مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (41) العدد (2) 2019
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (41) No. (2) 2019

تقصي الدور الوقائي للمستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر على السمية الكبدية المستحدثة بعقار ديكلوفيناك الصوديوم في الهامستر السوري

د. علي داود [1]
د. مروان دباغ [2]
حلا سلمان [3]

(تاريخ الإيداع 26 / 11 / 2018. قبل للنشر في 9 / 4 / 2019)

ملخّص

هدفت الدراسة الحالية إلى تقصي تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر البري على السمية الكبدية المستحدثة بعقار ديكلوفيناك الصوديوم في الهامستر السوري. شملت الدراسة 32 حيوان وزعت في أربع مجموعات متساوية: المجموعة الأولى (شاهدة)، والمجموعة الثانية جُرعت فقط بمستخلص أوراق الزعتر (300 ملغ/كغ من وزن الجسم) مرة واحدة يومياً لمدة خمس أسابيع، وجرعت المجموعة الثالثة بعقار ديكلوفيناك الصوديوم (6 ملغ/كغ) ثلاث مرات اسبوعياً لمدة خمس أسابيع ، في حين جرعت المجموعة الرابعة بشكل متزامن بكل من مستخلص أوراق الزعتر وديكلوفيناك الصوديوم بنفس الطريقة والجرعات السابقة ولنفس المدة الزمنية. أظهرت نتائج الدراسة الحيوية الكيميائية ارتفاعاً معنوياً في تراكيز أنزيميALT، وAST($p<0.001$)، والبولة، وحمض البول، والكرياتنين ($p<0.001$)، في حين سُجل انخفاض معنوي ($p< 0.001$) في تركيز الألبومين في مصل دم حيوانات المجموعة الثالثة مقارنة مع المجموعة الشاهدة، والمجموعة الثانية. إضافة لذلك، سُجل انخفاض معنوي في تراكيز جميع هذه المعايير ($P<0.001$) وارتفاع معنوي في ألبومين مصل دم حيوانات المجموعة الرابعة بفعل التجريع المتزامن للمستخلص المائي لأوراق الزعتر مع ديكلوفيناك الصوديوم مقارنة مع مثيلاتها في مصل دم المجموعة الثالثة. من جانب آخر، بينت نتائج الدراسة النسيجية لأكباد حيوانات المجموعة الثالثة ظهور علامات واضحة لتنخر خلوي تجلت بانتباج خلايا الكبد وضعف تلونها، وفقدان أنوية بعضها، وتحطم أغشيتها الخلوية، وحدوث ارتشاح التهابي شديد للعدلات واللمفاويات. كما لوحظ احتقان وعائي في الأوردة المركزية والبابية للكبد وتوسع في الجيوب الوريدية. وقد استعادت أنسجة الكبد جزءاً مهماً من عافيتها وسجل تنشيط لانقسام خلايا الكبد في الحيوانات التي جُرعت بمستخلص الزعتر بالتزامن مع ديكلوفيناك الصوديوم. يتضح من نتائج الدراسة الحالية أن المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر يشكل منتج عشبي طبيعي فعال ضد السمية الكبدية والإجهاد التأكسدي المُحدث بديكلوفيناك الصوديوم.

الكلمات المفتاحية: الهامستر ، الكبد ، ديكلوفيناك الصوديوم ، السمية الكبدية ، مستخلص أوراق الزعتر .

[1]* مدرس في قسم التشريح المرضي– كلية الطب البشري– جامعة تشرين.
[2]** مدرس في قسم علم الحياة الحيوانية– كية العلوم– جامعة تشرين.
[3]*طالبة ماجستير– قسم علم الحياة الحيوانية– كلية العلوم– جامعة تشرين.
halaslman.12@gmail.com

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (41) العدد (2) 2019
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (41) No. (2) 2019

Evaluation of a Protective effect of aqueous thymus extract against diclofenac sodium-induced hepatocytotoxicity in mal Syrian hamster

Dr. Ali Daoud[4]
Dr. Marwan Dabbagh[5]
Hala Salman[6]

