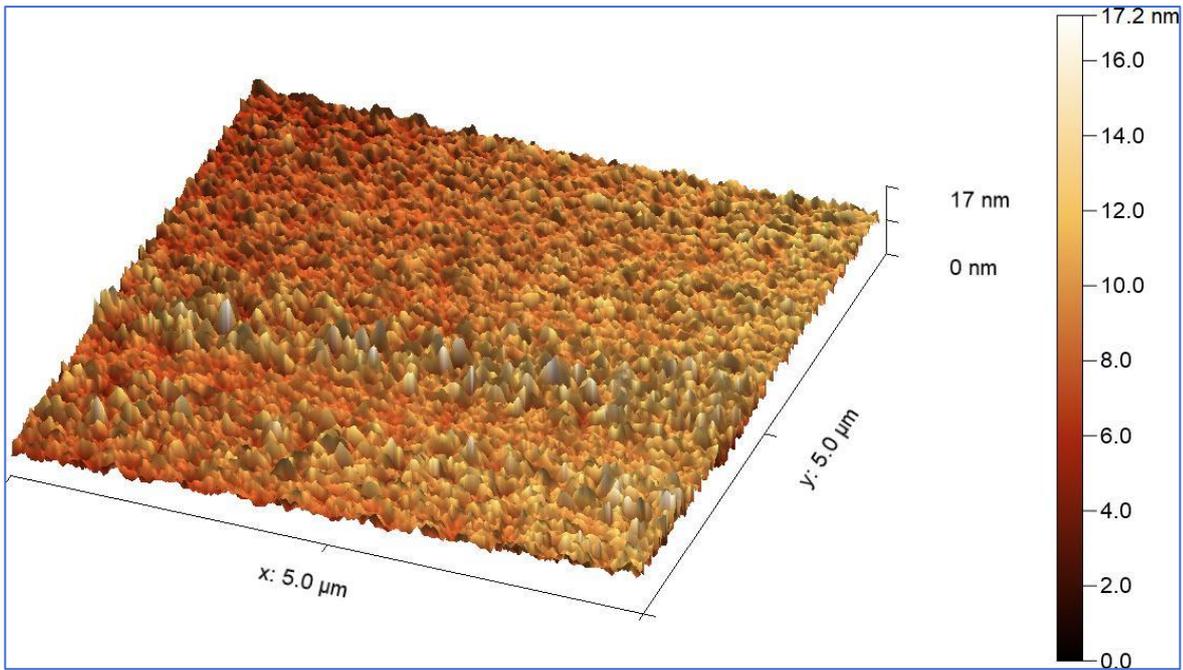
<b><u>Statistical Quantities</u></b>	
Average value:	26.5508 nm
RMS roughness (Sq):	3.57157 nm
RMS (grain-wise):	3.57157 nm
Mean roughness (Sa):	2.42466 nm
Skew (Ssk):	0.513912
Excess kurtosis:	4.88213
Minimum:	0.0000 nm
Maximum:	59.0131 nm
Median:	26.4321 nm
Maximum peak height (Sp):	32.4623 nm
Maximum pit depth (Sv):	26.5508 nm
Maximum height (Sz):	59.0131 nm

#### 2-2-4 صور مجهر القوة الذرية (AFM) Atomic force microscope للمركب النانوي الحر والمحمل على مادة البارابين

شكل (4-8) يوضح السطح الخارجي للمركب النانوي ، كان معامل الخشونة Arithmetical mean height (Sa) للمركب النانوي 1.477 nm . كما موضح ان جدول (4-4) عند تحميل المادة الحافظة فقد اصبح معامل الخشونة 2.477 nm اي اصبح الفرق قبل وبعد التحميل وهنا 1nm وهذا معيار مهم لزيادة فعالية المركب المحضر اي ان حجم الجزيئة المحمل على السطح النانوي يلعب دوراً هاماً في خشونة السطح ونظامه البلوري المنتظم وكذلك التجانس السطحي .

حيث وضح جدول (4-3) معدل جذر التربيعي Root mean square height (Sq) للمركب نانوي قبل التحميل 1.852 nm اما بعد التحميل كان معدل الجذر التربيعي 3.115nm ليكون الفرق بمعدل الجذر التربيعي قبل وبعد التحميل 1.263nm كلما زاد هذا الفرق كانت هناك زيادة في التركيب البلوري الناتج بعد التحميل عما هو قبل التحميل كما في جدول (4-4) .

ان شكل السطح للمركب النانوي كانت قليل التجانس من حيث النتوءات فوق وتحت مستوى السطح degree the roughness shap (Ssk) اذ سجلت 0.086nm كما في جدول (4-3) اما بعد التحميل فأصبحت (Ssk) 0.056nm كما في جدول (4-4) . اشارت النتائج الحالية ان التحميل بوساطة قياس الزيادة في ارتفاع القمم البارزة (sp) من السطح اذ ارتفع معدل اعلى القمم من 9.05nm الى 13.21nm ، وكذلك ارتفاع الحفر اذ تم تغطيته معدل اعلى قيمة للحفر من 8.14nm الى 12.60nm وهذا يشير الى تجانس التحميل عن طريق تغطية السطح بصورة متناظرة بين القمم وارتفاعها وكذلك وجود ارتفاع في قمم الحفر كما في الشكل (4-8) وشكل (4-9) .

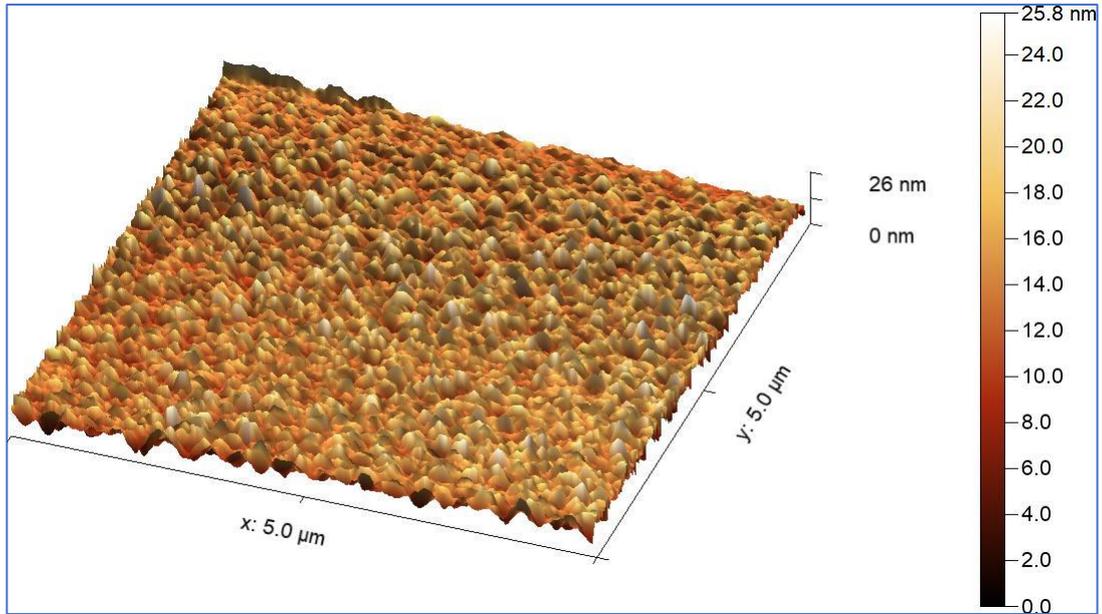


شكل رقم (4-7) صورة ثلاثية الابعاد بمجهر القوى الذرية للمركب النانوي

جدول رقم (4-3) تحليل نتائج مجهر القوة الذرية للمركب النانوي و يبين تفاصيل خصائصه الفيزيائية .

### Statistical Quantities

Average value:	8.1460 nm
RMS roughness (Sq):	1.85233 nm
RMS (grain-wise):	1.85233 nm
Mean roughness (Sa):	1.47719 nm
Skew (Ssk):	0.0861361
Excess kurtosis:	0.118861
Minimum:	0.0000 nm
Maximum:	17.2048 nm
Median:	8.1257 nm
Maximum peak height (Sp):	9.0588 nm
Maximum pit depth (Sv):	8.1460 nm
Maximum height (Sz):	17.2048 nm



شكل رقم (4-8) صورة ثلاثية الابعاد بمجهر القوى الذرية لمركب الاشوغندا النانوي ومادة البارابين

جدول رقم (4-4) تحليل نتائج مجهر القوة الذرية للمركب الاشوغندا النانوي المحمل على مادة البارابين ، إذ يبين تفاصيل خصائصه الفيزيائية.

#### Statistical Quantities

Average value:	12.6076 nm
RMS roughness (Sq):	3.11512 nm
RMS (grain-wise):	3.11512 nm
Mean roughness (Sa):	2.47757 nm
Skew (Ssk):	0.0568596
Excess kurtosis:	0.0377687
Minimum:	0.0000 nm
Maximum:	25.8227 nm
Median:	12.5777 nm
Maximum peak height (Sp):	13.2150 nm
Maximum pit depth (Sv):	12.6076 nm
Maximum height (Sz):	25.8227 nm

### 3-4 الخصائص الفيزيائية للمعاملات العلاجية Physical properties of therapeutic agents

جدول (4-5) الخصائص الفيزيائية لمستخلص الاشوغندا قبل وبعد تحميله بالمادة الحافظة ، و مركب الاشوغندا النانوي الأخضر قبل وبعد تحميله بالمادة الحافظة .

المركب النانوي المحمل بالمادة الحافظة (nm)	المستخلص المحمل بالمادة الحافظة (nm)	المركب النانوي (nm)	مستخلص (nm)	الخصائص الفيزيائية للمعاملات العلاجية
25.8	37	17.2	21.6	اقصى ارتفاع (Sz) Maximum pit height
12.60	26.55	8.14	10.029	اقصى ارتفاع للحفرة (Sv) Maximum pit height
0.1632	0.3512	0.2914	0.2505	الانحدار السطحي (Sdq) Root mean square gradient
0.056	0.513	0.086	0.065	درجة توزيع قيم النتوءات (Ssk) degree the roughness shap
2.991	2.132	19.43	1.894	قيم شدة إضاءة مساحة السطح (Sku) Kurtosis
13.21	32.46	9.05	11.57	ذروة اقصى ارتفاع (Sp) Maximum peak height
2.477	2.42466	1.477	2.49811	متوسط الارتفاع الحسابي (Sa) Arithmetical mean height
3.115	3.57157	1.852	2.958	مربع جذر متوسط الارتفاع (Sq) Root mean square height
167.3	354.6	59.45	99.82	معدل قطر الجزيئات Mean size

#### 4-4 تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستويات المعايير الدموية في دم اناث الجرذان البيض

##### Effect of treatments on blood parameters levels in the blood of female albino rats

أظهرت نتائج تحليل مستوى خضاب الدم (Hemoglobin (HGB) وكما مبين بالجدول ( 4-4) ان تجريع اناث الجرذان بالمادة الحافظة البارابين بتركيز 4.6 ملغم /كغم والمجرعة بالمستخلص المائي بتركيز 500 ملغم/كغم أدت الى حصول ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى خضاب الدم مقارنة بمجموعة السيطرة ، أما مجموعة المجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم تبين عدم وجود فرق معنوي ( $P>0.05$ ) في مستوى خضاب الدم مقارنة بمجموعة السيطرة . اما المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الاشواغندا بتركيز 500 ملغم/كغم والمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم تبين وجود ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى خضاب الدم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، اما المجموعة المجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم/كغم والمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم تبين عدم وجود فرق معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى خضاب الدم مقارنة بمجموعة السيطرة .

بينت نتائج جدول (4- 6) مستوى كريات الدم الحمراء ان تجريع اناث الجرذان بالمادة الحافظة البارابين بتركيز 4.6 ملغم/كغم والمجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الاشواغندا بتركيز 500 ملغم /كغم أدت الى حصول ارتفاع معنوي في اعداد كريات الدم الحمراء (RBC) Red Blood Cell بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. ووجد أيضاً حصول ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في اعداد خلايا الدم الحمراء في المجاميع المجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم/كغم والمجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الاشواغندا ملغم/كغم والمادة الحافظة بتركيز 500 و4.6 ملغم/كغم والمجموعة المجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم/كغم والمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم مقارنة بمجموعة السيطرة.

اوضحت نتائج جدول (4-6) مستوى كريات الدم البيض ان تجريع اناث الجرذان بالمادة الحافظة البارابين بتركيز 4.6 ملغم /كغم والمجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الاشواغندا بتركيز 500 ملغم/كغم أدت الى حصول انخفاض معنوي في اعداد خلايا الدم البيض (WBC) White Blood Cell بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، ووجد حصول ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في المجموعة المجرعة بالمركب النانوي مقارنة بمجموعة السيطرة . اما والمجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الاشواغندا والمادة الحافظة بتركيز 500 و4.6 ملغم/كغم والمجموعة المجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم/كغم والمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم تبين عدم وجود فرق معنوي ( $P<0.05$ ) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة . كما أشارت النتائج للجدول أعلاه مستوى كريات الدم البيض الحبيبية ان تجريع اناث الجرذان

بالمادة الحافظة البارابين وبتركيز 4.6 ملغم/كغم والمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الاشوغندا بتركيز 500 ملغم/كغم وفي المجموعة المجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم/كغم و المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الاشوغندا والمادة الحافظة بتركيز 500 و4.6 ملغم/كغم والمجموعة المجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم/كغم والمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم وجد حصول ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في اعداد كريات الدم البيض الحبيبية White Blood Cell (GRA) مقارنة مع مجموعة السيطرة . تبين نتائج الجدول (4-6) ان تجريع أنث الجرذان بمجموعة البارابين وبتركيز 4.6 ملغم/كغم ومجموعة بالمستخلص المائي لنبات الاشوغندا بتركيز 500 ملغم/كغم ومجموعة بالمركب النانوي بتركيز 150 ملغم/كغم و المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الاشوغندا ملغم/كغم والمادة الحافظة بتركيز 500 و4.6 ملغم/كغم والمجموعة المجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم/كغم والمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم وجد حصول ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في اعداد كريات الدم البيض اللمفاوية Lymphocytes(Lym) مقارنة مع مجموعة السيطرة .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول ارتفاع معنوي في مستوى خضاب الدم HGB وأعداد كريات الدم الحمراء RBC وكريات الدم البيض الحبيبية GRA واعداد خلايا (Lymph) للحيوانات المجرعة بالمادة الحافظة البارابين .

LYM $\times 10^3 u/l$	GRA $\times 10^3 u/l$	WBC $\times 10^3 u/l$	RBC $\times 10^6 u/l$	HGB(g/dl)	المعايير
E 39.94 $\pm 1.42$	C 17.90 $\pm 0.48$	B 6.93 $\pm 0.72$	D 4.50 $\pm 0.11$	B 11.18 $\pm 0.24$	G1 جرعت 1مل ماء مقطر
C 48.54 $\pm 0.32$	A 33.62 $\pm 0.63$	BC 5.24 $\pm 0.51$	AB 6.82 $\pm 0.29$	A 15.02 $\pm 0.54$	G2 جرعت 4.6 ملغم /كغم من البارابين
B 59.40 $\pm 1.86$	B 28.71 $\pm 0.81$	BC 5.59 $\pm 0.45$	A 7.39 $\pm 0.11$	A 15.13 $\pm 0.47$	G3 جرعت 500 ملغم /كغم مستخلص المائي لجذور نبات الاشوغندا
A 64.85 $\pm 1.18$	B 27.70 $\pm 1.57$	A 8.86 $\pm 0.43$	C 5.70 $\pm 0.45$	B 12.05 $\pm 0.68$	G4 جرعت 150 ملغم /كغم من المركب النانوي الاخضر
F 31.2 $\pm 1.31$	A 34.04 $\pm 0.80$	B 6.62 $\pm 0.30$	8.05 A $\pm 0.21$	A 16.50 $\pm 0.27$	G5 بتركيز 500 مستخلص +4.6 بارابين ملغم /كغم
D 40.82 $\pm 0.85$	A 35.22 $\pm 0.61$	6.02 B $\pm 0.40$	C 5.73 $\pm 0.35$	B 12.64 $\pm 0.69$	G6 بتركيز 150 ملغم/كغم مركب نانوي +4.6 ملغم /كغم من البارابين
<b>3.66</b>	<b>2.60</b>	<b>1.43</b>	<b>0.83</b>	<b>1.49</b>	<b>L.S. D</b>

جدول رقم (4-6) تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستويات المعايير الدموية في دم أنث الجرذان البيض

المعدل  $\pm$  الخطأ القياس

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية  $P < 0.05$ .

تعد المعايير الدمية من المؤشرات المهمة للكشف عن السموم الموجودة في الجسم ، وان المواد الحافظة كالبارايبين تعد سامة للجسم وتسبب تغيرات في المعايير الدمية ( Moussa & Bashandy, 2008). ان هذه التغيرات قد تكون نتيجة الحاجة الكبيرة للاوكسجين ونقل الغازات اثناء الاجهاد التأكسدي الناتج عن التعرض للبارايبين، تقوم أعضاء الجسم كالكبد والكلى بإعادة تنشيط تكوين كريات الدم الحمر في حالات نقص الاوكسجين للتعويض عن زيادة الحاجة اليه في بقية انسجة الجسم وان الارتفاع في تراكيز HGB، وRBCs، والذي حدث نتيجة التعرض للبارايبين فهو يعود نتيجة حدوث الاجهاد التأكسدي. كذلك بينت دراسة أخرى ان هناك زيادة في معايير الدم حصلت بالجرذان المعرضة للبارايبين (Park et al., 2023).

كما لم تتفقت دراستنا مع دراسة (Akmal et al., 2024) التي بينت حصول ارتفاع في كريات الدم البيض بعد التجريع بمادة البارايبين ،وقد تعود هذه الزيادة في كرات الدم البيضاء إلى العدوى والالتهابات الناتجة عن تعرض الجسم للإيثيل بارايبين. وأثناء حالة الإصابة، ينشط الجهاز المناعي، ويزداد عدد خلايا الدم البيضاء (Akmal et al., 2024). كما لم تتفق دراستنا مع دراسة Eda و Nur İnkaya و Nurhayat Barlas الذين اعتقدوا بأن السبب الكامن وراء ارتفاع عدد WBCs هو تحفيز الجهاز المناعي استجابة للأضرار في الأنسجة المستحثة من قبل البارايبين (İnkaya & Barlas, 2022). كما بينت دراسة ان الذين جر عوا الفئران بمادة البارايبين وجرعات يومية (250 ملغم/ كغم وزن الجسم) يسبب بارتفاع غير معنوي بالخلايا اللمفاوية بنسبة وصلت الى 9.7% (فاضل واخرون 2016)

أما مستخلص الاشواغندا فقد بينت النتائج ان النبات قد أحدث ارتفاع في مستويات خضاب الدم (Hb) لكن لم يؤثر على نشاط كريات الدم الحمراء وذلك بسبب أنشطة الاشواغندا المضادة للسرطان والمضادة للتسمم ومضادة للأكسدة وبعض القلويدات واللاكتونات الستيرويدية والمواد المضادة للأكسدة (superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase) حيث تعمل على تعديل الأجهاد التأكسدي فالأشواغندا لديها فعالية قوية للقضاء على التعب والارهاق الذي يصيب المريض (Biswal et al., 2013) ويقلل من التوتر (Lopresti et al., 2019) ويساعد على تقليل مستوى الجذور الحرة في الدم او الانسجة وبذلك يعزز بدرجة كبيرة تركيز الهيموغلوبين وخلايا الدم الحمراء في الحيوانات (Tharakan et al., 2021) وكذلك في البشر (Długołęcka et al., 2023). و يمنع النبات التغيرات في غشاء كريات الدم الحمراء، ويحافظ على سلامة كريات الدم الحمراء وزيادة معدل عمرها ودراسة بينت ان تناول مستخلص جذور الأشواغندا قد عزز إجمالي عدد خلايا الدم

الحمراء وخلايا نخاع العظم. بالإضافة إلى ذلك ، قام المستخلص بتنشيط تفاعلات فرط الحساسية المتأخرة وقد حسن من فعالية الخلايا البلعمية عند مقارنته بمجموعة السيطرة (Davis & Kuttan, 2000) .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حدوث ارتفاع معنوي ( $P>0.05$ ) في مستوى الهيموغلوبين في الحيوانات المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الاشواغندا وهذه النتائج تتفق مع دراسة (Mikolai *et al.*, 2009) و (Verma *et al.*, 2021). الذي بينت حدوث ارتفاع معنوي في مستويات الهيموغلوبين بعد التجريع بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا وقد يكون هذا الارتفاع نتيجة دور المركبات الفعالة في المستخلص المائي بجذور نبات الاشواغندا الذي يقلل من الاجهاد التأكسدي ويساعد في حماية أغشية كريات الدم الحمراء وزيادة العمر الافتراضي لكريات الدم الحمراء (Joshi & Joshi, 2021; Verma *et al.*, 2021).

كما بينت النتائج حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستويات الهيموغلوبين (Hb) للحيوانات التي عوملت بالمركب النانوي مقارنة بمجموعة السيطرة (Zebon, S. H., *et al.*, 2020)

كما أتفقت نتائج دراستنا الحالية مع دراسة Raheem (2018) الذي بينت أن المعاملة بجسيمات الفضة النانوية أدى الى زيادة معنوية ( $p>0.05$ ) في كريات الدم الحمراء وعدم وجود فروق معنوية في مستوى الخلايا اللمفية Lymphocytes والخلايا الحبيبية (GRA) (Boersma & Mosselman, 2000) في حين لم تتفق نتائجنا مع دراسة اجراها Ghareeb (2021) الذي بين ان الجرذان المعالجة بجسيمات الفضة النانوية حدث لها انخفاض معنوي ( $p<0.05$ ) في احداد خلايا الدم الحمراء (RBC) ومستوى الهيموغلوبين مقارنة مع مجموعة السيطرة والذي يعزى السبب في ذلك الى تأثير الجسيمات النانوية على أغشية كريات الدم الحمراء والتأثير لاحقاً على نسبة الهيموغلوبين (Ghareeb *et al.*, 2021).

5-4 تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستوى MDA في اناث الجرد المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب النانوي الاخضر . أظهرت نتائج تحليل مستوى المالونالديهيد (MDA) malondialdehyde . وكما مبين بالجدول (4-7) ان تجريع اناث الجرذان بمادة بجرعة 4.6 ملغم /كغم من وزن الجسم أدى الى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى MDA مقارنة مع مجموعة السيطرة . اما المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي فقد بينت حدوث انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى المالونالديهيد (MDA)malondialdehyde مقارنة بمجموعة السيطرة ، أما مجموعة الجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وكذلك المجموعة الجرعة بالمستخلص المائي لنبات الاشواغندا والمادة الحافظة البارابين (4.6+ 500) ملغم /كغم تبين عدم وجود فرق معنوي في مستوى المالونديهيد (MDA) malondialdehyde مقارنة بمجموعة السيطرة ، اما المجموعة المعاملة بالمركب النانوي والمادة الحافظة البارابين (4.6+ 150) ملغم /كغم من وزن الجسم تبين وجود انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى المالونالديهيد malondialdehyde مقارنة بمجموعة السيطرة.

