The effect of an aqueous extract of garlic's cloves (*Allium sativum*) on the liver and kidneys tissues in the rabbits' male which treated with the Cyclophosphamide drug

تأثير المستخلص المائي لفصوص الثوم (*Allium sativum*) على أنسجة الكبد والكلى في ذكور الأرانب المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (Cyclophosphamide)

علي حسين كاظم العكايشي   أ.د. ستار جاسم حتروش الراجحي
العنوان: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة
البريد الإلكتروني للباحث طالب الماجستير: aliukashi@yahoo.com

بحـــث مستـــــــل

الخلاصة:

تمت دراسة تأثير المستخلص المائي للثوم (*Allium sativum*) في التقليل من التأثيرات السامة لعقار السايكلوفوسفومايد (Cyclophosphamide) على أنسجة الكبد والكلى لذكور الأرانب لخمس معاملات وبواقع خمسة أرانب لكل معاملة من خلال عمل مقاطع نسجية للعضوين المدروسين. أظهرت نتائج الفحص المجهري لأنسجة الكبد التابعة للمعاملة المجرعة بالعقار وجود إحتقان دموي للوريد المركزي مع تنخر شديد للخلايا الكبدية من النوع التجلطي ، وكذلك إرتشاح للخلايا الإلتهابية من نوع العدلة حول الوريد المركزي المحتقن ، إضافة لتفجي سايتوبلازم الخلايا الكبدية مما أدى إلى تضخمها ، وكذلك حدوث تليف واضح حول القنوات الصفراوية. في حين بينت نتائج الفحص المجهري لأنسجة الكلى التابعة لنفس المعاملة وجود ضمور في اللمة الشعرية داخل الكبيبة الكلوية مما أدى إلى كبر حجم فسحة بومان مع وجود تنخر شديد لخلايا النبيبات الملتوية ، كذلك وجود إحتقان دموي شديد للأوعية الدموية (الشرين الكلوي) ، كما لوحظ أيضا وجود تغيرات تنكسية متمثلة بتفجي سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية. وتبين من خلال التجريع بالمستخلص النباتي ولثلاثة تداخلات (قبل، مع، وبعد العقار المستخدم) حدوث تحسن نسبي واضح في أنسجة الكبد والكلى لذكور الأرانب عند التجريع بالمستخلص مع العقار وبعده ، في حين لم تكن هناك فروقات كبيرة تذكر للتأثيرات المرضية على أنسجة العضوين في حالة المعاملة بالمستخلص قبل العقار عند المقارنة مع معاملة التجريع بالعقار فقط.

Abstract:

It has been studied the effect of the aqueous extract of garlic (*Allium sativum*) in reducing the toxic effects of the Cyclophosphamide drug on the liver and kidneys tissues of the male rabbits for five treatments and by five rabbits per treatment through the work of histological sections for the two members studied. The results of microscopic examination for liver's tissues of the treatment which treated by the drug showed the presence of bloody congestion of the central vein with severe necrosis of the hepatocytes from agglutinative kind, as well as infiltration of the inflammatory cells from neutrophils type around the festering central vein, in addition to the vacuolization in a cytoplasm of liver cells leading to inflation, as well as a clear fibrosis around the bile ducts. While the results of microscopic examination for kidneys' tissues belonging to the same treatment showed the presence of atrophy in the capillary wig inside the renal glomerulus resulting in a large volume of Bowman space with a severe necrosis for the cells of convoluted tubules, as well as the presence of severe bloody congestion of blood vessels (the renal arteriole), and also noted the presence of degenerative changes represented by the vacuolization in a cytoplasm of the cells of renal tubules. It has been observed that through dosing with the plant extract for three interventions (before, with, and after the usage drug) got a clear relative improvement in the liver and kidneys tissues of the male rabbits at dosing with the extract with and after using the drug, while there were no significant differences mentioned for the pathological effects of the tow organs tissues in the case of treatment with the extract before using the drug when compared by treatment of the dosing with the only drug.

المقدمة:

أستعملت النباتات الطبية ومستخلصاتها منذ القدم ، إذ كانت الشعوب القدامى تستعملها في علاج مختلف الأمراض التي كانت تصيبهم ، مما أدى إلى إزدياد الإهتمام بالنباتات والأعشاب الطبية سواء بإستعمالها مباشرة دون أي معاملة مثلما كانت تستعمل سابقا ، أو بفصل المركبات الفعالة طبيا منها ومن ثم الإستفادة منها في علاج العديد من الأمراض ، إذ تشكل النباتات مصدرا مهما للمركبات التي تدخل في تحضير العقاقير الطبية المختلفة ، وتكمن أهميتها في أنها لا تحتوي غالبا على مواد ذات تأثير جانبي ضار، فقد أثبتت الدراسات الحديثة أن العديد من العقاقير الطبية ذات المصدر الكيميائي لها تأثيرات جانبية خطيرة ، لذا إتجه العلماء والباحثون في السنوات الأخيرة وبمختلف أنحاء العالم إلى دراسة النباتات الطبية ومعرفة تأثيراتها وفوائدها الوقائية والعلاجية نظرا لأهميتها الكبيرة من النواحي: العلمية ، الطبية ، الصناعية ، التجارية وغيرها [1].

يبرز من بين النباتات الطبية المهمة والتي لها فوائد عدة ، نبات مهم جدا الا وهو نبات الثوم - الذي سيدور محور البحث حوله- المعروف بإسمه العلمي *Allium sativum* ، بينما إسمه الإنكليزي Garlic ، وهو أحد أجناس العائلة الثومية (Alliaceae) ، والجزء الذي يستخدم منه عادة هو الفصوص (Cloves). تمتاز المستخلصات المختلفة لفصوص الثوم بأن لها أعراضا جانبية قليلة جدا على جسم الكائن الحي ، مما أكسب هذا النبات أهميته الكبيرة المعروفة [2].

أثبتت الدراسات الخاصة بعقار السايكلوفوسفومايد ، أن العقار له تأثيرات كبيرة على أنسجة الجسم ، مسببا تغيرات نسجية مرضية واضحة في أعضاء عديدة بالجسم منها: الكبد ، الكلية ، المثانة وغيرها [3] [4] [5].

وكانت البحوث قد أشارت إلى أن عقار السايكلوفوسفومايد سبب ظهور تغيرات نسجية مرضية في كبد وكلية العلجوم [6] ، وعند المعاملة بالعقار يحدث تسمم للكبد ، وتتمثل هذه الحالة بحدوث تنخر وتغيرات دهنية وتليف وتلف للأوعية الدموية ، كما يسبب حدوث إضطراب في وظيفة الكبد ، وبالتالي يؤدي إلى تغير أيض الدواء داخل الكبد. وفي دراسة أخرى بهذا الصدد ، سجلت ظاهرة تسمم الكبد وزيادة في مستوى البيليروبين مع زيادة في مستوى الفوسفات القاعدي وذلك عند إعطاء عقار السايكلوفوسفومايد وعقار Doxorubicin (Adriamycin) لمرضى إبيضاض الدم (Leukemia) ، وعند إجراء الفحص النسيجي لعينة من الكبد ، ثبت حدوث تنخر لخلايا الكبد وترشح الخلايا الدموية البيض إضافة لحدوث تغيرات دهنية في الكبد. ويعتقد العلماء بأن تجمع عقار Doxorubicin داخل الخلايا الكبدية (Hepatocyte) ربما يكون فعالا في إحداث التأثير السمي الضار للكبد إضافة للتأثير الذي يسببه عقار السايكلوفوسفومايد [7].

إن لعقار السايكلوفوسفومايد - حسب إعتقاد بعض الباحثين- تأثيرا مباشرا على الأنابيب الكلوية القريبة والبعيدة وكذلك القنوات الجامعة أيضا [8]. كما أنه من الممكن أن يؤدي إلى تطور الإلتهابات وتولد خلايا ظهارية رقيقة وتشكيل أوعية دموية جديدة. من تأثيرات العلاجات الكيميائية الواضحة أنها تسبب تسمم كلوي مباشر وغير مباشر. تستعمل العلاجات الكيميائية لمعالجة الأورام السرطانية (Cancer Tumors) ، وكثيرا ما تسبب سمية حادة للمرضى ، على الرغم من أن أكبر نسبة سمية تحدث- بمعظم الأحيان- في نخاع العظم ، الجلد ، الجهاز الهضمي والأنسجة ، لكنه كثيرا ما يرتبط بعضها مع سمية كلوية ، إذ أن الآثار غير المباشرة تحدث في الدرجة الأولى نتيجة لتحلل الخلايا السرطانية وتحرير كميات كبيرة من الأيونات داخل الخلايا [9].