(Received 26 / 11 / 2018. Accepted 9 / 4 /2019)

□ ABSTRACT □

The present study aimed to evaluate the protective effect of aqueous extract of thymus leafs against diclofenac sodium- induced hepatotoxicity in male Syrian hamster. Thirty-two mal hamsters were used and equally divided into four groups. Group 1 is as control, while group 2 received orally a dose of thymus extract (300 mg/kg.b.w) daily for five weeks. Groups 3 received diclofenac sodium (6mg/kg.b.w) three times/week also for five weeks, and Groups 4 received a dose of diclofenac sodium in combination with a dose of thymus extract in the same way and concentrations. At the end of the experiment, blood was taken from each animal and stored until biochemical study. Then, hamsters were scarified, they were autopsied, and liver tissue samples were prepared for histopathology assessment.

Biochemical study showed a significant increase in the levels of ALT, AST enzymes, Creatinine, uric acid, and urea ($p<0.001$) while albumin level was decreased ($p<0.001$) in blood serum of groups 3 compared to control and second groups. Also, a significant decreasing in the level of all the precedent biochemical parameters ($p<0.001$) and elevation of albumin has been recorded in blood serum of 4^{th} group. In addition, histopathological study of liver tissue revealed strong indices of injury mediated by diclofenac sodium especially congestion of liver cells, dilation of hepatic portal and central veins, cell nucleus disappearance, a as well as inflammatory cells infiltration. These indices were greatly ameliorated and activation of liver cells division was recorded in liver of animals of 4th group. The results of the present study show that the water extract of thyme leaves is an effective natural herbal product against hepatotoxicity and oxidative stress induced by sodium diclofenac.

Key words: Hamster, Liver, Diclofenac Sodium, Cytotoxicity, Leafs thymus extract

4 *Associated Professor, Department of Faculty of Medicin, Tishreen Univerity / Syria
5** Professor in Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Tishreen Univerity / Syria
6 *** M.Sc. Student of Animal Biology, Faculty of sciences, Tishreen Univerity / Syria

مقدمة :

أظهرت نتائج الكثير من الدراسات والبحوث العلمية (التي أجريت في العقود الأخيرة على أنواع عديدة من الأحياء بما فيها الثدييات)، التأثيرات الجانبية السلبية للعقاقير والأدوية المستخدمة في علاج الأمراض، وبخاصة عقار الديكساميثازون الذي يسبب تلفاً في أنسجة الكلى والكبد عند الفئران والأرانب (Mohi-aldeen & Stubbe, *et al*.2006) ، ومضادات الأورام السيسبلاتين و الأدرياميسين Cisplatin and adriamycin المسببة للتسمم الكبدي عند الفئران (Saker *et al*. 2011; Palipoch and Punsawad ,2013) ، وكذلك عدد من المضادات الحيوية مثل السيبروفلوكساسين Ciprofloxacin المحدث للتنخر الخلوي Cell necrosis في القلب والكبد عند الإنسان والحيوانات (Adikwu & Brambaia 2012)، والأموكسيسيللين الذي يسبب سمية خلوية كبدية عند الهامستر (محمد وآخرون 2017) و الأتورفاستاتين Atorvastatin، الذي يؤدي بجرعات عالية إلى فشل كبدي حاد (Taleb *et al*., 2014 *et* Carrascosa *al*.,2015;)، وغيرها الكثير من المركبات الدوائية الأخرى (Akhter& Sarker ,2015) .