SOD(mg/dl)	GSH(mg/dl)	MDH(mg/dl)	المجاميع
D 33.58 ± 0.68	A 18.99 ± 0.35	B 20.73 ± 0.73	G1 بتركيز 1 مل / كغم
E 28.94 ± 0.75	B 12.01 ± 0.50	A 44.71 ± 2.63	G2 بتركيز 4.6 ملغم /كغم
B 45.44 ± 1.29	A 15.01 ± 0.68	C 11.91 ± 0.65	G3 بتركيز 500 ملغم /كغم
C 40.98 ± 0.58	A 17.46 ± 0.57	B 22.53 ± 0.75	G4 بتركيز 150 ملغم /كغم
D 33.82 ± 1.17	A 16.84 ± 0.28	B 20.13 ± 0.78	G5 بتركيز 4.6+500 ملغم /كغم
A 48.93 ± 1.01	B 13.76 ± 0.50	C 11.93 ± 0.73	G6 بتركيز 4.6+150 ملغم /كغم
2.77	4.75	3.699	L.S.D

جدول رقم (4-7) يوضح تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي بالمادة الحافظة البارابين على مستوى

(SOD،GSH،MDA) في اناث الجرد المعاملة

المعدل ± الخطأ القياس

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية  $P<0.05$ .

تتفق دراستنا مع دراسة اجراها (Yin *et al.*, 2023) حيث وجدوا انخفاض معنوي ( $P>0.05$ ) في مستوى تركيز إنزيم MDA في مجموعة الجرذان التي جرعت بمادة البارابين ( $p < 0.05$ ) من تلك المجموعة السيطرة (Yin *et al.*, 2023). في حين لا تتفق دراستنا مع دراسة (Silva *et al.*, 2018) الذين وجدو عدم وجود فروق معنوية في مستويات MDA بعد التعرض للبارابين خلال ستة أو اثني عشر يومًا. في حين ملاحظة انخفاض في تركيز MDA فقط في المجموعات المعرضة للبارابين (Silva *et al.*, 2018).

#### 6-4 تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستوى GSH في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب النانوي الاخضر .

أظهرت نتائج تحليل مستوى مضادات الاكسدة غير الأنزيمية ومنها الكلوتاثيون (GSH) Glutathione ( وكما مبين بالجدول (4-7) ان تجريع اناث الجرذان بالمادة الحافظة البارابين بتركيز 4.6 ملغم /كغم من وزن الجسم أدى الى حدوث انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) مقارنة مع مجموعة السيطرة.

اما المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي و المجموعة المجرعة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وكذلك المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الاشواغندا 500 ملغم/كغم والمادة الحافظة البارابين 4.6 ملغم /كغم من وزن الجسم بينت عدم وجود فرق معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى الكلوتاثيون (GSH) Glutathione مقارنة بمجموعة السيطرة ، اما المجموعة المجرعة بالمادة النانوية والمادة الحافظة البارابين تبين وجود انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى الكلوتاثيون (GSH) Glutathione مقارنة بمجموعة السيطرة.

ان الآليات الدفاعية الخلوية ضد الإجهاد التأكسدي والبيولوجي ، يلعب دورًا مهمًا في حماية الخلايا من الضرر التأكسدي والحفاظ على توازن عمليات الأكسدة في الخلايا. وتشمل هذه المسارات جينات الإنزيمات المضادة للأكسدة فقط، ولكن أيضًا تخليق وتجدد GSH وإصلاح البروتينات المتضررة (Yaylim *et al.*, 2024).

وتتفق دراستنا مع دراسة اجراها (Silva, D. C., et al., 2018) في حدوث انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثيون في الجرذ ان المعاملة بالمادة الحافظة البارابين والذي يعزى الى أكسدة الكلوتاثيون GSH وانخفاض تخليقه، الذي له دور مهم في كبح أنواع جزيئات الاوكسجين الفعالة المتسببة في تحطيم أو هدم الخلايا ،اذ أن الكلوتاثيون يشارك في العديد من العمليات الحيوية المهمة منها بناء البروتين والنيوكليوتيدات وهو

يساهم أيضاً في فعالية بعض الانزيمات من خلال عمله كمادة أساس Substrate أو كمرافق انزيمي لبعض العمليات الانزيمية في الخلية لذا فإن انخفاض مستواه في المصل والأنسجة يعد مؤشراً على زيادة الأجهاد التأكسدي (Yin et al., 2023).

في دراسة أخرى خفضت الأشواغندا بشكل ملحوظ مستويات MDA المرتفعة وزادت مستويات GSH. بينما لوحظ المستوى الطبيعي MDA و GSH في المجموعة المعاملة بالمركب النانوي لنبات الأشواغندا. والذي يعود الى دور الأشواغندا في زيادة مستويات عامل Nrf-2 بشكل كبير والذي يعد العامل الرئيس في تحفيز DNA على تخليق الانزيمات المضادة للاكسدة، وبالتالي الحفاظ على المستوى الطبيعي لمستويات MDA و SOD (Khalil et al., 2023).

#### 7-4 تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستوى SOD في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الأشواغندا ومركب النانوي الاخضر .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وكما مبين بالجدول (4-7) ان تجريع اناث الجرذان بالمادة الحافظة البارابين بتركيز 4.6 ملغم /كغم أدى الى حدوث انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى تركيز سوبر أوكسيد دسميوتيز Super oxide dismutase (SOD) مقارنة مع مجموعة السيطرة اما المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي وكذلك المجموعة الجرعة بالمركب النانوي 150 ملغرام /كغم بينت حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى سوبر أوكسيد دسميوتيز Super oxide dismutase (SOD) مقارنة بمجموعة السيطرة ، اما المجموعة الجرعة بالمستخلص المائي لجذور نبات الأشواغندا 500 ملغم/كغم والمادة الحافظة البارابين تبين عدم وجود فرق معنوي ( $P<0.05$ ) مستوى Super oxide dismutase (SOD) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، في حين سجلت المجموعة المعاملة بالمركب النانوي والمادة الحافظة البارابين تبين وجود ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى Super oxide dismutase (SOD) مقارنة بمجموعة السيطرة .

أشارت النتائج إلى أن المستخلص المائي لجذور نبات الأشواغندا له دور وقائي وذلك من خلال زيادة انزيم سوبر أوكسيد دسميوتيز (SOD) مما يقلل الجذور الحرة وضررها على انسجة وأعضاء الجسم وتتفق هذه النتائج مع الدراسات التي بينت نظراً لخصائصه المضادة للأكسدة، فقد قل بشكل جيد من تلف الكبد عن طريق تثبيط تكوين الجذور الحرة، وبالتالي منع إطلاق إنزيمات الكبد في الدم. إذ يمكن أن يحمي نبات الأشواغندا الكبد من الأكسدة الناتجة عن اضطرابات الصفراء. لان نبات الأشواغندا يسبب زيادة معنوية في مستوى من SOD و GSH وهما من مضادات الأكسدة التي تمنع إنتاج الجذور

الحرارة وتعمل أيضاً كجزء من خط الدفاع الأول في الخلايا الحية (Aita & Mohammed, 2014; Saleh et al., 2015).

تتفق دراستنا حيث وجدوا ان تركيز إنزيم SOD في مجموعة الجرذان التي اعطيت البارابين قد قلت بشكل ملحوظ ( $p<0.05$ ) من تلك التي في المجموعة السيطرة (Yin et al., 2023). وهذا يشير إلى أن لدى الاشواغندا فعالية مضادة للأكسدة من خلا تحفيز الجسم على افراز الجذور الحرة التي يحفزها البارابين وتؤدي إلى عكس اتجاه سميتها. كما يزيد الاشواغندا من قدرة الجسم على مكافحة الاكسدة من خلال تنظيم مستويات الحموضة. والسبب في ذلك أنه عند توليد الجذور الحرة في الجسم. وهذا الانزيم يزيد من تحفيز من تحلل  $H_2O_2$  إلى  $H_2O$  ويحتاج هذا التفاعل الى ذرة هيدروجين من جزيئة GSH وخلصت الدراسات التي أجريت على الحيوانات المختبرية إلى أن الاشواغندا تحفز على تصنيع هذه المادة (Yin et al., 2023). وهذا مماثل للدراسة اللذان أفادا بأن المادة الحافظة البارابين قادرة على إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية في بلازما أغشية الخلايا وتأييد النظام المضاد للأكسدة مما يؤدي إلى تغيير قدرة الخلايا على التعرف والأكسدة الدهنية بوجود إجهاد مؤكسد كبير في الكبد (Beazley et al., 1999).

#### 6-4 تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستوى الاستروجين (Estrogen) في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب النانوي الاخضر .

أظهرت نتائج الجدول (4- 8) إن معاملة أناث الجرذان بالمادة الحافظة أدى الى حدوث انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى الاستروجين ES مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما أن معاملة أناث الجرذان بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا تشير الى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى ES مقارنة مع مجموعة السيطرة ، و تشير النتائج إن معاملة أناث الجرذ بالمركب النانوي أدت لعدم وجود فرق معنوي ( $P<0.05$ ) بمسوى ES مقارنة مع مجموعة السيطرة ، وأيضاً وجد إن هناك ارتفاعاً معنوياً ( $P<0.05$ ) في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا والمادة الحافظة مقارنة مع مجموعة السيطرة ، أما فيما يخص المجموعة المعاملة بالمركب النانوي والمادة الحافظة فكان هناك انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى هرمون الاستروجين عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة .

PROG(pg/l)	ES(pg/l)	المجاميع
C 6.91 ± 0.35	C 51.24 ±1.48	G1 بتركيز 1 مل / كغم
D 3.90 ± 0.28	E 39.15 ±1.15	G2 بتركيز 4.6 ملغم / كغم
A 9.89 ± 0.19	A 67.09 ±1.79	G3 بتركيز 500 ملغم / كغم
B 7.99 ± 0.08	C 51.12 ± 1.77	G4 بتركيز 150 ملغم / كغم
B 8.30 ± 0.54	B 55.92 ±1.59	G5 بتركيز 4.6+500 ملغم / كغم
B 8.44 ± 0.79	D 46.05 ±1.21	G6 بتركيز 4.6+150 ملغم / كغم
1.28	4.43	L.S.D

جدول رقم (4- 8) يوضح تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستويات الاستروجين (Estrogen) و البروجستيرون ( Progesterone ) في اناث الجرذ

المعدل ± الخطأ القياس

الحروف لكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية  $P < 0.05$ .

نظام الغدد الصماء هو هيكل معقد من الغدد القادرة على إنتاج الهرمونات. الهرمونات هي مواد كيميائية تنتقل بواسطة الدورة الدموية إلى الأعضاء الهدف. وان العمل السليم لنظام الغدد الصماء شرطاً أساسياً للحفاظ على التماثل في الجسم البشري. قد تكون اضطرابات الوظائف الهرمونية ناجمة عن عوامل داخلية وخارجية (Nowak *et al.*, 2018). قد تتأثر أنظمة التغذية الراجعة للهرمونات التناسلية بما في ذلك الاستروجين والبروجستيرون بالتعرض للبارابين. تشير الدراسات العديدة إلى أن التعرض للبارابين هو أحد العوامل التي تؤدي إلى خلل في الوظيفة الجنسية ، سواء بواسطة النشاط الاستروجيني أو بسبب خصائصه المضادة للأندروجين (Ghaemi *et al.*, 2023; Malakootian *et al.*, 2022).

حيث بينت الدراسة إن أحد العناصر البيئية التي يمكن أن تؤدي إلى العقم هو ارتفاع مستوى البارابين في الجسم. وأثبتت أيضاً أن هذا الارتفاع في البارابين في الأجسام البشرية يمكن أن يقلص طول دورة الحيض ويقلل من الخصوبة وذلك لان البارابين يساهم في الحد من نشاط CYP19a1، الذي يُشفر إنزيمًا يُسمى الأروماتاز. الذي بدوره تحول الأندروجينات إلى الاستروجينات مما يؤدي الى انخفاض في مستويات الاستروجين (Ghaemi *et al.*, 2023).

حيث تبين ان البارابين الذي بدوره يؤثر على مستويات الاستروجين والبروجستيرون ، والذي قد يكون السبب لمهاجمة الجذور الحرة لأنسجة المبايض وتحطيم الحويصلات المبيضية في المبيض ومن الجدير بالذكر أن مستوى الاستروجين في مصل دم الجرذان وصل مستويات منخفضة ولم يختفي تماما من مصل الدم، وذلك

لوجود مصادر أخرى تصنعه ولكن بشكل محدود مثل قشرة الغدة الكظرية. (Kharode & Shinde, 2022).

#### 7-4 تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستوى البروجستيرون (Progesterone) في اناث الجرذ المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب النانوي الأخضر .

أظهرت نتائج الجدول (4-8) إن معاملة اناث الجرذان بالمادة الحافظة أدى الى انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) بمستوى البروجستيرون PR مقارنة مع مجموعة السيطرة . وأظهرت نتائج معاملة اناث الجرذ بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا وجود ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) بمستوى PR عند مقارنته مع مجموعة السيطرة ، كما أظهرت نتائج الجدول (4-8) وجود ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) بمستوى PR لمجموعة اناث الجرذ المجرة بالمركب النانوي وأيضاً في المجموعة المجرة بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا والمادة الحافظة بالإضافة الى المجموعة المجرة بالمركب النانوي والمادة الحافظة عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة وكانت هذه النتائج متوافقة مع البحوث و الدراسات التي تشير إلى ان انخفاض مستوى هرمون البروجستيرون نتيجة الخلل في وظيفة الغدة النخامية والذي يسبب العجز المبيضي المبكر. (Marques *et al.*, 2022).

كذلك تبين النتائج حصول زيادة في مستويات الهرمونات الانثوية والتي تشمل كل من البروجستيرون والأستروجين في مصل دم اناث الجرذ المجرة نبات الأشواغندا ممكن أن تعزى هذه الزيادة الى تأثير المركبات الفعالة الموجود في النبات التي تشمل الفلوييدات والفلافونيدات والوثينافورينات اذ أن هذه المركبات تحفز مستقبلات هرمون البرولاكتين ويحررها من الغدة النخامية وبذلك يزداد إفراز هذا الهرمون (Hantsoo *et al.*, 2023).

من جانب اخر، فقد اشار Pramodh (2021) الى حصول زيادة في الهرمون المحفز للجسم الأصفر (LH) عند استعمال الأشواغندا، اذ ان هذا الهرمون بدوره يقوم بتحفيز إفراز هرمون البروجستيرون، ونتيجة لفعالية الاشواغندا في تحفيز خلايا البنكرياس، يرتفع هرمون الأنسولين الذي ينشط محور الغدة النخامية hypothalamus pituitary gonads لتحفيز إفراز الهرمون المحفز للجريبات (FSH) والهرمون المحفز للجسم الأصفر (LH)، اذ ان الهرمونات تؤثر على مستوى هرموني الاستروجين والبروجستيرون في المصل (Kim *et al.*, 2022).

## 8-4 الانترولوكينات Interleukins

أ- تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستوى انترولوكين (IL-10) في اناث الجرد المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب النانوي الاخضر . أظهرت نتائج الجدول (4- 9) إن معاملة اناث الجرذان بالمادة الحافظة أدى الى زيادة معنوية ( $P<0.05$ ) بمستوى IL-10 (0.94) بيكوغرام/مل مقارنة مع مجموعة السيطرة اذ بلغ مستواه (0.61) بيكوغرام/مل. وبينت النتائج أن معاملة اناث الجرذان المجرعة بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا أدى الى وجود ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) بمستوى IL-10 (0.78) بيكوغرام/مل مقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما موضح في الجدول ( 4- 9). و إن معاملة اناث الجرذان بالمركب النانوي عدم وجود فرق معنوي ( $P<0.05$ ) بمستوى IL-10 (0.51) بيكوغرام/مل مقارنة مع تركيز مجموعة السيطرة ، كما وجد إن هناك ارتفاعاً معنوياً ( $P<0.05$ ) في المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لجذور نبات الاشواغندا والمادة الحافظة حيث كانت IL-10 بمستوى (0.94) بيكوغرام/مل مقارنة مع مجموعة السيطرة ، أما فيما يخص المجموعة المعاملة بالمركب النانوي والمادة الحافظة فكان مستوى IL-10 (0.60) بيكوغرام/مل مما أشار إلى عدم وجود ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة .

يعمل الانترولوكين على تنشيط إنتاج الساييتوكين من خلال تثبيط افراز انترفيرون كاما من الخلية المساعدة الأولى TH1 التي عن طريقها يمكن ان تنشط عدد من الخلايا مثل الخلايا البلعمية والخلايا الجذعية ،بالإضافة الى ما تقدم فإن الانترولوكين 10 يثبط او يمنع توليد الانتجينات للخلايا التائية من خلال تقليل فعاليات الخلايا الأحادية لذلك فان اغلب الدراسات تؤكد ان الانترولوكين 10 يعد مضاد التهابي (Steen et al., 2020). يمكن ان تقسم عائلة الانترولوكين 10 اعتماداً على وظيفتها الى مجموعتين ،المجموعة الأولى تستهدف الجهاز المناعي الولادي الفطري والجهاز المناعي المكتسب والذي تكون وظيفته تقليل الاستجابة المناعية والالتهاب بالإضافة الى تقليل الضرر النسيجي ويزداد هذا النوع من الانترولوكين 10 خلال طور الاشفاء يعني (ما بعد العدوى). (Feng et al., 2002).

أما المجموعة الثانية لهذه المجموعة تشابة الانترولوكينات (IL-19 IL20 IL-22 IL-24 IL-26) والتي تعمل على انسجة الخلايا الظاهرية لتحفيز الجهاز المناعي الولادي لأنتاج ما يسمى العامل المثبط لأنتاج الساييتوكينات CSIF من الخلايا المساعدة الثانية TH2 وكذلك يوجد الانترولوكين 10 في الخلايا البدينة والخلايا البائية ويكون وظيفته تثبيط عمل تلك الخلايا . يعد الاجهاد التأكسدي أحد أهم المحفزات للتفاعلات الالتهابية بينما تمتلك الاشواغندا دور مضاد للأكسدة في مكافحة الاجهاد التأكسدي ، تبين أن للنبات تأثيراً مضاداً للالتهاب عن طريق تثبيط إطلاق وقمع الساييتوكينات الالتهابية (Tandon & Yadav, 2020).

تتفق نتائج دراستنا مع دراسة وجدت بأن البارابينات تؤدي الى زيادة في مستوى IL-10 ، وهو مؤشر هام على الالتهاب في الجسم. ذكرت الدراسة أن الزيادة في إنترلوكين 10 يبرز تأثير البارابينات

على المسارات الالتهابية (Aung *et al.*, 2019). كذلك تتفق دراستنا مع دراسة اخرى اظهرت نتائجها زيادة تركيز البارابين ثلاث مرات خلال فترة الحمل، وهذه الزيادة في البارابين أدى إلى زيادة مؤشرات التأكسدية وعوامل الالتهابات ، مثل IL-10 (Watkins *et al.*, 2015).

IL-17 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	المجاميع
0.64± 0.09	0.61± 0.06	G1 بتركيز 1مل / كغم
1.06± 0.03	0.94± 0.01	G2 بتركيز 4.6 ملغم /كغم
0.73± 0.04	0.78± 0.05	G3 بتركيز 500 ملغم /كغم
0.52± 0.01	0.51± 0.05	G4 بتركيز 150 ملغم /كغم
1.19± 0.23	0.94 ±0.01	G5 بتركيز 4.6+500 ملغم /كغم
0.75± 0.04	0.60±0.04	G6 بتركيز 4.6+150 ملغم /كغم
0.16	0.07	LSD

جدول رقم (4- 9) تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي بالمادة الحافظة البارابين على مستوى انترولوكين (IL-10) و مستوى انترولوكين (IL-17) في اناث الجرذان

المعدل ± الخطأ القياس

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات مغنوية  $P < 0.05$ .

#### ب- تأثير المستخلص والمادة الحافظة والمركب النانوي على مستوى انترولوكين (IL-17) في اناث الجرذ

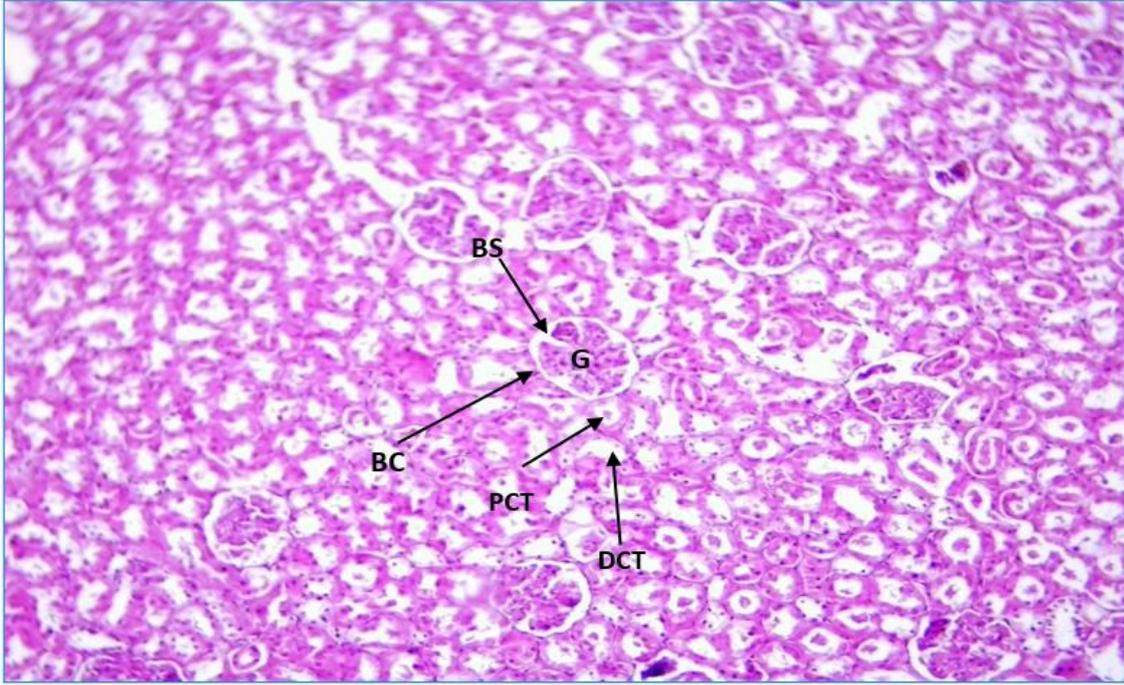
المعاملة بالمستخلص المائي لجذور الاشواغندا ومركب النانوي الأخضر .

