Sodium Nitrite-Induced Histological Changes in Albino Mice and The Protective Role of Garlic Alcoholic Extract

Hala Salman [*]
Dr. Nahla Ibrahim [**]
Dr. Ali Daoud [***]

(Received 30 / 8 / 2025. Accepted 17 / 12 /2025)

□ ABSTRACT □

The study aimed to identify the histological changes resulting from sodium nitrite (NaNO2) administration in the liver of male mice and to verify the potential protective effects of the alcoholic extract of garlic against sodium nitrite-induced hepatotoxicity. The study was conducted on 24 male mice, divided equally into 4 groups, which were dosed daily for 12 months. The first group: (control), the second group: was dosed with the alcoholic extract of garlic (50 mg/kg of body weight), The third group was given sodium nitrite (80 mg/kg), the fourth group was given garlic extract in conjunction with sodium nitrite, and at the end of the experiment, liver samples were collected from the mice for histological examination. The results of the histological study showed the toxic effect of sodium nitrite, as severe necrotic foci and nuclei destruction also appeared. In addition to fatty and watery degeneration, vascular dilation and congestion were also observed in the central and portal veins of the liver, as well as severe inflammatory infiltration. On the other hand, the alcoholic extract of garlic showed a significant improvement in liver tissue when dosed simultaneously with sodium nitrite, The liver tissue recovered a significant portion of its health, and the normal hepatic tissue structure appeared. This confirms that the alcoholic extract of garlic is an effective natural product due to its important protective role against sodium nitrite hepatotoxicity.

Keywords: Sodium Nitrite, Hepatotoxicity, Garlic Extract, Histological Study.

Copyright **:**Latakia University journal (formerly Tishreen) -Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

[*] **PhD student ,Faculty of science, latakia University (formerly Tishreen), latakia, Syria.**
halasalman@latakia-univ.edu.sy
****Associate Professor, Faculty of Sciences , latakia University(formerly Tishreen) , latakia ,Syria.**
d.nahla.ibrahim@latakia-univ.edu.sy
***** Associate Professor, Faculty of Medicine, latakia Univerity(formerly Tishreen) , latakia ,Syria.**
ali.dawoud@latakia-univ.edu.sy

التغيرات النسيجية المستحدثة بوساطة نتريت الصوديوم في الفئران البيض والدور الوقائي للمستخلص الكحولي لنبات الثوم

حلا سلمان *

د. نهلة ابراهيم **

د. علي داود ***

(تاريخ الإيداع 30 / 8 / 2025. قبل للنشر في 17 / 12 / 2025)

□ ملخّص □

هدفت الدراسة إلى معرفة التغيرات النسيجية الناتجة عن التجريع بنتريت الصوديوم NaNO2 في كبد ذكور الفئران والتحقق من التأثيرات الوقائية المحتملة للمستخلص الكحولي لنبات الثوم ضد السُمية الكبدية المستحدثة بنتريت الصوديوم. أجريت الدراسة على 24 فأر ذكر، قسّمت بالتساوي على 4 مجموعات ، تم تجريعها يوميًا لمدة 12 شهر، المجموعة الأولى: (شاهدة)، المجموعة الثانية: جُرعت بالمستخلص الكحولي للثوم (50 ملغ/كغ من وزن الجسم) ، جُرعت المجموعة الثالثة: بنتريت الصوديوم (80 ملغ/كغ) ، جُرعت المجموعة الرابعة: بمستخلص الثوم بالتزامن مع نتريت الصوديوم، وفي نهاية التجربة جُمعت عينات من كبد الفئران للفحص النسيجي. بينت نتائج الدراسة النسيجية التأثير السمي لنتريت الصوديوم حيث ظهرت بؤر نخرية شديدة وتخرب بالنوى ، إضافة إلى تنكس دهني و مائي، وأيضًا لوحظ اتساع و احتقان وعائي في الأوردة المركزية والبابية للكبد ، وارتشاح التهابي شديد . من جهة أخرى أظهر المستخلص الكحولي لنبات الثوم تحسن ملحوظ في أنسجة الكبد عند تجريعه بالتزامن مع نتريت الصوديوم ، فقد استعادت أنسجة الكبد جزءاً مهماً من عافيتها ،وظهرت البنية النسيجية الكبدية الطبيعية. هذا ما يؤكد أن المستخلص الكحولي لنبات الثوم يشكل منتجاً طبيعياً فعالاً بسبب دوره الوقائي الهام ضد السُمية الكبدية بنتريت الصوديوم.

الكلمات المفتاحية: نتريت الصوديوم ، السمية الكبدية ، مستخلص الثوم ، دراسة نسيجية.

حقوق النشر : مجلة جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً)- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

* طالبة دكتوراه – كلية العلوم- جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) – اللاذقية- سوريا halasalman@latakia-univ.edu.sy

** أستاذ مساعد – كلية العلوم- جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) – اللاذقية- سوريا. d.nahla.ibrahim@latakia-univ.edu.sy

***أستاذ مساعد- كلية الطب البشري- جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) – اللاذقية -سوريا.ali.dawoud@latakia-univ.edu.sy

مقدمة :

تحتل المضافات الغذائية Food additives مكانة هامة في صناعة الأغذية ومستحضرات التجميل والصناعات الدوائية ، وذلك نظراً لدورها الهام في حفظها من التلف و تثبيط نمو الكائنات الحية الدقيقة فيها كالفطريات والجراثيم ،وإطالة عمرها، وتحسين قيمتها الغذائية [1،2] ، وتشكل المواد الحافظة الجزء الأكبر من هذه المضافات ، ويعد نتريت الصوديوم Nano2 من أهم تلك المواد الحافظة [3] ، نظراً لدوره الفعال في حفظ اللحوم والدواجن والأسماك ومنع تلفها [4] ، لكن على الرغم من ذلك، أدى الاستخدام الواسع لنتريت الصوديوم و بتراكيز عالية من قبل البشر ، لتعرضهم لأضرار شديدة [6،5] ،حيث يتفاعل نتريت الصوديوم مع عصارة المعدة الحمضية، فينتج أعداد كبيرة من الجذور الحرة التي تسبب الإجهاد التأكسدي، والتي يمكن أن تكون ضارة لمختلف الأعضاء في الجسم إذ تسبب السمية الكبدية و الكلوية والمعوية [8،7] ، وتلف الخلايا والأنسجة [9] ، والعقم عند الفئران [10] ، كما تبين أن الجرعات العالية من نتريت الصوديوم تزيد من خطر الإصابة بسرطان المعدة عند الفئران [11] ، إذ ينتج النيتروز أمين Nitrosamine، الذي يتفاعل بدوره مع القواعد الأزوتية الداخلة بتركيب الـ DNA ، مما يؤدي إلى تغيرات في تركيب الجينات وبالتالي حدوث السرطان بمختلف الأعضاء [12].

من جانب آخر، أظهرت العديد من الدراسات أهمية مستخلصات كثير من النباتات الطبية في حماية الأنسجة الحية من التأثيرات الضارة للجذور الحرة التي تتشكل بفعل الإجهاد التأكسدي المُحدث نتيجة التعرض للمواد الكيميائية ومن ضمنها المواد الحافظة كنتريت الصوديوم [13]. فقد أكدت العديد من الدراسات التأثير الكابح لمستخلصات كل من الشاي الأخضر [14]، الحلبة [15]، الرشاد [16] ، حبة البركة [17] ، وغيرها من النباتات الطبية التي تلعب دوراً هاماً في الوقاية من السمية الكبدية والكلوية والسرطان المستحدث بفعل نتريت الصوديوم.

ومن أهم هذه النباتات نبات الثوم ، فقد أظهرت الدراسات دور الثوم في علاج أمراض القلب والأوعية الدموية ، وتصلب الشرايين ، وارتفاع ضغط الدم ، والسكتات الدماغية و فرط شحوم الدم ، وكذلك أثبتت فعاليته ضد مرض الزهايمر والسكري [18] ، و في الوقاية من السرطان [19] ، كما بيّن Naji وآخرون (2017) [20] الدور الهام لنبات الثوم و التأثيرات المضادة للأكسدة ضد تلف الكبد المستحث برابع كلور الكربون CCl4 عند الأرانب، كما أكد Ademiluyiوآخرون (2013) [21] التأثير الموقي للثوم ضد السمية الكبدية الناتجة عن المضاد الحيوي الجنتمايسين Gentamicin ، و أوضح Nasr (2014) [22] التأثير الوقائي لمستخلص الثوم ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن السيسبلاتين Cisplatine المستخدم في العلاج الكيميائي للعديد من السرطانات.

انطلاقا مما سبق، و نظراً لقلة الدراسات التي تناولت تأثيرات نتريت الصوديوم في السمية الكبدية ، تم في دراستنا الحالية تقييم الأذية المحدثة بنتريت الصوديوم من جهة ، و دراسة فعالية المستخلص الكحولي لنبات الثوم في الحد من مظاهر الإجهاد التأكسدي والسمية الكبدية الناتجة عن نتريت الصوديوم من جهة أخرى ، وبالتالي إمكانية استخدامه في المستحضرات الصيدلانية ، وذلك نظراً لتوفر هذا النبات واستخدامه الشائع في المجتمع السوري، ولكون نتريت الصوديوم مستخدم على نطاق واسع كأحد أهم المواد الحافظة.

أهمية البحث و أهدافه:

1- أهداف البحث : هدفت الدراسة الحالية إلى الآتي:

1- تقصي التأثيرات الضارة المحتملة لنتريت الصوديوم $NaNO_2$ ، والتغيرات النسيجية والبنيوية في خلايا وأنسجة الكبد عند الفئران البيض.

2-دراسة تأثير المستخلص الكحولي لنبات الثوم على أنسجة الكبد عند الفئران البيض .

3-التحقق من فعالية المستخلص الكحولي لنبات الثوم في الحد أو التخفيف من مظاهر التسمم الكبدي المحدث بنتريت الصوديوم $NaNO_2$.