إن من النادر حدوث أورام خبيثة للجهاز التناسلي للمرأة ، كما أن تحرير حامض اليوريك (Uric Acid) بكميات كبيرة يمكن أن يؤدي إلى حدوث إعتلال كلوي نتيجة ترسب بلورات حامض اليوريك في الأنابيب الكلوية البعيدة والقنوات الجامعة [10]. هذا وقد تم وصف السمية الكلوية من قبل المختصين في العلاج الكيميائي ، إذ يعتقد أن سبب حدوثها يرتبط في معظم الحالات باستخدام العلاجات الكيميائية الخاصة بالأورام الخبيثة للجهاز التناسلي للمرأة ومن تلك العلاجات المستعملة : Cyclophosphamide ، Mitomycin-C ، Cisplatin و Methotrexate [11]. وقد وجد أن الجرع الكيميائية المحددة غالبا ما تسبب سمية كلوية ، فشل كلوي ، تنخر كلوي أنبوبي ، وذمة خلالية وإنحطاط. ويعتقد أن النبيب الكلوي الداني أو القريب (Proximal Tubule) هو الموقع الأساسي للتأثير السمي الضار لعقار السايكلوفوسفومايد [12] [13].

المواد وطرائق العمل:

الحيوانات المختبرية:

أستعملت في هذه الدراسة بالتحديد ذكور الأرانب (Rabbits) البالغة بعمر 6-7 أشهر، وبأوزان تراوحت بين 1050 - 1080 غم ، فقد تم الحصول عليها من عدة مناطق بالعراق مثل: سوق الغزل في العاصمة بغداد ومحلات بيع الدواجن والطيور في مركز محافظة كربلاء ، وكذلك من سوق الهندية الكبير في قضاء الهندية (طويريج) التابع لمحافظة كربلاء ، إذ تم إيواؤها في بيت حيواني مصغر تم إعداده في منزل الباحث- كون البيت الحيواني الخاص بكلية التربية للعلوم الصرفة ما يزال قيد الإنشاء- وكان بمواصفات وظروف مختبرية ملائمة لإجراء التجربة من: تهوية ، إضاءة ، تدفئة وتبريد ... إلخ ، إذ وضعت الحيوانات في أقفاص مصنوعة من الخشب وأخرى من الألمنيوم ، وفرشت الأرضية بالكرتون مع وضع كمية من نشارة الخشب عليه والتي تستبدل بين مدة وأخرى وذلك للمحافظة على نظافة المكان والحيوانات ، كما أعطيت العليقة الغذائية (بلت) والماء اللازم لها بصورة حرة ، تركت الحيوانات مدة أسبوعين للتأكد من خلوها من الأمراض المختلفة ولكي تتأقلم مع ظروف التجربة قبل إخضاعها للدراسة (صورة رقم 1).

النبات المستعمل بالدراسة:

أستعملت في هذه الدراسة الفصوص الجافة لنبات الثوم ، والمتوفرة في السوق المحلية لدى العطارين وبائعي الأعشاب الطبية المتواجدين في محافظة كربلاء كما في الصورة رقم (2). أستعمل (في تجربة هذه الدراسة) بالتحديد المستخلص المائي لفصوص هذا النبات بتركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان [14] ، إذ جرعت حيوانات التجربة (فمويا) بالمستخلص بعد خلط الوزن المطلوب منه مع الماء المقطر (Distilled Water) ، إذ يعد الماء المقطر في هذه الحالة وسطا ناقلا للمستخلص النباتي.

العقار المستعمل بالدراسة:

أستعمل في هذه الدراسة عقار السايكلوفوسفومايد (Cyclophosphamide) ، والمتوفر في الصيدليات والمذاخر الدوائية في محافظة كربلاء ، ويحمل هذا العقار أسماء تجارية عديدة أبرزها الاسم التجاري إندوكسان (Endoxan) ، ويكون إما بشكل فيالات (Vials) خاصة بالحقن ، أو بشكل حبوب (Taplets) خاصة بالتجريع. أستعمل (في تجربة هذه الدراسة) بالتحديد الحبوب من صناعة شركة Baxter الدوائية ذات المنشأ الهندي (India) كما في الصورة رقم (3) ، لغرض التجريع بتركيز 20 ملغم \كغم من وزن الجسم للحيوان [14] [15] ، إذ جرعت حيوانات التجربة (فمويا) بالعقار بعد خلط الوزن المطلوب منه مع الماء المقطر، إذ يعد الماء المقطر في هذه الحالة وسطا ناقلا للعقار الكيمياوي.

تحضير المستخلص النباتي:

تم تحضير المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم بإستعمال الماء المقطر، وحسب طريقة Sato وآخرون [16] مع بعض التحويرات عليها وكما يلي:

تم أخذ وزن معين من فصوص نبات الثوم وتقشيرها ثم غسلها بالماء المقطر جيدا ، بعد ذلك قطعت الفصوص الى قطع صغيرة لتسهيل عملية جفافها ، ثم تركت في الهواء الطلق لتجف ، وبعد جفافها جيدا طحنت قطع الفصوص الجافة لنبات الثوم بالمطحنة الكهربائية الى مسحوق جاف ، إذ تم أخذ وزن معين منه ، ثم خلط مع المذيب وهو (في هذه الدراسة) الماء المقطر ، تمت مجانسة الخليط جيدا في خلاط كهربائي لمدة 30 دقيقة ، بعدها رشح المحلول الناتج باستخدام قطعة قماش ، ثم وضع الراشح في فرن كهربائي بدرجة حرارة 50 درجة مئوية لمدة 24 ساعة للحصول على المستخلص الجاف ، بعدها تم جمع المسحوق الجاف للثوم وحفظ في الثلاجة داخل قنينة معتمة ومعقمة بدرجة حرارة أربع درجات مئوية لحين الإستخدام.

جمع عينات الكبد والكلى:

بعد إنتهاء التجربة مباشرة ، تم تخدير الحيوانات بالكلوروفورم لمدة زمنية قصيرة والتضحية بها بتشريحها لإستئصال الأعضاء المطلوبة. تم عزل الكبد والكلى منها وتنظيفها جيدا عن طريق غسلها بالماء لإزالة الدم المتبقي عليها ، بعدها تم تنشيف الأعضاء بوضعها على ورقة ترشيح (Filter Paper) ، وبعد تثبيت أوزان الأعضاء كاملة ، تم تقطيعها إلى قطع أصغر بشكل طولي وعرضي لسهولة حفظها مع ضمان وصول المادة الحافظة إليها ، ثم حفظت العينات المقطعة في عبوات زجاجية معلمة جافة ونظيفة ذات غطاء محكم حاوية على مادة حافظة هي الفورمالين (Formalin) المخفف بماء الحنفية الجاري وبتركيز10% ، بعدها تركت هذه العبوات لحين إجراء التقطيع النسيجي عليها لاحقا.

عمل المقاطع النسجية:

حضرت المقاطع النسجية إعتمادا على الطريقة الموصى بها من قبل Humason [17]. تمت إزالة المثبت عن طريق غسل العينات جيدا بكحول أثيلي تركيزه 70% لعدة مرات حتى زوال اللون الأصفر من العينات ، بعدها أجريت الخطوات المتسلسلة التالية:

1. الإنكاز (Dehydration):

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

2. الترويق (Clearing):

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

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

4. الطمر (Embedding):
تم طمر العينات بنفس نوع الشمع المستعمل في عملية الإرتشاح ، إذ سكب الشمع المنصهر في قالب خاص كان قد نقلت العينات إليه لغرض تقطيعها فيما بعد إلى مقاطع نسجية رقيقة ، إذ ثبتت العينات بالمكان الصحيح داخل القالب ، فبعد صب الشمع ، برد القالب بسرعة بثلاجة خاصة تحضيرا لعملية التقطيع.

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

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

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

8. الفحص والتصوير المجهري (Examination & Microphotography):
تمت عملية فحص وتصوير المقاطع النسجية لعينات الكبد والكلى (المحضرة بالمراحل المتسلسلة أعلاه) بإستخدام مجهر ضوئي (Light Microscope) نوع MEIJI ، مزود بكاميرا رقمية (Digital Camera) نوع كانون (Canon) عالية الدقة.