أظهرت نتائج الجدول (4- 9) أن معاملة اناث الجرذان بالمادة الحافظة الى أدى الى حدوث ارتفاع مغنوي ( $P < 0.05$ ) بمستوى IL-17 (1.06) بيكو غرام /مل مقارنة مع مجموعة السيطرة اذ بلغ ( 0.64) بيكو غرام /مل. في حين يلاحظ عدم وجود فرق مغنوي في مستوى IL-17 في المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لجذور نبات الأشواغندا والمجموعة المعالجة بالمركب النانوي مقارنة مع مجموعة السيطرة ،كما وجد أن هناك ارتفاعا مغنويا ( $P < 0.05$ ) في المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لجذور نبات الأشواغندا والمادة الحافظة ( ) حيث كانت IL-17 بمستوى (1.19) بيكو غرام /مل مقارنة مع مجموعة السيطرة أما فيما يخص المجموعة المجرعة بالمركب النانوي و المادة الحافظة و يلاحظ عدم وجود فرق مغنوي في مستوى IL-17 والذي يبلغ (0.75) بيكو غرام/مل عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة . ربما يعزى السبب الى أن الأشواغندا تعمل على تقليل من الالتهاب وتحمي أنسجة الجسم بالإضافة لفعاليتها في تقليل من ناتج الجذور الحرة التي تفرز بكثرة بسبب التعرض للأجهد التأكسدي، مما يمنع زيادة إنتاج الجذور الحرة التي تسبب تحطم الخلايا وتضرر في النظام المضاد للأكسدة وتراكم منتجات بيروكسيدية الدهون (Azab *et al.*, 2022).

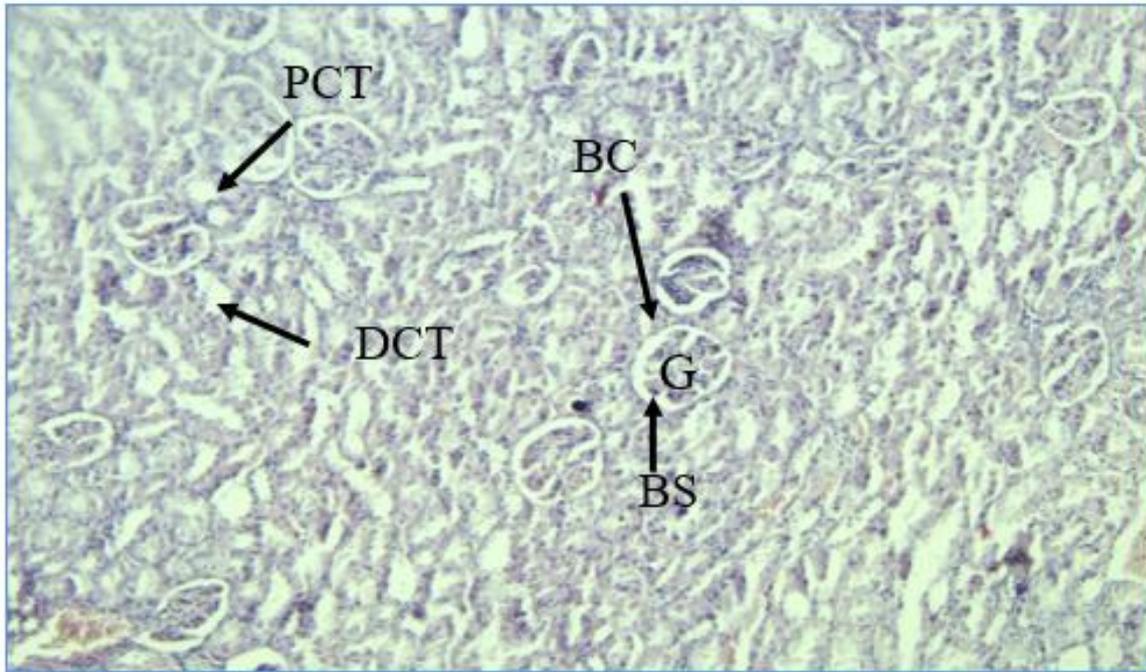
### 3.4. الدراسة النسيجية Histological study

#### 1.3.4. تأثير المجموعات على نسيج الكلى في اناث الجرذان البيض

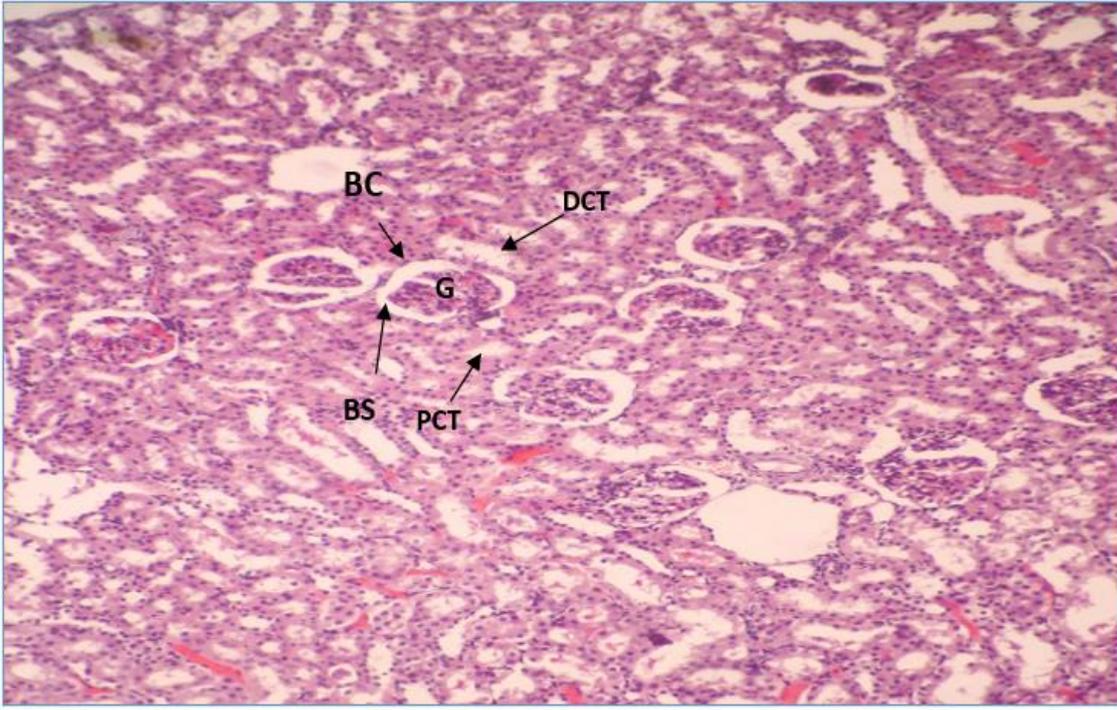
كشفت نتائج الفحص النسيجي للدراسة الحالية في الشكل (4-1) عن ظهور المقطع المستعرض في أنسجة كلى لاناث الجرذان البيضاء في مجموعة السيطرة، وجود الكبيبات بصورتها الطبيعية (Glomular)، والأنابيب الكلوية الدانية (Proximal convoluted tube)، والأنابيب الكلوية القاصية (Distal convoluted tube) بالإضافة إلى وجود محفظة بومان (Bowman Capsule) وفسحة بومان (Bowman's Space) بشكلها الطبيعي (S. H. Alwan & Al-Saeed, 2021). كما تبين الصورة (4-2) في المجموعة المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم/كغم حيث نلاحظ تغيرات نسيجية بسيطة مثل تقلص حجم الكبيبة بشكل قليل، مع انتظام في جدران النبيبات البولية، كما كانت هناك زيادة في فسحة بومان مع عدم انتظام النبيبات البولية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة. كما أظهرت نتائج الفحص النسيجي في الدراسة الحالية في المجموعة المعاملة بالمادة الحافظة (4-propyl+hydroxybenzoate) وكما هو واضح في الشكل (4-3) ومقارنتها مع مجموعة السيطرة، تحطيم وفقدان الكبيبة G في بعض الأحيان ومحفظة بومان BC وعدم انتظام النبيب الملتنوي الداني PCT والنبيب الملتنوي القاصي DCT وزيادة في فسحة بومان BS مع وجود احتقان في منطقة النبيبات، بينما عند مقارنة التغيرات النسيجية لكلى الجرذ الأبيض المعاملة بالمركب النانوي تركيزه 150 ملغم/كغم من وزن الجسم نلاحظ هناك حجم الكبيبة قريب من الطبيعي، مع انتظام في جدران النبيبات البولية، كما يمكن ملاحظة فسحة بومان وعدم وجود نزيف في النبيبات البولية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة كما في الشكل (4-4) (Al-Nuaimi & Al-Baniwes, 2022). بينما عند دراسة التغيرات النسيجية في المجموعة المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم/كغم بعد ساعتين تم تجريعها بالمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم الشكل (4-5) ومقارنتها مع مجموعة السيطرة نلاحظ تأثير بسيط في تركيب للكبيبة G ومحفظة بومان BC وعدم انتظام النبيب الملتنوي الداني PCT والنبيب الملتنوي القاصي DCT وزيادة في فسحة بومان BS مع وجود احتقان في منطقة النبيبات. بينما التغيرات النسيجية لمجموعة المعاملة بالمركب النانوي 150 ملغم/كغم وبعده ساعتين تم تجريعها بالمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم الشكل (4-6) نلاحظ الشكل الطبيعي لحجم الكبيبة G وفسحة بومان BS تركيب طبيعي لمحفظة بومان BC وانتظام النبيب الملتنوي الداني PCT والنبيب الملتنوي عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة.



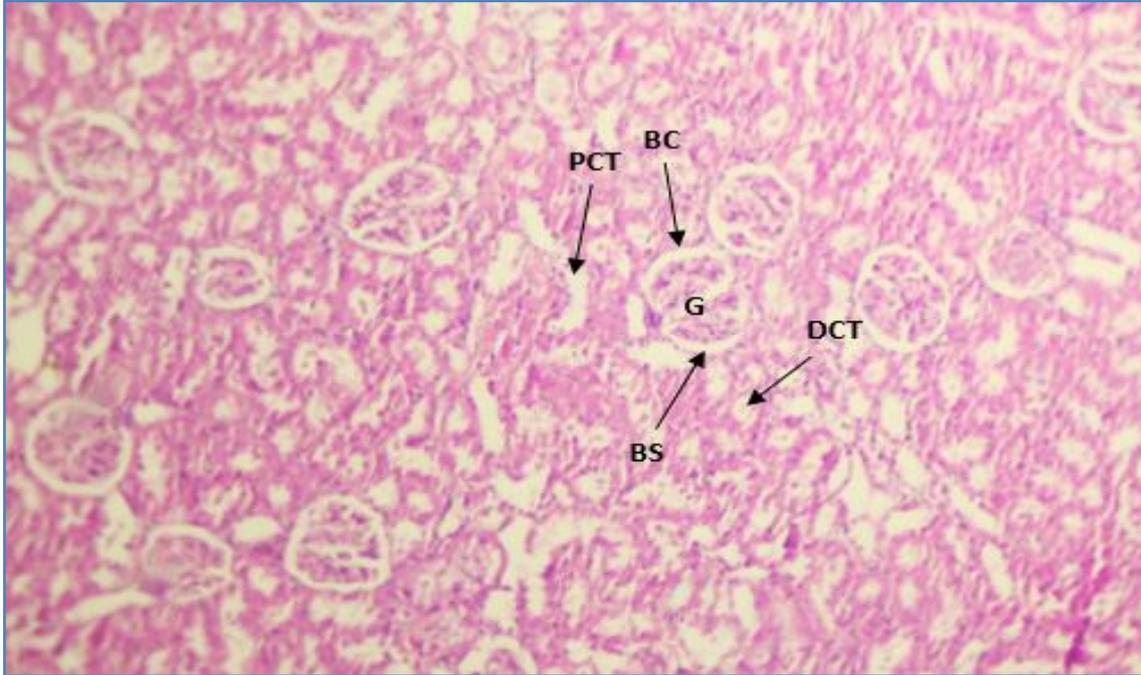
صورة رقم (1-4) مقطع نسيجي مستعرض لكلى أنثى الجرذان لمجموعة السيطرة يلاحظ فيها تراكيب الكلى الطبيعية وظهور الكبيبة G ومحفظة بومان BC والنيبيب البولي الداني PCT والنيبيب البولي القاصي DCT وفسحة بومان BS المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).



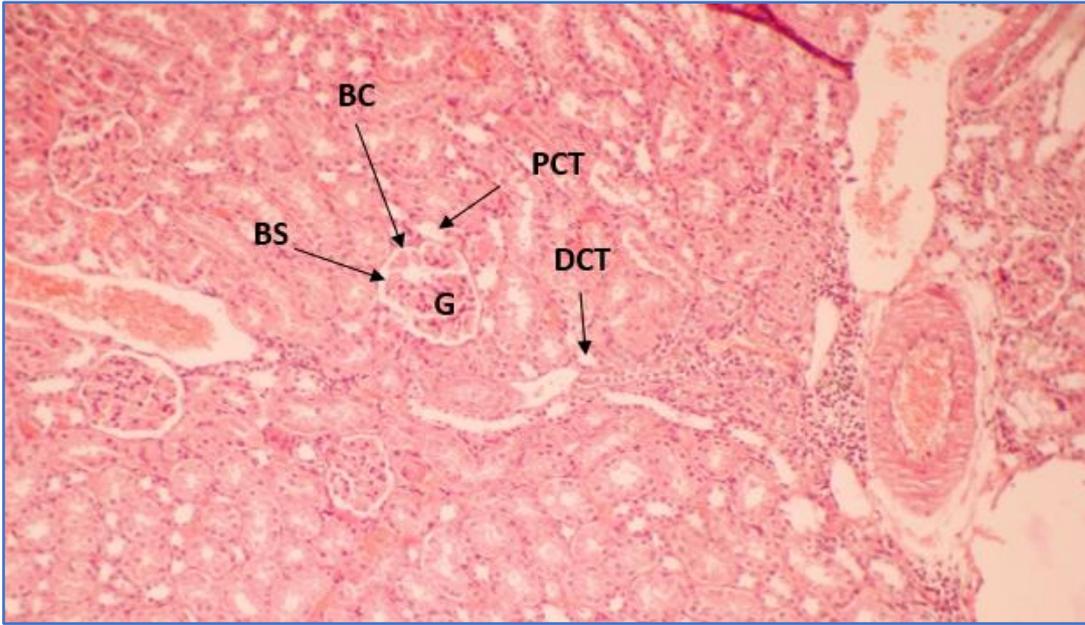
صورة رقم (2-4) مقطع نسيجي مستعرض لكلى انثى الجرذان لمجموعة المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم/كغم نلاحظ تقلص قليل في حجم الكبيبة G هناك زيادة في فسحة بومان BS تركيب طبيعي لمحفظة بومان BC وانتظام النبيب الملنوي الداني PCT والنبيب الملنوي القاصي DCT المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).



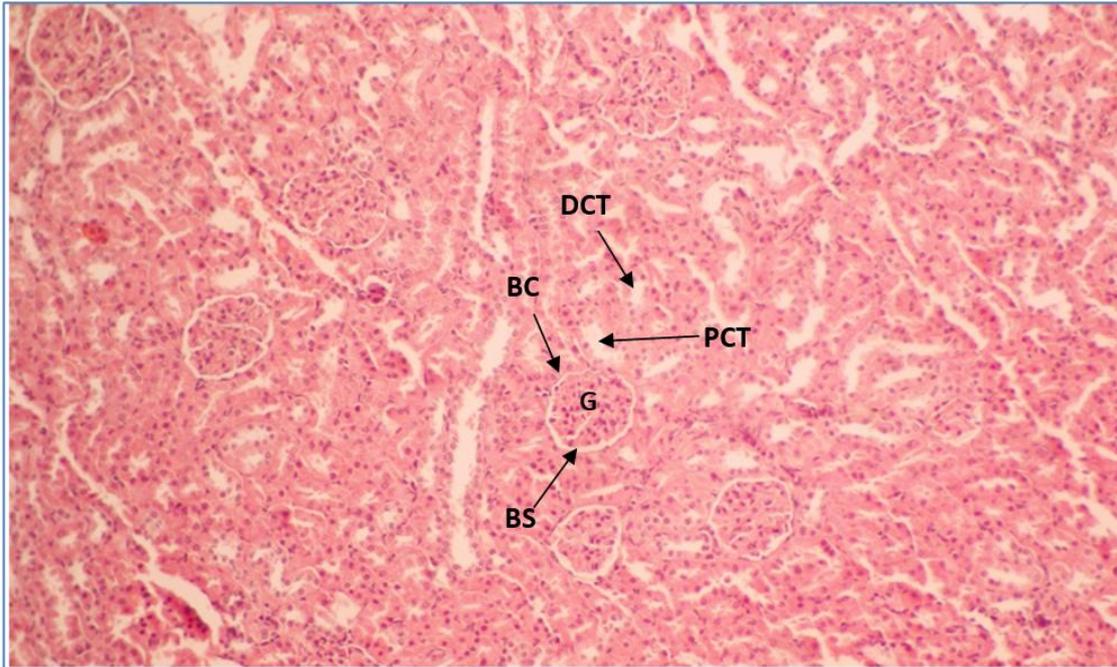
صورة رقم (3-4) مقطع مستعرض لكلية اناث الجرذان لمجموعة المادة الحافظة 4,6 ملغم/كغم نلاحظ تحطيم وضمور كبير في تركيب للكبيبة G ومحفظة بومان BC وعدم انتظام النبيب الملتوي الداني PCT والنبيب الملتوي القاصي DCT وزيادة في فسحة بومان BS مع وجود احتقان في منطقة النبيبات المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).



صورة رقم (4-4) مقطع نسيجي مستعرض لكلية اناث الجرذان لمجموعة المعاملة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم نلاحظ حجم الكبيبة G فسحة بومان BS تركيب طبيعي لمحفظة بومان BC وانتظام النبيب الملتوي الداني PCT والنبيب الملتوي القاصي DCT المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).



صورة رقم (4-5) مقطع مستعرض لكلية اناث الجرذان المجموعة المعاملة المستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم بعد ساعتين تم تجريعها بالمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم نلاحظ تأثير في تركيب للكبيبة G ومحفظة بومان BC وعدم انتظام النبيب الملتوي الداني PCT والنبيب الملتوي القاصي DCT وزيادة في فسحة بومان BS مع وجود احتقان في منطقة النبيبات المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).



صورة رقم (4-6) مقطع نسيجي مستعرض لكلية اناث الجرذان لمجموعة المعاملة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وبعده ساعتين تم تجريعها بالمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم نلاحظ الشكل الطبيعي لحجم الكبيبة G وفسحة بومان BS وتركيب طبيعي لمحفظة بومان BC وانتظام النبيب الملتوي الداني PCT والنبيب الملتوي القاصي DCT المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).

في دراسة Ismail وجماعته، (2013) التي اجراها على الجردان البيضاء لفهم تأثير المضافات الغذائية على نسيج الكلى، اختاروا اثنين من مواد مضافة للأغذية لدراسة آثارها على الكلى فوجدوا أنها تسببت في اتساع واحتقان الشعيرات الدموية في الكبيبة والنيبيبات الكلوية وتوسع تجويف الأنابيب الكلوية (القريبة) والنيبيبات الملتفة (البعيدة) وتحطم خلاياها. وهذا ما تبين من خلال دراسة تأثير المادة الحافظة البارابين على كلى الجرذ الأبيض حيث تبين تحطيم وضمور كبير في تركيب للكبيبة ومحفظة بومان وعدم انتظام النبيب الملتوي الداني والنبيب الملتوي القاصي وزيادة في فسحة بومان مع وجود احتقان في منطقة النبيبات.

المسارات الايضية في الجسم تؤدي الى تكوين نفايات ايضية مثل النواتج الثانوية للسموم او الادوية ، تقوم الكلى بوظيفة مهمة جدا وهي افراز وإزالة هذه المنتجات خارج الجسم ، بحيث يكون تراكم هذه المنتجات في الكلى مؤشرا مهما على الإصابة الحادة او المزمنة للكلى ( Mehat et al., 2007). من المعروف ان التعرض للمواد الحافظة كالبارابين يتسبب بالكثير من الاثار الضارة والخطيرة على انسجة الكبد والكلى ، ان من الأمور التي تحصل عند التعرض للبارابين هو الزيادة في انتاج الجذور الحرة ROS والتي لها التأثير السلبي على نسيج الكلى (Watkins et al., 2015).

اتفقت دراستنا مع دراسة Beriry et al. (2022) التي تم تعريض اناث الجرذان البيض الى البارابين وتم ملاحظة اضرار في الانابيب البولية القاصية والدانية وكذلك وجود الضرر في محفظة بومان والكبيبة وزيادة مساحة محفظة بومان.

ومن نتائج التعرض للبارابين أيضا هو حصول الاجهاد التاكسدي وعدم القدرة على إزالة السموم او القضاء عليها نتيجة الخلل الحاصل في التعرض للجذور الحرة عدم القدرة على اصلاح الاضرار الناجمة عنها ،يمكن ان تعمل هذه الحالة على اضعاف الإشارات الخلوية الطبيعية للجسم وتعمل كمحفز للعديد من الامراض مثل امراض القلب والكلى (Arfaenia et al.,2021).

تحظى الأشواغندا بشهرة واسعة بسبب فوائدها المحتملة كمضادة للأكسدة إذ تحتوي هذه النباتات على مركبات كيميائية تلعب دوراً هاماً في مكافحة الجذور الحرة والحد من التأثيرات الضارة للأكسدة في الجسم إذ تحتوي الأشواغندا على مجموعة من المركبات النشطة، والمعادن والفلافونويدات. هذه المركبات تساهم في زيادة فعالية الأشواغندا على العمل كمضادة للأكسدة بوساطة زيادة فعالية انزيم السوبر أوكسيد ديسميوتيز SOD و الكاتالاز CAT ونشاط انزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز (Ezez et al., 2023) لقد بينت بعض الدراسات ان لمستخلص نبات الاشواغندا دور مهم في حماية الكلى من التغيرات المرضية التي يسببها الجنتاميسين والسسبلائين نتيجة لاحتوائها على العديد من المركبات الفعالة (Asw et al., 2022).

المقاطع النسيجية لكلى الحيوانات المعاملة بمستخلص الاشواغندا ظهرت الخلايا بالشكل الطبيعي في الكلى والتركييب الطبيعي لمحفظة بومان وانتظام كل من النبيب الملتوي الداني والقاصي يعود السبب في ذلك الى احتواء الاشواغندا على مجموعة من المركبات الفعالة (Withaferin-A، Withanolides، تانيات، فلافونات، تريينات، فينولات، ستيرويدات) بالإضافة الى أنه غني بالعديد من الفيتامينات كما ان لها القدرة على تجديد الخلايا وتحطيم الجذور الحرة وتعزز من مضادات الاكسدة بالإضافة الى احتواءه على العديد من الاحماض الامينية التي تعد وسائط لبناء مضاد الاكسدة الداخلي وهو الكلوتاثيون وهذا ما يساعد في المحافظة على التوازن الطبيعي لنظام الاكسدة ومنع حصول الضرر لهذا فهو يقلل من تكوين الجذور الحرة ويحمي الاغشية الخلوية من الضرر التاكسدي ويوفر مادة اساس تنافسية Competitive للدهون غير المشبعة في الاغشية الخلوية الحالية، كذلك تمتلك الخواص التي تكسبها فعالية مضادة للاكسدة كونها قادرة على منح ذرة هيدروجين للجذور الحرة وايقاف عملها الضار على النسيج نتيجة لتقليل من عملية أكسدة الدهون وحماية الاغشية الخلوية من الضرر التاكسدي وتعزز نظام اصلاح التلف الخلوي Gulcin, I (2020).