وبالرغم من أهمية عقار ديكلوفيناك الصوديوم كمضاد التهاب غير ستيروئيدي، إلا أن دراسات عديدة أثبتت سميته بجرعات مديدة لمدة 45 يوم أو أكثر، إذ يسبب فقر دم عند الأرانب (Al-Saady *et al*., 2011، El-Maddawy *et al*., 2013)، وتنخرات خلوية في الكلى (Gali & Al-Temimi 2010) وسمية خلوية كبدية عند الفئران تتجلى بارتفاع معدل أنزيمات مصل الدم وبخاصة أنزيمات ALT، و AST، وALP ، إضافة إلى زيادة في تراكيز البيلروبين والغلوتاتيون المؤكسَد (El-Maddawy *et al*., 2013). كما أثبتت دراسات أخرى أن استخدام المسكنات ومنها ديكلوفيناك الصوديوم Diclofenac Sodium والإندوميتاسين لها تأثيرات جانبية سلبية على المعدة وجهاز الهضم(O`Neil, *et al* .,2012) وعضلة القلب والكليتين (Altman, *et al*., 2015). وتعود سمية العقاقير والأدوية المستخدمة لفعاليتها في زيادة تشكل الجذور الحرة (ROS) المؤكسدة في خلايا عدد من الأعضاء وبخاصة الكبد والكلى والقلب حيث ترتبط بالبروتينات، والشحوم، والأحماض النووية وبخاصة DNA وتسبب أكسدتها وتحطيمها وتفعيل آليات الموت الخلوي بالتنخر(Lu *et al*., 2013; Li, *et al*. 2015).

من جانب آخر، أظهرت الدراسات أهمية مستخلصات العديد من النباتات الطبية في حماية الأنسجة الحية من التأثيرات الضارة للجذور الحرة التي تتشكل بفعل الإجهاد التأكسدي المُحدث بالأدوية والعقاقير وبخاصة مستخلصات إكليل الجبل (محمد وآخرون 2017; Krr, *et al*. 2017)، وجذور الزنجبيل (Mannem, *et al*. 2014)، وأوراق نبات المنغاروف mangrove (Mirazi, *et al*. 2016)، وأهمية المستخلص المائي للزعتر في حماية الكبد من الإجهاد التأكسدي المُحدث بعقار Methotrexate عند الأرانب (Swayeh *et al*., 2014)، وعقاقير Fenitrothion و Aflatoxicosis عند الفئران (El-Naggar *et al*.,2015). إضافة إلى أهمية مستخلصات القرفة والزنجبيل في حماية الخلايا المنشئة Germinal Cells في الخصى من الاجهاد التأكسدي وتحسين نضج الحيوانات المنوية Spermatogenesis (سليمان وآخرون 20122018 ;Zahedi *et al*.). وتعود فعالية هذه المستخلصات النباتية لاحتوائها على العديد من المركبات مضادات الأكسدة الطبيعية مثل الفينولات، وبيتا-كاروتين، والفلافونيدات Flavonoids، والتانيين Tannins ، والتايمول، والتربينين Terpenine التي تحمي الكبد والكلى والأنسجة الأخرى وتقيها من آثار الإجهاد التأكسدي (Naggar, *et al*. 2015; Lee, *et al*. 2016). وقد أظهرت الدراسات احتواء زيت الزعتر عدد من مضادات الأكسدة هذه وبخاصة الثايمول والكارفاكرول Cravacrol وكذلك التربينين، (Nguyen

et al., 2000; Agili *et al.* 2014) ، وفعالية زيت الزعتر في حماية الكبد من الاجهاد التأكسدي في الفئران والأرانب المحدث بمضاد الأورام Methotrexate (Swayeh, *et al.* 2014) ومن التسمم بالمبيدات الحشرية (Naggar, *et al.* 2015)، وفي حماية الكلى والكبد من السمية المحدثة برابع كلور الكربون (Raskovic *et al.*, 2015)، والباراسيتامول (El–Banna, *et al.* 2013)، ومن التلوث بالمعادن الثقيلة مثل الكادميوم (Elgaml & Hashish 2014) أو الاشعاع غاما (Nada, 2013) والكحول (El–Newory, *et al.* 2017).

انطلاقا مما سبق، تم دراسة فعالية المستخلص المائي للزعتر البري السوري في الحد أو التخفيف من مظاهر الإجهاد التأكسدي والسمية الكبدية، ونظراً لتوفر هذا النبات في البيئة المحلية واستخدامه الشائع في المجتمع السوري، فقد تقصت الدراسة الحالية الدور المحتمل للمستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر البري السوري في الوقاية من التسمم الكبدي المحدث بعقار ديكلوفيناك الصوديوم المستخدم على نطاق واسع كمسكن وخافض حرارة، ومضاد التهاب غير ستيروئيدي.