النتائج:

في الدراسة الحالية ، تم عمل مقاطع نسجية عديدة لنسيجين مهمين جدا في جسم الكائن الحي هما نسيجي الكبد (Liver) والكلية (Kidney) ، وقد تم إجراء الفحص والتصوير المجهري لجميع الحالات المدروسة (الطبيعية ، المصابة ، والتداخلات الثلاثة بين المستخلص النباتي والعقار) مع تفسير للنتائج ومناقشتها ، إذ وجد ومن خلال إجراء الفحوصات المجهرية حدوث تغيرات نسجية مرضية متفاوتة في شدتها بين تلك الحالات المذكورة آنفا للنسيجين المدروسين ، وكما يتضح فيما يلي:

أنسجة الكبد:

الحالة الطبيعية:
أوضحت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب الطبيعية وجود وريد الكبد المركزي (Central Vein) ، والذي يعد فرعا من فروع الوريد البابي الكبدي ، إذ لا يظهر فيه إحتقان دموي (Blood Congestion) على الإطلاق ، كما لوحظت أيضا حبال من الخلايا الكبدية (Cords of Hepatocytes) تتضمن العديد من الخلايا الكبدية (Hepatocytes) ، وتنحصر بين هذه الحبال فسحات بينية واضحة تعرف بالجيبانيات الكبدية (Hepatic Sinusoids) ، فيما إمتازت هذه الخلايا وكذلك الجيبانيات بأشكالها الطبيعية (صورة رقم 4).

حالة الإصابة بالعقار:
أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز 20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) فقط ولمدة 30 يوما بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (الطبيعية) حدوث تغيرات نسجية مرضية واضحة تمثلت بوجود إحتقان دموي في الوريد المركزي ، مع وجود تنخر شديد بالخلايا الكبدية وهذا التنخر من النوع التجلطي

(Coagulative Necrosis) ، إضافة إلى حدوث إرتشاح للخلايا الإلتهابية من نوع العدلة (Neutrophils) حول الوريد المركزي المحتقن ، كذلك حدوث ظاهرة التفجي (Vacuolization) في سايتوبلازم الخلايا الكبدية ، ويتضح ذلك من خلال تضخم الخلايا الكبدية نتيجة إصابتها بالإستسقاء (Hydropic Degeneration) وذلك بسبب ترسب كميات من الماء داخل الخلايا مما أدى إلى إختفاء الجيبانيات بينها ، كما لوحظ أيضا وجود تليف (Fibrosis) واضح حول القنوات الصفراوية (Bile Ducts) (صورة رقم 5).

حالات التداخل بين المستخلص النباتي والعقار المستخدم:

- المستخلص قبل العقار:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوما قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوما أخرى حدوث تغيرات نسجية مرضية تمثلت بوجود إحتقان دموي في الوريد المركزي ، مع وجود تنخر متوسط الشدة ببعض الخلايا الكبدية وهذا التنخر من النوع التجلطي أيضا ، إضافة إلى حدوث إرتشاح للخلايا الإلتهابية من نوع العدلة أيضا حول الوريد المركزي المحتقن ، كذلك حدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية ، ويتضح ذلك من خلال تضخم الخلايا الكبدية نتيجة إصابتها بالإستسقاء وذلك بسبب ترسب كميات من الماء داخل الخلايا مما أدى إلى إختفاء الجيبانيات بينها (صورة رقم 6).

- المستخلص مع العقار:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مع عقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) في آن واحد لمدة 30 يوما حدوث تغيرات نسجية مرضية بسيطة تمثلت بوجود إحتقان دموي قليل في الوريد المركزي ، مع وجود تنخر(Necrosis) خفيف ببعض الخلايا الكبدية وهذه الخلايا كانت أقرب للحالة الطبيعية ، كذلك حدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية ، ويتضح ذلك من خلال تضخم الخلايا الكبدية نتيجة إصابتها بالإستسقاء وذلك لترسب كميات من الماء داخل الخلايا مما أدى إلى إختفاء الجيبانيات بينها (صورة رقم 7).

- المستخلص بعد العقار:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوما بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوما أيضا حدوث تغيرات نسجية مرضية تمثلت بوجود إحتقان دموي في الوريد المركزي ، مع وجود تنخر قليل الشدة ببعض الخلايا الكبدية وهذه الخلايا كانت قريبة للحالة الطبيعية ، إضافة إلى حدوث تغيرات تنكسية متمثلة بالتورم الغيمي (Cloudy Swelling) ، كذلك حدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية ، ويتضح ذلك من خلال وجود تضخم بسيط بالخلايا الكبدية نتيجة إصابتها بالإستسقاء وذلك بسبب ترسب كميات قليلة من الماء داخل الخلايا مما أدى إلى إختفاء أغلب الجيبانيات بينها (صورة رقم 8).

أنسجة الكلى:

الحالة الطبيعية:

أوضحت نتائج الفحص المجهري لنسيج كلية ذكور الأرانب الطبيعية وجود الكبيبة الكلوية (Glomeruli) والمكونة من محفظة بومان (Bowman Capsule) وفسحة بومان (Bowman Space) إضافة للمة الشعرية (مجموعة من الشعيرات الدموية Blood Capillaries) في المركز، كذلك وجود عدد كبير من النبيبات الملتوية (Convoluted Tubules) المتناثرة بشكل ملحوظ حول الكبيبة الكلوية ، فيما إمتازت الكبيبة وكذلك النبيبات بأشكالها الطبيعية (صورة رقم 9).

حالة الإصابة بالعقار:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كلية ذكورالأرانب المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) فقط ولمدة 30 يوما بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (الطبيعية) حدوث تغيرات نسجية مرضية واضحة تمثلت بوجود حالة ضمور للمة الشعرية داخل الكبيبة الكلوية مما أدى إلى كبر حجم فسحة بومان ، كذلك وجود حالة تنخر شديد لعدد من خلايا النبيبات الملتوية (صورة رقم 10أ).

فيما أوضحت الصورة رقم (10ب) وجود إحتقان دموي شديد للأوعية الدموية (الشرين الكلوي Renal Arteriole).

في حين بينت الصورة رقم (10ج) وجود تغيرات تنكسية متمثلة بحدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية (Cells of Renal Tubules) ، ويتضح ذلك من خلال تضخم هذه الخلايا نتيجة إصابتها بالإستسقاء ، وذلك لترسب كميات من الماء داخل هذه الخلايا مما أدى إلى إزاحة الأنوية إلى الجوانب.

حالات التداخل بين المستخلص النباتي والعقار المستخدم:

- المستخلص قبل العقار:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوما قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوما أخرى حدوث تغيرات نسجية مرضية تمثلت بوجود إحتقان دموي للأوعية الدموية (صورة رقم 11أ).

فيما أوضحت الصورة رقم (11ب) وجود تغيرات تنكسية متمثلة بحدوث ظاهرة التفجي في سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية.

- المستخلص مع العقار:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كلية ذكور الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز 100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مع عقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) في آن واحد لمدة 30 يوما حدوث تغيرات نسجية مرضية بسيطة تمثلت بوجود تنخر لبعض خلايا النبيبات الملتوية ، بينما كانت الكبيبة الكلوية (بما فيها من فسحة بومان واللمة الشعرية) أقرب إلى الحالة الطبيعية (صورة رقم 12أ).

فيما أوضحت الصورة رقم (12ب) وجود حالة إحتقان دموي قليلة للأوعية الدموية.

- المستخلص بعد العقار:

أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج كلية ذكور الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لفصوص الثوم (تركيز100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوما بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) ولمدة 30 يوما أيضا حدوث تغيرات نسجية مرضية تمثلت بوجود تنخر لعدد من خلايا النبيبات الملتوية ، بينما كانت الكبيبة الكلوية (بما فيها من فسحة بومان واللمة الشعرية) قريبة للحالة الطبيعية (صورة رقم 13أ).

فيما أوضحت الصورة رقم (13ب) وجود إحتقان دموي للأوعية الدموية.

المناقشة:

إن التغيرات المرضية الحاصلة في أنسجة الكبد والكلى لذكور الأرانب والمذكورة أعلاه ، ظهرت بدرجات متفاوتة من ناحية الشدة ، إذ كانت أكثرها شدة في حالة التجريع بالعقار فقط (مجموعة السيطرة الموجبة) ، وأقلها شدة في حالة التجريع بالمستخلص النباتي مع العقار في آن واحد (الحالة الوقائية) ، بينما كان هنالك تحسن نسبي للنسيجين المدروسين في حالة المعاملة بالمستخلص النباتي بعد التجريع بالعقار(الحالة العلاجية) ، في حين أن التأثر بالعقار المستخدم كان مقاربا في شدته بالنسبة لحالة المعاملة بالمستخلص النباتي قبل التجريع بالعقار مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (المعاملة بالعقار فقط).