طرائق البحث ومواده:

1- حيوانات التجربة: أجريت الدراسة الحالية على 24 من ذكور الفئران البيض Albino male Mice نوع Mus musculus سلالة Balb-c ، بعمر 3- 4 أشهر، وبوزن 25-34غ وسطياً، تم الحصول عليها من مركز البحوث العلمية في محافظة دمشق. وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية خاصة ذات أرضية مفروشة بنشارة الخشب ، في مختبر قسم علم الحياة الحيوانية جامعة اللاذقية ، لمدة 10 - 6 أسابيع قبل بدء التجربة من أجل التكيف مع الظرورف المناسبة وبدرجة حرارة الغرفة وتهوية جيدة، أما الإضاءة فكانت (12 ساعة ضوء و 12 ساعة ظلام) ، و قدم لها الغذاء بشكل دوري، كما تم الاعتناء بنظافة الأقفاص وتعقيمها بالمطهرات.

2- تحضير المستخلص الكحولي لنبات الثوم: ينتمي نبات الثوم Garlic (الاسم العلمي: Allium Sativum) إلى الفصيلة الزنبقية liliaceae ،جنس: الثوم *Allium* ، نوع: مزروع sativum Allium. اعتمدت طريقةOnyeagba عام (2004) [23] في تحضير المستخلص الكحولي لنبات الثوم، فبعد أن جمع الثوم الطازج من أسواق منطقة جبلة، استعملت أبصال نبات الثوم وفصلت عنه القشور، و استعمل الفصوص مباشرة في التجربة، غسلت بالماء المقطر ، و قُطعت بوساطة السكين إلى قطع صغيرة ، وتركت لتجف في الظل لمدة أسبوع وبدرجة حرارة الغرفة ضمن وسط جاف جيد للتهوية ، ثم تم طحنها طحناً ناعما بوساطة مطحنة كهربائية للحصول على بودرة، تم حفظها في أوعية معتمة ونظيفة في الثلاجة بدرجة حرارة (4مْ) بعيدا عن الضوء والحرارة والرطوبة لحين الاستعمال.

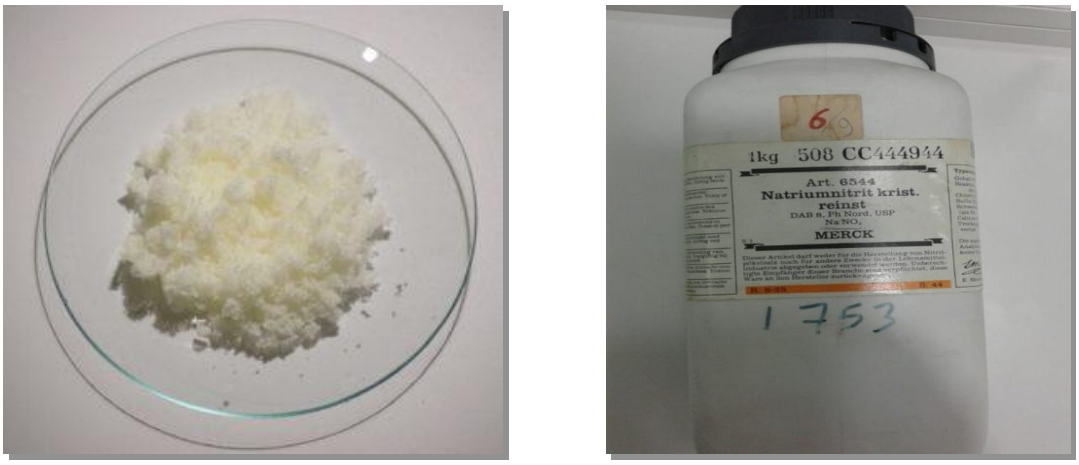
أُضيف 300 غ من مسحوق الثوم الجاف إلى 500 مل من الكحول الإيتيلي بتركيز 70%، وخلطت بوساطة الخلاط المغناطيسي لمدة ساعة ، وحُضنت بدرجة حرارة المخبر لمدة 72ساعة ، بعدها تم ترشيح المستخلص بوساطة عدة طبقات من الشاش الطبي المعقم لغرض التخلص من العوالق ، ثم رشحت باستخدام ورق ترشيح Whatman #1 ، تم التخلص من المذيب بالمبخر الدوار لحين الحصول على سائل كثيف، جفف السائل المتبقي باستخدام الفرن الكهربائي بدرجة حرارة (40) للحصول على مستخلص جاف، حُفظ المستخلص في الثلاجة في الدرجة (-20) مْ إلى حين الاستخدام ، وتمت هذه المراحل في مختبر قسم علم الحياة الحيوانية جامعة اللاذقية بالتعاون مع مخابر المعهد العالي للبحوث البحرية جامعة اللاذقية. (الشكل 1)

الشكل (1): يوضح الشكل بعض مراحل تجهيز المستخلص الكحولي لنبات الثوم.

3- استحداث السمية الكبدية تجريبياً:

نتريت الصوديوم Sodium Nitrite :هو مركب ملحي غير عضوي، صيغته الكيميائية $NaNO_2$ ، بلوراته بلون أبيض إلى أبيض مصفر [24] ، رمزه الدولي E250 ، وزنه الجزيئي 69.00 g/ mol ، ودرجة الغليان $271^{o}C$ ، قابل للذوبان في الماء بسرعة وكذلك في المذيبات العضوية مثل الكحول والكلوروفورم ، درجة ذوبانيته في الماء هي 82 غراماً لكل 100 مل من الماء عند درجة حرارة 20 درجة مئوية ، الجرعة نصف القاتلة (LD50: 180 mg/kg) من وزن الجسم وعادة يحصل الموت في أقل من 15 دقيقة [25] ، وإن الاستهلاك اليومي المقبول له يبلغ 0.1 ملغم/كغم من وزن الجسم [26] . تم شراء نتريت الصوديوم على شكل بودرة ، انتاج شركة (E .Merck Darmstadt) ، بلد المنشأ (ألمانيا Germany) ، وتم تحضير تركيز الجرعة المطلوبة والتي مقدارها 80 ملغ/كغ من وزن الجسم [27] ، و

تجريع الحيوانات بها فموياً بوساطة أنبوب تغذية قياس4 ، وذلك بعد إذابة 1غ من بودرة نتريت الصوديوم في 10 مل من الماء المقطر. (الشكل 2)



الشكل(2): شكل يوضح مادة نتريت الصوديوم.

4- تصميم التجربة Study Design:

وُزع 24 من حيوانات التجربة عشوائياً في 4 مجموعات بواقع 6 فئران لكل مجموعة تجريبية ،على النحو الآتي:

1- **المجموعة الأولى:** وهي المجموعة الشاهدة السلبية جُرعت بالماء المقطر فقط وبجرعة مقدارها (2 مل) يومياً لمدة 12 شهراً ، و قُدم لها الغذاء المناسب .

2- **المجموعة الثانية:** جُرعت يومياً بالمستخلص الكحولي لنبات الثوم بوساطة التغذية الأنبوبية بجرعة قدرها 50 ملغ/كغ من وزن الجسم ولمدة 12 شهراً.

3- **المجموعة الثالثة :** جُرعت بنتريت الصوديوم بالطريقة السابقة نفسها(تغذية أنبوبية) بتركيز قدره 80 ملغ/كغ من وزن الجسم يومياً لمدة 12شهراً . [27]

4- **المجموعة الرابعة:** جُرعت بالتغذية الانبوبية بمستخلص الثوم لمدة أسبوعين يوميا قبل التجريع بنتريت الصوديوم ، ثم الاستمرار بالتجريع بالتزامن مع نتريت الصوديوم لمدة 12 شهراً بنفس الجرعات السابقة.

5- جمع العينات:

بعد انتهاء مدة التجربة تم تخدير جميع الحيوانات بالكلوروفورم، ومن ثم تم تشريح الفئران واستئصال كبد كل حيوان على حده ، ثمَّ تم وضعها بشكل مستقل في عبوات بلاستيكية سعة 50 مل مخصصة لهذه الغاية تحتوي على محلول الفورمالين بتركيز 10% لمدة 48 ساعة لحين إجراء الدراسة النسيجية.

6- الدراسة النسيجية :

أجريت الدراسة النسيجية بالتعاون مع قسم التشريح المرضي في مشفى تشرين الجامعي، حيث جُهزت عينات أكباد حيوانات التجربة لإجراء المقاطع النسيجية وذلك بإمرارها بمراحل التحضير الروتينية التي تتضمن المعالجة بالكحول التجاري ، ثم الكحول المطلق ومن ثم الكزايلين ، ثم إدماجها بقوالب البارافين. وأجريت المقاطع النسيجية باستخدام المقطاع النسيجي (Meditome A 550)، وبسماكة 5 مركروميتر، عُولجت بمحاليل الكحول و الكزايلين تمهيداً لتلوينها