طرائق البحث ومواده:

حيوانات التجربة: أجريت الدراسة الحالية على 32 من ذكور الهامستر السوري بعمر 3– 4 شهور وبوزن 80–110غ وسطياً، تم الحصول عليها من مصدر تجاري– مركز مملكة الطبيعة لتربية الحيوانات في اللاذقية. وضعت الحيوانات في المختبر في شروط مناسبة من حيث درجة الحرارة (25م) والإضاءة ، وقدم لها الغذاء بشكل دوري، وتركت للتأقلم لمدة لا تقل عن 8 أيام قبل البدء بالتجربة . أما عقار ديكلوفيناك الصوديوم (100mg) فقد تم شراؤه من الصيدليات المحلية بشكل حبوب ، جرى سحقها وإذابتها بالماء المقطر للوصول إلى الجرعات المطلوبة (6 ملغ/كغ من وزن الجسم) قبل التجريع مباشرة.

تحضير المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر: ينتمي نبات الزعتر البري تصنيفياً إلى الفصيلة الشفوية: Lamiaceae، الجنس: .Thymus sp، النوع: Thymus syriacus boiss (Shetty and Labbe,1998) .

اعتمدت طريقة (Harbon , 1984) في تحضير المستخلص المائي لأوراق النبات، فبعد أن جمعت أوراق نبات الزعتر من حقول منطقة جبلة في 15 / 5 / 2017، غسلت بالماء المقطر مرتين وتركت تجف في الظل لثلاثة أيام قبل سحقها بخلاط كهربائي للحصول على بودرة ناعمة. بعد ذلك، مزج (500غ) من المسحوق النباتي في ليتر من الماء المقطر حرارته (35–40 م) وترك المزيج لمدة 24 ساعة على الأقل في درجة حرارة المختبر، ثم فصل المحلول بترشيحه مرتين باستخدام ورق ترشيح واتمان(Whitman paper $N^{O}1$) قبل نقل الرشاحة إلى جهاز المبخر الدوار لتبخيره والحصول على بودرة نقية جافة (Amin and Hamza ,2005). حُفظت البودرة ضمن أنابيب زجاجية مانعة للضوء في البراد بدرجة حرارة 4م^{0} لحين الاستخدام حيث حضرت منها الجرعات المناسبة (300 ملغ/كغ من وزن الجسم) يومياً قبل الاستخدام مباشرة. وتم إعطاء الجرعات بواسطة التغذية الأنبوبية لمدة 5 أسابيع .

تصميم التجربة:

وزعت حيوانات التجربة عشوائياً في أربع مجموعات بواقع ثمانية لكل مجموعة تجريبية وذلك على النحو الآتي:

المجموعة الأولى: هي مجموعة الشاهد ،جُرعت فقط بماء فيزيولوجي (2 مل) يومياً وقدم لها الغذاء المناسب.

المجموعة الثانية: جُرعت يومياً بمستخلص الزعتر (300 ملغ/كغ) بوساطة التغذية الأنبوبية لمدة خمس أسابيع.