إن تلك التغيرات المرضية الملاحظة في نسيج الكبد مثل حالات الإحتقان الدموي في الوريد المركزي والتنخر التجلطي للخلايا الكبدية وكذلك إرتشاح الخلايا الإلتهابية من نوع العدلة ، فإنها تحدث بسبب الإجهاد التأكسدي الذي يسببه العقار المستخدم ، وذلك نتيجة تولد الجذور الحرة (Free Radicals) ، فهناك عدة إنزيمات مختزلة (Reductase Enzymes) يمكن أن تحفز إختزال عقار السايكلوفوسفومايد إلى مواد أيضية سامة في الخلايا الكبدية ومنها إنزيم NADH Cytochrome-b5 Reductase ، وهو الإنزيم السائد في المايتوكوندريا والقادر على تحويل العقار إلى عامل ألكيلي للحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين (DNA) وتكوين الجذور الأوكسجينية ، فيما تعمل هذه الجذور على تضرر الأنسجة وباقي الأنظمة الحياتية لجسم الكائن الحي [18]. إن التنخر الحاصل للخلايا الكبدية جاء متفقا مع ما أكدت عليه دراسة Al-Rawi [19] في أن هذا التنخر يحدث بسبب ضعف التجهيز الدموي للكبد نتيجة لإنسداد شرياني (Arterial Thrombosis Occlusion) ، وكذلك لحصول حالة تخثر في الشريان الكبدي (Hepatic Artery) ، والذي يؤدي بدوره إلى حصول نقص في الأوكسجين الواصل لنسيج الكبد (Hypoxia) ، وهذا النقص غالبا ما يسبب تحرر إنزيمات الجسيمات الحالة (Lysosomal Enzymes) ، وكذلك تحرر مواد إفرازية أخرى (Secretary Products) إلى الدم ، وهذا ما يفسر حدوث حالات التنخر والتلف للخلايا الكبدية [20]. إن حالات الإحتقان الدموي الحاصلة في الوريد المركزي للكبد قد يعزى سببه إلى حدوث ضعف في التصريف الدموي نتيجة لإنسداد وريدي كبدي ، مما يتسبب بتوقف أو تعطيل للإنسياب الدموي خلال الخلايا البرنكيمية الكبدية ، وهذا ما أشار إليه كل من Al-Rawi [19] و Mir وآخرون [21] خلال دراستهم لنسيج الكبد.

في حين أن ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية تحدث كنتيجة لإستعمال عقار السايكلوفوسفومايد ، وهذا يتفق مع ما توصل إليه Sanad وآخرون [22] ، إذ أشاروا إلى حدوث التفجي في هيولي الخلايا الظهارية الخاصة بالطبقة المخاطية للأمعاء وبهيئة مشابهة لتلك التي وصفت في الكبد نتيجة المعاملة بالعقار نفسه ، كما سجلت أيضا حالات التفجي في خلايا نسيج الأمعاء بنفس العقار ولكن بنسبة أعلى مما هي عليه في حالة نسيج الكبد ، وقد بيّن Robbins & Angell [23] أن ظهور الفجوات وبوضوح في السايتوبلازم هو أحد علامات الإستجابة الأولية المهمة للماء الداخل كماء كافٍ متجمع داخل هذه الخلايا ، مما يؤدي إلى تضخم الخلايا وإزاحة أنويتها إلى الجوانب. كما أن تفجي السايتوبلازم من المرجح أن يكون سببه حصول تلف (Damage) للخلايا الكبدية ، وهذا يحدث نتيجة لأسباب مناعية (Immunologic) ، أو نتيجة للتأثير السمي لعقار السايكلوفوسفومايد ، إذ أن الإجهاد التأكسدي الناتج من تجمع الجذور الحرة في الكبد يسبب تحطم الخلايا الكبدية ، بالإضافة إلى أكسدة الدهون (Lipids Peroxidation) لغشاء الخلية أو لأغشية المايتوكوندريا ، مما يسبب ظهور الإستجابة الإلتهابية والمناعية [24].

إن التحسن الملاحظ في نسيج الكبد جراء التجريع بالمستخلص النباتي قيد الدراسة يثبت كفاءة المستخلص في حماية أنسجة الكبد من التغيرات النسجية المرضية الحاصلة نتيجة التجريع بالعقار، وخاصة تلك التغيرات المتسببة عن الجهد التأكسدي ، فقد أثبت Hamza [25] في دراسة أجراها على نبات عرق السوس (الحاوي على أغلب المواد الفعالة كيميائيا والمتواجدة في مستخلص الثوم) ، بأن إستخدام هذا النبات قلل من تنخر أنسجة الكبد والحاصل بسبب الجهد التأكسدي المستحث في الجرذان. وعليه ، فإن الدراسة الحالية تثبت أن المستخلص يمتلك خواص مضادة للأكسدة ، كما أن للمركبات الفعالة المتواجدة في مستخلص الثوم وخاصة الفلافونيدات لها دور مهم في حماية أنسجة الكبد من تأثيرات المركبات السامة كرباعي كلوريد الكربون (CCl4) والأفلاتوكسينات [26] ، وجاءت هذه النتيجة متفقة مع ما توصل إليه الباحثون Lee وآخرون [27] وذلك من خلال إعطائهم المستخلص المائي لنبات عرق السوس (بجرعة 50 و100 ملغم\كغم من وزن الجسم) عن طريق الفم كجرعة علاجية لمدة ثلاثة أيام متتالية في جرذان محدث فيها تسمم كبدي بواسطة الكادميوم ، إذ أدى ذلك إلى تقليل الإحتقان الدموي والتنخر الكبدي مؤكدين بذلك الدور العلاجي لنبات عرق السوس وأمثاله بسبب إحتوائه على مادة الفلافونيدات الفعالة (الموجودة في مستخلص الثوم أيضا) ومن ضمنها Liquiritigenin ، علاوة على وجود الكليسيرايزين ، والذي يمتلك تأثيرا وقائيا وعلاجيا على نسيج الكبد. جاءت هذه النتائج متفقة (من حيث المبدأ) مع ما توصلت إليها دراسة الباحثين Dashti & Morshedi [28] والتي بينت بأن وجود مسحوق نبات القرنفل (الحاوي أيضا على أغلب المركبات الكيميائية الفعالة والمتواجدة في مستخلص الثوم قيد الدراسة) في طعام الفئران المعاملة برباعي كلوريد الكاربون السام ، قد قلل من التغيرات النسجية المرضية الحاصلة لأنسجة الكبد وأعادها تدريجيا إلى الحالة الطبيعية. إن وجود مادة الفلافونيدات في المستخلص المائي للثوم قد يكون هو السبب وراء التحسن التدريجي لنسيج الكبد في حالة التجريع بهذا المستخلص ، إذ تعد الفلافونيدات من مضادات الأكسدة المهمة والتي تكون بمثابة آلية الحماية الوقائية للكبد من التأثيرات السامة للعقار المستخدم ، فبواسطة هذه المواد الفعالة كيميائيا يتم إكتساح الجذور الحرة المتكونة بفعل العقار، وبذلك يتم حماية الكبد بإصلاح الأضرار التي لحقت به ، وبالتالي يعود من جديد لأداء وظائفه الحيوية المهمة [29].

أما تلك التغيرات المرضية الملاحظة في أنسجة الكلى مثل حالات الضمور الواضح للمة الشعرية والتنخر لخلايا النبيبات الملتوية وكذلك حالات الإحتقان للشرينات الكلوية مع حدوث تغيرات تنكسية متمثلة بظاهرة التفجي في سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية ، فإنها تحدث نتيجة التأثيرات المباشرة والسامة لعقار السايكلوفوسفومايد المستخدم ، وهذا يتفق مع ما أشار إليه الباحث Schilsky [8] والذي أكد بأن العقار قيد الدراسة الحالية له تأثير مباشر على النبيبات الكلوية الملتوية القريبة والبعيدة وكذلك الأنابيب الجامعة للبول. من جهة أخرى ، فإن تحرير حامض اليوريك بكميات كبيرة من الممكن أن يؤدي إلى حصول خلل في وظيفة الكلى ، وذلك لترسب بلورات هذا الحامض في النبيبات الكلوية المختلفة ، وهذا ما أوضحه الباحث Barton [10]. لقد تم وصف التأثيرات السمية الحاصلة للكلى من قبل المختصين بالعلاج الكيمياوي ، والذين إعتقدوا بأن سبب حدوث هذا التسمم للكلى قد يكون راجعا إلى إستعمال الأدوية الكيمياوية (عقار السايكلوفوسفومايد واحدا منها) الخاصة بالأورام السرطانية ، إذ وجد بأن الجرع الكيمياوية المحددة للمرضى المصابين بالسرطان غالبا ما تسبب سمية كلوية ، فشل كلوي وتنخر كلوي أنبوبي [11].