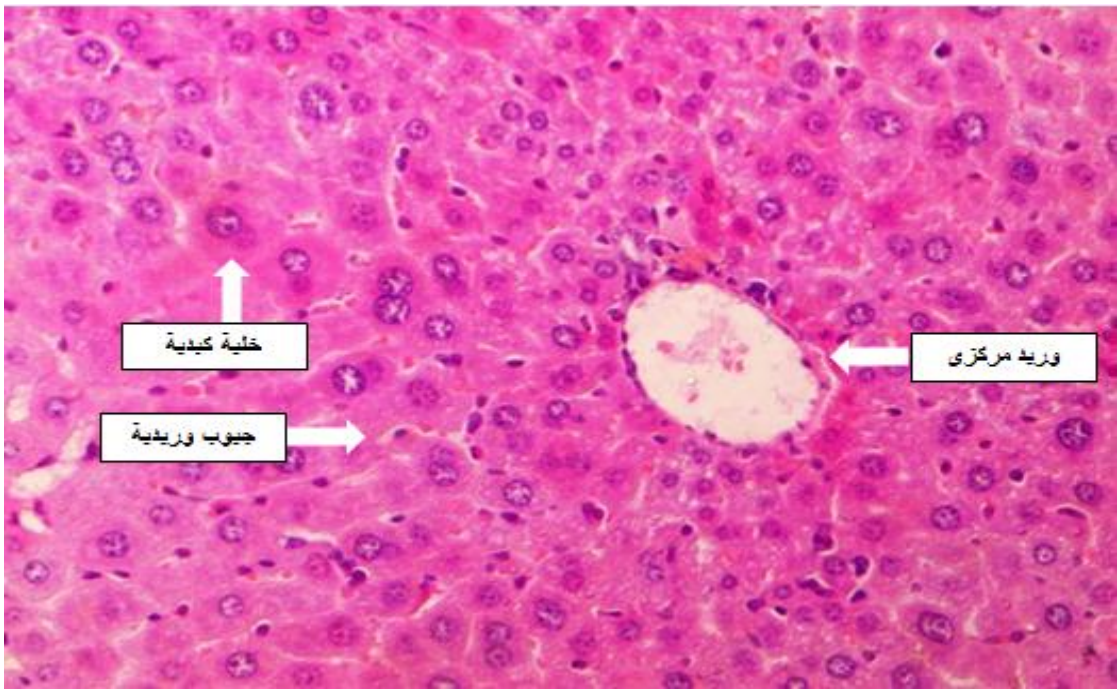
بالهيماتوكسيلين – ايوزين بالاعتماد على طريقة Maity وآخرون عام 2012 [28] . بعد ذلك، درست المحضرات النسيجية مجهرياً باستخدام مجهر ضوئي مجهز بكاميرا رقمية وموصول إلى كمبيوتر من أجل تحري التغيرات النسيجية في أكباد الفئران بفعل التجريع بمستخلص الثوم ونتريت الصوديوم.

النتائج والمناقشة:

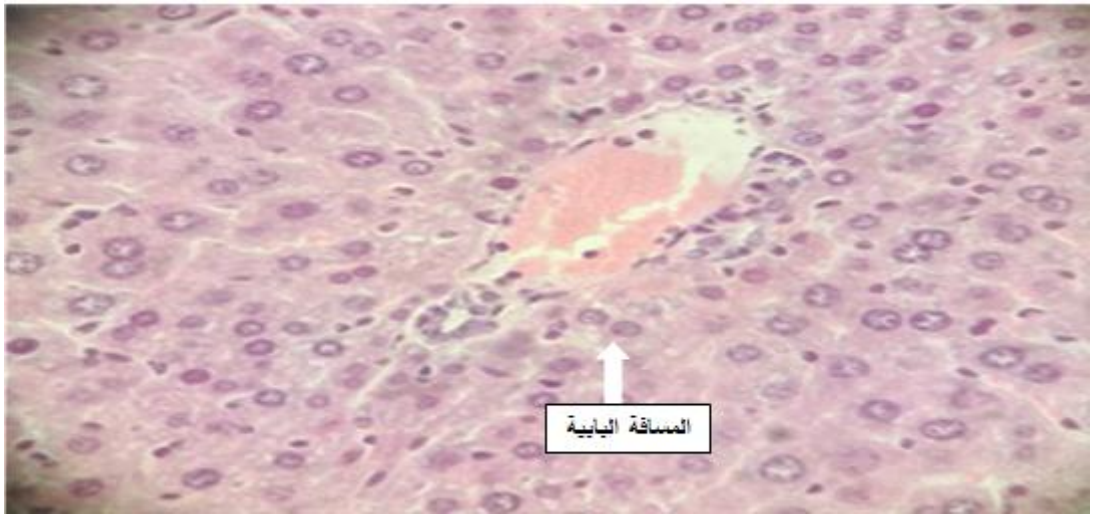
نتائج الدراسة النسيجية (التشريح المرضي):

1-بنية نسيج الكبد لحيوانات المجموعة التجريبية الأولى (الشاهدة):

أظهر الفحص النسيجي لأكباد حيوانات المجموعة الشاهدة تركيباً نسيجياً مكوناً من عدة فصيصات ، و كل فصيص يحتوي على وريد مركزي (Central vein) ، وتنتظم حوله خلايا مكعبة الشكل متعددة الأضلاع ومتجانسة السيتوبلاسما تدعى الخلايا الكبدية (Hepatocytes) تبدو بأشكال وأحجام منتظمة ، وذات نوى مركزية واضحة و متشابهة، وتصطف هذه الخلايا بشكل أشرطة ، وما بين هذه الاشرطة تقع فسح دموية تسمى الجيبانيات(Sinusoids) الحاوية على خلايا كوبفر (Kupffer cells) ، ويمكن تمييز المسافة البابية بين الفصيصات ، و تتكون من وريد بابي وشريان وقناة صفراوية .(الشكلان 3 و 4)



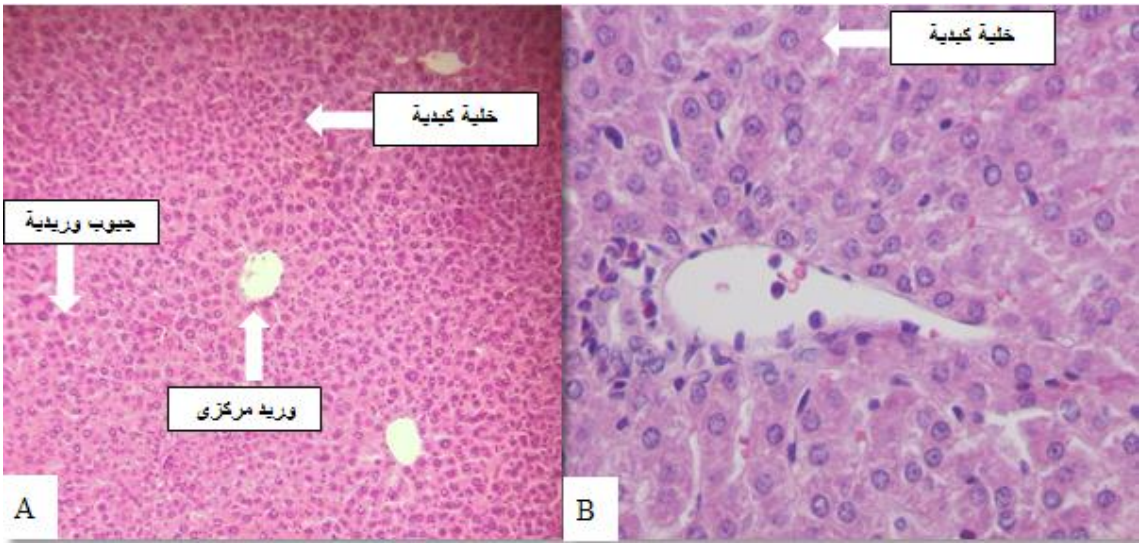
الشكل (3) : صورة مجهريه لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الشاهدة: تظهر البنية النسيجية للفصيص الطبيعي نلاحظ الوريد المركزي والجيوب الوريدية الطبيعية، والخلايا الكبدية المنتظمة الأشكال والأحجام ونواها المركزية والمصطفة بشكل أشرطة حول الوريد المركزي.(X 40) ملونة بالهيماتوكسيلين – ايوزين



الشكل (4) : صورة مجهريه لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الشاهدة: تظهر المسافة البابية طبيعية و مكونة من وريد بابي وشريان وقناة صفراوية. (X 40) ملونة بالهيماتوكسيلين – ايوزين.

2- تأثير التجريع بالمستخلص الكحولي لنبات الثوم على نسيج الكبد :

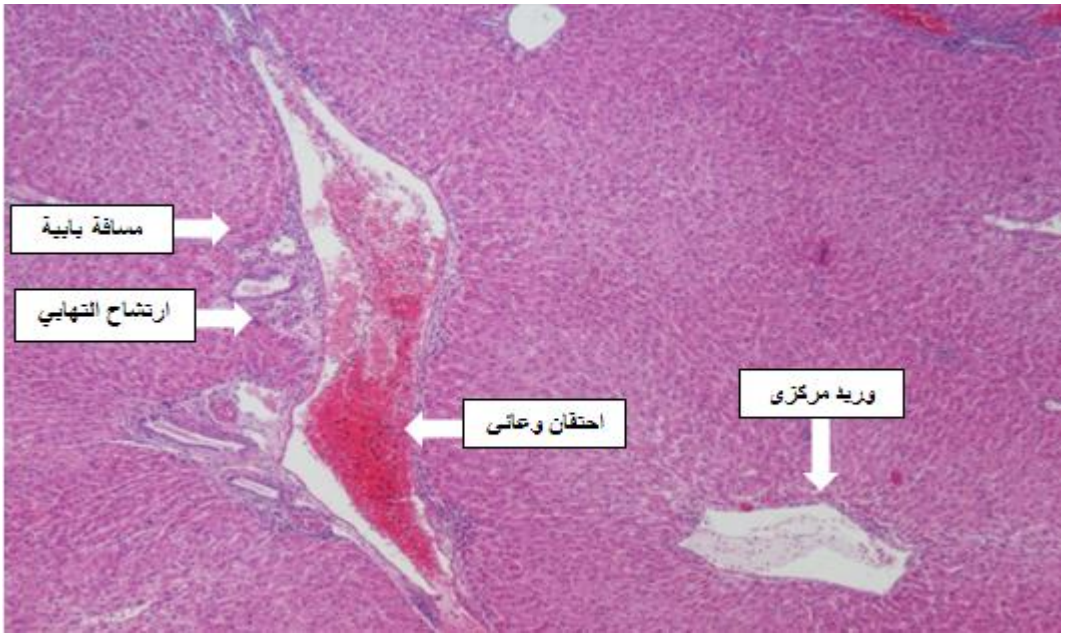
أظهرت نتائج الدراسة لمقاطع نسيجية في أكباد حيوانات المجموعة التجريبية الثانية المجرعة بالمستخلص الكحولي لنبات الثوم بجرعة قدرها (50 ملغ/كغ من وزن الجسم) مرة واحدة يومياً لمدة 12 شهراً خلايا كبدية طبيعية بمظهرها وبنيتها و المماثلة لخلايا أكباد حيوانات المجموعة الشاهدة، حيث لوحظ أن شكل الخلايا ودرجة تلون السيتوبلاسما الخلوية، وشكل النواة، وكذلك المظهر العام للفصيصات الكبدية تبدو جميعها طبيعية، ولم تشاهد أية تغيرات خلوية ذات دلالة على ضرر نسيجي أو احتقان أو بؤر التهابية بفعل تجريع الحيوانات بمستخلص الثوم.