المجموعة الثالثة: جرعت بنفس الطريقة السابقة (تغذية فموية) بمقدار 2 مل من محلول عقار ديكلوفيناك الصوديوم بتركيز قدره 6 ملغ/كغ من وزن الجسم ، حسبت كل على حدى بحسب وزن الحيوان، بمعدل ثلاث مرات أسبوعياً ولمدة خمس أسابيع بقصد استحداث سمية كبدية في حيوانات هذه المجموعة. أما المجموعة الرابعة فقد جرعت بشكل متزامن بكل من مستخلص أوراق نبات الزعتر (300 ملغ/كغ) يومياً، ومحلول ديكلوفيناك الصوديوم (6 ملغ/كغ) عن طريق أنبوبة تغذية فموية بمعدل ثلاث مرات أسبوعياً ولمدة خمس أسابيع. في نهاية التجربة، تم تخدير جميع الحيوانات تباعاً بواسطة الكلوروفورم ، وأخذت عينات الدم من قلب كل حيوان من حيوانات التجربة مباشرة بوساطة إبرة حقن سعة 3 مل أُدخلت عن طريق ذروة القلب ووضعت في أنابيب اختبار سعة 5 مل. بعد ذلك، تم تشريح الحيوانات واستؤصلت أكباد حيوانات الهامستر وحفظت بشكل مستقل في عبوات بلاستيكية سعة 50 مل مخصصة لهذه الغاية وتحتوي على محلول الفورمالين بتركيز 10% لحين إجراء الدراسة النسيجية.

الدراسة الحيوية الكيميائية :

تركت عينات الدم بعد الحصول عليها بدرجة حرارة 4 م ضمن صندوق يحتوي على قطع الثلج لمدة 15–20 دقيقة لحين تشكل خثره في أسفل الأنابيب، ثم جرى تثفيلها بمثفلة eppendorf 5810R (Germany) مخصصة لهذه الغاية بسرعة 4000 دورة/د لمدة عشر دقائق حيث رفُعت عينات الدم وفصل المصل ، و وضع في أنابيب زجاجية مخصصة لهذا الغرض . بعد ذلك، جرى قياس تركيز أنزيمات ALT و AST مباشرة وخلال فترة زمنية لاتتجاوز 2 ساعة في جميع العينات، وكذلك معايرة تراكيز كل من البولة، وحمض البول، والألبومين والكرياتنين وفقا للطرائق المعتمدة (Maddawy *et al.*, 2013)، وذلك بالاستعانة بمختبرات التحاليل الحيوية الكيميائية في مشفى تشرين الجامعي.

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 بسماكة 5 ميكرون باستخدام المقطاع النسيجي (Meditome A 550)، وعولجت بمحاليل الكحول و الكزايلين تمهيداً لتلوينها بالهيماتوكسيلين – ايوزين بالإعتماد على طريقة (Maity *et al.*, 2012). بعد ذلك، درست المحضرات النسيجية مجهرياً باستخدام مجهر ضوئي مجهز بكاميرا رقمية وموصول إلى كمبيوتر من أجل تحري التغيرات النسيجية في أكباد حيوانات الهامستر بفعل التجريع بمستخلص أوراق الزعتر وعقار ديكلوفيناك الصوديوم.

التحليل الإحصائي :

تم التعبير عن النتائج الخاصة بمعايرة تراكيز الأنزيمات ومعايير الدم الأخرى في هذه الدراسة باعتماد متوسطات القياس ± خطأ الانحراف عن المتوسط لكل معيار من معايير الدم في ثمان عينات تتبع لحيوانات كل مجموعة. وتم تطبيق الاختبار الإحصائي One way analysis of variance (ANOVA) متبوع بالاختبار الاحصائي Multi–way ANOVA ومن ضمنه اختبار student–*t*` test ضمن البرنامج الإحصائي SPSS Soft ware واعتمدت قيمة $p<0.05$ كحد أدنى للدلالة الإحصائية المعنوية لتغيرات قيم معايير مصل الدم.

النتائج والمناقشة :

أولاً–نتائج الدراسة الحيوية الكيميائية:

1– تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر وديكلوفيناك الصوديوم على تراكيز أنزيمي ALT، AST:

تظهر نتائج الدراسة الحيوية الكيميائية والتحليل الاحصائي لمعايير مصل الدم الموضحة في الجدول (1) والتي تناولت التغيرات في متوسطات تراكيز بعض أنزيمات الكبد وبخاصة آلانين أمينوترانسفراز alanine aminotransferase (ALT)، وأسبارتات أمينو ترانسفراز aspartate aminotransferase (AST) بتأثير تجريع حيوانات المجموعة الثانية بالمستخلص المائي لأوراق الزعتر Thymus بجرعات يومية مقدارها 300ملغ/كغ ولمدة خمسة أسابيع ، عدم وجود أية فروق معنوية ($P>0.05$) في متوسط تراكيز هذه الأنزيمات في مصل الدم مقارنة مع تراكيزها في مصل دم حيوانات المجموعة الشاهدة .