إن التحسن الملاحظ في أنسجة الكلى جراء التجريع بالمستخلص النباتي قيد الدراسة يثبت كفاءة المستخلص في حماية أنسجة الكلى من التغيرات النسجية المرضية المتسببة عن التجريع بالعقار، لكن هذا التحسن كان تحسنا طفيفا ، وقد يعزى سبب ذلك إلى أن الكلية تعد العضو المهم والفعال في تخليص الجسم من المواد السامة الناتجة عن الفعاليات الأيضية لجسم الكائن الحي ، وكذلك فهي حساسة جدا للعوامل السامة والتي تسبب تلفا كبيرا للقشرة (Cortex) (تحديدا محافظ بومان والنبيبات الكلوية الملتوية) واللب (Medulla) (تحديدا عروات هنلي والنبيبات الكلوية الجامعة) ، أو قد تسبب أضرارا كلوية أخرى ، وهذا ما أشار إليه الباحثون Herber وآخرون [30] في دراستهم للتأثر المبكر للكلية عن طريق التعرض للمعادن الثقيلة المتواجدة في البيئة. أما الباحثون Pistacor وآخرون [31] فقد أشاروا إلى أن المناطق النسجية الأكثر تأثرا بالكلية هي القشرة ، إذ تعد قشرة الكلية إحدى أهم المواقع الحساسة فيها ، وأن أول خلل ممكن أن يحدث للكلية يتمركز بالتحديد في النبيبات الكلوية (Renal Tubules) القريبة من القشرة.

الإستنتاج:

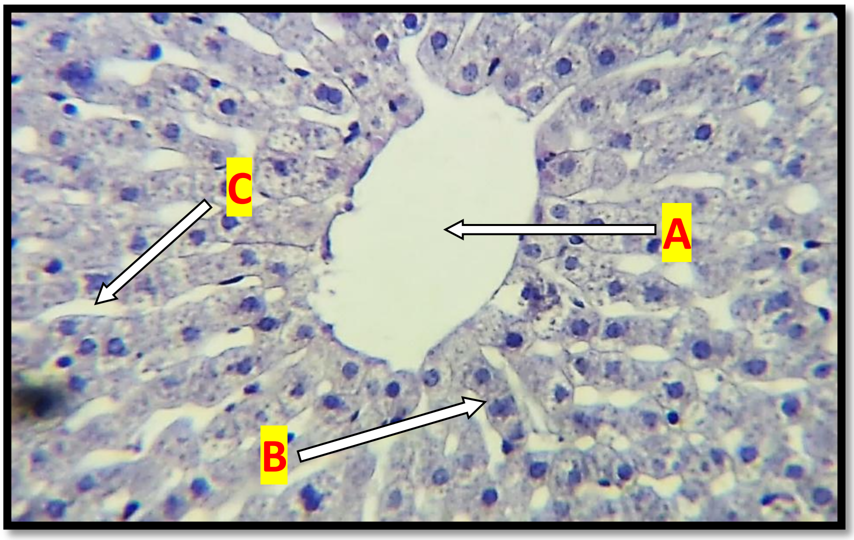
1. إن تجريع ذكور الأرانب بعقار السايكلوفوسفومايد (تركيز20 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) لمدة 30 يوما ، أدى إلى حدوث تغيرات نسجية مرضية (متفاوتة في شدتها) واضحة في أنسجة كل من الكبد والكلى.

2. إن تجريع ذكور الأرانب بالمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم (تركيز100 ملغم\كغم من وزن الجسم للحيوان) مدة 30 يوما ولثلاثة تداخلات (قبل ، مع وبعد العقار) له فعالية جيدة نسبيا في التقليل من التأثيرات السمية للعقار المستخدم ، إذ تبين أن التجريع بالمستخلص مع العقار كانت له الفعالية الأقوى ، بينما كان التجريع بالمستخلص بعد العقار أقل فعالية من السابق ، في حين أن التجريع بالمستخلص قبل العقار كان له فعالية ضعيفة في التقليل من تأثيرات عقار السايكلوفوسفومايد فيما يخص المعايير النسجية المدروسة.

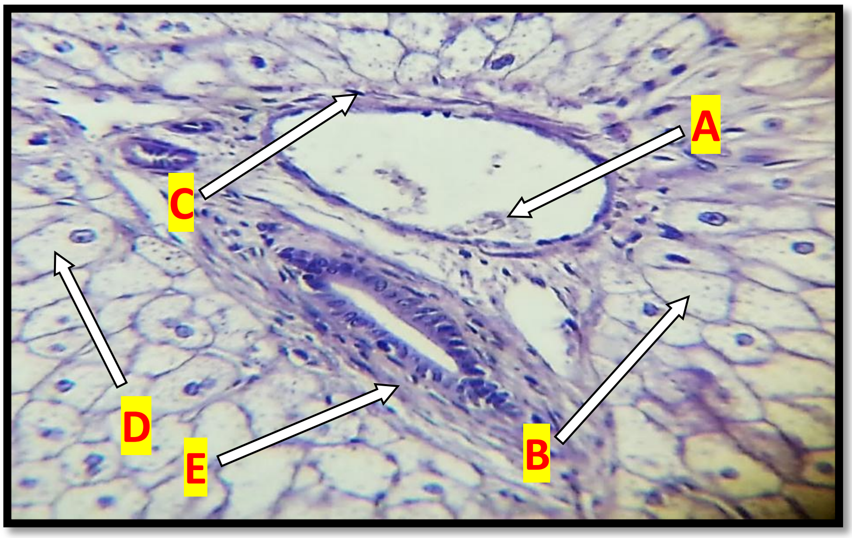
صورة رقم (1): نموذج لحيوانات التجربة (الأرانب)

صورة رقم (2): الثمار الجافة لنبات الثوم بشكل فصوص مغلفة بقشرة خارجية

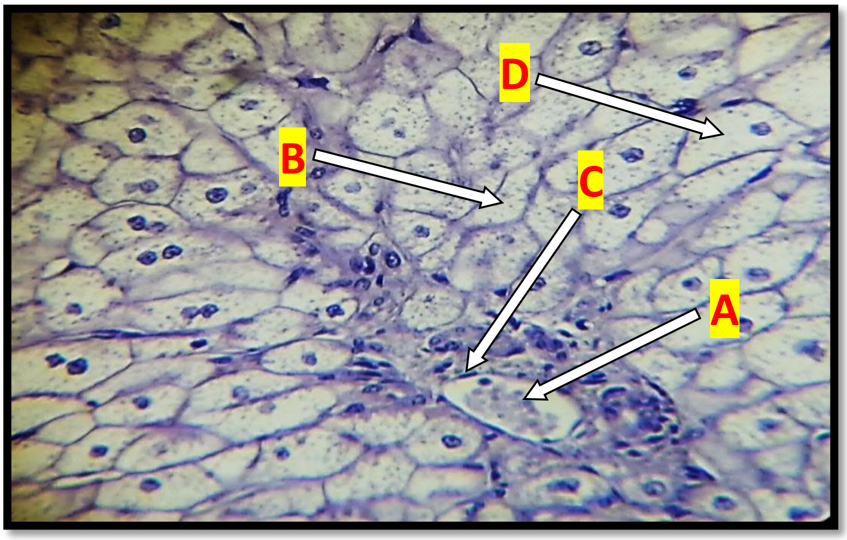
صورة رقم (3): عقار السايكلوفوسفومايد (Endoxan) بشكل حبوب وبوزن 50 ملغم لكل حبة



صورة رقم (4): مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب طبيعي (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:
A- وريد مركزي غير محتقن B- حبال من الخلايا الكبدية
C- جيبانيات واضحة بين الحبال الكبدية



صورة رقم (5): مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب معامل بعقار السايكلوفوسفومايد فقط (400X) (صبغة .H.&E)
يتضح فيه مايلي:
A- إحتقان دموي في الوريد المركزي B- تنخر شديد بالخلايا الكبدية من النوع التجلطي C- إرتشاح للخلايا الإلتهابية من نوع العدلة حول الوريد المركزي المحتقن D- ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية E- تليف حول القنوات الصفراوية