أظهر المركب الفعال Withanolides المعزول من مستخلص من جذور الأشواغندا نشاطاً كبيراً ضد الإجهاد في الجرذان (Esmaelzadeh et al., 2022) وأيضاً قد تم تقييم نشاط النبات حيث وجد عند تجريعها إنها تحمي من أنواع الاجهادات المختلفة المستحثة بالعقاقير أو من الضغوط البيولوجية والفيزيائية في الحيوانات (Dai, W., et al., 2022). وفي دراسة أجريت حديثة توصلت إلى أن المستخلص الكحولي الايثانولي لجذور *W. somnifera* يحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الكيميائية ذات النشاط المضاد للأكسدة إذ أظهرت النتائج أن الأشواغندا تقلل من تراكم الجذور الحرة في الأنسجة وتزيد من نشاط إنزيمات المضادة للأكسدة، وبالتالي تقلل من التلف الناتج عن الاجهاد التاكسدي (Munir et al., 2022).

أشارت العديد من الدراسات السمية التي أجريت على نماذج حيوانية إلى أن *Withania Somnifera* غير سامة وثبت أنها آمنة جداً للإنسان كما هو متوقع. واتفقت دراستنا مع دراسة Jeyanthi and Subramanian (2009) التي أكدت نتائج دراستنا حول اختيار الجرعة الفعالة من *W. Somnifera* على السمية الكلوية الناجمة عن GEN أن 500 ملجم من *W. Somnifera* كانت أكثر بروزاً في حماية الكلى من السمية الكلوية الناجمة عن GEN. و أن أقصى فعالية علاجية تظهر بها *W. Somnifera* التأثير الوقائي للكلى يمكن أن تُعزى أولاً إلى تعزيز نشاط مضادات الأكسدة باستخدام مضادات الأكسدة الطبيعية ثم عن طريق التخلص من الجذور الحرة، وهذه الآلية الدقيقة التي تمارس بها *W. Somnifera* التأثير الوقائي للكلى.

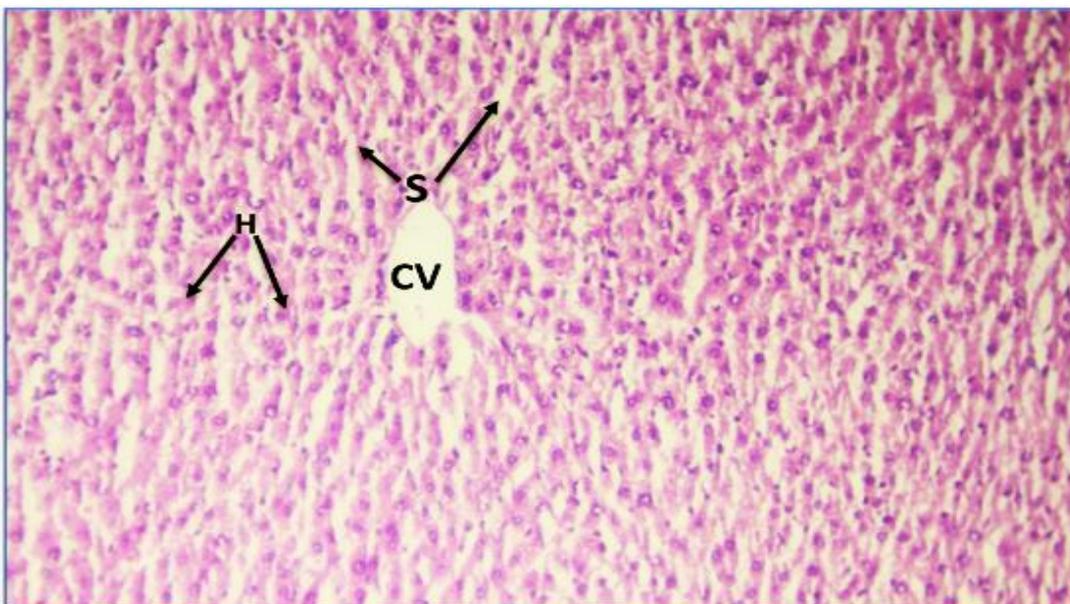
وان هذه التغييرات التي كانت شبه طبيعية في نسيج الكلى في كلتا المجموعتين ومقارنتها مع مجموعة السيطرة يدل على التأثير العلاجي الفعال للمستخلص والمركب النانوي في الحفاظ عليها أو إزالة تأثير وجود المواد الفعالة عكس ما تم ملاحظته في مجموعة المادة الحافظة (AS, Q. (2023).

في الأونة الأخيرة، يعد استخدام النباتات الطبية والجسيمات النانوية العشبية أحد الخيارات العلاجية لإصابة الكلى الحادة ، وكذلك انخفضت مستويات الكرياتينين في المصل وBUN، والتي تعد من المؤشرات الحيوية لوظائف الكلى بشكل ملحوظ عند استعمال الجسيمات النانوية الفضية في العلاج، كما أدى علاج الجسيمات النانوية الفضية إلى التخفيف بشكل كبير من توليد أنواع الأكسجين التفاعلية (Qiu et al .,2023).

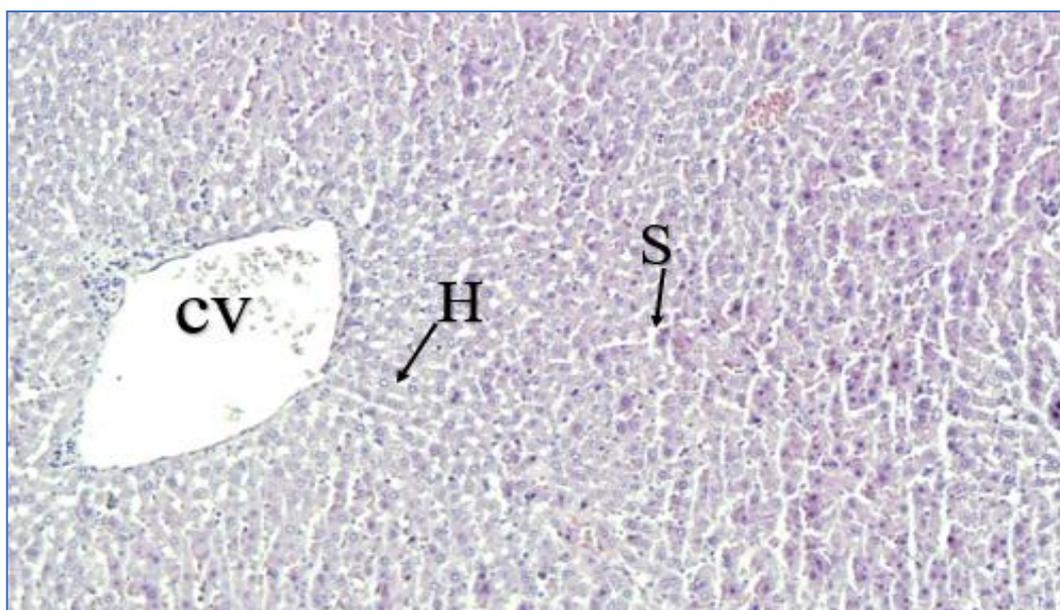
تمتلك الخواص التي تكسبها فعالية مضادة للاكسدة كونها قادرة على منح ذرة هيدروجين للجذور الحرة و إيقاف عملها الضار على النسيج نتيجة لتقليل من عملية أكسدة الدهون وحماية الاغشية الخلوية من الضرر التأكسدي (Sisein, E. A. (2014). بينما عند مقارنة التغييرات النسيجية لكلى الجرد الأبيض المعاملة بالمركب النانوي تركيزه 150 ملغم /كغم. نلاحظ هناك تغييرات نسيجه شبه طبيعية مثل تقلص حجم الكبيبة بشكل قليل، مع انتظام في جدران النبيبات البولية، كما كانت هناك زيادة في فسحة بومان مع وعدم وجود نزيف في النبيبات البولية في الشكل (4-13) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة (Anbu, A. S., & Venkatachalam, P. (2016).

## 2.3.4. تأثير المجموعات على نسيج الكبد في اناث الجرذان البيض

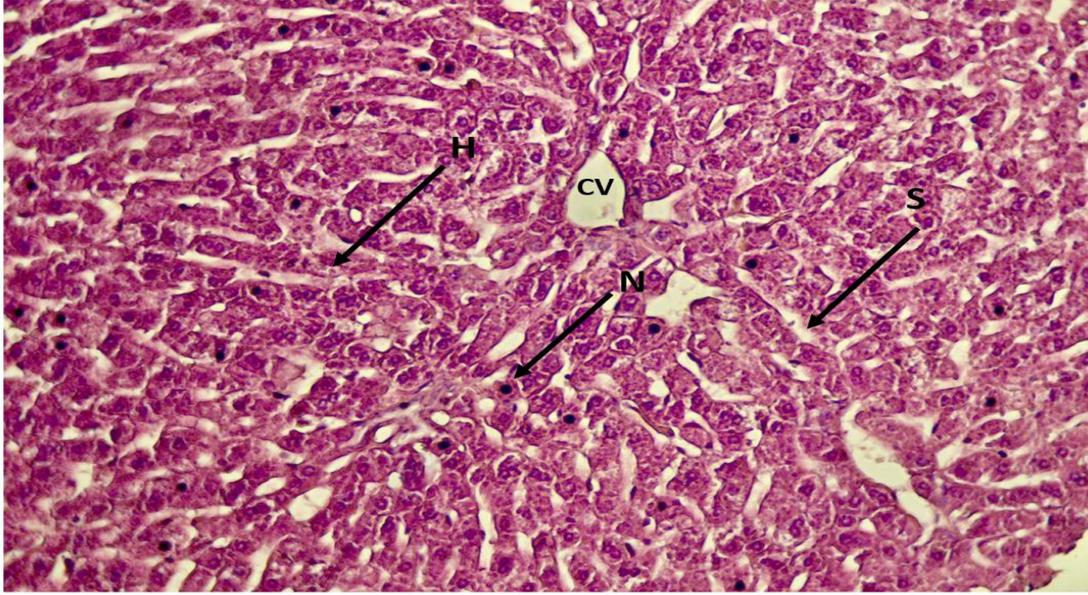
أظهرت نتائج المقطع النسيجي الطبيعي لمجموعة السيطرة، كما في الشكل (4-7) التركيب النسيجي الطبيعي حيث تظهر فيه الخلايا الكبدية الطبيعية Hepatocytes وانتظام الحبال الكبدية باتجاه مركز الفصيص Lobule المحتوي على الوريد المركزي Central vein والخلايا ذات اشكال مضلعة Polyhedral لها سايتو بلازم حامضي الصبغة Eosinophilic ونوى كروية الشكل ويمكن تمييز أكثر من نواة في بعض الخلايا الكبدية يتخللها جيوب تسمى الجيبانيات الدموية Sinusoids منظمة باتجاه الوريد المركزي. ويلاحظ فيها اعداد قليلة من خلايا كوفر Kupffer cells اما في مجموعة الجرذان المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم كما هو موضح بالشكل (4-8) مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث ظهر التركيب النسيجي للكبد مقارباً للأنسجة الطبيعية، اذ يتكون من الوريد المركزي وانتظام الحبال الكبدية hepatic cords المؤلفة من خلايا كبدية مضلعة ونوى كروية الشكل مع وجود الجيبانيات الدموية حيث لم نلاحظ اي تغييرات نسجية عند المقارنة مع مجموعة السيطرة . بينما أظهر الفحص النسيجي لكبد الجرذان المعاملة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم يلاحظ فيها الشكل الطبيعي للوريد الكبدي والخلايا الكبدية والانوية والجيبانيات وانتظام الحبال الكبدية في الشكل (4-9) ، بينما أظهر الفحص النسيجي لكبد الجرذان المعاملة لمجموعة المادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم الشكل (4-10) تلف كبير لنسيج الكبد يتضمن احتقان وتوسع في الوريد المركزي واحتقان وتوسع في الجيبانيات ،تنكس خلايا الكبد ، عدم انتظام شديد للحبال الكبدية في الشكل السداسي ونزف في نسيج الكبد مع وجود خلايا التهابية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. كما بينت نتائج نسيج الكبد لمجموعة الجرذان المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم وبعد ساعتين تم إعطائها مادة الحافظة 4.6 ملغم / كغم كما هو موضح بالشكل (4-11) حيث ظهر التركيب النسيجي للكبد مقارباً للأنسجة الطبيعية، حيث يتكون من الوريد المركزي مع وجود الجيبانيات الكبدية، كما أن الحبال الكبدية التي تمثلها الخلايا الكبدية تكون متعددة الأضلاع والنوى كروية نلاحظ وجود احتقان طفيف في الخلايا عند مقارنتها بمجموعة السيطرة. نتائج نسيج الكبد لمجموعة الجرذان المعاملة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وبعد ساعتين تم إعطائها مادة حافظة 4.6 ملغم /كغم كما هو موضح بالشكل (4-12) حيث ظهر وجود خلايا التهابية مزمنة حول الوريد تظهر الشكل الطبيعي لخلايا الكبد بشكلها السداسي المنتظم وانتظام في الجيبانيات



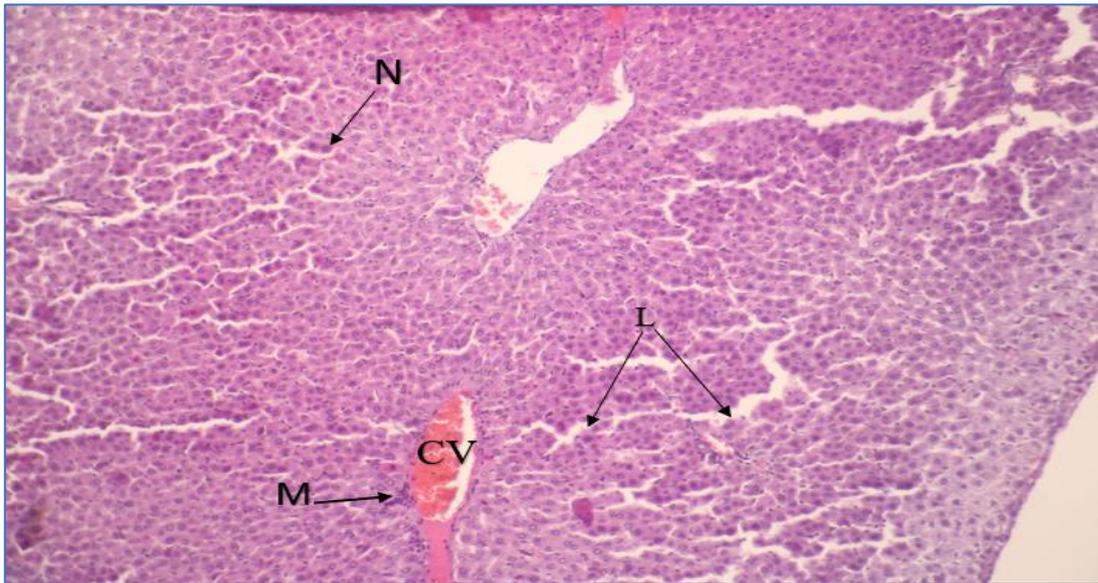
صورة رقم (4-7) مقطع مستعرض لنسيج الكبد في أنثى الجرذان لمجموعة السيطرة يلاحظ فيها التركيب الطبيعي للوريد المركزي CV والخلايا الكبدية H والجيبانيات S المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).



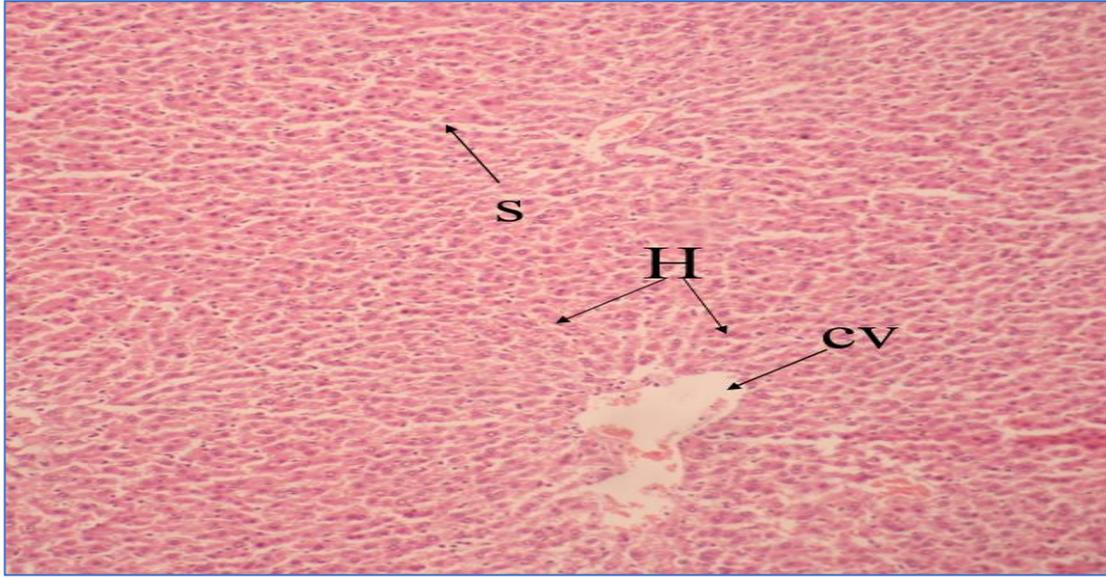
صورة رقم (4-8) مقطع مستعرض لنسيج الكبد في أنثى الجرذان المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم فيها التركيب الطبيعي للوريد المركزي CV والخلايا الكبدية H والجيبانيات S المقطع النسيجي ملون بصبغة (X10) H&E.



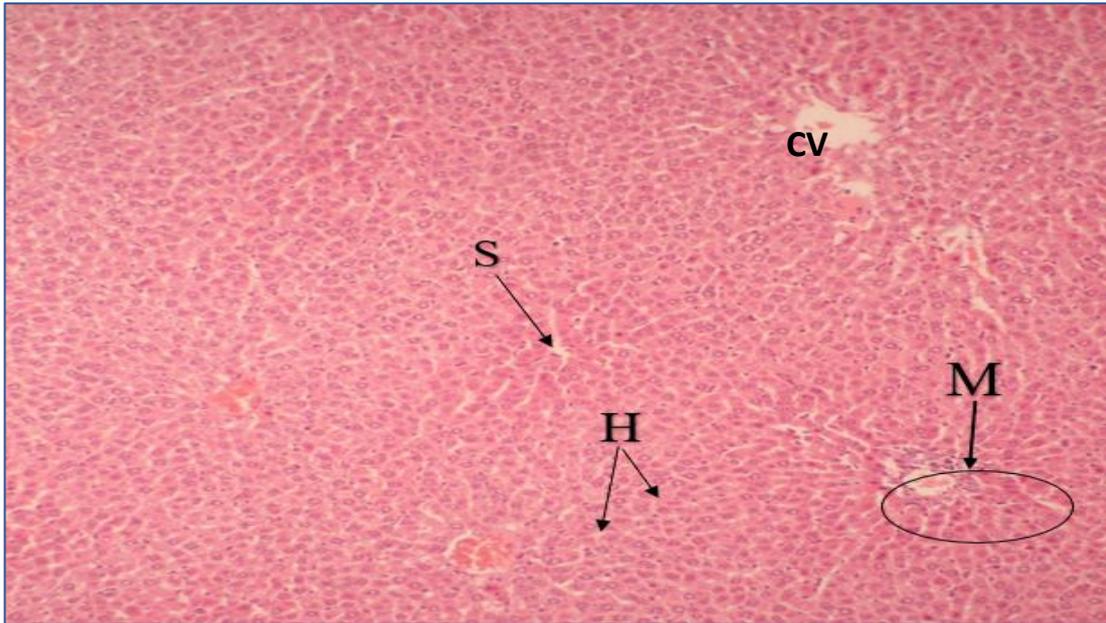
صورة رقم (4-9) مقطع نسيجي مستعرض لكبد اناث الجرذان التي تم إعطائها المركب النانوي 150 ملغم/كغم يلاحظ فيها الشكل الطبيعي للوريد الكبدي C والخلايا الكبدية والانوية والجيبانيات L وانتظام الحبال الكبدية H&E (X10).



صورة رقم (4-10) مقطع نسيجي مستعرض لكبد اناث الجرذان التي تمت معاملتها بالمادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم يلاحظ احتقان الوريد الكبدي C وتغلض الانوية وتوسع الجيبانيات L وجود خلايا التهابية مزمنة حول الوريد M وجود تغلض النوى N وعدم انتظام الحبال الكبدية المقطع النسيجي ملون بصبغة المقطع النسيجي ملون بصبغة (X10) H&E.



صورة رقم (4-11) مقطع مستعرض لكبد اناث الجرذان التي تمت معاملتها بمستخلص نبات الاشواغندا 500 ملغم /كغم وبعد ساعتين تم إعطائها مادة الحافظة 4.6ملغم / كغم تظهر الشكل الطبيعي ليخلايا الكبد بشكلها السداسي المنتظم H حول الوريد المركزي CV مع توسع بسيط للجيبانيات S المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).



صورة رقم (4-12)مقطع مستعرض لنسيج كبد اناث الجرذان التي تم معاملتها بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وبعد ساعتين تم إعطائها مادة حافظة 4.6ملغم /كغم وجود خلايا التهابية مزمنة حول الوريد Mتظهر الشكل الطبيعي لخلايا الكبد بشكلها السداسي المنتظم H وانتظام في الجيبانيات S المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).

في مجموعة الجرذان المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم كما هو موضح بالشكل (4-8) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة حيث ظهر التركيب النسيجي للكبد مقارباً للأنسجة الطبيعية وتفسير ذلك يعزى الشكل الطبيعي إلى وجود مركبات نشطة بيولوجياً متعددة قد تعمل بشكل متآزر ، ويمكن أن تكون هذه القدرة على حماية الكبد لاحتواء المستخلص على المركبات الفعالة مثل الفينولات والفلافونيدات التي تعمل على كسح الجذور الحرة وحماية اغشية الخلايا من الإجهاد التأكسدي (Hong Kwong *et al.*,2010 ; Rebecca *et al.*,2010) والذي اتضح تأثيرهما في تنشيط تفاعلات تكوين الجذور الحرة Free radicales لكونها مركبات فعالة مانحة للهيدروجين، وتعمل كنظام كاسح Scavengers لاصناف الاوكسجين التفاعلية ROS وتنشط تكوين الانزيمات المضادة للاكسدة كالكلوتاثيون وانزيم الكاتليز التي تمنع عملية بيروكسيده الدهون التي تسبب تلف الانسجة (Hernawati,*et al.*,2018;Novita *et al.*,2020).