الجدول (1): مقارنة متوسطات تراكيز أنزيمات ALT، AST في مصل دم حيوانات المجوعات التجريبية التي جرعت سواء بمستخلص الزعتر (300 ملغ/كغ)، أو ديكلوفيناك الصوديوم (6 ملغ / كغ)، أو الزعتر + ديكلوفيناك الصوديوم (6 ملغ / كغ) مقارنة مع المجموعة الشاهدة.

رقم المجموعة	المادة المجرعة	تراكيز أنزيمALT U/l	تراكيز أنزيمAST U/l
الأولى	Control (ماء فيزيولوجي)	95±8,679	120.43±8.541
الثانية	مستخلص الزعتر (300 ملغ/كغ)	100.86±4.140	117.14±2.610
	الدلالة الإحصائية	0.133	0.350
الثالثة	ديكلوفيناك الصوديوم (6 ملغ/كغ)	141.71±14.885	149.71±6.343
	الدلالة الإحصائية	0.000***	0.000***
الرابعة	مستخلص الزعتر+ ديكلوفيناك الصوديوم	115.71±5.880	121±9.129
	الدلالة الإحصائية	0.000***	0.906

إضافة لذلك، تظهر النتائج أن تجريع حيوانات المجموعة الثالثة بجرعات فموية من ديكلوفيناك الصوديوم أدى إلى ارتفاع معنوي ($P< 0.001$) في تراكيز هذه الأنزيمات، حيث ازداد تركيز أنزيم ALT بمقدار 49%، وأنزيم AST بمقدار 25%، مقارنة مع المجموعة الشاهدة .(الجدول 1). وبالرغم من أن التجريع المتزامن لمستخلص أوراق نبات الزعتر مع الديكلوفيناك خفض بشكل معنوي ($P< 0.001$) التأثير المحدث بفعل ديكلوفيناك الصوديوم حيث أعاد تركيز أنزيم AST إلى تركيز مماثل لنظيره في مصل دم المجموعة الشاهده ($P>0.05$) ، إلا أن تراكيز أنزيم ALT بقي مرتفعاً بشكل معنوي في حيوانات المجموعة الرابعة مقارنة مع مثيلاتها في المجموعة الشاهدة. (الجدول 1).

كما تُظهر النتائج الموضحة في الجدول (2) أن التجريع المتزامن لحيوانات المجموعة الرابعة بمستخلص أوراق نبات الزعتر مع ديكلوفيناك الصوديوم بذات الطريقة أدى إلى انخفاض معنوي ($P< 0.001$) في تراكيز أنزيميALT و AST مقارنة مع تراكيزها في مصل دم حيوانات المجموعة الثالثة التي جرعت بديكلوفيناك الصوديوم فقط، في حين أن النتائج الموضحة في الجدول (3) تبين أن الجرعة المستخدمة من مستخلص أوراق الزعتر لم تكبح بشكل كامل تأثير ديكلوفيناك الصوديوم في مصل دم حيوانات المجموعة الرابعة حيث بقيت هذه التراكيز مرتفعة مقارنة مع المجموعة الثانية.

الجدول (2): مقارنة متوسطات تراكيز أنزيمي ALT، AST في مصل دم حيوانات المجوعتين التجريبيتين: الرابعة و الثالثة.

رقم المجموعة	المادة المُجرعة	تراكيز أنزيمALT U/l	تراكيز أنزيمAST U/l
الثالثة	ديكلوفيناك الصوديوم (6mg\kg)	141.71±14.885	149.71±6.343
الرابعة	مستخلص الزعتر+ ديكلوفيناك الصوديوم	115.71±5.880	121±9.129
	الدلالة الإحصائية	0.001**	0.000***

الجدول (3): مقارنة متوسطات تراكيز أنزيمي ALT، وAST في مصل دم حيوانات المجموعة الرابعة (300 ملغ/كغ + 6 ملغ /كغ ديكلوفيناك الصوديوم)، والمجموعة الثانية (مستخلص الزعتر فقط).