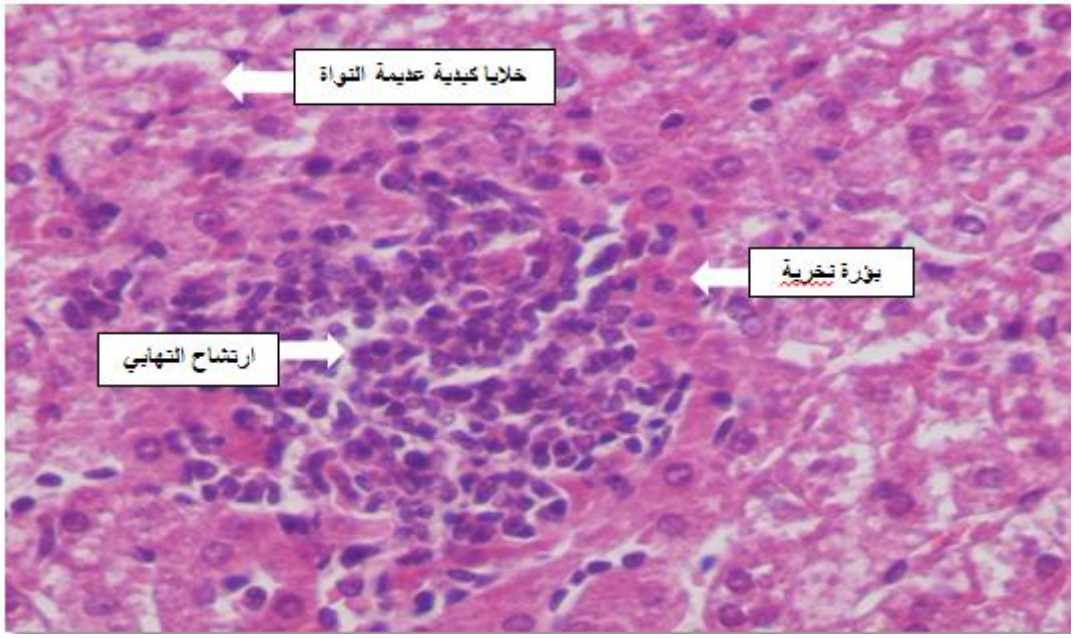
الشكل (5) :صورة مجهريه لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الثانية: A – تظهر أوردة مركزية وجيوب وريدية طبيعية، وخلايا ذات نوى مركزية (10X) B –تظهر خلايا كبدية طبيعية ذات نوى مركزية التوضع (40X) ملونة بالهيماتوكسيلين – ايوزين.

3- تأثير التجريع بنتريت الصوديوم على نسيج الكبد :

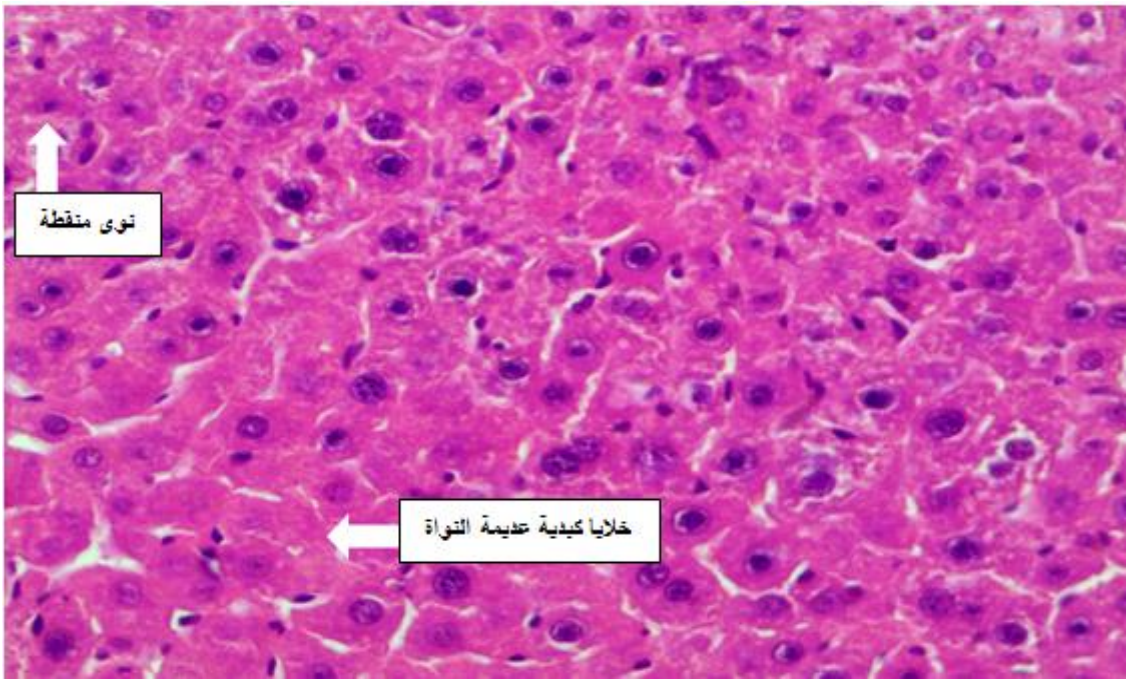
أظهرت نتائج الدراسة النسيجية لأكباد حيوانات المجموعة التجريبية الثالثة التي جرعت بنتريت الصوديوم بجرعة (80 ملغ/كغ) يومياً لمدة 12 شهراً ، حدوث تغيرات خلوية ونسيجية كبدية سمية متعددة تتمثل بتخرب البنية الكبدية وعدم وضوح بالبنية الفصيصية للكبد ، حيث شوهدت بؤر نخرية وظهرت علامات واضحة لتنخر (Necrosis) شديد في الخلايا الكبدية، تجلت بانتباج خلوي (Cellular Swelling) حاد ومتكرر في الخلايا الكبدية وزيادة في حجمها، وتمزق أغشيتها السيتوبلاسمية ، وضعف شديد في تلون السيتوبلاسما الخلوية، وعدم وضوح حدود الخلايا الكبدية، كما لوحظ في الكثير من الحالات فقدان الخلايا لنواها ، وضمور نوى العديد من الخلايا الأخرى (نوى منقطة) ، كما أن بعض الخلايا الكبدية أظهرت استحالة شحمية أو تنكس دهني Fatty degeneration يتجلى بإحتواء سيتوبلازما الخلايا الكبدية على قطيرات دهنية وانزياح النوى إلى محيط الخلية الكبدية ،كما لوحظ بكثرة ظهور استحالة بالونية أو تنكس مائي Hydropic Degeneration ، تتجلى بانتباج الخلية الكبدية واحتوائها على فجوات مائية ، وأيضًا لوحظ اتساع و احتقان وعائي Vascular congestion في الأوردة المركزية (CV) والبابية للكبد ، واحتوائها على كريات دم حمراء ، وتكاثر لخلايا كوبفر cells Kupffer ، وحدوث ارتشاح التهابي شديد لخلايا الدم البيض من عدلات Neutrophils ولمفاويات Lymphocytes إلى أماكن عديدة في نسيج الكبد المتضرر وبخاصة في المسافات البابية .



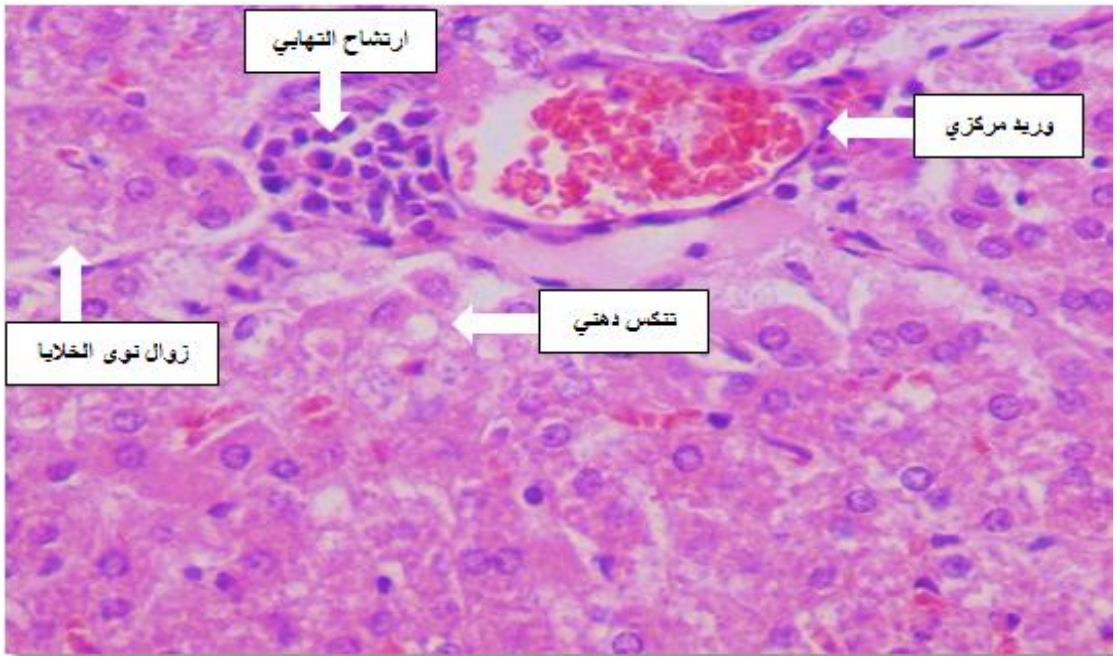
الشكل (6) : صورة مجهرية لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الثالثة توضح وريد مركزي متسع و مسافة بابية فيها وريد بابي متسع بشدة وارتشاح التهابي شديد واحتقان وعائي واضح (x10) ملونة بالهيماتوكسيلين – أيوزين.



