مجلة كلية التربية للعلوم الصرفة- جامعة ذي قار
Website: http://jceps.utq.edu.iq/ Email: jceps@eps.utq.edu.iq
المجلد 8 ، العدد 1 ، اذار 2018

دراسة تجريبية لاختبار كفاءة الكبد النسجيةوالفسلجية تحت تاثير الجرعة المفردة اليومية لمضاداتالامينوكلايكوسايد (اميكاسين ،جنتامايسين) في ذكور الارانب المحلية Lepus cuniculus

احمد ناصر فيصل ستار عبود فارس
قسم علوم الحياة / كلية التربية/جامعة ذي قار/ العراق

الخلاصة:

استخدم في هذةالدراسةاربع وعشرونذكرا من الارانب المحليه*Lepus cuniculus*تراوحت اوزانها بين (1000- 1500)غرام ، وضعت الحيوانات في البيت الحيواني التابع لكليه التربيه للعلوم الصرفه – جامعة ذي قارفي اقفاص اعدت لغرض تربية الارانب وبابعـاد (60×75×90)سم وبواقعثمان ارانب لكل قفـص يحتوي القفص على نشارة الخشب Wooden Shave مع توفير درجة الحرارة والتهويه المناسبتين وتامين فترة اضاءه بواقع (12) ساعه في اليوم طيلة فترة التجربه، وزعت الارانب عشوائيا وتركت لمدة اسبوعين لاغرض التكيف للتربيه،اجريت الدراسة الحالية للمدة من اب2013 ولغاية تموز2014 بهدف تقييم كفاءة الكبد النسجيةوالفسلجية تحت تاثير الجرعة المفردة اليومية لمضادات الامينوكلايكوسايد (اميكاسينAmikacin، جنتامايسينGentamicin)، حقنت المجموعة الاولى (T1)عضليا بعقار الاميكاسين بتركيز(15mg\kg) بينما حقنت المجموعة الثانية (T2)عضليا بعقار الجنتامايسين بتركيز (6mg\kg) مقارنة بمجموعة السيطرة التي تلقت عضليا محلول Normal Salainبتركيز (0.9%) ،استمرت عملية الحقن لمدة اربعة اسابيع ثم جمعت عينات الدم لاجراءالفحوصات الكيموحيوية وكذلك جمع العينات للدراسة النسجية.

اظهرت النتائج الاحصائية للدراسة الحالية وجود تغيرات معنوية لفعالية انزيمات الكبد باستثناء انزيم (GPT) حيث سجلت ارتفاعا معنويا لمستويات انزيم (GOT) في حين تباينت نتائج فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي معنويابين الانخفاض والارتفاعاذسجلت انخفاض معنوي بالنسبة للمجاميع المعاملة بعقار الاميكاسين في حين ابدت ارتفاعا معنويا عند المجاميع المعاملة بعقار الجنتامايسين اما بالنسبة لكفاءة الكبد التصنيعية والايضية فقد اظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاض معنوي لمستويات البروتين الكلي لكلا العقارين في حين جاءت مستويات الالبومين في المصل دون اي تغيرات معنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة اما بالنسبة لمستويات البلروبين الكلي فقد ابدت المجاميع المعاملة بعقار الجنتامايسين ارتفاعا معنويا في حين لم تسجل المجاميع المعاملة بعقار الاميكاسين اي تغيرات معنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة.

اظهرت نتائج الفحص المجهري للمقاطع النسجية للكبد فيالمجاميع المعاملة بعقاري الاميكاسينوالجنتامايسين تغيرات نسجية مرضية تباينت بالشدة والضهور.

الكلمات المفتاحية: الامينوكلايكوسايد .الاميكاسين . الجنتامايسين .كبد الارانب . نسجية الكبد. فسلجة الكبد

Journal of College of Education for pure sciences(JCEPS)
Web Site: http://jceps.utq.edu.iq/ **Email:** jceps@eps.utq.edu.iq
Volume 8, Number 1, March 2018

دراسة تجريبية لاختبار كفاءة الكبد النسجيةوالفسلجية تحت تاثير الجرعة المفردة اليومية لمضاداتالامينوكلايكوسايد (اميكاسين ،جنتامايسين) في ذكور الارانب المحلية Lepus cuniculus

احمد ناصر فيصل **ستار عبود فارس**
قسم علوم الحياة / كلية التربية/جامعة ذي قار/ العراق

Abstract

The present study was conducted to investigated the effect of electromagnetic radiations emitted from mobile phone devices in some physiological parameters and histopathological changes of male laboratory rats *Rattusnorvigicus* . Forty eight of male rats were divided randomly into eight groups and each group of six rats . Four groups of these were exposure to electromagnetic radiations by mobile phone at different time periods included (1month, 2month, 3month and 6month) while the other residual groups were considered as a control groups at same time periods . After ending up time periods of exposure , every animals were dissect , the left and right epididymis isolated from male rats to determining number of sperms and percentage of sperm abnormalities respectively . As such testis has eradication, which kept in proven solution (formalin 10%) to paving preparing tissues sections .

The results of the present study revealed a significant decrease ($P \leq 0.05$) in body weight to all exposure groups comparing with each control groups in male rats , As well as gradual decrease observed in body weight of male rats comparing with exposure groups . The results showed that the male rats which exposured to electromagnetic radiations had inhibition effect significantly ($P \leq 0.05$) on the number of the sperms with significant increasing in percentage abnormalities comparing with control groups , Also gradual decrease observed in number of the sperms in exposure groups comparing between itself while the percentage of abnormalities was non significant increase by progressive time exposure to electromagnetic radiations .

Histologically microscopic examination results revealed that presence of histopathological changes in testis tissue performed in disassembly of connective tissue between seminal tubules , congestion of blood vessels , epithelial tubular necrosis in addition to incidence statuses of haemorrhage as well as observation of reduction the number of spermatogenic cells and sperm modicum .