رقم المجموعة	المادة المُجرعة	تراكيز أنزيمALT U/l	تراكيز أنزيمAST U/l
الثانية	مستخلص الزعتر (300 ملغ/كغ)	100.86±4.140	117.14±2.610
الرابعة	مستخلص الزعتر+ ديكلوفيناك الصوديوم (6 ملغ/كغ)	115.71±5.880	121±9.129
	الدلالة الإحصائية	0.000***	0.000***

2- تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر وديكلوفيناك الصوديوم على تراكيز الكرياتينين، والبولة، وحمض البول، والألبومين في مصل دم حيوانات التجربة:

تبين النتائج الموضحة في الجدول (4)، أن تجريع المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر لحيوانات المجموعة الثانية لم يؤد إلى تغيرات معنوية في الكرياتينين، والبولة، وحمض البول، مقارنة مع المجموعة الشاهدة، في حين حدث انخفاض معنوي ($p< 0.001$) في تركيز ألبومين مصل الدم بمقدار 20% . كما أن تجريع حيوانات المجموعة الثالثة بعقار ديكلوفيناك الصوديوم لوحده أدى إلى ارتفاع معنوي ($p<0.001$) في تراكيز كل من الكرياتينين (43%) والبولة (43%) وحمض البول (33%) وانخفاض معنوي بمقدار 40% ($p< 0.001$) في تركيز ألبومين مصل الدم مقارنة مع المجموعة الشاهدة. (الجدول 4).

جدول (4): مقارنة متوسطات تراكيز كل من الكرياتنين والبولة وحمض البول والألبومين في المجموعات التجريبية مقارنة مع المجموعة الشاهدة.

المجموعة	Creatinine الكرياتينين mg/l	Urea البولةmg/l	Uric Acid حمض البول mg/l	Albumin الألبومين g/l
الشاهدة	0.7±0.0816	29.57±2.149	2.35 ±0.21	3.58±0.195
الثانية (الزعتر 300 ملغ/كغ)	0.8 ± 0.1	30.86±3.436	2.463 ± 0.233	2.89 ± 0.37
الدلالة الاحصائية	0.063	0.418	0.395	0.001
الثالثة (ديكلوفيناك	1.314±0.1676	42.29±2.87	3.24±0.25	2.31± 0.426

الصوديوم 6 ملغ/كغ)				
الدلالة الاحصائية	0.000	0.000	0.000	0.000
المجموعة الرابعة (الزعتر +ديكلوفيناك الصوديوم)	0.886±0.069	32.57±3.457	2.41±0.33	3.457±0.1902
الدلالة الاحصائية	**0.001**	**0.075**	**0.710**	**0.236**

إضافة لذلك، تبين النتائج الموضحة في الجدول (5) أن التجريع المتزامن لمستخلص الزعتر مع ديكلوفيناك الصوديوم خفض بشكل معنوي تراكيز الكرياتينين (33%)، والبولة (23%) وحمض البول (23%) ($p< 0.001$)، كما ارتفع تركيز الألبومين بشكل معنوي (49%) في مصل دم حيوانات المجموعة الرابعة مقارنة مع تراكيزها في مصل دم المجموعة الثالثة،

الجدول (5) مقارنة متوسطات تراكيز الكرياتنين والبولة وحمض البول والألبومين في مصل دم حيوانات المجموعة الرابعة مقارنة مع المجموعة الثالثة.