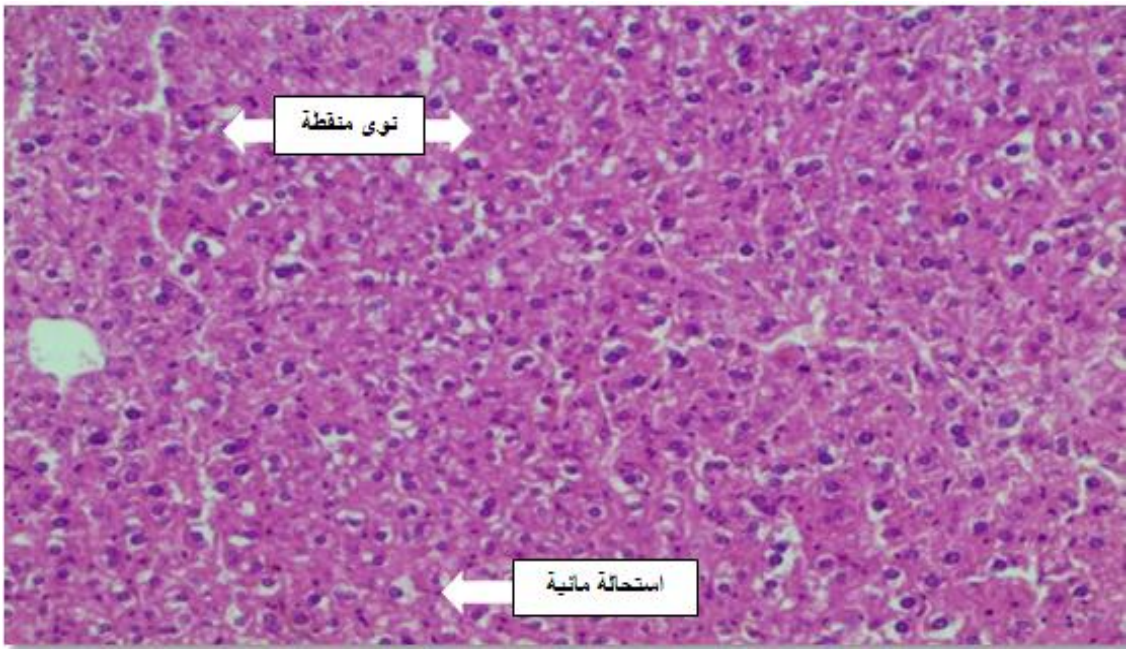
الشكل (7) : صورة مجهرية لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الثالثة توضح بؤرة نخرية مع ارتشاح التهابي شديد وسط جزء متنخر من النسيج الكبدي و خلايا كبدية عديمة النوى (x 40) ملونة بالهيماتوكسيلين – أيوزين.



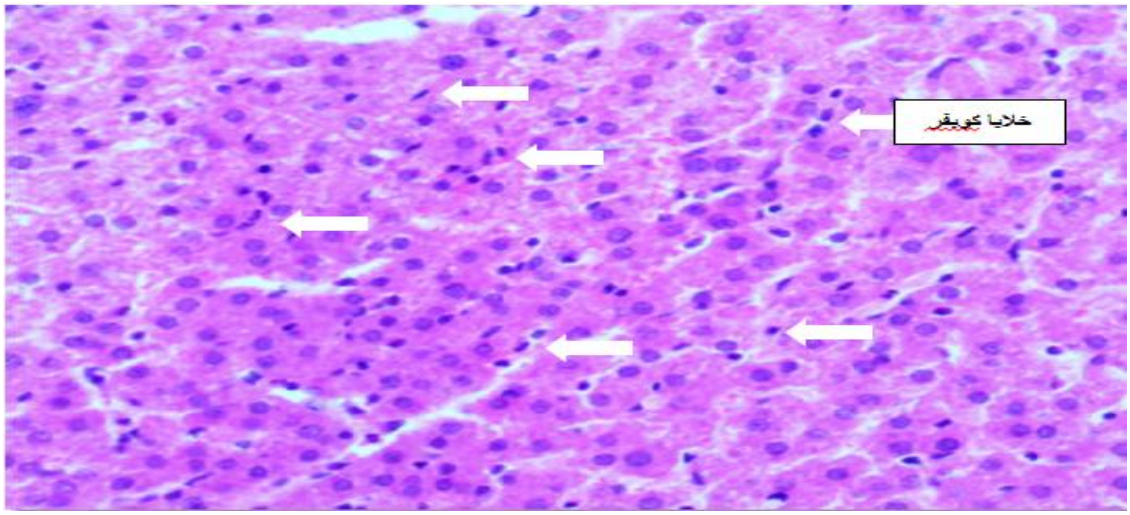
الشكل (8): صورة مجهريه لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الثالثة التي جرعت بنتريت الصوديوم. نلاحظ تنخر بالخلايا الكبدية وزوال نوى بعضها ، وبعض الخلايا الكبدية ذات نوى منقطة (40X) ملونة بالهيماتوكسيلين – أيوزين.



الشكل(9): صورة مجهرية لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الثالثة توضح وريد مركزي محتقن وارتشاح التهابي وتنخر العديد من الخلايا الكبدية وزوال النوى ووجود استحالة شحمية (x 40) ملونة بالهيماتوكسيلين – أيوزين



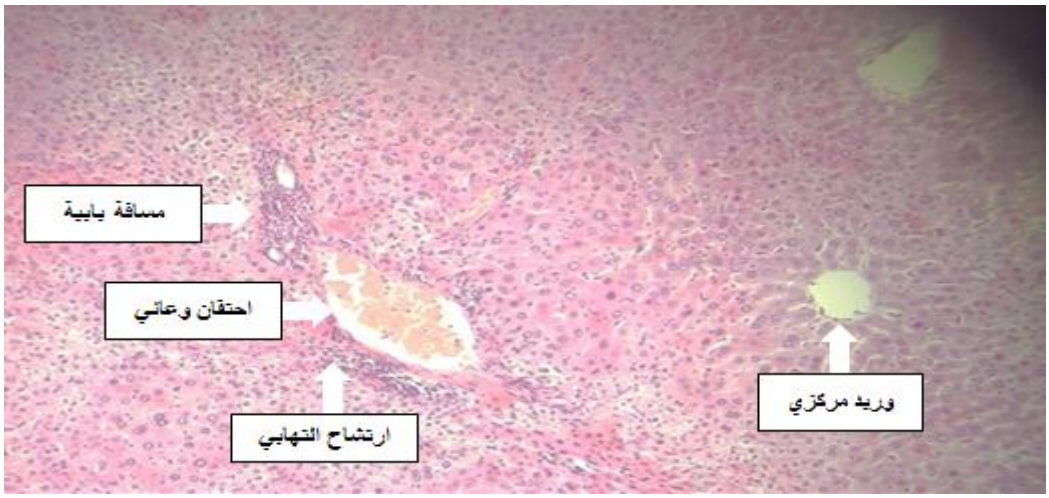
الشكل (10) : صورة مجهرية لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الثالثة توضح تخرب البنية الفصيصة للكبد و عدم وضوح بحدود الخلايا الكبدية ،ظهور انتباج و استحالة بالونية في الخلايا الكبدية ، كما ظهرت نوى منقطة (20x) ملونة بالهيماتوكسيلين – أيوزين. ملونة بالهيماتوكسيلين – أيوزين.



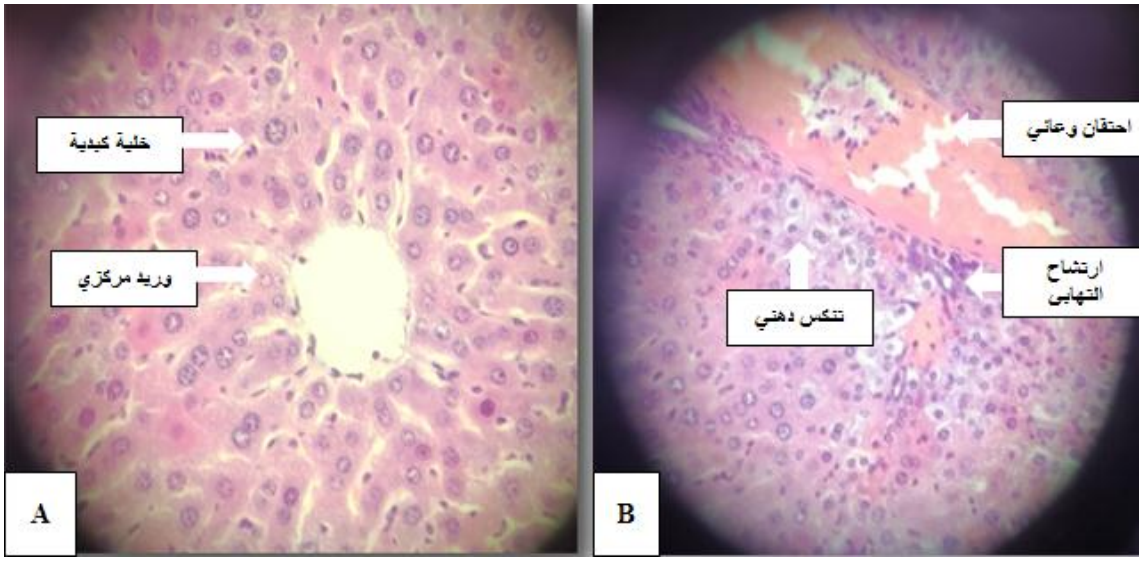
الشكل(11): صورة مجهرية لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الثالثة توضح تكاثر لخلايا كوبفر (x 20) ملونة بالهيماتوكسيلين – أيوزين.