المقدمة:Introduction

تعد الامينوكلايكوسايد(Aminoglycoside (AGS (الاميكاسين،الجنتامايسين)مضاداتحياتية قاتله للجراثيم تستخدم لعلاج الاخماجالخطرهالمتسببه بالعديد من العصيات السالبه لصبغة كرام (Martiz-Salgado*et al*., 2007; Nagai and Takano (2004,.، تختلف نافذتيها إلى الأنسجة الحيوية تبعا لبنيتها ألقطبيه تطرح الامينوكلايكوسيدات بالترشيح الكبيبي بشكل غير مؤيض الا ان بعضها يتراكم انتقائيا في القشرة الكلوية (Kanopsk and Warwas.,2007)،تمتلك المضادات الامينوكلايكوسيديه خواصا سمية متشابهة تختلف امكانية حدوثها وشدتها حسب طبيعةالشخص المعالج كما تختلف من مضاد الى اخرضمن هذة الزمرة (Sandhu *et al*.,2007) ، ولوحظ أنلهذهالتأثيرات ارتباطا طرديا بالجرعة فكلما زادت الجرعة زادت احتمالية حدوث التسمم وزادت حدة أعراضه ولذلك تحدد الجرعة استنادااإلى وزن جسم المريض، تعطى الامينوكلايكوسايد من 2-3 مرات يوميا ولأجلتجاوزالمشاكلالمصاحبةللجرعالمتعددةمن عقاقيرالامينوكلاكوسايدصممنظامالجرعةاليوميةالواحدةلسلامة وفعالية الجرعة وزيادةالقابليةالقاتلةللبكتريا عنطريقزيادةنسبة(قيمةالتركيز / اقلتركيزمثبط) والاقلالمنالاعراضالجانبية(Baker *et al*,2009)) .الامينوكلايكوسايدمركبات شديدة القطبيه ذات بنية تحتوي الكثير من الشوارد السلبية غير قادرة على الانتشار عبر الاغشية البايولوجية مما يجعل امتصاصها عن طريق الجهاز الهضمي غاية الصعوبة لذ تعطى وريديا او عضليا للاستخدام الجهازي(;Rang,2003) Jawetz,1998.تختلف نافذيتها الى الانسجة الحيوية تبعا لبنيتها القطبيهولايصل تركيزها في السائل المخي النخاعي والسائل البصري والافرازات التنفسية الى مستويات علاجيه(Mary*et al*,2000; El-Massry,*et al*1996; Brown*et al*,1991) .الجنتامايسين مركب امينوكلايكوسيديكيتوني عالي القطبية لايمتص عن طريق المسالك الهضميه لذا يعطى وريديا ويتم تصفيتة في كبيباتالكليه دون تابيض ويطرح معظم الجنتامايسين المعطى وريديا مع الادرار ولكن حوالي 10% منه يراكم في القشرة الكلوية (النبيبات الكلوية الدانية) لذلك فان تركيز الجنتامايسين في اوقات متباينه في القشرة يكون اعلى منه في مصل الدم (Chambers,2001)ان استخدام هذا المضاد محفوف بالعديد من القيود لما يسببة من تاثير سمي خصوصا على الكليه والذي يحدث بمعدل 20-10%خلال فترة التعاطي والتي يمكن ان تعزى الى نواتج الاوكسجين الفعالة ROS المسؤولة عن تحريض الموت المبرمج للخلايا الضهاريةللنبيبات الكلوية (Lesniak*et al* ,2005)،الاميكاسينمضاد حيوي من مجموعة الأمينوكلايكوسيد،يعمل على ابادة عدد كثير من الجراثيم الهوائية سلبية الغرام gram negative(Magnet and Blanchard,2005;Katzung & trevor's,2009)

الاميكاسين سام عند المستويات التي تفوق المدى العلاجي (Kasper and Braunwald,2008) بسب الافراط في انتاج الجذور الحرة المصحوب بانخفاض وتغيرات في فعالية الانزيمات المضادة للاكسدة(Tawa*et al*,1998) .تعتبر هذة المجموعة الدوائية ذات اعراض سمية على الكلى والكبد نتيجة لحدوث تغيرات نسجية وبالتاليإختلال في وضائف وفاعلية تلك الاعضاء (Abbas*et al*.,2013;Rybak and Witworth,2005;Klemens*et al*,2003)نتيجة لفعاليات الأصناف الأوكسجينية الفعالة بما فيها الجذور الحرة التي تحدث في الجسم حالةاضطراب بين الأصناف الأوكسجينية الفعالة وبين نظام ما يعرف بالكاسحـــــات Scavengers Systemالمتمثل بمضادات الأكسـدة(Sikka,2004;Lenzi*et a1*., 2000) Antioxidant والذي يؤدي دور كبير في العديد من الإمراض التي تصيب الإنسان ومنها أمراض الكبد Liver diseaseوأمراض الكلية Renal diseaseوداء السكر (Vladimirov, 2004)Diabetesلذا اقترح الاطباء اعطاء الامينوكلايكوسايد مرة واحدة يوميا بدلا من (2-3) مرات واستخدمت الجرعة اليومية كمعيار لسلامة وفعالية الجرعة (ward and Theiler,2009)

الكبد أكبر عضو غدي وعائفي الجسم (Watson,2002) يتموضع في الجهة العلويه اليمنى من البطن اسفل الحجاب الحاجز(Stine and Brown,2006;Faller *et al*.,2004)يتضمن نسيج الكبد أنواعاً متعددة من الخلايا، إذ تشكل الخلايا الكبدية

أو الحشويةparanchymal cells or hepatocytesحوالي 60% من خلايا هذا النسيج التي تقوم باغلب الفعاليات التصنيعية والايضية وازالة السموم والمواد الضاره(Allen,2002)،اشار 1999 Faller *et al*,2004; Fimbs) and Pallister) الى ان سطوح الخلايا الحشوية تحتوي على مستقبلات لكثير من المواد المحمولة عن طريق الدم، بينما تؤلف الخلايا الطلائية الداخلية (endothelial cells)أو خلايا كوفر (Kupffer cells) التي تقع الى الداخل من الخلايا الحشويةوالتي يصطلح عليها ايضا الخلايا البطانيهالشبكيهما يقارب 30% منها(Mckiley and O'Loughlin , 2006; Snell, 2000)) ، وهي بلعميات تتمكن من التهام الجراثيم والمواد الغريبه الاخرى التي تدخل مع الدم(Faller*et al*,2004;Seeley*et al*,1996)أما النسبة الباقية (10%) فتتألف من نسيج وعائي ونسيج ساند وأقنية صفراوية. (Guyton and Hall 1996).تعتبر الخلايا الكبدية ذات قدرة عالية على التكيف لملائمة التغيرات والضغوط الخارجية التي تكونها المؤثرات الخارجية ومنها العقاقير وذلك من خلال التعديل في تركيبهاالخلوي أو الوظيفي(Robbinsand Kumar,1987).اضاف (Dufour,2000;Taylor,1998) ان أهمّ ما يميز الخلايا الكبدية هو امتلاكها بروتينات داخل خلوية رابطة غير متخصصة نسبياً، تمكّنها من الاقتران بالمركبات المختلفة بمساعدة أنظمة أنزيمية خلوية ،وهذا يجعلها قادرة على تحويل بعض المركبات السامة الى مركبات غير سامة، وابطال فعالية الكثير من العقاقير والهرمونات الستيرويدية، وتغير ذوبانيتهالتسهيل طرحهااذ يعد الكبد مركزاً رئيسياً لتنظيم عمليات التمثيل الحياتي لجميع المركبات الداخلية والخارجية endo and xenobioticsحيث يؤدي هذا العضو عدد كبير من الوظائف التي قد تتأثر بسبب حالات مرضية او فسيولوجية مختلفة(Halle and Adair 1998).

في ضوء ماتقدم كان من الضروري أن تهدف الدراسة الحالية لاختبار سلامة الجرعة المفردة اليومية لفترات طويلة والتحري عن الاثار الضارة التي يمكن ان تخلفها الامينوكلايكوسايد (اميكاسين ،جنتامايسين) من خلال دراسة نسجية فسيولوجية لنسيج الكبدباستخدام معايير ذات علاقة مباشرة او غير مباشرة بهذه الوظائف، يتم تقديرها بوصفها متغيرات كبدية مناسبة،ويطلق على هذه المعايير فحوصات وظائف الكبد (liver function test) وتشمل تقدير فعاليتي الأنزيمين الناقلين لمجموعة الامين (GOT GPT)للتحري عن حيوية الخلايا الكبدية، وفعاليةالفوسفاتيز القاعدي (ALP) للتحري عن الانسدادات الكبدية، وتقدير تركيز البليروبين للتحري عن وظيفة الكبد في النقل، وتركيزالبروتين الكلي و الالبومين للتحري عن الوظيفة التصنيعية للخلايا الكبدية والتحري عن التغييرات النسجية المصاحبة لاستعمال العقاقير.

المواد وطرائق العمل:

تصميم الدراسة Design of study

قسمت الحيوانات الى ثلاثة مجاميع لكل مجموعه ثمانية ارانب اعطي افراد كل مجموعة جرعه محدده من المضاد الحيوي وكالاتي:

1. المجموعهالاولى :(C) مجموعة السيطرهControl حقنت عضليابالمحلول الملحيالفسلجي Normal Salainبتركيز(0.9%).
2. المجموعهالثانية : (T1)حقنت عضليا بعقارالاميكاسينبتركيز(15mg\kg) جرعة يوميه مفردة.
3. المجموعهالثالثة : (T2) حقنت عضليا بعقارالجنتامايسينبتركيز(6mg\kg) جرعة يوميه مفردة.