بينما أظهر الفحص النسيجي لكبد الجرذان المعاملة لمجموعة المادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم الشكل (4-10) تلف كبير لنسيج الكبد يتضمن احتقان وتوسع في الوريد المركزي واحتقان وتوسع في الجيبانيات ، ، عدم انتظام شديد للحبال الكبدية في الشكل السداسي ونزف في نسيج الكبد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. نظراً لأن الكبد هو الموقع الأساسي لاستقلاب البارابين، فقد أظهرت الأبحاث السابقة التي أجريت على بعض الاسماك البالغة المعرضة للبارابين شبه المزمّن سمية كبدية، تتميز بتكوين فجوات في الخلايا الكبدية وزيادة نواتج أيض الدهون وتعزيز استجابة الإجهاد المرتبطة بالكورتيزول (Hu *et al.*, 2023) ، وبالمثل، أشارت نتائج دراسة (Du *et al.* (2024) إلى أن التعرض للبارابين أدى إلى تعطيل مورفولوجيا الأنسجة المختلفة، وخاصة ارتفاع نشاط ALT وAST بشكل ملحوظ، مما يشير إلى إصابة الكبد.

أشارت بعض الدراسات إلى أن تركيزاً معيناً من البارابين له آثار سلبية على قدرة مضادات الأكسدة، واستقلاب الدهون، وموت الخلايا المبرمج للكائنات الحية. عندما يتغير التوازن بين إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS) والدفاعات المضادة للأكسدة، يحدث الإجهاد التأكسدي في الكائنات الحية، مما قد يؤدي إلى أكسدة الدهون، وتلف الحمض النووي، وتدهور البروتين في الخلايا (Sakuragui *et al.*,2013). يعد تحليل علامات الإجهاد التأكسدي مهماً لتقييم آثار التعرض المزمن لجرعات دون القاتلة من البارابين ، يتم امتصاص BuP بسهولة والاحتفاظ به في أنسجة الجسم، وأصبحت دراسات السمية المتعلقة بـ BuP أكثر تواتراً. قد يؤدي التعرض لـ BuP من خلال الابتلاع أو الاستنشاق أو امتصاص الجلد إلى إتلاف الجهاز الصماء وإحداث الإجهاد التأكسدي (Kroll *et al.*,2019) ، كما

ورد أنه يسبب الإجهاد التأكسدي عن طريق تثبيط مضادات الأكسدة وزيادة محتوى مالونديالدهايد في كبد الفئران (Shah and Verma,2011).

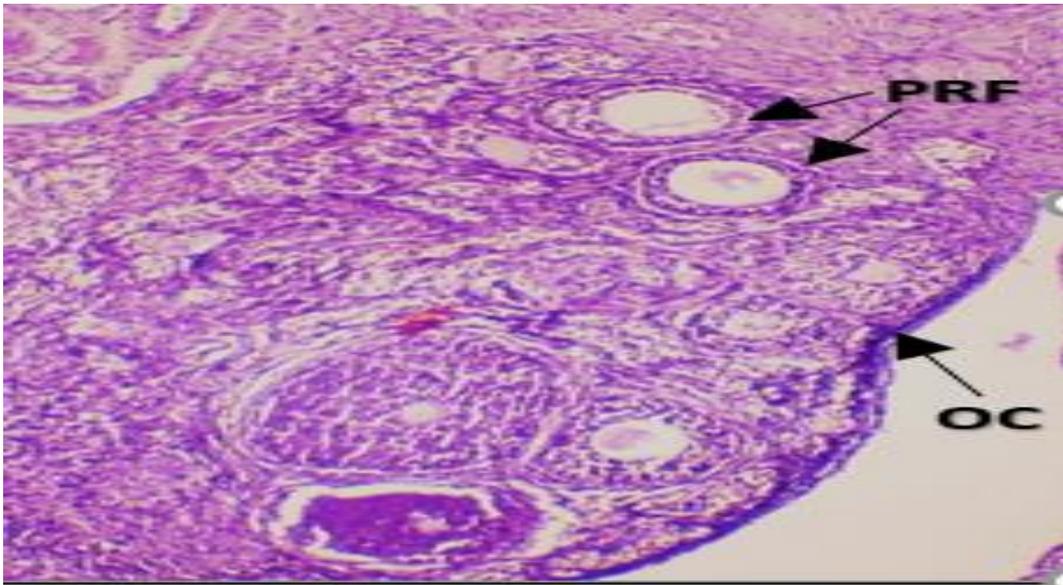
حيث لاحظ نتائج مشابهة لنتائج دراسة , Galaly & Mahmoud , (2012) التي جرعت نترات الصوديوم  $\text{NaNO}_3$  حيث بين الفحص المجهرى الضرر الحاصل في الخلايا الكبدية فأظهر خلايا كبدية متنخرة ، وتنكس الخلايا hepatocytes وجود الخلايا الالتهابية اضافة الى وجود ارتشاح خلايا وحيدة النواة وتوسع الجيبانيات sinusoidal dilatation واحتقان شديد congestion vein للوريد المركزي (Galaly & Mahmoud, 2012). وأيضاً جاءت نتيجة دراستنا الحالية متفقة مع Rouag وجماعته (2020) التي اجراها على ذكور الجرذان البيض المعاملة ب ( $\text{NaNO}_3$ ) في مياه الشرب اظهرت تلفاً لنسيج الكبد Hepatocellul damages يتضمن تنكس degeneration للخلايا الكبدية فضلا عن وجود احتقان congestion و توسع الجيبانيات الكبدية sinusoidal dilatation (Rouag et al., 2020), واتفقت نتائجنا ايضا مع دراسة قدمها bouaziz-ketata (2014) اجراها على ذكور الجرذان البيض معاملة ايضا بمادة نترات الصوديوم تميزت بارتشاح infiltration خلايا الكريات البيض الالتهابية inflammatory leucocyte cells وكذلك تنخر في الفصيص الكبدى المركزي وارتشاح خلوي في القنوات البوابية portal canals ،الناتجة عن ضعف الأوعية الدموية vascularization (Bouaziz-Ketata et al., 2014). هذه التغيرات التي كانت شبه طبيعية في نسيج الكبد في كلتا المجموعتين ومقارنتها مع مجموعة السيطرة يدل على التأثير العلاجي والفعال للمستخلص والمركب النانوي في الحفاظ او إزالة تأثير وجود المواد الفعالة عكس ما تم ملاحظته في مجموعة المادة الحافظة. ان انخفاض الضرر الحاصل لنسيج الكبد واختفاء التغيرات النسيجية واختفاء احتقان الوريد المركزي يعود لاحتواء المستخلص على المركبات الفعالة وهي الزيوت الطيارة مثل الفلافونيدات (Flavonoids) والتربينات (Terpenes) التي تعمل على كسح الجذور الحرة وحماية اغشية الخلايا من الإجهاد التأكسدي وارتفاع الكلوتاثيون (GSH) وانزيم الكاتاليز (CAT) بما يدعم القابلية الوقائية التي تمتلكها مستخلصات الاشواغندا المضادة للأكسدة بحيث تكون مأمونة للغاية ضد إصابة الكبد التي يسببها المادة الحافظة في الآونة الأخيرة، ظهرت علاجات تعتمد على تقنية النانو كبدائل جديدة واعدة للعلاج التقليدي. يتوسع مجال تقنية النانو بسرعة، مع التركيز على إنشاء ومعالجة واستخدام مواد بأبعاد تتراوح بين 10 و500 نانومتر للعديد من العلاجات الطبية وأنظمة توصيل الأدوية (Mahfouz et al., 2023)، لقد توسع استخدام الجسيمات النانوية في التكنولوجيا الحديثة بشكل كبير ،أظهرت الدراسات/المختبرية والحيوية أن العديد من المستخلصات النباتية والجسيمات النانوية المعدنية لها أنشطة بيولوجية كبيرة .لذلك، من المتوقع أن يؤدي استخدام المستخلصات النباتية في التخليق الأخضر للجسيمات النانوية المعدنية إلى تأثير تآزري، مما قد يؤدي

إلى أنشطة بيولوجية أكثر إقناعاً (Chinnapaiyan et al.,2022) لذلك، فإن الجمع بين المستخلصات النباتية والجسيمات النانوية المعدنية يمكن أن يؤدي إلى تخليق مادة نانوية جديدة ذات تطبيقات بيولوجية محسنة ومثيرة، في السنوات الأخيرة، تم استخدام طرق الإنتاج الخضراء لإنشاء جسيمات نانوية . (Mishra et al.,2017)

واتفقت دراستنا مع دراسة Elzoheiry et al.(2022) التي تم استعمال الجسيمات النانوية الفضية المطلية بالكيروزان الأخضر ، يعد نظام التوصيل النانوي فعالاً من حيث التكلفة وسهل التحضير وتوصيله إلى الكبد. لقد ساعد في تعزيز نفاذية غشاء الكركمين، وزيادة توافره البيولوجي داخل الخلايا الكبدية والسماح بعمله المضاد للتليف. Elzoheiry, A., et.al. (2022).

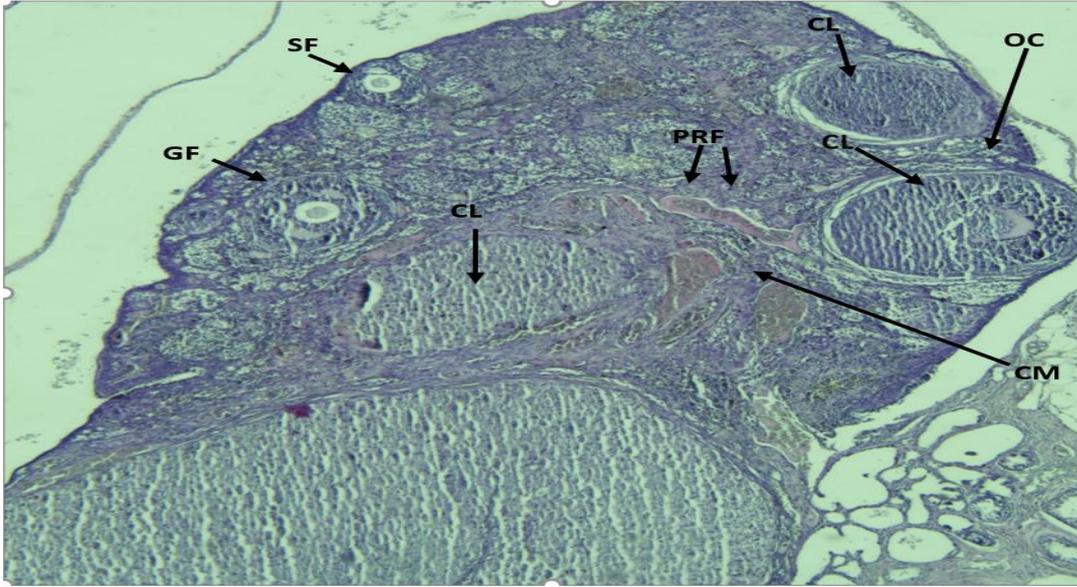
### 3.3.4. تأثير المجموعات على نسيج المبيض في أنثى الجرذ الأبيض

أما فيما يتعلق بنتائج الفحص المجهرى لأنسجة المبيض حيث أظهرت نتائج الدراسة الحالية لمجموعة السيطرة عن ظهور الأنسجة الخلوية للمبيض بصورة طبيعية مع ظهور الجريبات المبيضية في مراحل وأشكال مختلفة من التمايز والنمو حيث نلاحظ ظهور الجريبات الأولية والثانوية وكذلك جريبات كريفين كما يظهر الجسم الأصفر في المقطع النسيجي، هذا يدل على الشكل الطبيعي للمبيض في أنثى الجرذ في مجموعة السيطرة. Shehata, A. M., et.al.. (2021) وجميع هذا التغيرات يمكن ملاحظتها في الشكل (4-13).



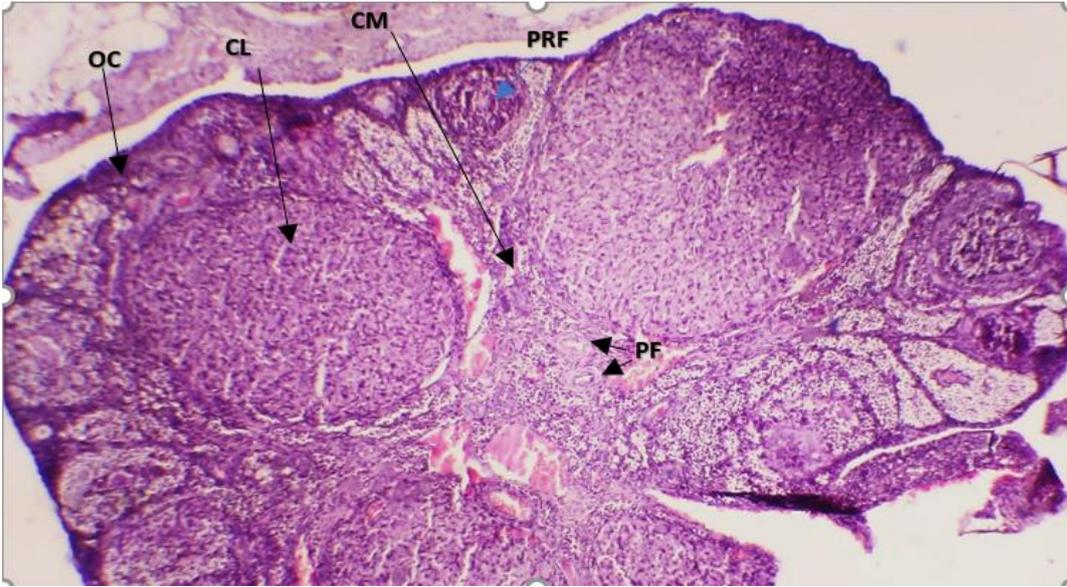
صورة رقم (4-13) مقطع مستعرض يوضح مبيض أنثى الجرذ الأبيض لمجموعة السيطرة حيث يمكن ملاحظة نسيج المبيض الطبيعي المتمثل بقشرة المبيض OC ومنطقة اللب CM وكذلك ظهور الجسم الأصفر CL بالإضافة الى ظهور أعداد مختلفة من جريبات البيوض (الجريبات الأولية والثانوية والبالغة(كريفين)) بأحجام ومراحل تطويرية مختلفة من التمايز (PF,GF) المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (4X).

وعند مقارنة مجموعة السيطرة مع بقية المجاميع حيث يوضح الشكل (4-14) المجموعة المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم من وزن الجسم بالإضافة الى الشكل (4-15) لمجموعة المعاملة بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم. حيث أظهرت نتائج المجموعتين ظهور نسيج المبيض بصورة طبيعية من خلال ما تبين من أنسجة قشرة المبيض OC بالإضافة الى تركيب النسيجي في منطقة اللب CM كما أن حالة المبيض تبين ذلك من خلال ظهور الجريبات المبيضية في مراحل مختلفة من التمايز حيث ظهر أعداد كبيرة من الجريبات البدائية والثانوية والناضجة.



صورة رقم (4-14) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض لمجموعة المعاملة بمستخلص الاشواغندا 500 ملغم /كغم نلاحظ ظهور نسيج المبيض بصورة طبيعية في منطقة القشرة OC ومنطقة اللب CM بالإضافة الى ظهور الجريبات المبيضية وبمراحل مختلفة كما نلاحظ ظهور الجسم الأصفر CL المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).

أما عند مقارنة مجموعة المادة الحافظة مع مجموعة السيطرة حيث يوضح الشكل (4-15) مجموعة المادة الحافظة حيث نلاحظ تأثر أنسجة المبيض نتيجة التعرض للمادة الحافظة حيث ظهور مناطق الالتهابات مع ملاحظة احتقان في الاوعية الدموية في أنسجة المبيض وعدم انتظام أنسجة المبيض وهذا يدل على تأثير المادة الحافظة بالإضافة الى عند المقارنة مع مجموعة السيطرة .



صورة رقم (4-15) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض لمجموعة المعاملة بالمركب النانوي 150 ملغم/كغم تظهر نسيج المبيض بصورة طبيعية في منطقة القشرة OC ومنطقة اللب CM بالإضافة الى ظهور الجريبات المبيضية وبمراحل مختلفة كما نلاحظ ظهور الجسم الأصفر CL المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).

نلاحظ عدد الجريبات المبيضية قليلة بالإضافة الى تكيس بعض الجريبات المبيضة هذا يدل على التأثير المرضي والمتراكم على أنسجة الجسم بصورة عامة والمبيض بصورة خاصة، حيث أثبت الدراسات السابقة على تأثر مادة 4-propyl+hydroxybenzoate في عدم انتظام هرمونات المبيض بالإضافة الى عدم انتظام دورة الشبق وتؤدي الى فشلها وبالتالي تؤثر على عمل المبيض والخصوبة .Auersperg, N.,*et.al.* (2001)..

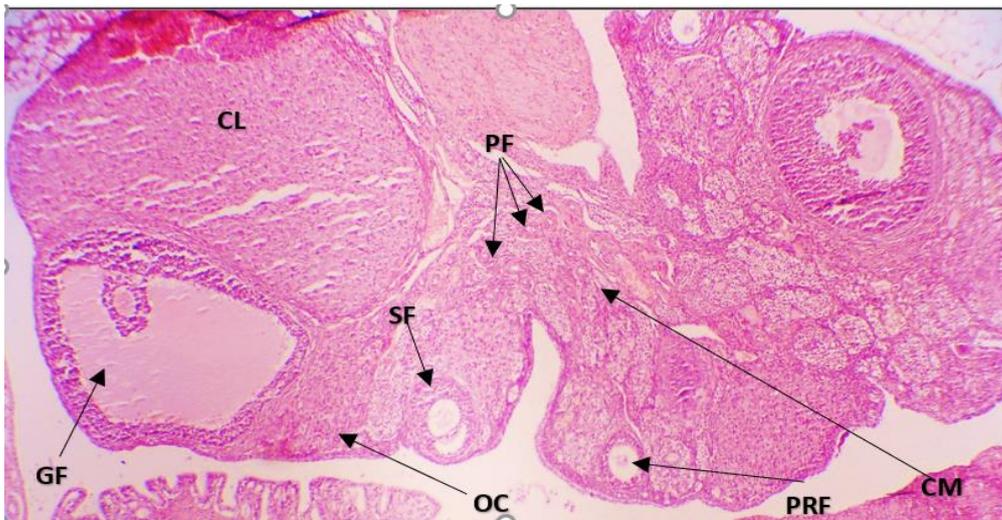


صورة رقم (4-16) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض لمجموعة المادة الحافظة 4.6 ملغم/كغم حيث نلاحظ تأثر أنسجة المبيض نتيجة التعرض للمادة الحافظة بالإضافة الى ظهور الجريبات المبيضية وبمراحل مختلفة لكن بعدد ومتكيسه المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).

بينما عند مقارنة مبيض انثى الجرذ الأبيض التي تمت معاملتها بمستخلص نبات الاشواغندا 500 ملغم /كغم وبعد ساعتين تم إعطائها مادة الحافظة (4+propyl+hydroxybenzoate) 4.5 ملغم / كغم /الشكل (4-17) بالإضافة الى مبيض انثى الجرذ الأبيض التي تم معاملتها بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وبعد ساعتين تم إعطائها مادة الحافظة (4+propyl+hydroxybenzoate) 4.5 ملغم / كغم /الشكل (4-18) مع مجموعة السيطرة نلاحظ ظهور أنسجة المبيض بصورة طبيعية من خلال تركيب منطقة قشرة المبيض واللب بالإضافة الى ظهور الجريبات المبيضية بصورة طبيعية وفي مراحل مختلفة من التمايز ويشمل الجريبات البدائية والثانوية والناضجة وبأعداد كثيرة وهذا يدل طبيعة أنسجة المبيض تتشابه في طبيعتها في هذه المجموعتين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة



صورة رقم (4-17) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض التي تمت معاملتها بمستخلص نبات الاشواغندا 500 ملغم /كغم وبعد ساعتين تم إعطائها مادة الحافظة 4.5 ملغم / كغم حيث نلاحظ نسيج المبيض يظهر بصورة طبيعية ونلاحظ ظهور الجريبات المبيضية بصورة جيدة وكذلك بأعداد كثيرة وفي أشكالها المتعددة وكذلك ظهور الجسم الأصفر، المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).



صورة رقم (4-18) مقطع مستعرض يوضح مبيض انثى الجرذ الأبيض التي تم معاملتها بالمركب النانوي 150 ملغم /كغم وبعد ساعتين تم إعطائها مادة حافظة 4.5 ملغم /كغم حيث نلاحظ نسيج المبيض يظهر بصورة طبيعية ونلاحظ ظهور الجريبات المبيضية بصورة جيدة وكذلك بأعداد كثيرة وفي أشكالها المتعددة وكذلك ظهور الجسم الأصفر، المقطع النسيجي ملون بصبغة H&E (X10).

في العديد من الدراسات أثبت أن استخدام المستخلصات للنباتات الطبية بحيث تكون آمنة ولها تأثير علاجي في الكثير من الأمراض ( S. H. Alwan & Al-Saeed, 2021; S. Alwan et al., 2021; 2023). كما أن استخدام مستخلص نبات الأشواغندا والدقائق الفضة النانوية أثبت فعاليتها الطبية في معالجة وتنظيم العديد من الحالات المرضية وخصوصاً المتعلقة بانتظام الهرمونات الجنسية وبالتالي تكمن فعاليتها على أنسجة المبيض (Tabandeh, M. R., et al. (2022).

تشير هذه النتائج مجتمعة إلى أن اثنين من البارابين قد يكون لهما تأثير إستروجيني لتعطيل نمو بصيلات المبيض وعلى الوظيفة الإنجابية في نموذج الفئران الأنثوية (Ahn et al., 2011). إن الاستخدام السائد للبارابين يزيد من اكتشافه في البيئة وفي العينات البيولوجية للنساء بما في ذلك الأنسجة التناسلية. تشير الدراسات الحديثة إلى أن البارابين قد يغير وظيفة الغدد الصماء وبالتالي قد تتأثر الصحة الإنجابية للإناث. في مراجعة الأدبيات هذه، نلخص النتائج المتعلقة بالبارابين والتكاثر الأنثوي مع التركيز على الدراسات الوبائية والقائمة على القوارض. تشمل الموضوعات التي تمت مراجعتها تأثيرات البارابين على الدورة الشهرية والحمل وتطور حديثي الولادة والبلوغ والهرمونات التناسلية والنتائج الخاصة بالمبيض والرحم. بشكل عام، ومع ذلك، فإن بعض الدراسات التجريبية الوبائية و/أو القائمة على القوارض تفيد بنتائج مهمة فيما يتعلق بتأثيرات البارابين على الدورة الشهرية والخصوبة وطول فترة الحمل ووزن الولادة والنمو بعد الولادة وبداية البلوغ ومستويات الهرمونات وإشارات الهرمونات في الأنسجة التناسلية. (Pulcastro & Ziv-Gal, 2024).