4-تأثير التجريع المتزامن بنتريت الصوديوم مع المستخلص الكحولي لنبات الثوم في نسيج الكبد:

أظهرت نتائج الدراسة النسيجية لأكباد حيوانات المجموعة الرابعة المجرعة بنتريت الصوديوم يومياً بالتزامن مع المستخلص الكحولي للثوم تحسن واضح في النسيج الكبدي، حيث لوحظ حدوث تغيرات خلوية ونسيجية قليلة بالمقارنة مع المجموعة الثالثة المجرعة بنتريت الصوديوم فقط ، تمثلت هذه التغيرات بظهور احتقان و ارتشاح التهابي خفيف للمفاويات والعدلات بالمسافة البابية ، بينما لوحظت الجيبانيات و الوريد المركزي طبيعي و زوال انتباج الخلايا الكبدية التي بدت قريبة من الطبيعي وذات نوى طبيعية ومصطفة بشكل أشرطة منتظمة حول الوريد المركزي ،بينما شوهدت استحالة شحمية في بعض الخلايا الكبدية وفي حدودها الدنيا وغير مترافقة بأذى نسيجي.



الشكل (12): صورة مجهرية لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الرابعة تبين وريد مركزي طبيعي و ارتشاح التهابي في المسافة البابية مع احتقان وعائي خفيف (10X) ملونة بالهيماتوكسيلين – أيوزين.



الشكل (13): صور مجهرية لمقاطع نسيجية في كبد حيوانات المجموعة الرابعة ، A- نلاحظ وريد مركزي طبيعي تصطف حوله خلايا الكبد مع نوى طبيعية دون علامات نخر خلوي B - تظهر مسافة بابية فيها احتقان وعائي خفيف وارتشاح التهابي مع استحالة شحمية خفيفة دون أذى نسيجي واضح في خلايا الكبد. (40x) ملونة بالهيماتوكسيلين – أيوزين.

مناقشة النتائج :

الكبد هو العضو الرئيسي المسؤول عن إزالة السموم Detoxification من الجسم بوساطة هدم المواد غير المرغوب فيها [29] ، ومن أهم هذه المواد المضافات الغذائية المستخدمة بكثرة في الصناعات الغذائية والدوائية ومن أهمها نتريت الصوديوم الذي يسبب تلف كبير في الكلى والكبد[9] .

أثبتت نتائج دراستنا التأثير السام لنتريت الصوديوم على الخلايا الكبدية وقد يعود ذلك لأن نتريت الصوديوم يتفاعل مع الأمينات الموجودة في الوسط الحمضي للمعدة ، مما يولد النتروزأمين Nitrosamine والعديد من الجذور الحرة (ROS) التي تحفز أكسدة الدهون خاصة في غشاء الخلية مما يضعف غشاء الخلية ويؤدي إلى تفككه ، وبالتالي تنخر الخلايا الكبدية [30] ، كما أنها تهاجم مكونات الخلايا الأساسية مثل الدهون والبروتينات والأحماض النووية مما يؤدي إلى إتلافها وبالتالي تسبب لها الموت الخلويApoptosis [31] ، و يمكن أن يُعزى ذلك إلى زيادة نفاذية الميتاكوندريا نتيجة لزيادة الإجهاد التأكسدي الذي يؤدي إلى إطلاق أنزيم Cytochrome-C المحفز للموت الخلوي من خلال غشاء الميتاكوندريا ، و بالتالي تفعيل أنزيم Caspase-3 الذي يقوم بتفكيك الخلية [32] ، وقد يمتد النخر ليصل إلى نوى الخلايا مما يسبب ضمورها أو اختفائها ، وبالتالي ينتج العديد من التغيرات النسيجية المرضية غير القابلة للرجوع أو الإصلاح [33,34] ، كما أن نتريت الصوديوم يسبب ارتشاح الخلايا الالتهابية إما حول وعائية أو حول بابية التي تطلق بعد ذلك كميات كبيرة من المواد المؤكسدة مثل فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) الذي قد يسبب تلف للأنسجة والعديد من الخلايا الكبدية [35] ، كما يحدث ارتشاح للخلايا الالتهابية بسبب الالتهاب الحاد الذي يعزى إلى زيادة النفاذية الوعائية نتيجة لانقباض الخلايا البطانية مما يؤدي إلى فجوات بين الخلايا[36] ، أو يمكن تفسير وجود خلايا التهابية مرتشحة إلى وجود تغيرات تنكسية في نسيج الكبد أدت إلى إفرازه عوامل الجذب الكيميائية ومن ثم

ارتشاح خلايا الدم البيض إلى الأنسجة المتضررة وذلك لمعالجة الالتهاب و للدفاع عن الجسم [37] ، كما لوحظ تكاثر بخلايا كوبفر في الجيبانيات التي تسهم في الدفاع عن المنطقة المتضررة [38] ويعود الاحتقان الكبدي إلى التأثير المباشر على جدار الأوعية الدموية ، أو ارتفاع الضغط داخل المنطقة البابية و في بعض المناطق في الكبد مثل الوريد المركزي نتيجة التأثير السام لنتريت الصوديوم عند تناوله بشكل مستمر، مما يسبب ضعف التصريف الدموي نتيجة لانسداد وريدي كبدي ،وبالتالي توقف أو تعطيل للانسياب الدموي خلال الخلايا الكبدية[39] ،و زيادة اتساع الوريد المركزي وتراكم خلايا الدم الحمر المتحللة [40] ، ويعود تضخم الخلايا الكبدية إلى إصابتها بالتنكس المائي Hydropic degeneration ، وذلك نتيجة لتكون الفجوات في سيتوبلازما الخلايا الكبدية و ترسب كميات من الماء داخل هذه الخلايا مما يسبب ضعف شديد في تلون السيتوبلاسما، و من المرجّح أن يكون سبب الفجوات حدوث تلف للخلايا الكبدية وغشاء الخلية وهذا يحدث نتيجة للتأثير السام لنتريت الصوديوم ، فالإجهاد التأكسدي الناتج عن تجمع الجذور الحرة في الكبد يسبب تحطم الخلايا الكبدية، بالإضافة إلى أكسدة الدهون Lipid peroxidation المتواجدة ضمن غشاء الخلية أو أغشية الميتوكوندريا ، مما يسبب ظهور الاستجابة الالتهابية [38] ، و إن تشكل الفجوات في السيتوبلازما علامة مهمة على ضعف أنسجة وخلايا الكبد وهي من الآليات الدفاعية للخلايا الكبدية لمنع المادة السامة من عرقلة أنشطة الخلية [41] ، كما أظهرت نتائج دراستنا الحالية ظهور تنكس دهني في العديد من الخلايا الكبدية وذلك نتيجة التراكم غير الطبيعي للدهون الثلاثية في خلايا الكبد [36] ، وذلك يحدث عندما يتجاوز كمية الأحماض الدهنية الكبدية القدرة على التخلص منها فيتم تخزينها على شكل دهون ثلاثية Triglycerides في الخلايا الكبدية، و إزاحة نوى الخلايا إلى الجوانب [42] ويمكن تفسير هذا التغير الخلوي على أساس تناقص مستوى مركب ATP نتيجة التغيرات الغشائية في الميتوكوندريا، و نتيجة لذلك تتأثر عملية تصنيع البروتين المعتمدة على الطاقة، وبالتالي تقل الاستفاده من الدهون في عملية تكوين البروتينات الدهنية Lipoproteins والتي قد تتوقف، وبالتالي تتراكم الدهون في صورة قطيرات داخل سيتوبلازما الخلايا [43] ، تتفق نتائج دراستنا مع Albasha وآخرون (2022) [12] الذي بين أن المعاملة بنتريت الصوديوم أدت لتغيرات نسيجية مرضية في أنسجة الكبد والكلى في ذكور الأرانب تتجلى بتنخرات خلوية، وظهور تورم وفجوات دهنية ،و اتساع واحتقان في الوريد المركزي ، بالإضافة إلى وجود ارتشاح لخلايا الدم البيض، كما تتفق مع Akhzari وجماعته (2019) [30] بدراسته التي أجراها على الجرذان فقد أوضح أن تجريع الجرذان فموياً بمادة نتريت الصوديوم وبتركيز 80 ملغم/كغم من وزن الجسم أدى إلى الإجهاد التأكسدي في نسيج الكبد وانتاج بيروكسيد الدهون الناجم عن نتريت الصوديوم واختلال غشاء خلايا الكبد، كما تتفق نتائجنا مع دراسة El-Nabarawy وجماعته (2020) [8] والتي جُرعت فيها الجرذان البالغة فموياً بمادة نتريت الصوديوم وبتراكيز تصاعدية (75 ، 60 ، 40 ، 20) ملغ/كغ من وزن الجسم حيث كشفت عن تغيرات مورفولوجية غير طبيعية تمثلت بتنكس وتنخر في بعض خلايا نسج الكبد تتناسب مع جرعات النتريت المعطاة، كذلك تتوافق مع نتائج أبحاث أخرى بينت أن نتريت الصوديوم يحدث تغيرات نسيجية مرضية في أعضاء مختلفة من الجسم كالقلب والرئتين والدماغ والخصيتين ،كما يسبب تنخرات خلوية و تلف الحمض النووي [44] ، لذلك تعود فعالية الثوم المضادة للأكسدة لما يحتويه الثوم من مواد كيميائية نباتية فعالة لا تشكل أي تأثير سمي للأنسجة ولا تحفز على حدوث الاجهاد التأكسدي أو توليد جذور حرة ، وإنما تخفض آثار الإجهاد التأكسدي [45،46] ، و منها المركبات