استمرت عملية الحقن لمدة اربعة اسابيع متتاليه وتم اخذ نماذج الدم عند نهاية الاسبوع الرابع لاغراضحسابالمعاييرالكيموحيويهBiochimical Tests لمصل الدم .عوملت الحيوانات تحت نفس الضروف وتم تحديد الجرعة بالاعتماد على وزن الجسم وحسب ماورد في الدساتير الدوائية (Bennett and Brown,2003) .

عينات الدم Blood Sampling

تم سحب(6مللتر) من الدم من قلب الحيوانات مباشرة عن طريق طعنة القلب باستخدام محقنة طبية نبيذة ، تم وضعه في أنابيب بلاستيكية نظيفة ومعقمة خالية من أي مادة مانعة للتخثر لغرض الحصول على مصل الدم ،تركت الأنابيب البلاستيكية لمدة تزيد على(30) دقيقة في درجة حرارة الغرفة لحين تخثر الدم ثم فصل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة (5000 دورة/دقيقة) ولمدة (10) دقائق لضمان الحصول على قدر كافي من المصل الخالي من آثار كريات الدم الحمر، بعد ذلك تم سحب نماذج مصل الدم باستخدام ماصة دقيقة ووضعت في أنابيب بلاستيكية خاصة نظيفة ومعقمة وحفظت بدرجة حرارة (-20) درجة مئوية لحين إجراء الفحوصات الكيموحيوية عليها. عوملت جميع العينات وعملية تهيئتها بدقة عالية وحذر شديد لتجنب حدوث التحلل ألدمي.

المعاييرالكيموحيوية

1. تم تقدير فعالية انزيمي الكبد(GPT,GOT)باستخدام العدة المجهزة من شركة راندوكسRandox بريطانية المنشأووفقا لطريقة (Reitman& Frankel,1957) اللونية.
2. تم استخدام الطريقة اللونية لتقدير فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في المصلباستعمال عدة التحليل المجهزة من شركة Biomerieux وفقاً لطريقة (Kind andKing,1954)
3. استخدمت طريقة بايوريتBiuret methodلتقدير مستوى البروتين الكلي في المصل ووفقاً لطريقة *et al.*(1949);Tietz (1999)Gornall وباستخدام عدة التحليل المجهزة من شركة (Biolabo) .
4. تم تقدير الألبومين في مصل الدم باستخدام العدة التحليلية (Kit) المجهزة من شركة Biolabo ووفقاً لطريقة and Biggs(1972) Doumas*et al.* (1971);Doumas
5. تم تقدير البليروبين في مصل الدم باستخدام العدة التحليلية (Kit) المجهزة من شركة Biolabo ووفقاً لطريقة.

جمع النماذج للدراسة النسيجية

تم قتل الحيوانات بعد تخديرها بمادة الكلوروفورم ثم شرحت بشق بطنها طوليا واستخرج (الكبد) ومن ثم حفض في مثبت الفورمالين بتركيز 10% لحين الشروع بتحضيرالمقاطع النسيجية وفقا لماجاء في طريقة (Bancroft and Steven.,1982)

التحليل الاحصائي Statistical Analysis

تم تحليل النتائج احصائيا باستخدام برنامج StatisticalPackage for Social Sciences (SPSS) بواسطة اختبار تحليل التباين الاحادي One-WayAnalysis (ANOVA) بهدف معرفة الفروق المعنوية بين المعاييرالمدروسة للمجاميع المختلفة وقد عدت الفروق معنوية بين المتوسطات عند مستوى ($P\leq0.05$) وباستخدام اقل فرق معنوي Least Significate (LSD) DifferienceTeast.

النتائج Result

اظهرت نتائج الدراسة الحالية تغيرات معنوية في مستويات انزيمات الكبد باستثناء انزيم ا (GPT)الذي لم يضهر اي معنوية رغم وجود ارتفاع في فعالية عن مجموعة السيطرة حيث اظهرت النتائج ارتفاعا معنويا لانزيم GOTولكلا العقارين بينما اظهر انزيم الفوسفاتيزالقاعدي(ALP) تباين في القراءات حيث اضهر انخفاضا معنويا عند المجاميع المعاملة بعقار الاميكاسين بينما اظهرت فعالية الانزيم ارتفاعا معنويا للمجاميع المعاملة بعقار الجنتامايسين جدول (1) اما بالنسبة لمستويات البروتين الكلي في مصل الدم فقد اظهرت انخفاضا معنويا لكلا المجموعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة في حين لم تسجل النتائج اي معنوية لمستويات الالبومين في

مصل الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة رغم وجود تباين في القراءات لمستويات اللالبومين .اظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع معنوي لمستويات البليروبين الكلي في مصل الدم عند المجاميع المعاملة بعقار الجنتامايسين في حين لم تضهر المجاميع المعاملة بعقار الاميكاسين اي معنوية في مستوى البليروبين الكلي جدول (2)

جدول رقم (1) :- يوضح تأثير عقاريالاميكاسينوالجنتامايسين فعاليـة انزيمـات الكبـــــــد (GOT,GPT,ALP) في مصل الدم للمجاميع

المعايير / المعاملات	GOT U/L	GPT U/L	ALP U/L
اميكاسين تركيز 15mg\kg\day	15.00* ±0.67165	8.66 ±0.42426	57.33* ±3.94659
جنتامايسين تركيز 6mg\kg\da	15.00* ±0.67165	8.33 ±0.42426	88.16* ±3.94659
مجموعة السيطرة 0.6 ml	13.5 ±0.67165	7.83 ±0.42426	72.33 ±3.94659
LSD.	0.963	0.873	8.130

* = Significant (p<0.05)

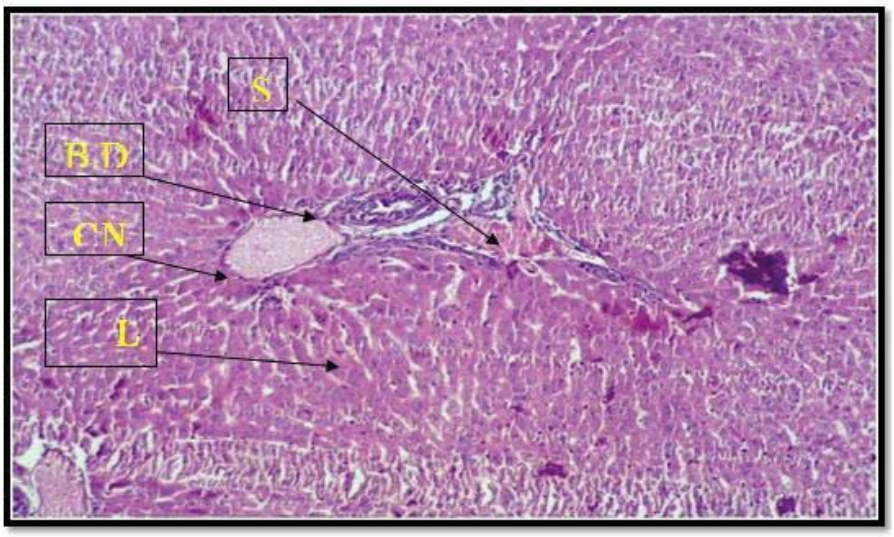
جدول رقم (2) :- يوضح تأثير عقاريالاميكاسينوالجنتامايسين في مستويات T.P.,Albu.,TSB في مصل الدم للمجاميع المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة.