الفصل الخامس  
الاستنتاجات والتوصيات

**Conclusion and Recommendation**

## 1-5 الاستنتاجات

من خلال نتائج الدراسة الحالية تم استنتاج ما يأتي :

- 1- ادى التجريع الفموي بمادة البارابين اجهدا تأكسديا اذ سبب اضرار نسيجية في نسيج الكبد والكلى تمثلت بتغيرات في الخلايا الكبدية والجبيانيات والوريد المركزي و الكبيبة الكلوية والنيبب الملثوي الداني والقاصي بالمقارنه مع مجموعة السيطرة .
- 2- احدث الاجهاد التاكسدي تغيرات في بعض المعايير الكيموحيوية تمثلت بارتفاع معنوي في مستويات GRA و RBC و LYM و MDA و (IL-10) (IL-17) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة و انخفاض معنوي في كل من في مستويات Hb و GSH و SOD ، E2 ، Progesterone بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.
- 3- ان الدور الوقائي للمستخلص المائي الاشواغندا ادى الى معادلة الاجهاد التاكسدي الناجم عن التعرض لمادة البارابين من خلال تحسين معظم التغيرات النسيجية المرضية في الكبد والكلى
- 4- تبين أن التجريع بالمستخلص المائي الاشواغندا بتركيز 500 mg/kg كانت له الفعالية الأقوى ، في التقليل من تأثيرات مادة البارابين فيما يخص المعايير الفسيولوجية والنسجية المدروسة.

## 2-5 التوصيات

- 1- ضرورة الالتزام بأستخدام المادة الحافظة بتركيز قليله جداً مع تجنب استخدامها لمدة طويله لتجنب الآثار الجانبية على أنسجة وأعضاء الجسم وخصوصاً الكبد والكلى والمبايض .
- 2- إمكانية أستخدام المركب النانوي الأخضر على شكل مكمل غذائي في حالات حدوث الأجهاد التأكسدي والتأثيرات الناتجة عنه لتجنب او التقليل من أستخدام المواد الحافظة .
- 3- يمكن الاستفاده من المركبات الفعاله في المستخلص المائي لجذور نبات الأشواغندا للتقليل من السمية المستحثة ببعض المواد الحافظة.
- 4- إجراء دراسات أخرى لمعرفة تأثير المادة الحافظة البارابين في أعضاء أخرى كالدماغ والقلب والرئتين في الجرذان البيض .
- 5- إجراء دراسة فسلجية ونسجية حول تأثير المركب النانوي الأخضر والماده الحافظة البارابين على أجنه الجرذان البيض .
- 6- قياس المعايير الكيموحيوية ALP , AST, ALP واليوريا و الكرياتنين لمعرفة تأثير المادة الحافظة على الكبد والكلى .

# الفصل السادس

## المصادر

## References

## المصادر العربية

1. فاضل, ه., دريوس, م., & أسعد, ي. (2016). تأثير البارابين والمستخلص المائي للزنجبيل في هيموغلوبين الدم وتركيزه الوسطي في كريات الدم الحمر في الفئران
2. الساهوكي, مدحت. ووهيب, كريمة محمد. (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب, جامعة بغداد.
3. عباس, علي, ح., علك, & كاظم, م. (2016). دور حامض البرولين في تحسين حاصل زهرة الشمس و مكوناته تحت ظروف الشد الماني. Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 47(2).

## إنكليزي المصادر

- Abbas, S. A., & Al-Hamadawi, H. A. (2022). Effects Study of Some Common Food Additives on Histological and Functional Thyroid Gland in Young Male Albino Rats. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, 16(06), 677-677 .
- Abbiss, H., Maker, G. L., & Trengove, R. D. (2019). Metabolomics approaches for the diagnosis and understanding of kidney diseases. *Metabolites*, 9(2), 34 .
- Abd-Allah, E. R., & Abd El-Rahman, H. A. (2023). Ameliorative effects of nano Moringa on fluoride-induced testicular damage via down regulation of the St gene and altered steroid hormones. *Reproductive Biology*, 23(1), 100724 .
- Abdellatif, A. A., Younis, M. A., Alsharidah, M., Al Rugaie, O., & Tawfeek, H. M. (2022). Biomedical applications of quantum dots: overview, challenges, and clinical potential. *International journal of nanomedicine*, 1951-1970 .
- Abu-El-Zahab, H. S., Hamza, R. Z., Montaser, M. M., El-Mahdi, M. M., & Al-Harhi, W. A. (2019). Antioxidant, antiapoptotic, antigenotoxic, and hepatic ameliorative effects of L-carnitine and selenium on cadmium-induced hepatotoxicity and alterations in liver cell structure in male mice. *Ecotoxicology and environmental safety*, 173, 419-428 .
- Adetuyi, B. O., Olajide, P. A., Adetunji, C. O., & Adetunji, J. B. (2024). Beneficial uses of essential oils in diary products. *Applications of Essential Oils in the Food Industry*, 129-141 .
- Agarwal, A. (2022). Nano-structures for Bio-Chemical Sensors. In Ahmad, H. I., Jabbar, A., Mushtaq, N., Javed, Z., Hayyat, M. U., Bashir, J., Naseeb, I., Abideen, Z. U., Ahmad, N., & Chen, J. (2022). Immune

tolerance vs. Immune resistance: the interaction between host and pathogens in infectious diseases. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 827407 .

Ahn, H. J., Yang, H., & Jeung, E. B. (2011). Exposure to Paraben (s) Disrupts Ovarian Follicle Maturation in Neonatal Female Rats.

Ahn, Y., Hwang, J.-H., Zheng, Z., Bang, D., & Kim, D.-Y. (2017). Enhancement of Th1/Th17 inflammation by TRIM21 in Behçet's disease. *Scientific Reports*, 7(1), 3018 .

Aita, N. A. A., & Mohammed, F. F. (2014). Effect of marjoram oil on the clinicopathological, cytogenetic and histopathological alterations induced by sodium nitrite toxicity in rats. *Global Vet*, 12, 606-616 .

Aita, N. A. A., & Mohammed, F. F. (2014). Effect of marjoram oil on the clinicopathological, cytogenetic and histopathological alterations induced by sodium nitrite toxicity in rats. *Global Vet*, 12, 606-616.

Ajayi, A., Larayetan, R., Yahaya, A., Falola, O. O., Ude, N. A., Adamu, H., ... & Ukanu, P. I. (2021). Biogenic synthesis of silver nanoparticles with bitter leaf (*Vernonia amygdalina*) aqueous extract and its effects on testosterone-induced benign prostatic hyperplasia (BPH) in Wist rat. *Chemistry Africa*, 4(4), 791-807.

Akmal, H., Ahmad, S., Abbasi, M. H., Jabeen, F., & Shahzad, K. (2024). A study on assessing the toxic effects of ethyl paraben on rohu (*Labeo rohita*) using different biomarkers; hemato-biochemical assays, histology, oxidant and antioxidant activity and genotoxicity. *PloS one*, 19(5), e0302691 .

Alkafajy, S., & Abdul-Jabbar, R. (2020). Comprehensive effects of parabens in human physiology. *Ann Trop Med Public Health*, 23, 23 .

Al-Nuaimi, Z., & Al-Baniwes, A. J. (2022). Evaluation the Protective Effect of *Withania somnifera* Extract on the Level of Sex Hormone in Morphine Addicted Female Rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(A), 1330–1333.  
<https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.8303>

Al-Nuaimi, Z., & Al-Baniwes, A. J. (2022). Evaluation the Protective Effect of *Withania somnifera* Extract on the Level of Sex Hormone in Morphine Addicted Female Rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(A), 1330-1333.

Alwan, S. H., & Al-Saeed, M. H. (2021). Biosynthesized silver nanoparticles (using *Cinnamomum zeylanicum* bark extract) improve the

- fertility status of rats with polycystic ovarian syndrome. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 38(May), 102217.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102217>
- Alwan, S. H., & Al-Saeed, M. H. (2021). Biosynthesized silver nanoparticles (using *Cinnamomum zeylanicum* bark extract) improve the fertility status of rats with polycystic ovarian syndrome. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 38, 102217.
- Alwan, S. H., & Al-Saeed, M. H. (2023). Silver Nanoparticles Biofabricated from *Cinnamomum zeylanicum* Reduce IL-6, IL-18, and TNF- $\alpha$  in Female Rats with Polycystic Ovarian Syndrome. *International Journal of Fertility and Sterility*, 17(1), 80–84.  
<https://doi.org/10.22074/IJFS.2022.539396.1189>
- Alwan, S., Al-Saeed, M., & Abid, H. (2021). Safety assessment and biochemical evaluation of the effect of biogenic silver nanoparticles (using bark extract of *C. zeylanicum*) on *Rattus norvegicus* rats. *Baghdad Journal of Biochemistry and Applied Biological Sciences*, 2(03), 133–145. <https://doi.org/10.47419/bjbabs.v2i03.67>
- Amiri, S., Moghanjoui, Z. M., Bari, M. R., & Khaneghah, A. M. (2021). Natural protective agents and their applications as bio-preservatives in the food industry: An overview of current and future applications. *Italian Journal of Food Science*, 33(SP1), 55-68 .
- Ananda, T., Modi, A., Chakraborty, I., Managuli, V., Mukhopadhyay, C., & Mazumder, N. (2022). Nosocomial infections and role of nanotechnology. *Bioengineering*, 9(2), 51 .
- Anbu, A. S., & Venkatachalam, P. (2016). Biological macromolecule cross linked TPP–chitosan complex: a novel nanohybrid for improved ovulatory activity against PCOS treatment in female rats. *RSC advances*, 6(97), 94301-94313.
- Arfaenia, H., Ramavandi, B., Yousefzadeh, S., Dobaradaran, S., Ziaei, M., Rashidi, N., & Asadgol, Z. (2021). Urinary level of un-metabolized parabens in women working in beauty salons. *Environmental Research*, 200, 111771.
- AS, Q. (2023). Biosynthesis and Evaluation of *Cinnamomum zeylanicum* Nanomaterials for the Treatment of Polycystic Ovary Syndrome in Mice. *Pakistan Veterinary Journal*, 43.(1)
- Aswar, A. P., Hajare, S. W., Ingole, R. S., Ingawale, M. V., Kuralkar, P. S., & Waghmare, S. P. (2022). Nephroprotective Effects of Polyherbal

Formulation on Gentamicin-induced Toxicity in Wist Rats. *Indian Journal of Veterinary Sciences & Biotechnology*, 18(4), 10–14. <https://doi.org/10.48165/ijvsbt.18.4.03>.

Atluri, S., & Thakur, D. (2022). Chapter-5 Therapeutic and Pharmacological Importance of Ashwagandha (*Withania somnifera*). *MEDICINAL*, 71 .

Aung, M. T., Ferguson, K. K., Cantonwine, D. E., Bakulski, K. M., Mukherjee, B., Loch-Carusio, R., McElrath, T. F., & Meeker, J. D. (2019). Associations between maternal plasma measurements of inflammatory markers and urinary levels of phenols and parabens during pregnancy: A repeated measures study. *Science of the Total Environment*, 650, 1131-1140.

Averill-Bates, D. A. (2023). The antioxidant glutathione. In *Vitamins and hormones* (Vol. 121, pp. 109-141). Elsevier .

Azab, K. S., Maarouf, R. E., Abdel-Rafei, M. K., El Bakary, N. M., & Thabet, N. M. (2022). *Withania somnifera* (Ashwagandha) root extract counteract acute and chronic impact of  $\gamma$ -radiation on liver and spleen of rats. *Human & Experimental Toxicology*, 41, 09603271221106344.

Baig, N., Kammakam, I., & Falath, W. (2021). Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. *Materials Advances*, 2(6), 1821-1871 .

Banu, M. R., Ibrahim, M., Prabu, K., & Rajasankar, S. (2020). Effect of Withaferin-A on aging induced behavioral and non-enzymatic antioxidant impairment in Wist albino rat. *Drug Invention Today*, 13 .(1)

Barhoum, A., García-Betancourt, M. L., Jeevanandam, J., Hussien, E. A., Mekkawy, S. A., Mostafa, M., Omran, M. M., S. Abdalla, M., & Bechelany, M. (2022). Review on natural, incidental, bioinspired, and engineered nanomaterials: history, definitions, classifications, synthesis, properties, market, toxicities, risks, and regulations. *Nanomaterials*, 12(2), 177 .

Basu, R., Dasgupta, S., Babu, S. N., & Noor, A. (2023). Medicinal Plants in the Indian Traditional Medicine and Current Practices. *Bioprospecting of Tropical Medicinal Plants*, 253-286 .

Beazley, Gaze, Panske, Panzig, & Schallreuter. (1999). Serum selenium levels and blood glutathione peroxidase activities in vitiligo. *British Journal of Dermatology*, 141(2), 301-303 .

- Beigel, J. H., Tomashek, K. M., Dodd, L. E., Mehta, A. K., Zingman, B. S., Kalil, A. C., Hohmann, E., Chu, H. Y., Luetkemeyer, A., & Kline, S. (2020). Remdesivir for the treatment of Covid-19—preliminary report. *New England Journal of Medicine*, 383(19), 1813-1836 .
- Benslama, H., Delenda, Y., & Khelifa-Kerfa, K. (2023). Dijet azimuthal decorrelation in  $e^+ e^-$  annihilation. *Physics Letters B*, 840, 137903 .
- Benslama, O., Lekmine, S., & Mansouri, N. (2023). Phytochemical constituents of *Astragalus monspessulanus* and integrative analysis for its antioxidant, photoprotective, and antityrosinase activities: Experimental and computational investigation. *European Journal of Integrative Medicine*, 60, 102247.
- Beriry, H. M., Atef, K., & Mohi Eldin, M. M. (2022). Ameliorative Effect of Mushroom Extracts against Butyl Paraben Induced Toxicity in Liver and Kidney in Female Albino Rats. *SVU-International Journal of Veterinary Sciences*, 5(2), 11-22 .
- Biswal, B. M., Sulaiman, S. A., Ismail, H. C., Zakaria, H., & Musa, K. I. (2013). Effect of *Withania somnifera* (Ashwagandha) on the development of chemotherapy-induced fatigue and quality of life in breast cancer patients. *Integrative cancer therapies*, 12(4), 312-322 .
- Boersma, C., & Mosselman, S. (2000). Estrogen receptors alpha and beeta two receptors of a kind. *Current medicinal chemistry*, 7(5), 561-576 .
- Boersma, C., & Mosselman, S. (2000). Estrogen receptors alpha and beeta two receptors of a kind. *Current medicinal chemistry*, 7(5), 561-576.
- Bonilha, I., Hajduch, E., Luchiari, B., Nadruz, W., Le Goff, W., & Sposito, A. C. (2021). The reciprocal relationship between LDL metabolism and type 2 diabetes mellitus. *Metabolites*, 11(12), 807 .
- Bouaziz-Ketata, H., Salah, G. B., Salah, H. B., Marrekchi, R., Jamoussi, K., Boudawara, T., Fakhfekh, F., & Zeghal, N. (2014). Nitrate-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: ameliorative effect of *Hyparrhenia hirta*. *Biomedical and Environmental Sciences*, 27(9), 695-706 .
- Bresch, H., Hodoroaba, V.-D., Schmidt, A., Rasmussen, K., & Rauscher, H. (2022). Counting Small Particles in Electron Microscopy Images—Proposal for Rules and Their Application in Practice. *Nanomaterials*, 12(13), 2238 .
- Bräuner, E. V., Uldbjerg, C. S., Lim, Y.-H., Gregersen, L. S., Krause, M., Frederiksen, H., & Andersson, A.-M. (2022). Presence of parabens,

phenols and phthalates in paired maternal serum, urine and amniotic fluid. *Environment international*, 158, 106987 .

Carocho, M., Heleno, S., Rodrigues, P., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2019). A novel natural coating for food preservation: Effectiveness on microbial growth and physicochemical parameters. *LWT*, 104, 76-83 .

Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2015). Natural food additives: Quo vadis? *Trends in food science & technology*, 45(2), 284-295 .

Cerboni, S., Gehrman, U., Preite, S., & Mitra, S. (2021). Cytokine-regulated Th17 plasticity in human health and diseases. *Immunology*, 163(1), 3-18 .

Chadha, U., Selvaraj, S. K., Ashokan, H., Hariharan, S. P., Mathew Paul, V., Venkatarangan, V., & Paramasivam, V. (2022). Complex nanomaterials in catalysis for chemically significant applications: from synthesis and hydrocarbon processing to renewable energy applications. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2022(1), 1552334 .

Chamanza, R., Naylor, S. W., Gregori, M., Boyle, M., Pereira Bacares, M. E., Drevon-Gaillot, E., Romeike, A., Courtney, C., Johnson, K., & Turner, J. (2022). The influence of geographical origin, age, sex, and animal husbandry on the spontaneous histopathology of laboratory *Cynomolgus* macaques (*Macaca fascicularis*): a contemporary global and multisite review of historical control data. *Toxicologic Pathology*, 50(5), 607-627 .

Chaudhry, B. (2019). *A handbook of common medicinal plants used in Ayurveda*. Kojo Press .

Che, T., Yan, C., Tian, D., Zhang, X., Liu, X., & Wu, Z. (2021). Time-restricted feeding improves blood glucose and insulin sensitivity in overweight patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Nutrition & metabolism*, 18, 1-10.

Chhikara, N., Kaur, A., Mann, S., Garg, M., Sofi, S. A., & Panghal, A. (2021). Bioactive compounds, associated health benefits and safety considerations of *Moringa oleifera* L.: An updated review. *Nutrition & Food Science*, 51(2), 255-277 .

Chi, L., Xue, J., Tu, P., Lai, Y., Ru, H., & Lu, K. (2019). Gut microbiome disruption altered the biotransformation and liver toxicity of arsenic in mice. *Archives of Toxicology*, 93(1), 25-35 .

Chinnapaiyan, M., Selvam, Y., Bassyouni, F., Ramu, M., Sakkaraveeranan, C., Samickannian, A., ... & Abdel-Rehim, M. (2022).

- Nanotechnology, green synthesis and biological activity application of zinc oxide nanoparticles incorporated argemone mexicana leaf extract. *Molecules*, 27(5), 1545.
- Crapnell, R. D., & Banks, C. E. (2021). Electroanalytical overview: utilising micro-and nano-dimensional sized materials in electrochemical-based biosensing platforms. *Microchimica Acta*, 188, 1-23 .
- Dai, W., Feng, K., Sun, X., Xu, L., Wu, S., Rahmand, K., ... & Han, T. (2022). Natural products for the treatment of stress-induced depression: Pharmacology, mechanism and traditional use. *Journal of ethnopharmacology*, 285, 114692.
- Darabi, P., Khazali, H., & Mehrabani Natanzi, M. (2020). Therapeutic potentials of the natural plant flavonoid apigenin in polycystic ovary syndrome in rat model: via modulation of pro-inflammatory cytokines and antioxidant activity. *Gynecological Endocrinology*, 36(7), 582-587.
- Davis, L., & Kuttan, G. (2000). Immunomodulatory activity of *Withania somnifera*. *Journal of ethnopharmacology*, 71(1-2), 193-200 .
- DEVKAR, M. S. T. (2015). STUDIES IN VALIDATION OF WITHANIA SOMNIFERA (L). DUNAL (ASHWAGANDHA) BY PHYSICAL, CHEMICAL AND BIOLOGICAL APPROACHES WITH RESPECT TO MAJOR BIOACTIVE WITHANOLIDES (Doctoral dissertation, BHARATI VIDYAPEETH).
- Dharmajaya, R., & Sari, D. K. (2022). Malondialdehyde value as radical oxidative marker and endogenous antioxidant value analysis in brain tumor. *Ann Med Surg (Lond)*, 77, 103231.
- Dikshit, P. K., Kumar, J., Das, A. K., Sadhu, S., Sharma, S., Singh, S., Gupta, P. K., & Kim, B. S. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles: Applications and limitations. *Catalysts*, 11(8), 902 .
- Długolecka, B., Jówko, E., Kotowska, J., & Gierczuk, D. (2023). Effects of Ashwagandha (*Withania Somnifera*) Supplementation on Body Composition and Blood Health Indices in Professional Wrestlers. *Polish Journal of Sport and Tourism*, 30(4), 26-32 .
- Dolai, J., Mandal, K., & Jana, N. R. (2021). Nanoparticle size effects in biomedical applications. *ACS Applied Nano Materials*, 4(7), 6471-6496 .
- Du, H., Li, J., Wei, X., Yang, D., Zhang, B., Fan, X., ... & Gu, N. (2024). Methylparaben induces hepatic glycolipid metabolism disorder by activating the IRE1 $\alpha$ -XBP1 signaling pathway in male mice. *Environment International*, 184, 108445.

- Eftekhari, A., Maleki Dizaj, S., Sharifi, S., Salatin, S., Rahb Saadat, Y., Zununi Vahed, S., Samiei, M., Ardalan, M., Rameshrad, M., & Ahmadian, E. (2020). The use of nanomaterials in tissue engineering for cartilage regeneration; current approaches and future perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 536 .
- Elbadawy, M., Yamanaka, M., Goto, Y., Hayashi, K., Tsunedomi, R., Hazama, S., Nagano, H., Yoshida, T., Shibutani, M., & Ichikawa, R. (2020). Efficacy of primary liver organoid culture from different stages of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) mouse model. *Biomaterials*, 237, 119823 .
- El-Nabarawy, N. A., Gouda, A. S., Khattab, M. A., & Rashed, L. A. (2020). Effects of nitrite graded doses on hepatotoxicity and nephrotoxicity, histopathological alterations, and activation of apoptosis in adult rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 14019-14032 .
- Elzoheiry, A., Ayad, E., Omar, N., Elbakry, K., & Hyder, A. (2022). Anti-liver fibrosis activity of curcumin/chitosan-coated green silver nanoparticles. *Scientific Reports*, 12(1), 18403.
- Elzoheiry, A., Ayad, E., Omar, N., Elbakry, K., & Hyder, A. (2022). Anti-liver fibrosis activity of curcumin/chitosan-coated green silver nanoparticles. *Scientific Reports*, 12(1), 18403.
- Ertuglu, L. A., Elijevich, F., Laffer, C. L., & Kirabo, A. (2021). Salt-sensitivity of blood pressure and insulin resistance. *Frontiers in Physiology*, 12, 793924 .
- Esmaealzadeh, N., Iranpanah, A., Sarris, J., & Rahimi, R. (2022). A literature review of the studies concerning selected plant-derived adaptogens and their general function in body with a focus on animal studies. *Phytomedicine*, 105, 154354.
- Evans, L., Rhodes, A., Alhazzani, W., Antonelli, M., Coopersmith, C. M., French, C., Machado, F. R., McIntyre, L., Ostermann, M., & Prescott, H. C. (2021). Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Critical care medicine*, 49(11), e1063-e1143 .
- Ezez, D., Mekonnen, N., & Tefera, M. (2023). Phytochemical analysis of *Withania somnifera* leaf extracts by GC-MS and evaluating antioxidants and antibacterial activities. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 581-590 .