الفينولية و الفلافونويدات القادرة على إطلاق بروتون الهيدروجين من مجموعة الهيدروكسيل الخاصة بهم، مما يحبس الجذور الحرة ويمنع تلف الكبد و تعكس الالتهاب المزمن والإجهاد التأكسدي، لما لها من خاصيات مضادة للأكسدة، مما يؤدي إلى تحسن وظائف الكبد [47] ، كما يحتوي الثوم على نسبة عالية من الكربوهيدرات، الفيتامينات ، النشويات ، حمض الكافيك ، السيلينيوم، والدهون ، إضافةً لذلك يحتوي على تراكيز عالية من الكيرسيتين Quercetin [48] و الكبريت ، ومن بين مركبات الكبريت الأليسين Allicin ، الذي يعد المادة الأساسية التي تكمن وراء الصفات العلاجية والرائحة الخاصة التي يتميز بها الثوم كما يمتلك خصائص مضادة للالتهاب و مضادة للأكسدة [49] ، لذلك يمتلك الثوم القدرة على التدخلات العلاجية في المراحل المبكرة لإبطاء تقدم المرض [50]، وبالتالي تقليل المضاعفات المرتبطة به ، و الحفاظ على السلامة التركيبية للغشاء الخلوي الكبدي التي يمكن أن تكون مسؤولة عن تثبيت الغشاء، اذ ان هذه المكونات لها دور في حماية أغشية الخلايا من خلال تحفيز نشاط ال-Glutathione-S-Transferase (G-S-T) الذي يعد أول مضادات الأكسدة التي لها القدرة على إزالة التأثير السمي لنتريت الصوديوم بوساطة قدرته على الارتباط معه عن طريق مجاميع الكبريت (SH–) الموجودة في الغلوتاثيون ومن ثم طرحه خارج الجسم مع البول، كما تمتلك قدرة على استعادة أنزيمات الكبد لنشاطها الطبيعي ، إذ يعمل الثوم على زيادة نشاط مضادات الأكسدة، و اكتساح الجذور الحرة ROS التي تنشط الموت المبرمج للخلايا، أو تتفاعل مع الحمض النووي والبروتينات والدهون، مما يؤدي إلى تلف الخلايا الكبدية الحاد وخروج الأنزيمات إلى الدوران الدموي وارتفاع تركيزها بالدم [51] ، تتفق نتائج دراستنا مع نتائج الدراسات والأبحاث العلمية التي أظهرت الدور الوقائي لمستخلص الثوم في حماية خلايا الكبد من التنخر الخلوي المُحدث سواء ب CCl4 في الأرانب [20] ، أو الباراسيتامول [52] ، كما تتفق مع دراسة Abbas وآخرون (2014) [53] الذي أكد الدور الوقائي لزيت الثوم بجرعة 5 ملغ/كغ من وزن الجسم في التقليل من التغيرات السمية النسيجية المرضية للكبد والكلى المستحدثة بالمضاد الحيوي الجنتامايسين Gentamicin ، وكذلك مع دراسة Khalid (2012) [54] الذي أثبت أن لحبوب الثوم فعالية مضادة للأكسدة وذلك من خلال زيادة المادة المضادة للأكسدة الغلوتاتيون (GSH) ، و تقليله ل Malondialdehyde أو MDA الناتج عن أكسدة الدهون، على الرغم من ذلك ، إلا إن هذه النتائج تختلف عن نتائج دراسة Rana و آخرون (2006) [55] التي بينت السمية الكبدية للثوم عند تغذية ذكور الفئران لمدة 28 يومًا بالثوم الطازج بجرعة 1.0 غرام/ كغ من وزن الجسم ، حيث تبين إصابة الكبد بضرر نسيجي ملحوظ بعد 21 يومًا، وارتفاع ملحوظ بأنزيمات الكبد، كما أفاد Mikaili وآخرون (2013) [56] أن تناول مستخلصات بصيلات الثوم للفئران الذكور والإناث بجرعات 300 و600 ملغ لمدة 21 يومًا أدى إلى تأخير النمو وأثر على المعايير البيولوجية والنسيجية، كما كشفت Rana وآخرون (2011) [57] أن تناول الثوم بجرعات 250 و500 و1000 مجم / كجم يوميًا عن طريق الفم أو داخل الصفاق للفئران أدى إلى تشوهات حادة في أنسجة الكبد والرئة لدى الفئران، مما يشير إلى السمية المرتبطة بالجرعة، فقد تبين أن تناول الثوم بجرعة 500 و 250 مغ / كغ يوميًا أدى إلى انخفاض ملحوظ في مضادات الأكسدة الذاتية دون تغيير مستوى بيروكسيد الدهون، في حين أدى تناول 1000 مغ / كغ يوميًا إلى تشوهات مورفولوجية في الكبد ، كما كشف الفحص النسيجي عن إصابات بؤرية للخلايا الكبدية.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

- يُحدث استخدام نتريت الصوديوم ضرراً نسيجياً على الكبد يتجلى بظهور علامات تنخر خلوي واضحة ، وبخاصة الانتباج الخلوي وزوال نوى الخلايا واحتقان وعائي ، و ارتشاح لخلايا الدم البيض إلى أماكن الضرر النسيجي.
- يقي المستخلص الكحولي للثوم أنسجة الكبد من السمية الخلوية والتأثيرات الضارة المحدثة بنتريت الصوديوم.

التوصيات:

- نوصي بعزل المركبات الفعالة لنبات الثوم وإجراء المزيد من الأبحاث والتجارب العلمية لدراسة تأثيرها على أجهزة الإنسان واستخدامها في العلاج الطبي، و التقليل من استهلاك المواد الغذائية الحاوية على المواد الحافظة وخاصة نتريت الصوديوم، بسبب تأثيراتها السلبية على الجسم، وكذلك استخدام الثوم كمكمل غذائي في الطعام .

References:

[1]M. S. Al-Shinnawy, "Physiological effect of a food additive on some haematological and biochemical parameters of male albino rats" ,*Egypt. Acad. J. Biol. Sci., A, Entomol*, vol 2, no. 1, pp .143-151, 2009.

[2]S. E. Metwally, A. G. Madboly and G. Abd El-Fattah, "Nephrotoxicity of Tow Food Additives (Aspartame and Monosodium Glutamate) in Adult Albino Rats Biochemical and Histopathological Effects", *IOSR-JESTFT*,Vol 13, no 4, PP. 20-29, 2019.

[3]H. E. Zahkok, S. Soliman, G. Z. Al-Kassas, and H .Abdel Wahed," Biochemical studies on the effect of sodium nitrite and/or glutathione treatment on male rats", *The Egypt. J. Hosp. Med*, Vol 30, no (1), PP. 25-38. 2008.

[4]I. O .Sherif, and M. M. Al-Gayyar, "Antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of silymarin on hepatic dysfunction induced by sodium nitrite",* Eur. Cytokine Netw*, Vol 24, no (3), PP. 114-121. 2013.

[5]O. O .Adewalea, E. S .Samuelb, M .Manuboluc, K .Pathakotid," Curcumin protects sodium nitrite-induced hepatotoxicity in Wistar rats", *Toxicology Reports*, no (6), PP .1006–1011. 2019.

[6] J. T. Arnold, A. B. Lloyd, S. J . Bailey, T. Fujimoto, R. Matsutake, M. Takayanagi, N. Fujii, "The nitric oxide dependence of cutaneous microvascular function to independent and combined hypoxic cold exposure", *J. Appl. Physiol*, 129 (4), PP: 947-956. 2020.

[7] G. J. A. Aboulgasem, A. E. Azab, and M. M. Almaky," Sodium nitrite induced biochemical alterations in the blood serum and its amelioration by aqueous extract of Libyan propolis in Guinea pigs", *Int. J. Sci. Res*, Vol 4, no (8), PP: 1040-1048. 2015.

[8] N. A. El-Nabarawy, A. S. Gouda, M. A . Khattab, and L. A. Rashed, "Effects of nitrite graded doses on hepatotoxicity and nephrotoxicity, histopathological alterations, and activation of apoptosis in adult rats",* Environ. Sci. Pollut. Res. Int*, Vol 27, no (12), PP: 14019-14032. 2020.

[9] G. A Uslu, U. S. L. U. Hamit, and Y. Adali," Hepatoprotective and nephroprotective effects of Trigonella foenum-graecum L. (Fenugreek) seed extract against sodium nitrite toxicity in rats", *Biomed. Res. Thera*, Vol 6, no (5), PP: 3142-3150. 2019.

[10] W. Shanshan, H. Sang, F. Wenjuan, Z. Xiaojing, W. Haili, L. Chaojie, D .Jinbo ، "Nitrite exposure may induce infertility in mice", *J Toxicol Pathol. Jan*, 35 (1), PP:75-82. 2022