المعايير / المعاملات	T.S.B mg/dl	Albumin mg/dl	T.Protien mg/dl
اميكاسين تركيز 15mg\kg\day	0.37 ±0.05774	3.31 ±0.09798	6.23* ±0.16028
جنتامايسين تركيز 6mg\kg\da	0.67* ±0.05774	3.6 ±0.09798	6.30* ±0.16028
مجموعة السيطرة 0.6 ml	0.40 ±0.05774	3.45 ±0.09798	6.70 ±0.16028
LSD.	0.082	0.141	0.229

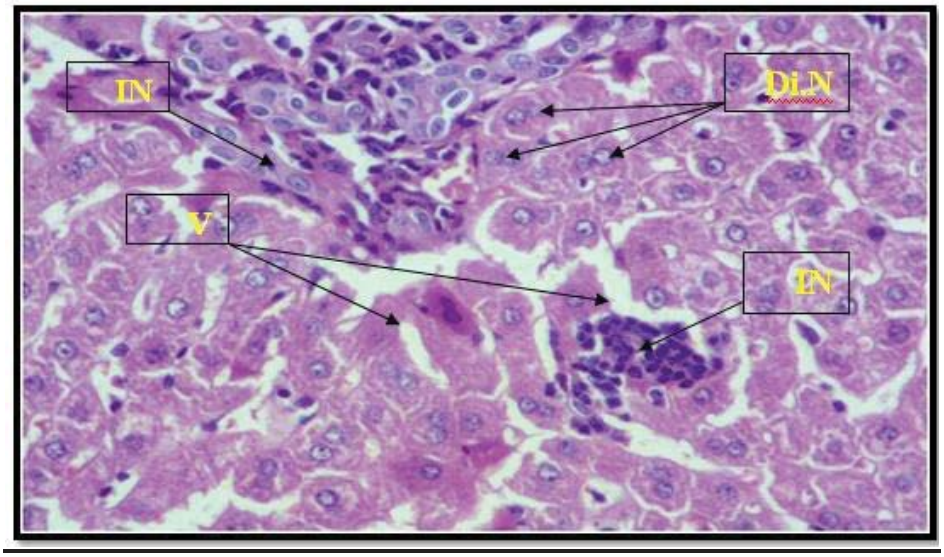
= *Significant (p<0.05)

الدراسة النسيجية

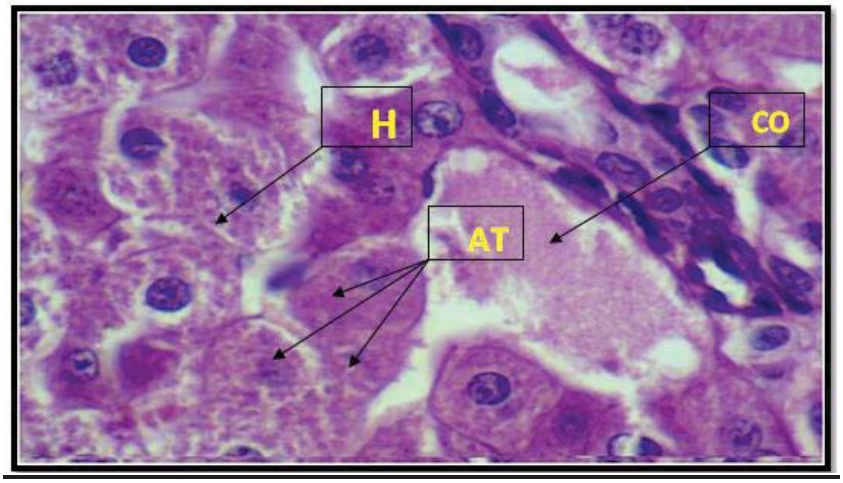
اظهرت نتائج الفحص المجهري للمقاطع النسيجية للكبد المعاملة بعقاريالاميكاسينوالجنتامايسينتغييرات نسجية مرضية يمكن ايجازها بحدوث حالة موت خلوي (تنخر) Necrosese مع احتقان دموي Congestion والتهاب مصحوب بارتشاح الخلايا الالتهابية Infiltration مع وجود مساحات صغيرة من تغيرات استسقائية(انتفاخ الخلايا الكبدية) Hypertrophy فضلا عن ضهور خلايا ثنائيـــــة النواة Di-nucles وضمور بعض انوية لخلايا اخرى Atrophy وتنكس زجاجي Hylinization وازدياد تفجي الجيوب الكبدية وضهور عدد من الفجواتبالاضافة الى وجـــود حالات نزف Bleeding مع فقدان للترتيب الشعاعي.الاشكال (2)(3)(4) بالنسبة للمجاميع المعاملة بعقار الاميكاسيناماباالنسبة للمجاميع المعاملة بعقار الجنتامايسيناالاشكال(5)(6)(7) مقارنة مع مجموعة السيطرة .



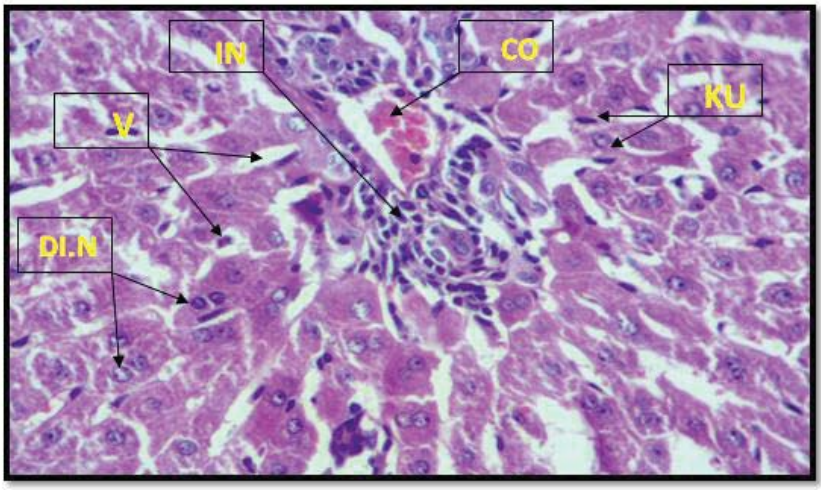
شكل (1) مقطع مستعرض في نسيج كبد الارانب مجموعة السيطره يوضح الفص الكبدي (L)وقناةالصفراء(B.D)والجيوب الكبدية (S) والوريد المركزي (C.V)(H&E:10X)



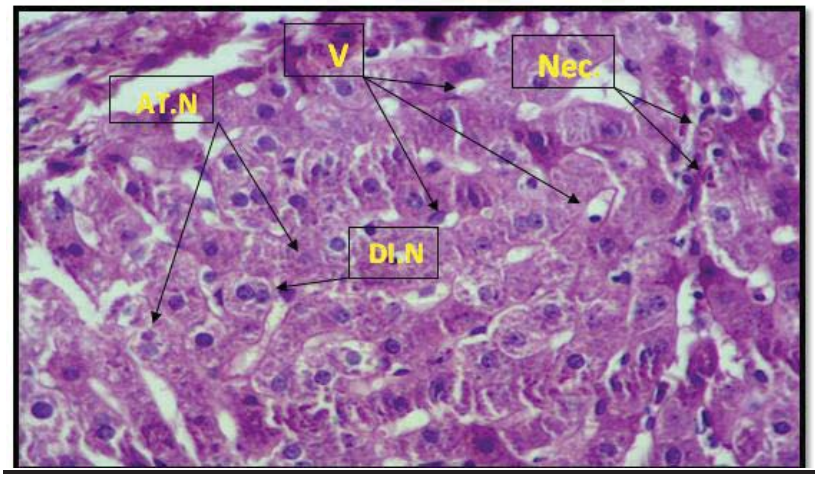
شكل (2)مقطع مستعرض في نسيج كبد الارانب يوضح حدوث حالات ارتشاح للخلايا الالتهابية (IN) وجود خلايا ثنائية النواة (Di.N) مصحوب بظهور عدد من الفجوات (V) (H&E:40X)