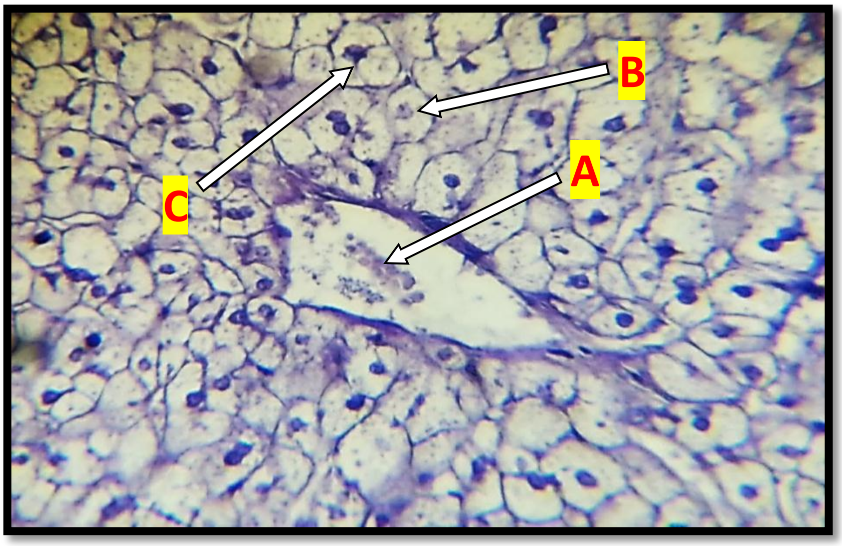


صورة رقم (6): مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب معامل بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:

A- إحتقان دموي في الوريد المركزي B- تنخر متوسط الشدة ببعض الخلايا الكبدية من النوع التجلطي

C- إرتشاح أقل للخلايا الإلتهابية نوع العدلة حول الوريد المركزي المحتقن

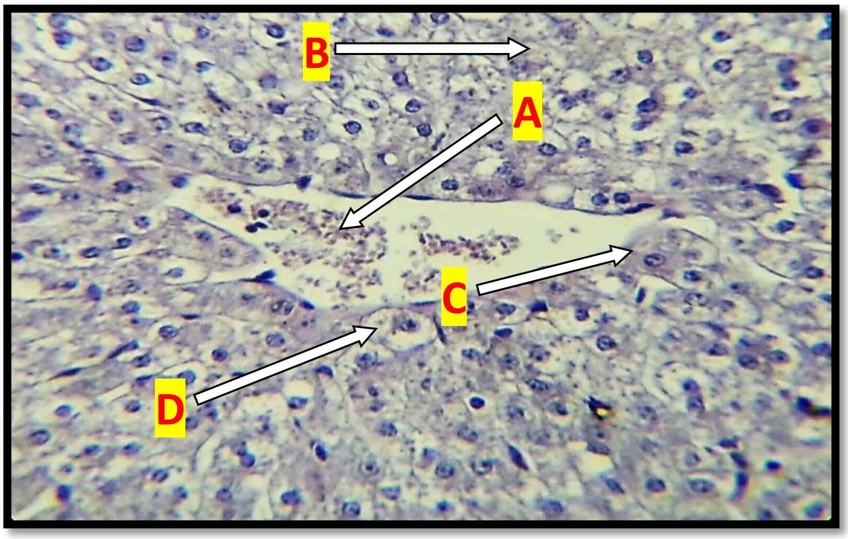
D- ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية



صورة رقم (7): مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب معامل بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آن واحد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:

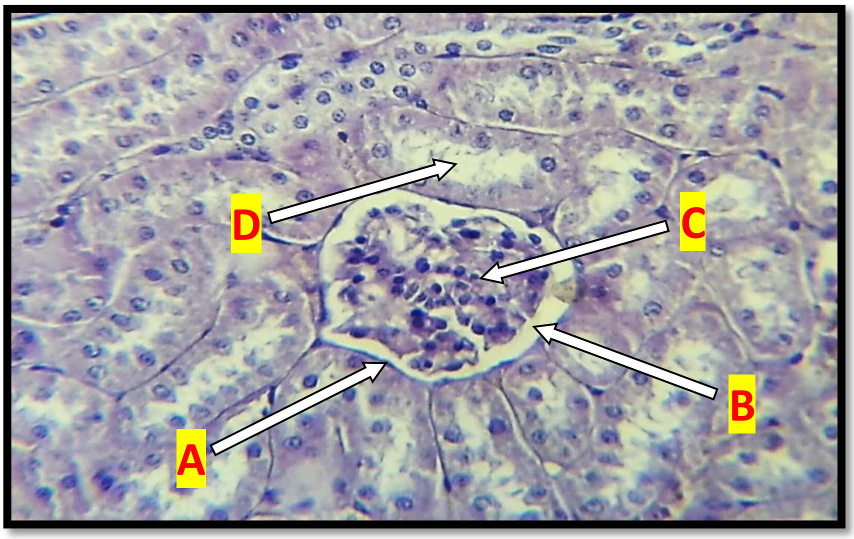
A- إحتقان دموي قليل في الوريد المركزي B- تنخر خفيف ببعض الخلايا الكبدية وهذه الخلايا أقرب للحالة الطبيعية

C- ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية

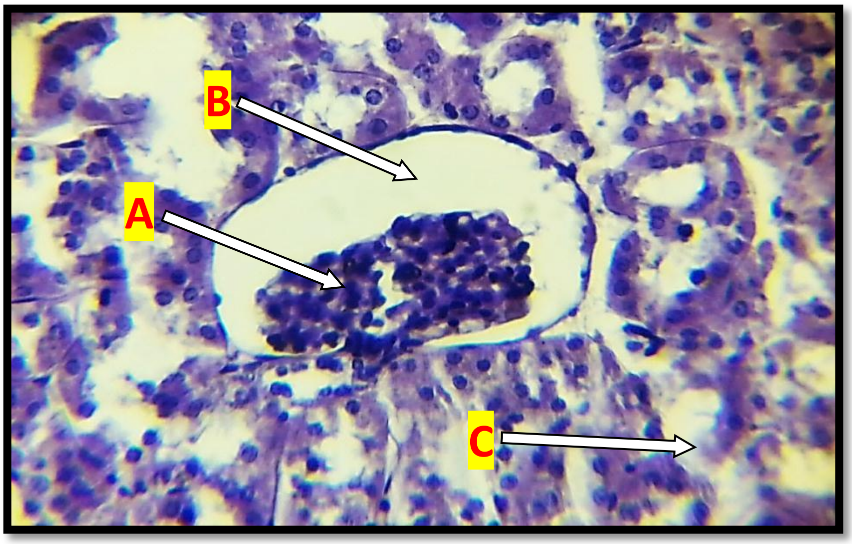


صورة رقم (8): مقطع مستعرض لنسيج كبد أرنب معامل بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:

A- إحتقان دموي في الوريد المركزي B- تنخر قليل الشدة ببعض الخلايا الكبدية و هذه الخلايا قريبة للحالة الطبيعية
C- تغيرات تنكسية متمثلة بالتورم الغيمي D- ظاهرة التفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية

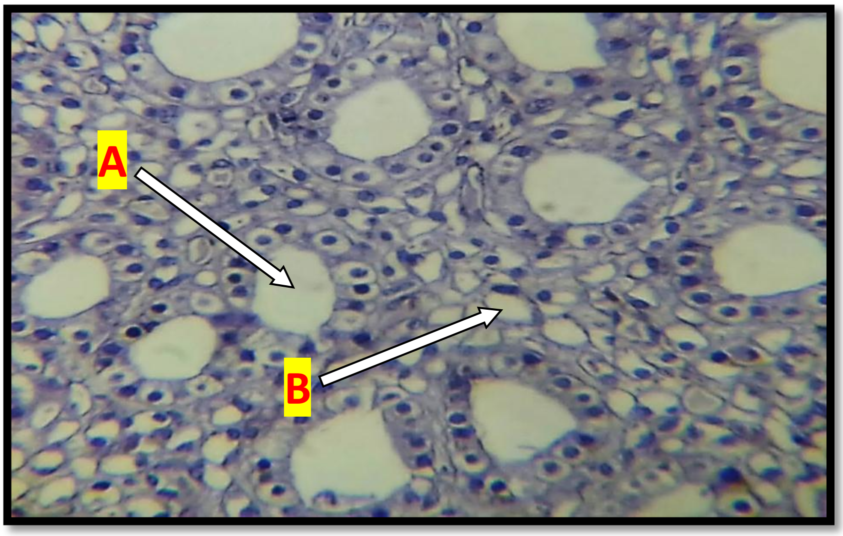


صورة رقم (9): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب طبيعي (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:
A- محفظة بومان B- فسحة بومان C- اللمة الشعرية D- النبيبات الملتوية