- Farias, J. G., Bustos-Obregón, E., Tapia, P. J., Gutierrez, E., Zepeda, A., Juantok, C., Cruz, G., Soto, G., Benites, J., & Reyes, J. G. (2008). Time course of endocrine changes in the hypophysis-gonad axis induced by hypobaric hypoxia in male rats. *Journal of Reproduction and Development*, 54(1), 18-21 .
- Feng, X., Yau, D., Holbrook, C., & Reder, A. T. (2002). Type I interferons inhibit interleukin-10 production in activated human monocytes and stimulate IL-10 in T cells: implications for Th1-mediated diseases. *Journal of interferon & cytokine research*, 22(3), 311-319 .
- Gaber, H. S., El-Kasheif, M. A., Ibrahim, S. A., & Authman, M. (2013). Effect of water pollution in El-Rahawy drainage canal on hematology and organs of freshwater fish. *World Applied Sciences Journal*, 21(3), 329-341 .
- Galaly, S. R., & Mahmoud, M. (2012). The protective effect of vitamin A against sodium nitrate induced toxicity in liver and kidney of albino rats: histological and ultrastructural study .
- Garcia, E. (2020). *Immune System Diet & Lifestyle: he Best Foods, Drinks, Natural Remedies & Holistic Recipes to Stay Healthy & Prevent Disease (Vol. 1)*. Your Wellness Books .
- Gardner, D. G., & Shoback, D. (2018). *Greenspan's basic & clinical endocrinology* .
- Ghaemi, M., Jamali, M., Hadizadeh, A., Heidary, Z., Eshraghi, N., Masoumi, M., Hajizadeh, Y., Abdollahi, A., Hashemnejad, M., & Delfan, S. E. (2023). Urinary Paraben Derivates in Infertile Women; Is It a Cause of Concern? *Fertility, Gynecology and Andrology*, 3 .(1)
- Ghareeb, O. A. (2023). Hematotoxicity Induced by Copper Oxide Nanoparticles and the Attenuating Role of Giloy In Vivo. *Cureus*, 15.(10)
- Ghareeb, O. A., Mahmoud, J. H., & Qader, H. S. (2021). Efficacy of *Ganoderma lucidum* in reducing liver dysfunction induced by copper oxide nanoparticles. *Journal of Research in Medical and Dental Science*, 9(12), 14-17 .
- Golden, R., Gandy, J., & Vollmer, G. (2005). A review of the endocrine activity of parabens and implications for potential risks to human health. *Critical Reviews in Toxicology*, 35(5), 435–458.  
<https://doi.org/10.1080/10408440490920104>
- Gopakumar, K., & Gopakumar, B. (2020). *Health Foods from Ocean Animals*. CRC Press .

- Gregory, M., Selvakesavan, R., Franklin, G., Sarmiento, B., & Dias, A. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using *Withania somnifera* extract and their incorporation into a cream with antibacterial activity. *Planta Medica*, 80(16). <https://doi.org/10.1055/s-0034-1394514>
- Gu, X., Xu, Z., Gu, L., Xu, H., Han, F., Chen, B., & Pan, X. (2021). Preparation and antibacterial properties of gold nanoparticles: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19, 167-187 .
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.
- Guo, X., Seo, J.-E., Li, X., & Mei, N. (2020). Genetic toxicity assessment using liver cell models: Past, present, and future. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 23(1), 27-50 .
- Gurunathan, S., Qasim, M., Choi, Y., Do, J. T., Park, C., Hong, K., Kim, J.-H., & Song, H. (2020). Antiviral potential of nanoparticles—Can nanoparticles fight against coronaviruses? *Nanomaterials*, 10(9), 1645 .
- Güzel Bayülken, D., Ayaz Tüylü, B., Sinan, H., & Sivas, H. (2019). Investigation of genotoxic effects of paraben in cultured human lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 42(4), 349-356 .
- Hall, A., Crichton, S., Dixon, A., Skorniakov, I., Kellum, J. A., & Ostermann, M. (2020). Fluid removal associates with better outcomes in critically ill patients receiving continuous renal replacement therapy: a cohort study. *Critical Care*, 24, 1-10 .
- Hanna, A., & Frangogiannis, N. G. (2020). Inflammatory cytokines and chemokines as therapeutic targets in heart failure. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 34(6), 849-863 .
- Hantsoo, L., Jagodnik, K. M., Novick, A. M., Baweja, R., di Scalea, T. L., Ozerdem, A., McGlade, E. C., Simeonova, D. I., Dekel, S., & Kornfield, S. L. (2023). The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in depression across the female reproductive lifecycle: current knowledge and future directions. *Frontiers in endocrinology*, 14, 1295261 .
- HARI, V. (2020). *Phytomedicine: Healing Herbs*. Notion Press .
- Harikrishnan, R., & Balasundaram, C. (2020). Potential of Herbal Extracts and Bioactive Compounds for Human Healthcare. In *The Role of Phytoconstitents in Health Care* (pp. 3-158). Apple Academic Press .

- Helal, E. G., Zaahkouk, S. A., & Mekkawy, H. A. (2000). Effect of Some Food Colorants (Synthetic and Natural products) of Young Albino Rats. *The Egyptian journal of Hospital medicine*, 1(1), 103-113 .
- Hu, Y., Wang, R., An, N., Li, C., Wang, Q., Cao, Y., ... & Wang, Y. (2023). Unveiling the power of microenvironment in liver regeneration: an in-depth overview. *Frontiers in Genetics*, 14, 1332190.
- İnkaya, E. N., & Barlas, N. (2022). Investigation of combined effects of propyl paraben and methyl paraben on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in male rats. *Toxicol Ind Health*, 38(10), 687-701.
- Irshad, M. A., Nawaz, R., Ur Rehman, M. Z., Adrees, M., Rizwan, M., Ali, S., Ahmad, S., & Tasleem, S. (2021). Synthesis, characterization and advanced sustainable applications of titanium dioxide nanoparticles: A review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 212, 111978 .
- Ismail, O. O., Ridwan, I. B., Olaiya, O. G., Abdulbasit, A., Rukayat, J.-S. O., Roehan, F. O., & Abass, S. A. (2013). Effects of ascorbic acid on immunosuppressive drug-azathioprine induced alteration in the liver and kidney of adult wist rats [*Rattus norvegicus*]. *Eur J Exp Biol*, 3, 371-378 .
- Izah, S. C., Ogidi, O. I., Ogwu, M. C., Salimon, S. S., Yusuf, Z. M., Akram, M., Raimi, M. O., & Iyingiala, A.-A. (2023). Historical Perspectives and Overview of the Value of Herbal Medicine. In *Herbal Medicine Phytochemistry: Applications and Trends* (pp. 1-33). Springer .
- Jeong, P.-S., Lee, S., Park, S.-H., Kim, M. J., Kang, H.-G., Nanjidsuren, T., Son, H.-C., Song, B.-S., Koo, D.-B., & Sim, B.-W. (2020). Butylparaben is toxic to porcine oocyte maturation and subsequent embryonic development following in vitro fertilization. *International Journal of Molecul Sciences*, 21(10), 3692 .
- Jeyanthi, T., & Subramanian, P. (2009). Nephroprotective effect of *Withania somnifera*: a dose-dependent study. *Renal failure*, 31(9), 814-821.
- Jiao, L., Li, S., Zhai, J., Wang, D., Li, H., Chu, W., Geng, X., & Du, Y. (2021). Propylparaben concentrations in the urine of women and adverse effects on ovarian function in mice in vivo and ovarian cells in vitro. *Journal of Applied Toxicology*, 41(11), 1719-1731 .
- Joshi, V. K., & Joshi, A. (2021). Rational use of Ashwagandha in Ayurveda (Traditional Indian Medicine) for health and healing. *Journal of ethnopharmacology*, 276, 114101 .

- Kandeel, M., Akhtar, T., Zaheer, T., Ahmad, S., Ashraf, U., & Omar, M. (2022). Anti-parasitic Applications of Nanoparticles: A Review. *Pakistan Veterinary Journal*, 42 .(2)
- Karmila, S., Aritonang, E. Y., & Sudaryati, E. (2020). The relationship of the duration of social media instagram usage and student's eating Behavior in University of Sumatera Utara, 2019. *Britain International of Humanities and Social Sciences (BIOHS) Journal*, 2(1), 289-295 .
- Katavic, S., Cehic, I., Zukic, N., Mirvic, M., Dizdar, M., Gutalj, A., Saric Medic, B., Jerković-Mujkić, A., Mahmutović-Dizdarević, I., & Mesic, A. (2023). In vitro assessment of the antioxidative, toxicological and antimicrobial properties of battery of parabens. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-10 .
- Khalil, H. M. A., Khalil, I. A., Al-Mokaddem, A. K., Hassan, M., El-Shiekh, R. A., Eliwa, H. A., Tawfek, A. M., & El-Maadawy, W. H. (2023). Ashwagandha-loaded nanocapsules improved the behavioral alterations, and blocked MAPK and induced Nrf2 signaling pathways in a hepatic encephalopathy rat model. *Drug Deliv Transl Res*, 13(1), 252-274.
- Khan, Y., Sadia, H., Ali Shah, S. Z., Khan, M. N., Shah, A. A., Ullah, N., Ullah, M. F., Bibi, H., Bafakeeh, O. T., & Khedher, N. B. (2022). Classification, synthetic, and characterization approaches to nanoparticles, and their applications in various fields of nanotechnology: A review. *Catalysts*, 12(11), 1386 .
- Kharode, B., & Shinde, L. (2022). PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF METAL COMPLEXES WITH SCHIFF BASES LIGAND AND ITS BIOLOGICAL IMPORTANCE. *Sustainable Development*, 1001 .
- Kim, K.-h., Moon, H.-n., & Yeo, I.-k. (2022). Changes in Sex Hormone-related Gene Expression in Zebrafish *Dario rerio* by the Administration of Sexual Maturation Inhibitors. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55(1), 17-22 .
- Komiljonova, O. (2024). THE USE OF GINGER FOR MEDICINAL DISEASES BASED ON TRADITIONAL MEDICINE. 3(1), 203-211 .
- Kroll C., Mastroeni S., Veugelers P.J., Mastroeni M.F. Associations of ADIPOQ and LEP gene variants with energy intake: A systematic review. *Nutrients*. 2019;11:750.
- Kronenberg, F., Mora, S., Stroes, E. S., Ference, B. A., Arsenault, B. J., Berglund, L., Dweck, M. R., Koschinsky, M., Lambert, G., & Mach, F.

- (2022). Lipoprotein (a) in atherosclerotic cardiovascular disease and aortic stenosis: a European Atherosclerosis Society consensus statement. *European heart journal*, 43(39), 3925-3946 .
- Kumari, P. K., Akhila, S., Rao, Y. S., & Devi, B. R. (2019). Alternative to artificial preservatives. *Syst. Rev. Pharm*, 10, 99-102 .
- Lee, H., & Jose, P. A. (2021). Coordinated contribution of NADPH oxidase-and mitochondria-derived reactive oxygen species in metabolic syndrome and its implication in renal dysfunction. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 670076 .
- Lee, J. H., Lee, M., Ahn, C., Kang, H. Y., Tran, D. N., & Jeung, E. B. (2017). Parabens accelerate ovarian dysfunction in a 4-vinylcyclohexene diepoxide-induced ovarian failure model. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(2).  
<https://doi.org/10.3390/ijerph14020161>
- Leon, A., Reuquen, P., Garín, C., Segura, R., vargas, p., Zapata, P. A., & Orihuela, P. (2017). FTIR and Raman Characterization of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles Coated with Polyethylene Glycol as Carrier for 2-Methoxyestradiol. *Applied Sciences*, 7, 49.
- Leppkes, M., & Neurath, M. (2020). Cytokines in inflammatory bowel diseases–update 2020. *Pharmacological Research*, 158, 104835 .
- Li, H., Chen, X., Shen, D., Wu, F., Pleixats, R., & Pan, J. (2021). Functionalized silica nanoparticles: classification, synthetic approaches and recent advances in adsorption applications. *Nanoscale*, 13(38), 15998-16016 .
- Li, J., Zhu, L., & Kwok, H. F. (2023). Nanotechnology-based approaches overcome lung cancer drug resistance through diagnosis and treatment. *Drug Resistance Updates*, 66, 100904 .
- Liu, C., Chu, D., Kalantar-Zadeh, K., George, J., Young, H. A., & Liu, G. (2021). Cytokines: from clinical significance to quantification. *Advanced Science*, 8(15), 2004433 .
- Liu, H., Wang, Z.-Y., Zhou, Y.-C., Song, W., Ali, U., & Sze, D. M.-Y. (2021). Immunomodulation of Chinese herbal medicines on NK cell populations for cancer therapy: a systematic review. *Journal of ethnopharmacology*, 268, 113561 .
- Liu, R., & Mabury, S. A. (2020). Synthetic phenolic antioxidants: A review of environmental occurrence, fate, human exposure, and toxicity. *Environmental science & technology*, 54(19), 11706-11719 .

- Loerracher, A.-K., & Braunbeck, T. (2021). Cytochrome P450-dependent biotransformation capacities in embryonic, juvenile and adult stages of zebrafish (*Danio rerio*)—a state-of-the-art review. *Archives of Toxicology*, 95(7), 2299-2334 .
- Lopresti, A. L., Smith, S. J., Malvi, H., & Kodgule, R. (2019). An investigation into the stress-relieving and pharmacological actions of an ashwagandha (*Withania somnifera*) extract: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Medicine*, 98(37), e17186 .
- Luo, X. H., Zhu, Y., Mao, J., & Du, R. C. (2021). T cell immunobiology and cytokine storm of COVID-19. *Scandinavian journal of immunology*, 93(3), e12989 .
- Luporini, R. L., Rodolpho, J. M. d. A., Kubota, L. T., Martin, A. C. B. M., Cominetti, M. R., de Freitas Anibal, F., & Pott-Junior, H. (2021). IL-6 and IL-10 are associated with disease severity and higher comorbidity in adults with COVID-19. *Cytokine*, 143, 155507 .
- Mabrouk, M., Das, D. B., Salem, Z. A., & Beherei, H. H. (2021). Nanomaterials for biomedical applications: Production, characterisations, recent trends and difficulties. *Molecules*, 26(4), 1077 .
- Madhavan Unny, N., Zarina, A., & Beena, V. (2023). Fluid and Electrolyte Balance. In *Textbook of Veterinary Physiology* (pp. 193-211). Springer .
- Mahfouz, H., Dahran, N., Mohamed, A. A. R., Abd El-Hakim, Y. M., Metwally, M. M., Alqahtani, L. S., ... & Gaber, R. A. (2023). Stabilization of glutathione redox dynamics and CYP2E1 by green synthesized *Moringa oleifera*-mediated zinc oxide nanoparticles against acrylamide induced hepatotoxicity in rat model: Morphometric and molecular perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 176, 113744.
- Mahlangu, T., Dlodla, P. V., Nyambuya, T. M., Mxinwa, V., Mazibuko-Mbeje, S. E., Cirilli, I., Marcheggiani, F., Tiano, L., Louw, J., & Nkambule, B. B. (2020). A systematic review on the functional role of Th1/Th2 cytokines in type 2 diabetes and related metabolic complications. *Cytokine*, 126, 154892 .
- Malakootian, M., Chavoshani, A., Hashemi, M., Amin, M. M., Shoshtari-Yeganeh, B., Fadaei, S., Khazaei, S., Nasab, H., Malakootian, M., & Neamati, B. (2022). Concentrations of urinary parabens and reproductive hormones in Iranian women: Exposure and risk assessment. *Toxicology Reports*, 9, 1894-1900.

- Malik, D., Narayanasamy, N., Pratyusha, V., Thakur, J., & Sinha, N. (2023). Food–Drug Interactions and Nutraceuticals. In *Textbook of Nutritional Biochemistry* (pp. 505-550). Springer .
- Malik, S., Muhammad, K., & Waheed, Y. (2023). Nanotechnology: A revolution in modern industry. *Molecules*, 28(2), 661 .
- Marques, P., Skorupskaite, K., Rozario, K. S., Anderson, R. A., & George, J. T. (2022). Physiology of GNRH and gonadotropin secretion. *Endotext* [internet] .
- Martins, F. C., Sentanin, M. A., & De Souza, D. (2019). Analytical methods in food additives determination: Compounds with functional applications. *Food chemistry*, 272, 732-750 .
- Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, & Levin, A. (2007). Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Critical Care*, 11(2): 1-8.
- Mikolai, J., Erlandsen, A., Murison, A., Brown, K. A., Gregory, W. L., Raman-Caplan, P., & Zwickey, H. L. (2009). In vivo effects of Ashwagandha (*Withania somnifera*) extract on the activation of lymphocytes. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 15(4), 423-430 .
- Millar, N. L., Akbar, M., Campbell, A. L., Reilly, J. H., Kerr, S. C., McLean, M., Frleta-Gilchrist, M., Fazzi, U. G., Leach, W. J., & Rooney, B. P. (2016). IL-17A mediates inflammatory and tissue remodelling events in early human tendinopathy. *Scientific Reports*, 6(1), 27149 .
- Mínguez-Alarcón, L., Williams, P. L., Chiu, Y.-H., Gaskins, A. J., Nassan, F. L., Dadd, R., Petrozza, J., Hauser, R., Chavarro, J. E., & Team, E. S. (2018). Secul trends in semen parameters among men attending a fertility center between 2000 and 2017: identifying potential predictors. *Environment international*, 121, 1297-1303 .
- Mishra, P. K., Mishra, H., Ekielski, A., Talegaonkar, S., & Vaidya, B. (2017). Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical applications. *Drug discovery today*, 22(12), 1825-1834.
- Mitra, P., Chatterjee, S., Paul, N., Ghosh, S., & Das, M. (2021). An overview of endocrine disrupting chemical paraben and search for an alternative—a review. *Proceedings of the zoological society* ,
- Mogus, J. P., LaPlante, C. D., Bansal, R., Matouskova, K., Schneider, B. R., Daniele, E., Silva, S. J., Hagen, M. J., Dunphy, K. A., & Jerry, D. J. (2021). Exposure to propylparaben during pregnancy and lactation induces

- long-term alterations to the mammary gland in mice. *Endocrinology*, 162(6), bqab041 .
- Moussa, S., & Bashandy, S. (2008). Biophysical and biochemical changes in the blood of rats exposed to lead toxicity. *Rom J Biophys*, 18(2), 123-133 .
- Mukherjee, J., Das, P. K., Banerjee, D., & Mukherjee, A. (2023). Immune System. In *Textbook of Veterinary Physiology* (pp. 89-110). Springer .
- Munir, N., Mahmood, Z., Shahid, M., Afzal, M. N., Jahangir, M., Ali Shah, S. M., Tahir, I. M., Riaz, M., Hussain, S., Akram, M., & Yousaf, F. (2022). *Withania somnifera* Chemical Constituents' In Vitro Antioxidant Potential and Their Response on Spermatozoa Parameters. *Dose-Response*, 20(1), 1–13.
- Muzammil, A., Waqas, M., Umar, A., Sufyan, M., Rehman, A., Haider, A., Akram, H., Khan, S. A., Afzal, M., & Wajid, M. (2021). Anti-aging natural compounds and their role in the regulation of metabolic pathways leading to longevity. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 21(18), 2630-2656 .
- Muzykiewicz, A., Florkowska, K., Nowak, A., Zielonka-Brzezicka, J., & Klimowicz, A. (2019). Antioxidant activity of St. John's Wort extracts obtained with ultrasound-assisted extraction. *Pomeranian Journal of Life Sciences*, 65(4), 89-93 .
- Nahar, K., Yang, D.-C., Rupa, E. J., Khatun, M., & Al-Reza, S. M. (2020). Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles from *Clerodendrum viscosum* leaf extract and its antibacterial potential. *Nanomedicine Research Journal*, 5(3), 276-287 .
- Nair, K. P. (2022). *Herbal and Acidulant Tree Spices: Their Global Commercial Potential*. Springer Nature .
- Najafi, S., & Mirshafiey, A. (2019). The role of T helper 17 and regulatory T cells in tumor microenvironment. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 41(1), 16-24 .
- Norman, R. A., & Henry, Z. (2014). Cutaneous Manifestations of Aging and Immunodeficiency. *Skin Diseases in the Immunocompromised*, 123-138 .
- Novita, D., & Husna, N. (2020). The influence factors of consumer behavioral intention towards online food delivery services. *TECHNOBIZ: International Journal of Business*, 3(2), 40-42 .

- Nowak, K., Ratajczak–Wrona, W., Górska, M., & Jabłońska, E. (2018). Parabens and their effects on the endocrine system. *Molecular and cellular endocrinology*, 474, 238-251.
- Nunez, J. (2024). *The Ancient Medicine Cabinet*. John Nunez .
- Ochigbo, S. S., & Sadiku, R. E. (2024). Introduction to the synthesis and characterization of nanostructured materials. In *Nanostructured Materials for Biomedical Applications* (pp. 1-34). Elsevier.
- Ojasalu, K., Lieber, S., Sokol, A. M., Nist, A., Stiewe, T., Bullwinkel, I., Finkernagel, F., Reinartz, S., Müller-Brüsselbach, S., & Grosse, R. (2023). The lysophosphatidic acid-regulated signal transduction network in ovarian cancer cells and its role in actomyosin dynamics, cell migration and entosis. *Theranostics*, 13(6), 1921 .
- Oliveira, M. M., Martins, F., Silva, M. G., Correia, E., Videira, R., & Peixoto, F. (2020). Use of parabens (methyl and butyl) during the gestation period: mitochondrial bioenergetics of the testes and antioxidant capacity alterations in testes and other vital organs of the F1 generation. *Antioxidants*, 9(12), 1302.
- Oniscu, G. C., Mehew, J., Butler, A. J., Sutherland, A., Gaurav, R., Hogg, R., Currie, I., Jones, M., & Watson, C. J. (2023). Improved organ utilization and better transplant outcomes with in situ normothermic regional perfusion in controlled donation after circulatory death. *Transplantation*, 107(2), 438-448 .
- Ortega, M. Á., Guzmán Merino, A., Fraile-Martínez, O., Recio-Ruiz, J., Pekarek, L., G. Guijarro, L., García-Honduvilla, N., Álvarez-Mon, M., Buján, J., & García-Gallego, S. (2020). Dendrimers and dendritic materials: From laboratory to medical practice in infectious diseases. *Pharmaceutics*, 12(9), 874 .
- Ouyang, W., & O'Garra, A. (2019). IL-10 family cytokines IL-10 and IL-22: from basic science to clinical translation. *Immunity*, 50(4), 871-891 .
- Pakdel, A. S., Niinivaara, E., Cranston, E. D., Berry, R. M., & Dubé, M. A. (2021). Cellulose nanocrystal (CNC)–latex nanocomposites: effect of CNC hydrophilicity and charge on rheological, mechanical, and adhesive properties. *Macromolecular Rapid Communications*, 42(3), 2000448 .
- Pal, A., Kumar, K. H., Bhushan, B., & Saharan, V. (2017). Ashwagandha root extract inhibits acetylcholine esterase, protein modification and ameliorates H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in rat lymphocytes. *Pharmacognosy Journal*, 9.(3)

- Panda, A. K., Manyapu, V., Mandpe, A., & Paliya, S. (2024). Plant-Based Biofuels: A Sustainable Solution for Energy Production. In *Emerging Sustainable Technologies for Biofuel Production* (pp. 247-273). Springer .
- Panda, V., Deshmukh, A., Hare, A., Singh, S., Hingorani, L., & Sudhamani, S. (2021). Effect of *Withania somnifera* hydroalcoholic extract and other dietary interventions in improving muscle strength in aging rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 12(4), 623-632 .
- Pandey, A., Bani, S., Dutt, P., Satti, N. K., Suri, K. A., & Qazi, G. N. (2018). Multifunctional neuroprotective effect of Withanone, a compound from *Withania somnifera* roots in alleviating cognitive dysfunction. *Cytokine*, 102, 211-221 .
- Park, J., Lee, H., Choi, D.-W., & Park, K. (2023). The mixture effect of propyl paraben and bisphenol A on the uterotrophic response in the ovariectomized rats after oral administration. *Environmental Analysis, Health and Toxicology*, 38 .(1)
- Paul, J., Lim, W. M., O’Cass, A., Hao, A. W., & Bresciani, S. (2021). Scientific procedures and rationales for systematic literature reviews (SPAR-4-SLR). *International Journal of Consumer Studies*, 45(4), O1-O16 .
- Paul, S., Chakraborty, S., Anand, U., Dey, S., Nandy, S., Ghorai, M., Saha, S. C., Patil, M. T., Kandimalla, R., & Proćków, J. (2021). *Withania somnifera* (L.) Dunal (Ashwagandha): A comprehensive review on ethnopharmacology, pharmacotherapeutics, biomedical and toxicological aspects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143, 112175 .
- Perkins, M. S., Louw-du Toit, R., & Africander, D. (2017). A comparative characterization of estrogens used in hormone therapy via estrogen receptor (ER)- $\alpha$  and- $\beta$ . *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 174, 27-39.
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112891 .
- Polonikov, A. (2020). Endogenous deficiency of glutathione as the most likely cause of serious manifestations and death in COVID-19 patients. *ACS infectious diseases*, 6(7), 1558-1562 .
- Prakash, B. (2020). *Functional and preservative properties of phytochemicals*. Academic Press .