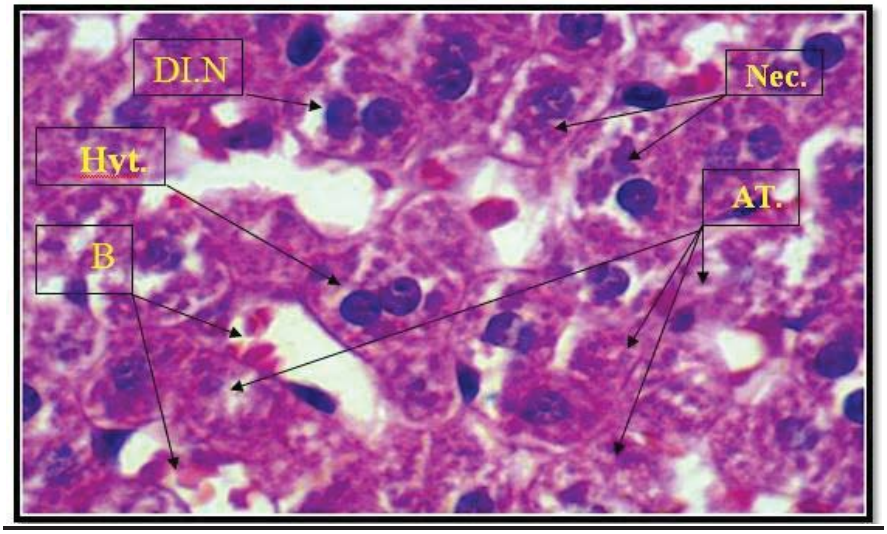
شكل (3)مقطع مستعرض في نسيج كبد الارانب مجموعة يوضح حدوث حالة احتقان دموي(CO) وارتشاح الخلايا الالتهابية(IN) مع وجود تنكس زجاجي بسيط وضمور في انوية بعض انوية الخلايا الكبدية (AT) (H&E:100X)



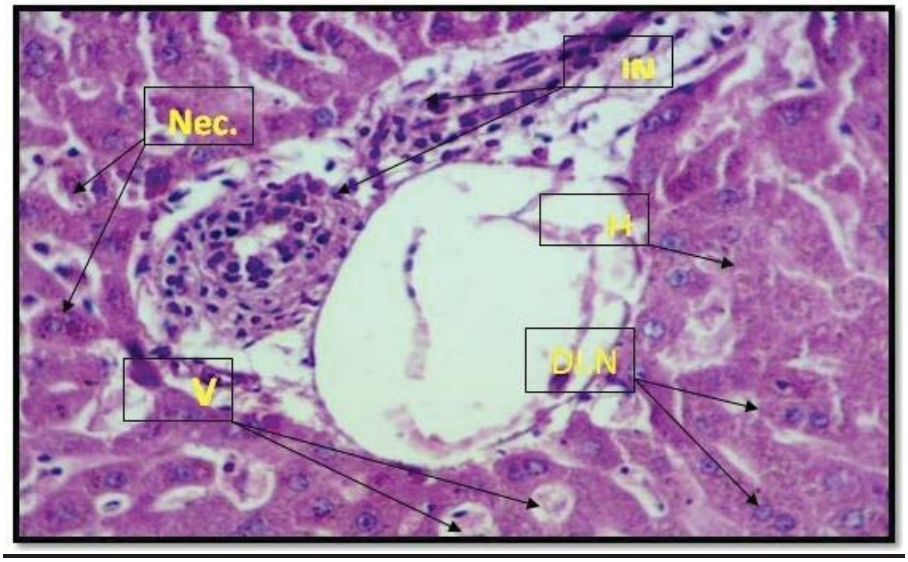
شكل (4)مقطع مستعرض في نسيج كبد الارانب يوضح تفجي الخلايا الكبدية (V)وواحتقان دموي(CO) وارتشاح للخلايا الالهابية(IN) مع ازدياد ضهور خلايا كوفر(KU) وضهور خلايا ثنائية النواة(Di.N) (H&E:40X)



شكل (5) مستعرض في نسيج كبد الارانب يوضح حدوث حالة تنخر بسيط (Nec)وارتتشاحالخلاياالالتهابية مع ضهور خلايا كبدية ثنائية النواة (DI.N) مع ضمور انوية خلايا اخرى(AT.N) (H&E:40X)



شكل (6)مستعرض في نسيج كبد الارانب يوضح حدوث حالات نزف بسيطة (B) وانتفاخ الخلايا الكبدية(Hyt.) مع ضهور خلايا ثنائية النواة (DI.N) بالاضافةالى ظمورانوية خلايا اخرى (AT.)(H&E:100X)



شكل (7)مقطع مستعرض في نسيج كبد الارانب يوضح احتقان الوعاء الدموي(CO)ارتشاح الخلايا الالتهابية (IN)وظهورعدد من الخلايا الكبدية ثنائية النواة (DI.N)مع تنكس زجاجي(H)وعدد من الفجوات(V) (H&E:40X)

المناقشة: Discussion

يعد تقديرفعالية انزيمات الكبد من المؤشرات المهمة في تقييم وضائف الكبد Liver Function اذ تشير هذة الانزيمات الى مدى اعتلال الكبد (Thapaand Corwin.,2008) وفي ضوء ماتوصلت الية نتائج الدراسة الحالية فان هناك ارتفاع معنوي لانزيمGOT عند الجرع العلاجية للمجاميع المعاملة بعقاري الاميكاسينوالجنتامايسين و هذا يتفق مع نتائج Noraniet al,2011);Khanet al,2011;Bhanuet al,2011;Pnale et al,2012 Abbas et al,2013و يفسر ذلك الارتفاع تحرر هذة الانزيمات من السايتوبلازم الى المجرى الدموي بعد اضرار خلايا الكبد و تمزق الاغشية البلازمية نتيجة للجهد التاكسدي العالي الذي تمارسة الجذور الحرة المحفزة بعقارات الامينوكلايكوسايد (Naik and Panda,2007)، اما بالنسبة لانزيمGPT فلم تضهر نتائج الدراسة الحالية اي تغيرات معنوية في مستوى فعالية الانزيم للمجاميع المعاملة بعقاري الجنتامايسينوالاميكاسين على حد سـواء رغم وجود ارتفاعات في معدلات مستوى فعالية الانزيم وهذا لايتفق مع النتائج التي توصل اليها (Alubaidiet al,2013;

(abbas*et al*,2013;Norani*et al*,2011;Singhal*et al*,2011; Rashid*et al* ,2005 و يفسر ذلك ان الضرر الكبدي لم يزل دون مستوى الاعتلال الكبدي المزمن وهذا يتفق مع مايراة(Coppo,2005;Dufour,*et al*,2001)من ان ارتفاع فعالية انزيم GPT دالة جيدة على امراض الكبد المزمنة.