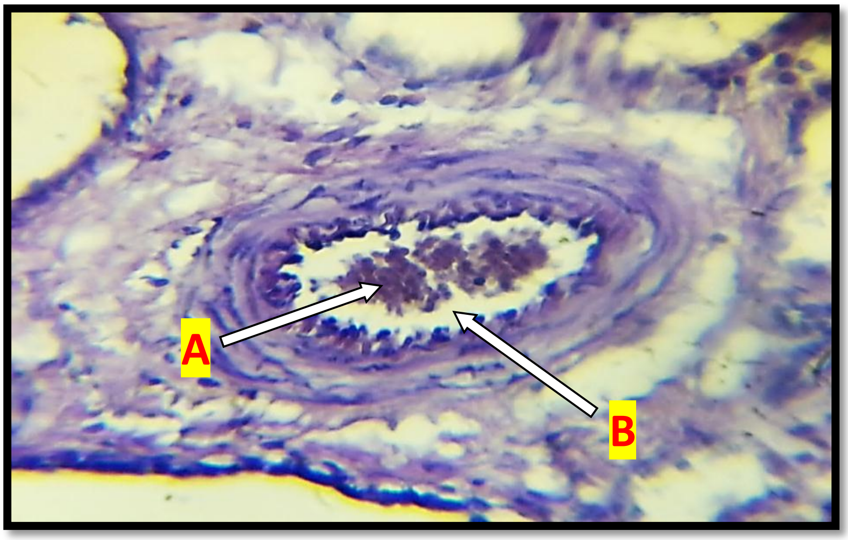


صورة رقم (10أ): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب معامل بعقار السايكلوفوسفومايد فقط (400X) (صبغة .H.&E)
يتضح فيه مايلي:
A- اللمة الشعرية تعاني حالة ضمور داخل الكبيبة الكلوية B- فسحة بومان كبيرة الحجم C- تنخر شديد لخلايا النبيبات الملتوية

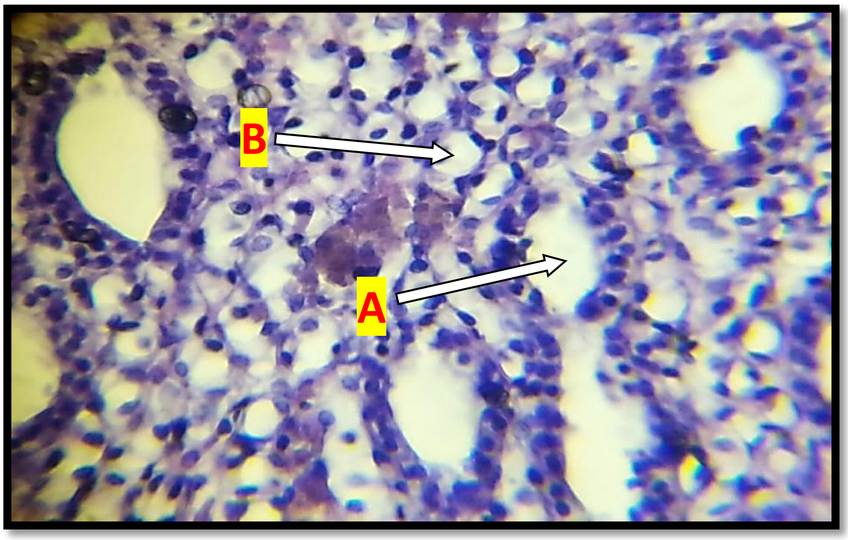
صورة رقم (10ب): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب معامل بعقار السايكلوفوسفومايد فقط (400X) (صبغة .H.&E)
يتضح فيه مايلي:
A- إحتقان دموي شديد للشريان الكلوي B- تجويف الشريان الكلوي



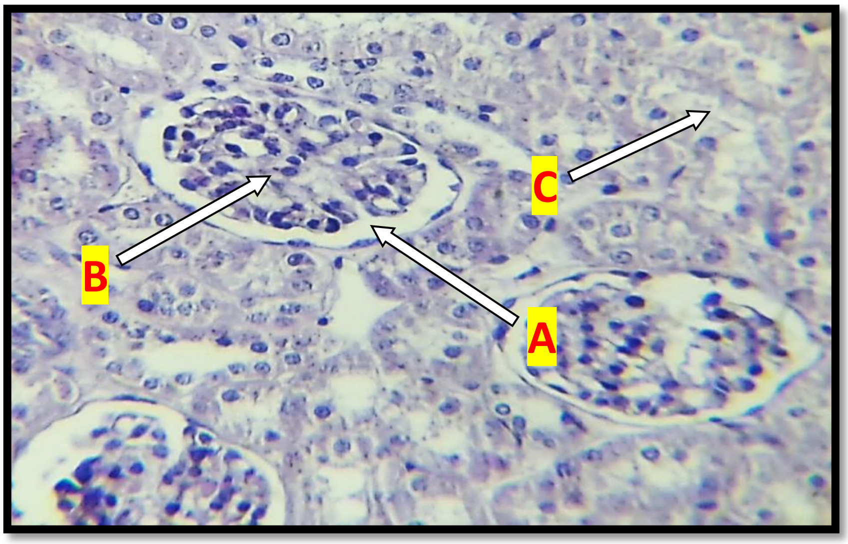
صورة رقم (10ج): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب معامل بعقار السايكلوفوسفومايد فقط (400X) (صبغة .H.&E)
يتضح فيه مايلي:
A- تجويف النبيب الكلوي
B- تغيرات تنكسية متمثلة بتفجي سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية



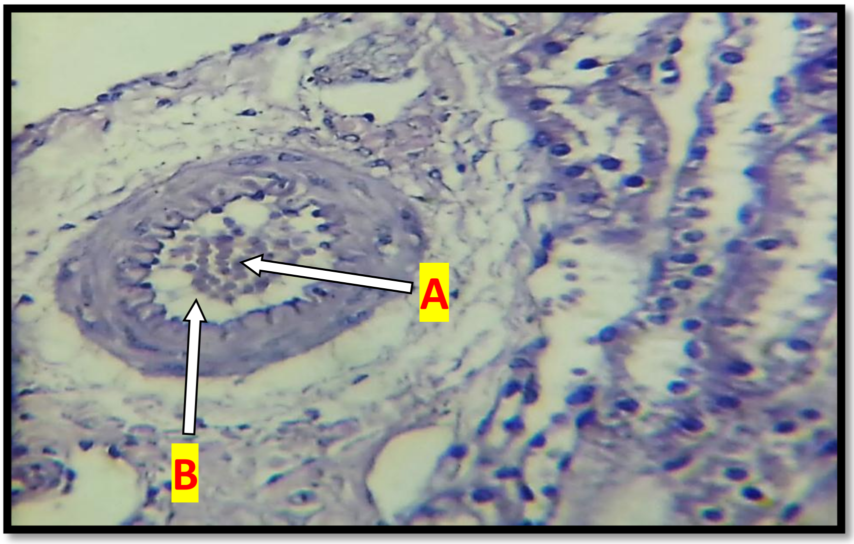
صورة رقم (11أ): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب معامل بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:
A- إحتقان دموي للشرين الكلوي B- تجويف الشرين الكلوي



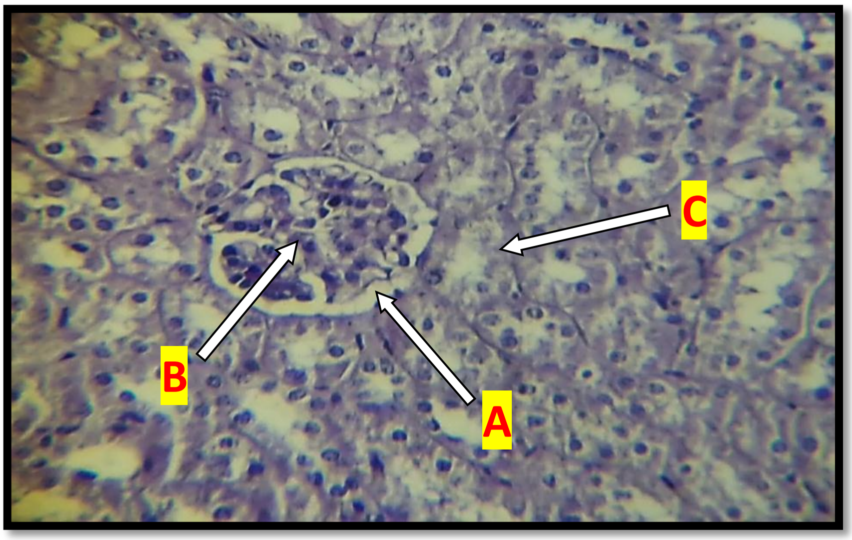
صورة رقم (11ب): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب معامل بالمستخلص المائي للثوم قبل التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:
A- تجويف النبيب الكلوي B- تغيرات تنكسية متمثلة بتفجي سايتوبلازم خلايا النبيبات الكلوية