- Pramodh, S. (2021). Male Infertility Management with Alternative Medicine: Promises, Practice, and Perspectives–Treatment of Male Infertility Using Plant-Based Alternative Medicine. In *Treating Endocrine and Metabolic Disorders With Herbal Medicines* (pp. 164-186). IGI Global .
- Pulcastro, H., & Ziv-Gal, A. (2024). Parabens effects on female reproductive health–Review of evidence from epidemiological and rodent-based studies. *Reproductive Toxicology*, 108636 .
- Qiu, F., Lu, H., Wang, X., Yang, Y., & Ding, M. (2023). Evaluation of the nephroprotective properties of silver nanoparticles green-mediated by arabic gum on the lipopolysaccharide-induced acute kidney injury. *Inorganic Chemistry Communications*, 155, 111043.
- Raheem, H. Q. (2018). Study effect of silver nanoparticles on some blood parameters in rabbits. *Biochem. Cell. Arch*, 18(1), 267-269.
- Ray, N., & Reddy, P. H. (2023). Structural and physiological changes of the kidney with age and its impact on chronic conditions and COVID-19. *Ageing Research Reviews*, 101932 .
- Rebecca, O., Boyce, A. N., & Chandran, S. (2010). Pigment identification and antioxidant properties of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *African Journal of biotechnology*, 9(10), 1450-1454 .
- Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J., & Minor, L. (2016). Cell viability assays. *Assay guidance manual* [Internet] .
- Ritchison, G. (2023). Urinary System, Salt Glands, and Osmoregulation. In *In a Class of Their Own: A Detailed Examination of Avian Forms and Functions* (pp. 1185-1252). Springer .
- Rouag, M., Berrouague, S., Djaber, N., Khaldi, T., Boumendjel, M., Taibi, F., Abdennour, C., Boumendjel, A., & Messarah, M. (2020). Pumpkin seed oil alleviates oxidative stress and liver damage induced by sodium nitrate in adult rats: biochemical and histological approach. *African Health Sciences*, 20(1), 413-425 .
- Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A. K., & Yilmaz, M. D. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. *RSC advances*, 9(5), 2673-2702 .
- Saiyed, A., Jahan, N., Makbul, S. A. A., Ansari, M., Bano, H., & Habib, S. H. (2016). Effect of combination of *Withania somnifera* Dunal and

- Tribulus terrestris Linn on letrozole induced polycystic ovarian syndrome in rats. *Integrative Medicine Research*, 5(4), 293–300.  
<https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.10.002>
- Sajid, M., & Płotka-Wasyłka, J. (2020). Nanoparticles: Synthesis, characteristics, and applications in analytical and other sciences. *Microchemical Journal*, 154, 104623 .
- Sakuragui M.M., Paulino M.G., Pereira C.D.S., Carvalho C.S., Sadauskas-Henrique H., Fernandes M.N. Integrated use of antioxidant enzymes and oxidative damage in two fish species to assess pollution in man-made hydroelectric reservoirs. *Environ. Pollut.* 2013;178:41–51.
- Salayová, A., Bedlovičová, Z., Daneu, N., Baláž, M., Lukáčová Bujňáková, Z., Balážová, L., & Tkáčiková, L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity using various medicinal plant extracts: Morphology and antibacterial efficacy. *Nanomaterials*, 11(4), 1005 .
- Saleem, M. H., Kamran, M., Zhou, Y., Parveen, A., Rehman, M., Ahmar, S., Malik, Z., Mustafa, A., Anjum, R. M. A., & Wang, B. (2020). Appraising growth, oxidative stress and copper phytoextraction potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) grown in soil differentially spiked with copper. *Journal of environmental management*, 257, 109994 .
- Saleh, N. A., Mahmoud, M. A., Jones-Farmer, L. A., Zwetsloot, I. N. E. Z., & Woodall, W. H. (2015). Another look at the EWMA control chart with estimated parameters. *Journal of Quality Technology*, 47(4), 363-382.
- Saleh, N. A., Mahmoud, M. A., Jones-Farmer, L. A., Zwetsloot, I., & Woodall, W. H. (2015). Another look at the EWMA control chart with estimated parameters. *Journal of Quality Technology*, 47(4), 363-382 .
- Saleh, T. A. (2020). Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental Technology & Innovation*, 20, 101067 .
- Sarikaya, E., & Doğan, S. (2020). Glutathione peroxidase in health and diseases. *Glutathione system and oxidative stress in health and disease*, 49 .
- Sarink, D., Franke, A. A., White, K. K., Wu, A. H., Cheng, I., Quon, B., Le Marchand, L., Wilkens, L. R., Yu, H., & Merritt, M. A. (2021). BPA, parabens, and phthalates in relation to endometrial cancer risk: a case–control study nested in the multiethnic cohort. *Environmental Health Perspectives*, 129(5), 057702 .

Shah K.H., Verma R.J. Butyl p-hydroxybenzoic acid induces oxidative stress in mice liver—An in vivo study. *Acta Pol. Pharm.* 2011;68:875–879.

Sharma, A., Kilari, S., Cai, C., Simeon, M. L., & Misra, S. (2020). Increased fibrotic signaling in a murine model for intra-arterial contrast-induced acute kidney injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 318(5), F1210-F1219 .

Sharma, I., Kumar, R., Sharma, V., Singh, B., Pati, P. K., & Sharma, A. (2021). *Withania somnifera*. In *Himalayan Medicinal Plants* (pp. 273-325). Elsevier .

Shehata, A. M., Salem, F. M., El-Saied, E. M., Abd El-Rahman, S. S., Mahmoud, M. Y., & Noshay, P. A. (2021). Zinc nanoparticles ameliorate the reproductive toxicity induced by silver nanoparticles in male rats. *International journal of nanomedicine*, 2555-2568.

Sies, H., Belousov, V. V., Chandel, N. S., Davies, M. J., Jones, D. P., Mann, G. E., Murphy, M. P., Yamamoto, M., & Winterbourn, C. (2022). Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nature Reviews Molecul Cell Biology*, 23(7), 499-515 .

Silva, D. C., Serrano, L., Oliveira, T. M., Mansano, A. S., Almeida, E. A., & Vieira, E. M. (2018). Effects of parabens on antioxidant system and oxidative damages in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 162, 85-91 .

Silva, D. C., Serrano, L., Oliveira, T. M., Mansano, A. S., Almeida, E. A., & Vieira, E. M. (2018). Effects of parabens on antioxidant system and oxidative damages in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 162, 85-91.

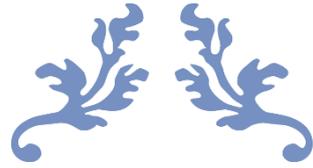
Singh, S., Kapoor, D., Khasnabis, S., Singh, J., & Ramamurthy, P. C. (2021). Mechanism and kinetics of adsorption and removal of heavy metals from wastewater using nanomaterials. *Environmental Chemistry Letters*, 19(3), 2351-2381 .

Sisein, E. A. (2014). Biochemistry of free radicals and antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences*, 2(2), 110-118.

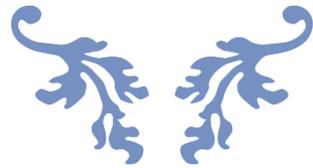
- Siwicki, M., Gort-Freitas, N. A., Messemaker, M., Bill, R., Gungabeesoon, J., Engblom, C., Zilionis, R., Garris, C., Gerhard, G. M., & Kohl, A. (2021). Resident Kupffer cells and neutrophils drive liver toxicity in cancer immunotherapy. *Science Immunology*, 6(61), eabi7083 .
- Smarr, M. M., Honda, M., Kannan, K., Chen, Z., Kim, S., & Louis, G. M. B. (2018). Male urinary biomarkers of antimicrobial exposure and bi-directional associations with semen quality parameters. *Reproductive Toxicology*, 77, 103-108 .
- Steen, E. H., Wang, X., Balaji, S., Butte, M. J., Bollyky, P. L., & Keswani, S. G. (2020). The role of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in tissue fibrosis. *Advances in wound care*, 9(4), 184-198 .
- Sugaya, M. (2020). The role of Th17-related cytokines in atopic dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1314 .
- Sukumar, B. S. (2021). Study the Effect of Ashwagandha (*Withania Somnifera*) in Promotion of Health Rajiv Gandhi University of Health Sciences (India) .[
- Suvarna, B., Sunitha, V., Sudharshan Reddy, Y., Muralidhara Reddy, B., Kadam, A., & Ramakrishna Reddy, M. (2023). Groundwater quality assessment using multivariate statistical approach and geospatial modelling around cement industrial corridor, South India. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20(5), 5051-5070 .
- Tabandeh, M. R., Samie, K. A., Mobarakeh, E. S., Khadem, M. D., & Jozaie, S. (2022). Silver nanoparticles induce oxidative stress, apoptosis and impaired steroidogenesis in ovarian granulosa cells of cattle. *Animal reproduction science*, 236, 106908.
- Tandon, N., & Yadav, S. S. (2020). Safety and clinical effectiveness of *Withania Somnifera* (Linn.) Dunal root in human ailments. *Journal of ethnopharmacology*, 255, 112768 .
- Tandon, N., & Yadav, S. S. (2020). Safety and clinical effectiveness of *Withania Somnifera* (Linn.) Dunal root in human ailments. *Journal of Ethnopharmacology*, 255, 112768.
- Terami, S., Kubota, H., Koganesawa, N., Murakoshi, S., Satou, M., Sekine, Y., Watanabe, S., Tsuruoka, N., Sugiki, M., & Tahara, S. (2023). Estimation of daily intake of food additives by Japanese young children using the market basket method in 2018. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 40(3), 328-345 .

- Tharakan, A., Shukla, H., Benny, I. R., Tharakan, M., George, L., & Koshy, S. (2021). Immunomodulatory effect of *Withania somnifera* (Ashwagandha) extract—a randomized, double-blind, placebo controlled trial with an open label extension on healthy participants. *Journal of Clinical Medicine*, 10(16), 3644 .
- Torfs, E., & Brackman, G. (2021). A perspective on the safety of parabens as preservatives in wound care products. *International Wound Journal*, 18(2), 221-232 .
- Ugya, A. Y., Imam, T. S., Li, A., Ma, J., & Hua, X. (2020). Antioxidant response mechanism of freshwater microalgae species to reactive oxygen species production: a mini review. *Chemistry and Ecology*, 36(2), 174-193 .
- Uthirapathy, S., & Tahir, T. F. (2021). *Withania somnifera*: correlation of phytoconstituents with hypolipidemic and cardioprotective activities. *Aro-The Scientific Journal Of Koya University*, 9(2), 15-21 .
- Verma, N., Gupta, S. K., Tiwari, S., & Mishra, A. K. (2021). Safety of ashwagandha root extract: a randomized, placebo-controlled, study in healthy volunteers. *Complementary therapies in medicine*, 57, 102642 .
- Verma, S., Arya, S., & Aman, R. (2022). A review on medicinal plants in north region of India: traditional use in Vedic culture and their pharmacological properties. *TMR Integr Med*, 6, e22026 .
- Washif, J. A., Farooq, A., Krug, I., Pyne, D. B., Verhagen, E., Taylor, L., Wong, D. P., Mujika, I., Cortis, C., & Haddad, M. (2022). Training during the COVID-19 lockdown: knowledge, beliefs, and practices of 12,526 athletes from 142 countries and six continents. *Sports Medicine*, 52(4), 933-948 .
- Watkins, D. J., Ferguson, K. K., Anzalota Del Toro, L. V., Alshawabkeh, A. N., Cordero, J. F., & Meeker, J. D. (2015). Associations between urinary phenol and paraben concentrations and markers of oxidative stress and inflammation among pregnant women in Puerto Rico. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218(2)
- Wei, F., Mortimer, M., Cheng, H., Sang, N., & Guo, L.-H. (2021). Parabens as chemicals of emerging concern in the environment and humans: A review. *Science of the Total Environment*, 778, 146150 .
- Wu, F., & Rodricks, J. V. (2020). Forty years of food safety risk assessment: a history and analysis. *Risk Analysis*, 40(S1), 2218-2230 .

- Wyss, K. M., Wang, Z., Alemany, L. B., Kittrell, C., & Tour, J. M. (2021). Bulk production of any ratio 12C: 13C turbostratic flash graphene and its unusual spectroscopic characteristics. *ACS nano*, 15(6), 10542-10552 .
- Yao, Y., Zang, Y., Qu, J., Tang, M., & Zhang, T. (2019). The toxicity of metallic nanoparticles on liver: the subcellul damages, mechanisms, and outcomes. *International journal of nanomedicine*, 14, 8787 .
- Yaylim, İ., Aru, M., Farooqi, A. A., Hakan, M. T., Buttari, B., Arese, M., & Saso, L. (2024). Regulation of Nrf2/Keap1 signaling pathway in cancer drug resistance by galectin-1: cellul and molecu implications. *Cancer Drug Resistance*, 7 .
- Yin, Y., Xie, Z., Sun, X., Wu, X., Zhang, J., Shi, H., Ding, L., & Hong, M. (2023). Effect of Butyl Paraben on Oxidative Stress in the Liver of *Mauremys sinensis*. *Toxics*, 11 .(11)
- 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 .
- Yuezhen, S., Zhijun, Y., Kaiming, Z., Binbin, L., Biqiang, J., Chengbo, M., Qizhen, S., & Lin, Z. (2021). Excessively tilted fiber grating sensors. *Journal of Lightwave Technology*, 39(12), 3761-3770 .
- Zahran, E., El Sebaei, M. G., Awadin, W., Elbahaswy, S., Risha, E., & Elseady, Y. (2020). *Withania somnifera* dietary supplementation improves lipid profile, intestinal histomorphology in healthy Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), and modulates cytokines response to *Streptococcus* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 106, 133-141 .
- Zebon, S. H., Eesa, M. J., & Hussein, B. F. (2020). Efficacy of nano composite porous 3D scaffold of crab shell and Al-Kharit histological and radiological for bone repair in vivo. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 44(2), 15-24.
- Zhang, M., Du, M., Qi, X., Wang, Y., Li, G., Xu, C., & Zhang, X. (2022). Retro-inversion follicle-stimulating hormone peptide-modified nanoparticles for delivery of PDK2 shRNA against chemoresistant ovarian cancer by switching glycolysis to oxidative phosphorylation. *Cancer Nanotechnology*, 13(1), 23 .



# **ABSTRACT**



**Abstract**

The present study aimed to evaluate the efficacy of aqueous extract and green nanocomposite of Ashwagandha root (*Withania somnifera*) against paraben-induced histopathological and histopathological changes of liver, kidney and ovarian tissues in female albino rats induced by 4-propylhydroxybenzoate. The present study was conducted in the animal house of Faculty of Pharmacy / Karbala University from November 2023 to February 2024, 30 female albino rats were used and randomly divided into six groups with five animals per group, the first group (G1) was dosed with 1 ml/kg physiological solution and considered as control group, while the second group (G2) was dosed with 500 mg/kg bw aqueous extract of Ashwagandha root at a dose of 500 mg/kg bw. The third group (G3) was given the paraben 4-propylhydroxybenzoate at 4.6 mg/kg. The fourth group was treated with a green nanocomposite of ashwagandha root at a dose of 150 mg/kg bw, the fifth group was treated with an aqueous extract of ashwagandha root and parabens at a dose of 500-4.6 mg/kg bw, and the sixth group was treated with a green nanocomposite of ashwagandha root and parabens at a dose of 150-4.6 mg/kg.

After 30 days, the experiment was terminated and 5 ml of blood was collected to measure the following parameters Hemoglobin (Hb), red blood cells (RBC), white blood cells (WBC), lymphocytes (LYM), white blood cells (GRA), oxidative stress index (MDA) malondialdehyde and some antioxidants such as glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) and levels of some female hormones E2 (estrogen) and progesterone (progesterone) and some immunological interleukins (IL-10 and IL-17).

The results of the present study showed that daily oral administration of parabens to female rats at a dose of 4.6 mg/kg resulted in a significant increase ( $P < 0.05$ ) in the levels of GRA, RBC, LYM, MDA, IL-10 and IL-17, and a significant decrease ( $P < 0.05$ ) in the levels of E2, estrogen and IL-17 compared to the control group.

The group that received the green nanocomposite at a dose of 150 mg/kg showed a significant increase ( $P < 0.05$ ) in the levels of GRA, RBC, WBC, LYM, SOD, and Progesterone compared to the control group. There was a significant decrease ( $P < 0.05$ ) in the level of IL-10 compared to the control group. There were no significant differences ( $P > 0.05$ ) in the levels of Hb MDA, GSH, E2, and IL-17 compared to the control group. The group dosed with aqueous extract of Ashwagandha root and parabens 4.6-500 mg/kg body weight showed a significant increase ( $P < 0.05$ ) in the levels of GRA, RBC, Hb, Progesterone, E2, IL-10 and IL-17 compared to the

control group. There was a significant decrease ( $P < 0.05$ ) in the level of LYM compared to the control group. There were no significant differences ( $P > 0.05$ ) in the levels of MDA, GSH, E2, IL-17, WBC and SOD compared to the control group. The group that was dosed with green nanocomposite and parabens 4.6-150 mg/kg body weight showed a significant increase ( $P < 0.05$ ) in the levels of GRA, RBC, SOD, and Progesterone compared to the control group. There was a significant decrease ( $P < 0.05$ ) in the levels of MDA, GSH, and E2 compared to the control group. There were no significant differences ( $P < 0.05$ ) in the levels of Hb LYM, IL-10, IL-17, and WBC compared to the control group.

Histological examination of the kidney in the preservative-treated group at 4.6 mg/kg showed severe glomerul atrophy with damage to the walls of the urinary tubules compared with the control group. 6 mg/kg showed severe glomerul atrophy with damage to the walls of the urinary tubules compared with the control group, there was enlargement of Bowman's space with severe vascul congestion, while the group treated with aqueous extract of ashwagandha root at 500 mg/kg and the group treated with nanocomposite at 150 mg/kg showed slight reduction in glomerul size, increase in Bowman's space, normal Bowman's capsule structure and regularity of proximal and distal convoluted tubules with no histopathological changes. The group treated with the extract and two hours later with the preservative showed a slight effect on the structure of the glomerulus and Bowman's capsule, irregularity of the proximal convoluted tubule and distal convoluted tubule and an increase in Bowman's space with severe congestion in the tubule area compared to the control group, while the group treated with the nanocomposite 150 mg/kg and two hours later with the preservative 4.6 mg/kg, we observe normal shape of glomerulus G size, Bowman's space, normal structure of Bowman's capsule and regularity of proximal convoluted tubule and distal convoluted tubule compared to the control group and the group treated with aqueous extract of Ashwagandha root at a concentration of 500 mg/kg two hours later.

The preservative group and the group treated with the nanocomposite at a concentration of 150 mg/kg and two hours later also showed the normal shape of both proximal and distal urinary tubules and the normal shape of Bowman's capsule, Bowman's space and glomerulus compared to the preservative group. Histological changes in the liver tissue of rats at 4.6 mg/kg preservative showed congestion of the central vein, nucleoli, sinusoidal dilatation, presence of chronic inflammatory cells around the vein, presence of nucleoli and irregularity of hepatic cords compared with

the control group. As for the group treated with aqueous extract of Ashwagandha root at a concentration of 500 mg/kg and the group treated with nanocomposite at a concentration of 150 mg/kg, the histological structure of the liver appeared close to normal tissues, consisting of the central vein and the regularity of hepatic cords consisting of ribbed hepatocytes and spherical nuclei with the presence of hepatic sinusoids as compared to the control group. The results of liver histology of rats treated with Ashwagandha extract 500 mg/kg and two hours later administered with preservative 4. The histological structure of the liver appeared close to normal tissues as it consists of the central vein with the presence of hepatic sinusoids and the hepatic cords represented by hepatocytes are polygonal and the nuclei are spherical. We note the presence of slight congestion in the cells when compared to the control group. The histological results of the liver of the group of rats treated with the nanocomposite at 150 mg/kg and two hours later with a preservative at 4.6 mg/kg showed the presence of chronic inflammatory cells around the vein, showing the normal shape of liver cells with their regular hexagonal shape and regularity in the sinusoids. These changes, which were almost normal in the liver tissue in both groups and compared with the control group, while the group dosed with ashwagandha root extract 500 mg/kg and two hours later preservative 4.6 mg/kg and the group dosed with nanocomposite 150 mg/kg and two hours later preservative 4.6, we observed the normal shape of liver cells with regular hexagonal shape and regularity in the sinusoids compared with the preservative group. As for the changes in the ovarian tissue of rats treated with preservative 4.6 mg/kg, we observed that the ovarian tissue was affected by the appearance of areas of inflammation in addition to the appearance of ovarian follicles at different stages, but fewer in number and less cystic compared to the control, while the group treated with aqueous extract of Ashwagandha root 500 mg/kg and two hours later preservative 4.6 mg/kg and the nanocomposite group were affected by the appearance of areas of inflammation. 6 mg/kg and the nanocomposite group 150 mg/kg and two hours later preservative 4.6 mg/kg, we observed the appearance of ovarian tissue appearing normal and the appearance of ovarian follicles well, as well as in large number and in their various forms as well as the appearance of corpus luteum compared to the control group.



**A histological, immunohistochemical, and biochemical study  
on the protective role of the aqueous and nano extracts of  
Withania somnifera roots in female rats treated with  
propyl4-hydroxybenzoate.**

**Thesis**

**Submitted To the Board of the Faculty of Education for Pure  
Sciences / Karbala University as part of the requirements for the  
degree of Master of Science in Life Sciences**

**Written by the student**

**Aya Hussain Azab Fazaa**

**Bachelor of Education Life Sciences - Karbala University /2021**

**supervised by**

**Prof. Dr Alaa Hussain Mahdi Al-Safi**

**Prof. Dr Kiaser Abdul Sajjad Mohammed Hussain**

**Rabiul Awwal 1446 AH**

**August 2024**