اما بالنسبة لفعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي ALK وفي ضوء نتائج الدراسة الحالية فان هناك ارتفاع معنوي لفعالية الانزيم عند الجرع العلاجية للمجاميع المعاملة بالجنتامايسينوهذا يتفق مع ماتوصلت الية نتائج (Elyazji*et al*,2012;Norani*et al*,2011; El-Tawil,2001) يفسر هذا الارتفاع تغيرات في نفاذية الاغشية نتيجة التسمم الكبدي المستحث بالامينوكلايكوسايد تحث تاثير الجهد التاكسدي نتيجة الانتاج المفرط للجذور الحرة (Fjiskovic and Signal,1997)امابالنسبة للمجاميع المعاملة بالاميكاسين فقد اظهرت انخفاض معنوي في مستوى فعالية الانزيم وهذا لايتفق مع نتائج (Alubaidi*et al*,2013;Abbas*et al*,2013,Dinev*et al*,2005) في حين جاءت نتائج الدراسة الحالية متفقة مع نتائج (Rashid ,2005) وربما يفسر ذلك ارتفاع مستويات الكالسيوم اونقص في عنصري الزنك والفسفورالتي تعتبر عوامل مرافقة لفعالية الانزيم (Dufour, *et al,2001)*

ان تقدير بروتينات البلازما في المصل دالة مهمة لتقييم الوظائف التصنيعية للكبد،وفي ضوء ماتوصلت الية نتائج الدراسة الحالية فان هناك انخفاض معنوي في مستويات البروتين الكلي بالنسبة للمجاميع المعاملة بعقاري الاميكاسينوالجنتامايسين وهذ يتفق مع ماتوصل الية الباحثون (ElyazjI*et al*,2012(Kashif,*et al*,2009;Alqasoumi,*et al*2013 والتي تمخضت عن انخفاض معنوي لمستويات البروتين اوعزت الى عيوب في تخليق البروتين نتيجة لما تمارسه مضادات الامينوكلايكوسايد من تثبيط لعمليات تخليق البروتين من خلال ارتباطها مع الوحدة الرايبوسومية (50S) او قراءة خاطئة لرسالة السلسلة الببتيديةممايؤدي الى انتاج بروتينات غير وظيفية.وربما يعود ذللك الانخفاض الى الانتاج المفرط للجذور الحرة المحفزبالامينوكلايكوسايد والذي يقود الى عشوائية الايض الخلوي وتغيرات في فعالية الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين وهذا التفسير يتفق مع ماتوصلت الية نتائج(Badary*et al*,2000) في حين لم تتفق نتائج الدراسة الحالية في مستويات البروتين مع ماتوصل الية Norani*et al*,2011;Khan*et al*,2011)والتي تمخضت عن ارتفاع معنوي في تركيز البروتين الكلي .

لم تسجل النتائج التي تم التوصل اليها في هذه الدراسة فروق معنوية بين مستويات تركيز الالبومين للمجاميع المعاملة بعقاري الاميكاسينوالجنتامايسين مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذالا يتفق مع نتائج (Badary*et al*,2000Kashif *et al*,2009;Khan *et al* ,2011;) التي اظهرت انخفاض معنوي لمستويات الالبومين عند الجرع العلاجية والجرع المضاعفة وربما يفسر ذلك ان الضرر الكبدي لم يزل دون مستوى الاعتلال المزمن وهذالتفسير يتفق مع ماتوصل الية (Fimbs and Pallister 1999) من اعتلال تصنيع هذا البروتين لدى المرضى الذين يعانون من امراض الكبد المزمنة اما في حالا ت الاعتلالات الحادة فان تركيز الالبومينلايتاثر بصوره ملحوضة فضلا عن كون الكبد يمتازبكفاءة عالية في تصنيع هذا البروتين.

ان تقدير تركيز البيليروبين في المصل ذا أهمية سريرية كبيرة في فحوصات وظائف الكبد، إذ يعدّ دالة تشخيصية حساسة لأمراض اليرقان الكبدي hepatic jaundice (Marshall, 1992)فضلا عن كونة يمتاز بخصائص مضادة للاكسدة الناتجة عن فرط انتاج الجذور الاوكسجينية الحرة (Hanisen *et al*,2001) ويعتبر بمثابة المحامي الخلوي المهم للانسجةالمجهزه بشكل سيئ من مضادات الاكسدة (Temm *et al*,2001) وفي ضوء ما توصلت الية نتائج الدراسة الحالية فان هناك تغيرات معنوية في مستويات البليروبين حيث اظهرت المجاميع المعاملة بعقار ارتفاع معنوي عند الجرع المضاعفة للاميكاسيين والجرع العلاجية للجنتامايسين وهذا يتفق مع ماجاءتبة نتائج (Abbas *et al*,2013; Khan*et al*,2011) في حين لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل اليه (El-Magdoub *et al*,2012) من انخفاض معنوي لمستويات البليروبين، وربما تعزى هذة الزيادة الى فقر الدم الانحلاليمن خلال التغيير في تركيب الأغشية الخلوية وتوقف تخليق البروتينات السكريةGlycoprotein مع تغير في الجهد الفعال للأغشية تحت تاثير

الجهد التأكسدي المستحث بالامينوكلايكوسايد مما يؤدي الى حدوث أنتفاخ وزيادة حجم الخلايا مما يعرضها الى التحلل الخلوي من قبل خلايا Macrophage في الكبد والطحال (Cassim, 2007) وزيادة تحلل الخلايا الحمراء في الكبد والطحالا وتكوين كريات دم بصوره غيرفعالة يزيد من مستوى البليروبين Bilirubin في بلازما الدماوربما يفسر ذلك حدوث انسدادات كبدية داخلية اوخارجية في القنوات الكبدية الصفراوية .

اظهرت نتائج الفحص المجهري للمقاطع النسيجية لأكباد المجاميع المعاملة بعقاري الاميكاسينوالجنتامايسين تغييرات نسجية مرضية وهذا يتفق مع نتائج (Abbas *et al*,2013 ; Khan *et al*,2011; Norani*et al*,2011Naik *et al*,2007) وقد ترجع التأثيرات النسجية المرضية في الخلايا الكبدية الى أن العلاجات الكيمياوية تستحث بقوة للسمية الكبدية من خلال الزيادة في توليد Lipid peroxidation في النسيج الكبدي (Abdurrauf*et al.*, 2007) التي تدمرأنوية الخلايا والبنية الخلوية لأغشيتها ، مما قد يفسر ظهور هذه التأثيرات المرضية في الخلايا الكبدية ، كما أن توليد الجذور الحرة (الأوكسجينية الفعالة) Reactive oxygen species ROS بفعل العلاجات الكيمياوية تتداخل مع النظام الدفاعي المضاد للسموم في الخلايا الكبدية ، مما تنتج الضرر التأكسدي في الأنسجة المختلفة ، أذ تتفاعل مع الثايول في البروتينات والكلوتاثيون مسببة الاختلال الوظيفي في الخلايا الكبدية.

ان الارتباط التساهمي للعوامل الكيمياوية والسموم والامينوكلايكوسايد مع بروتينات داخل الخلية Intracallularproten والدهون الفوسفاتية في اغشية الخلايا يشير الى اضطراب في عمل الاغشية البلازمية من خلال تأثيرة على بروتينات النقل الفعال (Cullen ,2005; Kaloyanides, 1992)اذ تسبب تثبيط عملية التحلل السكري والفسفرةالتاكسدية وبالتالي فان مخازن ال ATP تستنفذ و تؤدي الى خفض مستويات الطاقة وبالتالي فشل عمل مضخات (الصوديوم – بوتاسيوم) ممايؤدي الى الى حدوث اضطراب اوخلل في اليات النقل الايوني مما يؤدي الى تجمع الماء داخل الخلايا بهيئة فجوات كبيرة وصغيرة غير منتضمة وهذا مايفسر انتفاخ الخلايا الكبدية وضهور الفجوات (Kumar 2007;Wilfred,1998). اما بالنسبة لحالة الاحتقان الدموي فان العقار يعمل على حدوث التهاب حاد يؤدي الى تغيرات في انسياب الدم داخل الاوعية (Robbins and Kumar,1987). او قد يعودالىضعفالتصريفالدموينتيجةلانسدادوريديكبدي،مسببأًتوقفاوتعطيللانسيابالدمويخلالالخلاياالبرنكيمية (Mir, 2008, Al-Rawi,2007)