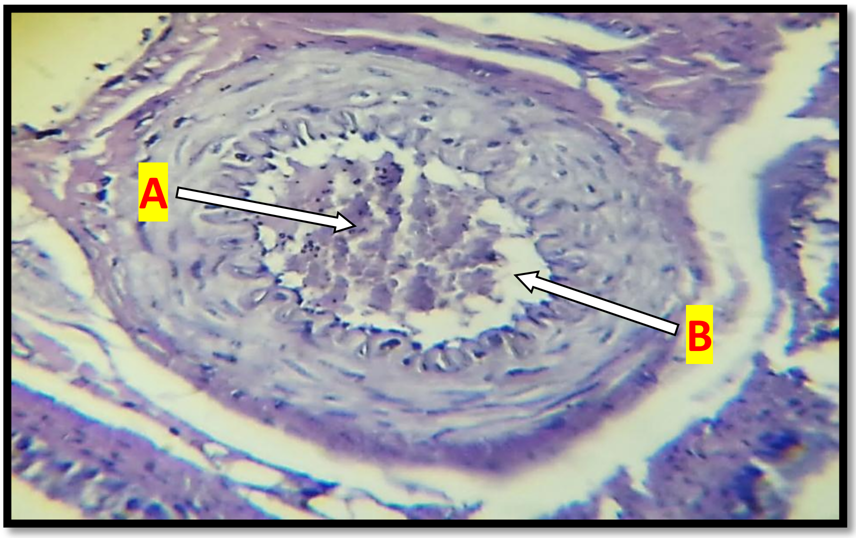
صورة رقم (12أ): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب معامل بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آن واحد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:
A- فسحة بومان أقرب إلى الحالة الطبيعية B- اللمة الشعرية أقرب إلى الحالة الطبيعية
C- تنخر لبعض خلايا النبيبات الملتوية



صورة رقم (12ب): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب معامل بالمستخلص المائي للثوم مع عقار السايكلوفوسفومايد في آن واحد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:
A- إحتقان دموي قليل للشرين الكلوي B- تجويف الشرين الكلوي



صورة رقم (13أ): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب معامل بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:
A- فسحة بومان قريبة للحالة الطبيعية B- اللمة الشعرية قريبة للحالة الطبيعية
C- تنخر لعدد من خلايا النبيبات الملتوية



صورة رقم (13ب): مقطع مستعرض لنسيج كلية أرنب معامل بالمستخلص المائي للثوم بعد التجريع بعقار السايكلوفوسفومايد (400X) (صبغة .H.&E) يتضح فيه مايلي:

A- إحتقان دموي للشرين الكلوي   B- تجويف الشرين الكلوي

المصادر:

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

2. Ried, K. ; Toben, C. & Fakler, P. (2013). "Effect of garlic on serum lipids: an updated meta-analysis". Nutrition Reviews. 71(5):282-99.
3. Waldeck, H. (1972). Mucosa of the small intestine following administration of large doses of Cyclophosphamide. 10(7):543-5.
4. Demin, A. ; Sentiakova, T. ; Smirnov, V. ; Derminal & Maminal (1996). Synchronizing therapy with plasma pheresis and cyclophosphamide in rapidly progressing systemic lupus erythematosis with kidney involvement. (5):27-30.
5. Anton, E. (1997). Ultra structural changes of stromal cells of bone marrow and liver after cyclophosphamide treatment in mice. Tissue cell. 29:1-19.
6. Saber, A. & Dehlawi, G. (1998). Cyclophosphamide induced histo-pathological alteration in the illeum of the Saudi Toad Bufo TIBAMICUS. Bio. Department. Umm AL-Qura university. Makkah. Saudia Arabia.
7. Paul, D. & Michael, C. P. (2001). Hepatotoxicity of Chemotherapy. 6(2):162-176.
8. Schilsky,R.L. (1982). Renal and metabolic toxicities of cancer chemotherapy. Semin.Oncol. 9:75.
9. Philips, F. S. ; Sternberg, S. S. & Cronin, A. P. (1961). Cyclophosphamide and urinary bladder toxicity. Cancer Res. 21:1577.
10. Barton, J. C. (1989). Tumor lysis syndrome in nonhematopoietic neoplasms. Cancer. 64:738.
11. Thigpen, J. T. (1990). Management of adverse effects of chemotherapy. In Deppe G. Ed. Chemotherapy of Gynecologic Cancer. 2nd Ed. New York. Wiley-Liss. P. 41.
12. Hayes, D. M. ; Cvitkovic, E. & Golbey, R. B. (1977). High dose cis-platinum di-ammine dichloride: amelioration of renal toxicity by mannitol diuresis. Cancer. 39:1372.
13. Rainey, J. M. ; Alberts, D. S. & Safe (1978). rapid administration schedule for cisplatinum-mannitol. Med. Pediatr. Oncol. 4:371.

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

15. Shubber, E. K. (1981). The genetic hazard of ten anti-parasitic drugs compared to radiation. Ph. D. Thesis. Harvard Univ. Cambridge. U.S.A. P. 28.
16. Sato, T. ; Onse, Y. ; Nagase, H. & Kito, H. (1990). Mechanism of anti-mutagenicity of aquatic plant extracts against (benzo (a) yrene) in the *Salmonella* assay. J. Mut. Res. 241:283-290.

17. Humason, G. L. (1979). Animal tissue technique, (4th Ed.). W. H.Freeman Co. San Fran. Cisco. P. 661.
18. Holtz, K. H. ; Rockwell, S. ; Tomasz, M. & Sartorelli, A. C. (2003). Nuclear over expression of NADH: cytochrome b5 reductase activity increases the cytotoxicity of Mitomycin-C and the total number of MC-DNA adducts in Chinese hamster ovary cells. J. Bio. Chem. 278(7):5029-5034.
19. 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.
20. Macsween, R. N. & Whaley, K. (1992). Muir's text book of pathology. 13th Ed. ELBS with Edward Arnold.
21. Mir, S. H. ; Abdul-Baqui ; Bhagat, R. C. ; Darzi, M. M. & Abdul-Wahid, S. (2008). Biochemical and Histomorphological Study of Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Rabbits. Pakistan. J. Nutri. 7(2):359-364.
22. Sanad, S. ; Al-Zahaby, A. & Al-Attar, E. (1989). Histo-pathological studies on the liver and ileum of chloramphenicol treated rats. Egypt. J. Med. Sci. 10(1):25-36.
23. Robbins, S. & Angell, M. (1970). Basic Pathology. 2nd Ed. Philadelphia. W.B.Saunders Company.
24. Majumdar, A. S. ; Saraf, M. N. ; Andraves, N. R. & Kamble, R. Y. (2008). Preliminary studies on the antioxidant activity of *Tribulus terrestris* and *Eclipta alba*. Phcog. Mag. 4(13):102-107.
25. Hamza, A. A. (2007). *Curcuma longa* , *Glycyrrihza glabra & Moringa oleifera* Ameliorate Diclofenac-induced Hepatoxityin rat. Ame. J. of pharm. and toxo. 2:80-88.
26. Jeong, H. ; You, H. J. ; Park, S. J. & Chun, A. K. (2002). Hepato-protective effects of 18 β-Glycyrrhetinic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury: inhibition of cytochrome P450 2 E1 Expression. Pharmaco. Res. 46:221-227.
27. Lee, J. R. ; Park, S. J. ; Lee, H. S. ; Jee, S. Y. ; Seo, J. ; Kwon, Y. K. ; Kwon, T. K. & Kim, S. C. (2007). Hepato-protective activity of licorice water extract against cadmium-induced toxicity in rats. Evidence-based Compl. and Alt. Med. 6(2):195-201.
28. Dashti, M. H. & Morshedi, A. (2009). The effects of *Syzygium aromaticum* (clove) on learning and memory in mice. Asian J. Trad. Med. 4(4):128-133.
29. Wenger, T. & Fintelman, V. (1999). Flavonoids and bioactivity. Wien. Med. Wochenschr. 149:241-247.
30. Herber, R. F. M. ; Verplanke, A. J. W. & Verschoor, M. A. (1989). Early kidney effect by exposure to xenobiotics. In "International Conference Heavy Metals in the Environment". J. P. Verent (Ed.). Geneva. P. 314-317.
31. Pistacor, M. ; Bjork, L. & Nordberg, M. (1981). B2-microglobin levels in serum and urine of cadmium expose rabbits. Acta. Pharmacol. Toxicol. J. 54:73-81.