[11] P .Song, L .Wu and W .Guan, "Dietary Nitrates, Nitrites, and Nitrosamines Intake and the Risk of Gastric Cancer" , * A Meta-Analysis. Nutrients*, Vol 7, pp: 9872–9895.Special., 288-294. 2015.
[12]M .Albasha, A. Azabelsayed, A .alsaeh," The Potential Protective Effects of Olive Leaves Extract on Sodium Nitrite Induced Hepatorenal Toxicity in Male Rabbits" , *International Multilingual Journal of Science and Technology (IMJST) * ,ISSN: 2528-9810.Vol. 7 Issue 8. 2022.
[13] A. K .De, and M .De, "Functional and Therapeutic Applications of Some Important Spices", In The Role of Functional Food Security in Global Health (pp. 499–510). *Elsevier*. 2019.
[14] M .Gomaa, and E. .Abd Elaziz," Protective Effect Of Aquaeous Green Tea Extract On Toxicity Caused By Sodium Nitrite", *Assiut Vet. Med*, J. Vol. 57 No. 130. 2011.
[15] G .Atila Uslu, H. Uslu, Y .Adali," Hepatoprotective and nephroprotective effects of Trigonella foenum-graecum L. (Fenugreek) seed extract against sodium nitrite toxicity in rats", 2019.
[16]A.M .Kareem , A.K. Obeid," Evaluation of The Effect of Aqueous Extract of Lepidium Sativum Seed on The Adverse Effects of Rat Liver Injury Induced by Sodium Nitrite", *International Journal of Pharmaceutical Research* , Vol 12, No (4), 2020.
[17]M. H .Al-Gayyar Mohammed, M. Hassan Hanan, A. Alyoussef, A. Abbas, M. Darweish & A .El-Hawwary, "Nigella sativa oil attenuates chronic nephrotoxicity induced by oral sodium nitrite: Effects on tissue fibrosis and apoptosis", *Redox Report*, Vol 21: No 2, pp :50-60. 2016.
[18]K .Ried, C .Toben, P. Fakler , " Effect of garlic on serum lipids: an updated meta-analysis" , * Nutr Rev*, Vol 71, pp: 282-99. 2013.
[19]C .Galeone , C . Pelucchi , F . Levi, E . Negri , S . Franceschi , R. Talamini, A. Giacosa, C. La Vecchia ." Onion and garlic use and human cancer *Am J Clin Nutr*. Nov;84(5):1027-32. 2006.
[20]Kh .Naji , E. Al-Shaibani, F. Alhadi, S. Al-Soudi and M. D'souza, " Hepatoprotective and antioxidant effects of single clove garlic against CCl4-induced hepatic damage in rabbits",* BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol 17, pp :411. 2017.
[21] A. Ademiluyi, G .Oboh, T.Owoloye and O. Agbebi, "Modulatory Effects of Dietary Inclusion of Garlic (Allium sativum) on Gentamycin-Induced Hepatotoxicity and Oxidative Stress in Rats",*Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, Vol 3, pp: 470-475. 2013.
[22]AY.Nasr, "Protective effect of aged garlic extract against the oxidative stress induced by cisplatin on blood cells parameters and hepatic antioxidant enzymes in rats",* Toxicol Reports *, Vol 1, pp:682–691. 2014.
[23] R.Onyeagba, O. Ugbogu, C. Okeke, " Iroakasi. Studies on the antimicrobial effects of garlic (Allium sativum Linn), ginger (Zingiber officinale Roscoe) and lime (Citrus aurantifolia Linn)", * Afr. J. Biotechnol*, Nov; 3 (10): 552-554. 2004.
[24] E. Abdel-Reheim , H. Abdel-Hafeez , B. Mahmoud, and E. Abd-Allah, "Effect of food additives (monosodium glutamate and sodium nitrite) on some biochemical parameters in albino rats",*International Journal of Bioassays*,3(08), 3260–3273. 2014.
[25] M. F. Salama, A. Abbas, M. M. Darweish, A. A. El-Hawwary, and M. M. H. Al-Gayyar , " Hepatoprotective effects of cod liver oil against sodium nitrite toxicity in rats" , * Pharmaceutical Biology*, 51(11), 1435–1443. 2013.
[26] J. J. Sindelar, and A. L. Milkowski," Sodium nitrite in processed meat and poultry meats": a review of curing and examining the risk/benefit of its use, *American Meat Science Association White Paper Series*, 3, 1–14. 2011.

[27]C. K. Michael ."Laboratory of Computational Biology and Risk Analysis", *National Institute of Environmental Sciences*, Vol. 30, No. 6 30:676–683. 2002.
[28]T .Maity, A . Ahmad, N . Pahari, G. Subarna," Hepatoprotective Activity of Mikania scandens (l.) willd. against diclofenac sodium induced liver toxicity in rats", *asian j pharm clin res* , Vol 5(2), 185-189. 2012.
[29] A. Guyton, and J. Hall, "Textbook of medical physiology", 11th. * Elsevier Inc*. 2006.
[30] M . Akhzari, S. M. Shafiee, S. Rashno, and M. Akmali, "Berberine attenuated oxidative stress induced by sodium nitrite in rat liver" , *Jundishapur J. Nat. Pharmaceut. Prod*., 14(1): 1-8. 2019.
[31]A. Obeid, H. Alsalame, and R. Abdulshahed, " The role of Moringa oleifrera seed extract in amelioration of kidney injury induced by sodium nitrite in male rats", *Anna. The Romanian Soc. Cell Bio*., 25(2): 2392-2402. 2021.
[32] M. Eissa, M. Ahmed , M. Abd Eldaim, A. Mousa, A. Elkirdasy , M. Mohamed and S. Orabi," Chlorella vulgaris ameliorates sodium nitrite-induced hepatotoxicity in rats",* Environ. Sci. Pollut. Res*., 28(8): 9731-9741. 2020.
[33] M. Soliman, A. Aldhahrani, and M. Metwally, "Hepatoprotective effect of Thymus vulgaris extract on sodium nitrite-induced changes in oxidative stress, antioxidant and inflammatory marker expression",* Sci. Rep*., 11(1): 1-13. 2021.
[34] H. Özen, U. Kamber, M . Karaman, S. Gül, E. Atakiº i, K. Özcan, and O. Atakiº i, " Histopathologic, biochemical and genotoxic investigations on chronic sodium nitrite toxicity in mice", * Experim. and Toxicol. Patho*, 66(8): 367-375. 2014.
[35]A. Sarsour, and N. E. Hassuneh ," The effect of sodium nitrite on some parameters of the immune system",* Food Chem. Toxicol*,39(2): 119-24. 2001.
[36]L. Abed-Al-Azeez, A. Ali, and M. Haba, "Study the protective effect of radish (Raphanus sativus) seeds extract against harmful effects of sodium nitrite on some physiological and histological parameters in male rabbits", *Iraqi J. Biotechnol*, 14(2): 59-78.2016.
[37] S. H. Abdul-Baqui, R. C. Bhagat, M. M. Darzi, and S. Abdul- Wahid, "Biochemical and histomorphological study of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rabbits" , *Pakistan J. Nutr*, 7(2): 359-364. 2008.
[38]A. S. Majumdar, M. N. Saraf, N. R. Andraves, and R. Y. Kamble," Preliminary studies on the antioxidant activity of Tribulus terrestris and Eclipta alba" , * Phcog. Mag*, 4(13): 102-107. 2008.
[39] A. A. Hama, W. A. Al-Masoudi and A. J. R. Houat, "Histopathological study of amoxicillin drug derivative on rats treated with sodium nitrite",* The 5th Int. Sci. Confer. Med. Health*. 2020.
[40]A. O. Eweka, and F. A. E. Om‟Iniabohs, "Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the liver of adult wistar rats",*The Internet J. Gastroenterol*, 6; available. 2008.
[41] N. F. Cheville, " Ultrastructural pathology: the comparative cellular basis of disease",*John Wiley & Sons*. 2009
[42] P. Babin, and G. Gibbons." The evolution of plasma cholesterol: direct utility or a “spandrel” of hepatic lipid metabolism".* Progress in lipid research*, 48(2): 73-91, 2009.
[43] N. F. Cheville and R. A . Rimler, "A protein toxin from Pasteurella multocida type D cause acute and chronic hepatic toxicity in rat", *Vet. Pathol*., 26: 148-157. 1989.
[44] FA . Ansari, SN .Ali, H. Arif, AA .Khan, R .Mahmood, "Acute oral dose of sodium nitrite induces redox imbalance, DNA damage, metabolic and histological changes in rat intestine",* PLoS ONE *,12(4): e0175196, 2017.

[45] L. O. Khalid, "The anti-oxidant effect of processed garlic", *Kufa Med.Journal*,VOL.15.No.1, 2012.
[46] E. Subroto, Y. Cahyana, , F. Tensiska, Mahani, Filianty, E. Lembong, E. Wulandari, D . Kurniati, R.A. Saputra, and F. Faturachman, " Bioactive compounds in garlic (Allium sativum L.) as a source of antioxidants and its potential to improve the immune system" , *Food Research* ,5 (6) 1 – 11, 2021.
[47] S. U . Dandare, I. J Ezeonwumelu, C. P. Ezeh, and H. Auta, "Determination of in vitro Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Different Extracts of Allium sativum (Garlic)", *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, Volume 9, Issue 5, PP 69-73, 2014.
[48] G. Sethi, P. Rath, A. Chauhan, A. Ranjan, R. Choudhary, S. Ramniwas, K. Sak, D. Aggarwal, I. Rani, H.S. Tuli , " Apoptotic Mechanisms of Quercetin in Liver Cancer" , * Recent Trends and Advancements. Pharmaceutics*, 15, 712 , 2023.
[49] A. Tekeli , L. Çelik , H. R. Kutlu ," Plantextracts; anew rumen moderator in ruminant diets Journal of Tekirdag" , * Agricultural Faculty* , 4 (1) : 71-79, 2007.
[50] G . El-Saber Batiha, A .Magdy Beshbishy, L. G Wasef, YHA. Elewa, A. Al-Sagan, ME. Abd El-Hack, AE. Taha, M. Abd-Elhakim, H. Prasad Devkota ," Chemical Constituents and Pharmacological Activities of Garlic (Allium sativum L.)", *Nutrients*,12(3):872, 2020.
[51] M, Dorrigiv, A Zareiyan, H. Hosseinzadeh ,"Garlic (Allium sativum) as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities", Volume34, Issue8 ; 1770-1797, 2020
[52] K .Clarence, .j .Ozougwu , E, Obimba. S. Olajojutemidayo. and D. Kelechukwu, "Investigation of the Antihepatotoxic Effects of Allium sativum Extracts Against Acetaminophen Intoxicated Rattus novergicus" , *World Journal of Medical Sciences *, 11 (3): 397-404, 2014.
[53]M. Abbas , M . Zayni, N. Al-Kadhi," Effect of Garlic Oil on Gentamicin Induced Hepatorenal Toxicity in rats", *Journal of Kerbala University*, 11(2). 2014.
[54] L. Khalid, "The anti-oxidant effect of processed garlic", *Kufa Med.Journal*,VOL.15.No.1, 2012.
[55] SV .Rana, R . Pal, K . Vaiphei, K . Singh," Garlic hepatotoxicity: safe dose of garlic." *Trop Gastroenterol* ;27(1):26-30. 2006.
[56] P. Mikaili, S. Maadirad, M. Moloudizargari, S. Aghajanshakeri, "Therapeutic uses and pharmacological properties of garlic, shallot, and their biologically active compounds, * R.P. Iran. J. Basic Med. Sci*, 16, 1031–1048, 2013.
[57] S. Rana, R. Pal, K. Vaiphei, SK .Sharma, R. Ola, " Garlic in health and disease" . * Nutr. Res. Rev*., 24, 60–71, 2011.