ان تلف الخلايا الكبدية يكون مصاحبا للتفاعل الالتهابي وتح فيز الجهاز المناعي الموضعي لاعضاء الشبكية الداخلية (Reticuluo-endothelium) وهذا بدوره يؤدي الى انجذاب الخلايا الوحيدة والخلايا العدلة الى موضع الاصابة وخصوصا البلاعم الكبيرة. التي تنتج انزيمات حالةلازالة النسج التالفة وخلايا منجذبة اخرى تنتج وسائط خلوية مثل IL-1β و IL-6 و TNF-αو IL-12 و IL-18 التي تساهم في حصول الضرر للنسيج (Paul,1999) فضلا عن كون توسع الاوعية الدموية المصحوب بزيادة النفوذية الوعائية استجابة لبعض الكيماويات او نتيجة لفقدان الجسيمات الرابطة Desmosome التي تقع بين الخلايا البطانية يسمح بمرور خلايا الدم البيضاء لتجد طريقها الى خارج الوعاء الدموي بسبب زيادة المسافات بين الخلايا الاندوثيلية (Cotrane,1999) وهذا مايفسر ارتشاح العديد من الخلايا الالتهابية ، او ربما يكون تنخرالخلاياالكبديةبسب ضعفالتجهيزالدمويللكبدنتيجة لانسدادشرياني اولحصولتخثرفيالشريانالكبدي والذييؤدي الىنقصفيالاوكسجين الذي يسببتحررانزيماتالجسيماتالحالة (Macsween and Whaley ,1992). ان ظهور عدد من الخلايا بشكل ثنائي النواة يمكن ان يعزى لانقسام الخلايا الكبدية أستجابة تكيفية مهمة عنداصابة الكبد بامراض حادة او مزمنة وعند التهاب الخلايا الكبدية او تحطمها ليظهر الانقسام الخلوي لتستبدل هذه الخلايا بخلايا جديدة ومن ثم المحافظة وبالقدر الكافي على اداء الكبد لوظيفته (Ramaiah*et al*,2004).

References:

Abbas,T.Mohammed, H.; Mohammed M.; Al-Kadhi N. and Al-Kadhi, N. A. (2013). Effect of garlic oil on gentamicin induced hepatorenaltoxicity in rats. J. of KerbalaUniversity , Vol. 11 No.2 Scientific,Pp:109-110 .

Allen,E,S.(2002). The liver anatomy,physiology, disease and treatment. Human Anatomy and Physiology,Northeastern University.Pp:5

Alubaidy ,G. F.(2013). Study of the biochemical effect of gum Arabic in liver injury and blood serum of mice induced by gentamicin .Bas.J.Vet.Res.Vol.12,No.1.Pp:243-251

Abdurrauf, Y.; Ahmet, A.; Atessahin, O.; Ali, C. and Mesut, A. (2007). Ellagic acid prevent Cisplatin 10 mg kg-1 platin-Induced oxidative stress in liver and heart tissue of rats. Basic. Clin. Pharmacol. Toxicol. (101).Pp:345-349.

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

Baker, A. A.; Majeed, I. A. and Ismail, D. K. (2009). The Safety Profile of Single Daily Dose of Aminoglycosides in Comparison with Multiple Daily Dose. Iraqi J Pharm Sci , Vol.18 (1) Pp:21-23

Brown, S.A. andRiviere, J.E. (1991). Comparative pharmacokinetics of aminoglycoside antibiotics. J Vet Pharmacol; 14.Pp: 1-35.

Bancroft,J.D.and Steven ,A.(2008).Theory and practices of histological technique.2nd ed.Churchill Living stone.London.,Pp: 662

Bhanu P., and Singhal, M .(2011) Comparative evaluation of the toxicity of Amikacin and Cefepime on rat's kidney and live International Journal of PharmTech Research Vol.3,(4), Pp: 2149-2154.

Badary,O.A.;Abdel-Naim , A.B.;AbdelWahab, M.H.;and Hamada, F.M. (2000). The influence of thymoquinone on doxorubicin- induced hyperlipidemic nephropathy in rats. Toxicology ; 143.Pp: 219-26.

Chambers, H. F. (2001). Goodman andGilman"s the pharmacological basis of therapeutics. In Hardman, J. G., Limbird, L. E., and Gilman, A. G. (Eds.). The Aminoglycosides. New York, NY: The Mcgraw-Hill companies. Pp:1219-1238.

Coppo, N. B; Coppo,J.A.;Barboza, N.N. and prado, w.s. (2005). Serum enzyamatic activities in captive nor The astern-Argentina caymen(Crocodylia: Crocodyliclac). Rer. Vet.;16.Pp: 16-20.

Cassim, L. (2007). Melatonin and anticancer therapy : Interaction with 5-fluorouracil.PhD thesis, Rhodes university, P:425.

Cullen , J. H. (2005) . Mechanistic Classification of Liver Injury.Toxicologic Pathology.33Pp

Cotran, R. S.; Kumar, V. and Collins, T.(1999). Robbins pathologic bases of disease. (6thed). Philadelphia, Pennsylvania, USA.P.1425.

Dufour D. (2001): Evaluation of liver function and injury in clinical (Henry, J. editor). W. B. Saunders Company. P:264.

Doumas, B.T.; Watson. W.A. and Biggs. H.G.(1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. *Clin. Chem. Acta.*, 31.Pp: 87-96.

Doumas, B.T. and Biggs. H.G.(1972). Determination of serum albumin (Standard methods of clinical chemistry). *Acad. Press. N.Y.* ,7.Pp: 175- 188.

Dinev,T. ; Kanakov, D. and Zapryanova.(2005).Investingations on some biochemical and haematological parameters after topramycin and amikacin treatment in female goats. Trakia Journal of Sciences, 3,(5). Pp 14-16.

El-Massry, A.; Meredith ,T.A. ;Aguilar, H.E. (1996). Aminoglycoside levels in the rabbit vitreous cavity after intravenous administration. Am J Ophthalmol . 122(5).Pp : 684-689

Elyazji,N.R.and Abdel-Aziz,I.(2013). Some Hematological and Physiological change associated with Gentamicin and\or NovalginIngection in Rabbits. J.P.C.B.S. 3(1).Pp: 172-181.

El-Tawil, O. S. and Abdel - Rahman, M. S. (2001). The role of enzyme induction and inhibition on cypermethrin hepatotoxicity. Pharmacol Res.; 44(1).Pp:33-40.

El-Magdoub A., Awidat, S.K. Draid, M., Elgerwi, A. and. El-Mahmoudy, A. (2012). Effect of Intramuscular Injection of Tobramycin on Some Biochemical Parameters in Blood of Sheep International J. of Animal and Veterinary Advances 4(2).Pp: 130-134

Fleller,A.;Schuncke,M. and Schuncke,G.(2004). The Human body:AnIntrouduction to structure and fuction.1st ed. Pp:423-428.

Fimbs R. and Pallister T. (1999): Clinical biochemistry.1st Butter worth heinemann, Oxford. Pp: 123 - 230.

Fjiskovic, N. and Signal, P.K. (1997). Lipid lowering: An important factor in preventingadriamycin-induced heart failure. Am. J. Pathol. 150 (92).Pp: 727-734.

Guyton A. and Hall J.(1996): Textbook of medical physiology. 9thed. , Saunders com. philadelphia. Pp: 925.

Gornall, A.C.; Bardawill, C. J. and David, M. M.(1949). *J. Biol. Chem.*. 177.Pp: 751 .

Hall, J. and Adair, T. (1998): Physiology, philadelphia. New York, PP 53.

Hansen, T.W.R. (2001). Bilirubin production, breast-feeding and neonatal jaundice. ActaPaediatrica 90. Pp:716-723.

Jawetz , M. and Adelberg's . (1998). Antimicrobial chemotherapy in Medical Microbiology. Twenty First edition. P:147.

KanopskB,Warwar M.,(2007). Molecular Aspects of aminoglycosides nephrotoxicity.PostepyHig Med Dosw 28,511-8.

Katzung and trevor's (2009). Pharmacology Examination and Board Review9th Edition, New York, Mc.Graw.Hill.Pp: 311-314.

Kasper, D.L. Braunwald, E.(2008). Principles of Internal Medicine.16th ed. New York; Mc.Graw.Hill;Pp:789-805.

Klemens, J.J.; Meech, R.P.; Hughes, L.F.; Somani, S.; Campbell, K.C.M. (2003). Antioxidant enzyme levels inversely Covary with hearing loss after amikacin treatment, J. Am. Acad. Audiol, ,14 (4).Pp: 134-142.

Kind, P. R. N. and King, E.J.(1954). Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino- antipyrine .J. Clin. Path.,7.Pp: 322- 326.

Khan, M.Badar,I.andSiddiquah , A. (2011).Prevention of hepatorenal toxicity with Sonchusasper in gentamicin treated rats. BMC Complementary and A lternative Medicine,11.Pp:113.

Kashif, S.M., M.Z. Khan, I. Javed andA. Khan, (2009). Experimental and Toxicologic. Pathology, 61.Pp: 425-432.

Kumar,V.;Abbas,A.K.;Fausto,N.andMitchell,R.N.(2007). Robbins Basic Pathology.8th ed. SaundersElseevier. Pp:2,9,37,55,84,292,632-634.

KaloyanidesG.J.(1992). Drug-phospholipid interactions: role in aminoglycoside nephrotoxicity. Informa health care,; 14.Pp: 351-357.

Lesniak, W., Pecoraro, V.L. and Schacht, J. (2005). Ternary complexes of gentamicin with iron and lipids catalyze formation of reactive oxygen species. Chem. Res. Toxicol.; 18 (2).Pp: 356-364.

Lenzi, A.; Gandini, L.; Picardon, M.; Tramer, F.; Sandri, G. and Panfili, E.(2000). Lipoperoxidation damage of spermatozoa polyunsaturated fatty acids (PUFA): Scavenger mechanisms and possible scavenger therapics. *Front. Bio. Sci*., 5.Pp: 1-15.

Martinez-Salgado, C.; Lopez-Hernandez, F. J.;and Lopez-Novoa, J. M. (2007). Glomerular nephrotoxicity of aminoglycosides. ToxicolApplPharmacol 223.Pp:86–98.

Mary J. Mycek., Richard A. Harvey., Pamela C. Champe. (2000). Antianginal drugs from Lippincott's lllustrate Reviews Pharmacology, 2nd Edition. Pp: 177, 187.

Magnet, S.; Blanchard, J.S. (2005). Molecular Insights into Aminoglycoside Action and Resistance.Chem. Rev.,105, Pp:477−497.

Mckiley,M.andO'louchlin , V. D. (2006) Human anatomy . McGraw Hill,Boston,New York.Pp:625,816.

Marshall W. (1992): Illustrated textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Gower medical publishing London. New York. Pp 73 – 95.

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

MacSween, R.N. and Whaley, K. (1992). Muir's text book of pathology. 13thed.ELBS with Edward Arnold**.**

Nagai , J. Takano , M., (2004) . Molecular aspects of renal handling of aminoglycosides and strategies for preventing the nephrotoxicity. Drug Metabpharmacokinet19,Pp:159-170.

Noorani, A. Gupta, K .Bhadada, K. and. Kale, M. K. (2011). Protective Effect of Methanolic Leaf Extract of*CaesalpiniaBonduc (L.)* on Gentamicin-Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Rat . IJPT 10:Pp: 21-25

Naik S. R. and Panda ,V.S. (2007). Antioxidant and hepatoprotective effects of Ginkgo bilobaphytosomes in carbon tetrachloride-induced liver injury in rodents. Liver Int;Pp: 27:393-9.

Pnale, L. P.R.; More, B.K. ; More, B.C.; Ghumare, S.B. , Shender and Mote,C.S. (2012). Protectiv effect of CaricaPapayal.Seedextrat in gentamicin induced hepatotoxicty and nephrotoxicity in rats. Int J Pharm Bio Sci; 3(3): Pp: 508 – 515.

Paul, W. E. (1999). Fundamental Immunology, 4th (Ed.) Lippincott-Raven Philadelpia.Pp:154-162.

Rang H .P.; Dale MM, Ritter JM, and Moore PK. (2003). Pharmacology. 5th ed. Bath, UK: Churchill Livingstone.Pp:43-46.

Rybak LP, Whitworth CA. (2005) Ototoxicity: therapeutic opportunities, *Drug Dis Today*, 10 (19), Pp: 1313-1321.

Robbins,S.L.andKumar,V.(1987). Basic pathology.4thed.W.B.Sunderscompany.Philadelphia, London.,Pp:29,31,50-53.

Reitman and Frankel. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am. J. Clin. Patho. 28.Pp: 56 – 59.

Rashid, F. M.; Kaleem, S. and Bano, B. (2005). Comparative effect of olive oil and fish oil supplementation in combating gentamicin induced nephrotoxicity in rats. Indian J. of Clinical Biochem., 20 (1). Pp:109-114.

Ramaiah,S.K.; Rachel ,M.andApte,U.M.(2004). Hepatocyte Proliferation is the Possible Mechanism for the Transient Decrease in Liver(118) Injur During Steatosis Stage of Alcoholic Liver Disease.ToxicologicPathol.. 32(5).Pp: 567-576

Sandhu, J.S.; Sehgal, A. ; Gupta, O. Singh, A. (2007). Aminoglycoside Nephrotoxicity Revisited. *JIACM*; 8(4). Pp : 331-333.

Sikka, S.C.(2004). Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. J. Andro., 25.Pp: 5-18.

Stine,K.E. and Brown,T.M.(2006). Princi 18 Toxology.2nded.Taylor and Francis,Pp:219-245.

Snell R. (2000). Clinical anatomy for medical students. 6th ed. Awolters Kluwer Company. London. Pp: 223-225.

Singhal, M. andPrajapati,B.(2011).In vivo evaluation of aminoglycoside induced nephrotoxicity and hepatotoxicity in albino rats Pharmacologyonline .,2: Pp:451-457 .

Taylor D. (1998) . Biological science 2nd ed. Oxford university press, New York. PP.665.

Tietz, N.W.(1999). Textbook of Clinical Chemistry , 3rd ed., C.A. Burtis, E.R., Ashwood, W.B. Saunders Co., Pp.482-485.

Thapa , B.R. and Walia,A. (2007). Liver function tese and their ineterpretation.IndianJornal of Pediatrics.,(74)Pp:663-671.

Temme, E.H.; Zhang, J.; Schouten, E.G.; Kesteloot, H. (2001). Serum bilirubin and 10-year mortality risk in a Belgian population.Cancer Causes Control, 12.Pp: 887–894.

Watson, R. (2002). Anatomy and physiology for nurses 11th ed .Bailiere Tindall.London.Pp:303,305.

Wilfred, L.; Saraha, M. and Jerrold, S. (1998). Levime: Graded ATP depletion can cause necrosis or apoptosis of cultured mouse proximal tubular cells.Am J physical renal physiol, 274 .Pp: 315-327.

Vladimirov ,Y. (2004) . Biochemistry . 69 (1) Pp : 57 .