رقم المجموعة	المادة المُجرعة	Creatinine الكرياتينين mg/l	Urea البولة mg/l	Uric Acid حمض البول mg/l	ALB الألبومين g/l
الثالثة	ديكلوفيناك الصوديوم	1.314±0.1676	42.29±2.87	3.129±0.256	2.314±0.426
الرابعة	الزعتر +ديكلوفيناك الصوديوم	0.886±0.069	32.57±3.457	2.414±0.3338	3.457±0.1902
	الدلالة الإحصائية	0.000	0.000	0.001	0.000

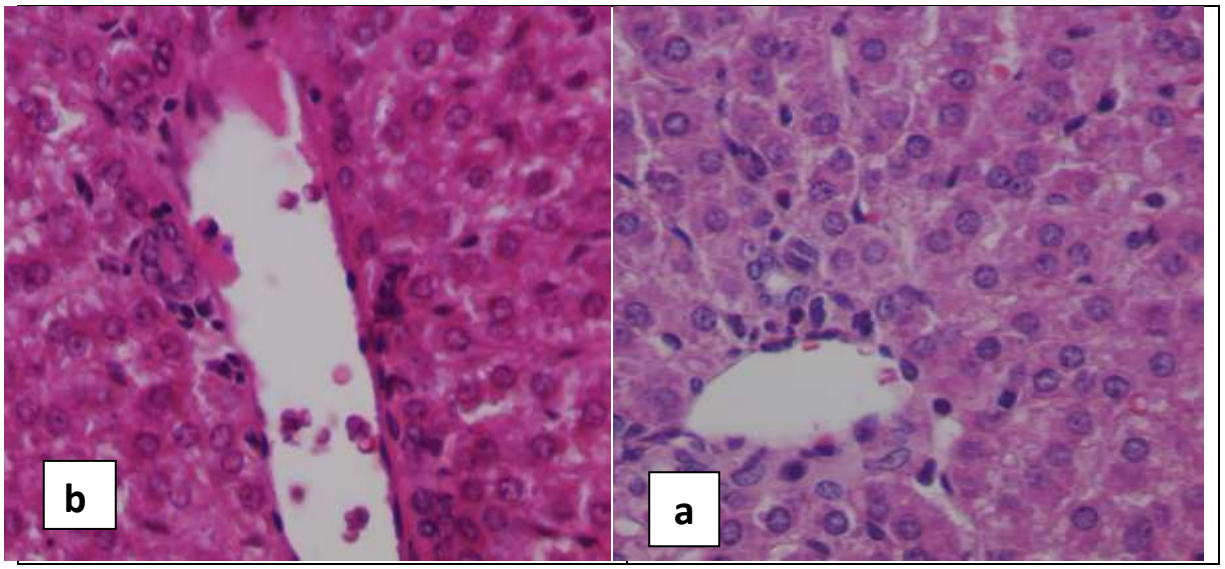
تتفق نتائج الدراسة الحيوية الكيميائية الحالية والتي أظهرت ارتفاعاً في تراكيز أنزيمات ALT و AST ، والبولة، وحمض البول، والكرياتينين، وانخفاض تركيز الألبومين في مصل دم حيوانات التجربة بتأثير التجريع بعقار ديكلوفيناك الصوديوم مع نتائج الدراسات الأخرى التي أجريت على الثدييات وبخاصة الفئران والتي أظهرت ارتفاع معدل معايير الدم المدروسة بتأثير عدد من عوامل الكرب الخلوي وبخاصة الباراسيتامول (Parmar*et al.*, 2010)، وديكلوفيناك الصوديوم (Maity*et al.*,2012) ورابع كلور الكربون (;Abdel-Wahhab*et al.*, 2011; Sakr*et al.*,2012 Anosike*et at.*,2013) والكادميوم ((Elgaml and Hashish, 2014 ومضادات السرطان مثل Adriamycin و Cisplatin ((Jyouthie, *et al* 2013; El-sayyed, *et al.* 2009; Liao, *et al.* 2008 وكذلك بفعل المضادات الحيوية مثل الأموكسيسيللين الذي يسبب الاجهاد التأكسدي لخلايا الكبد في الهامستر(محمد، وآخرون 2017). وتؤكد النتائج التي تُظهر أن التجريع المتزامن لمستخلص أوراق الزعتر مع ديكلوفيناك الصوديوم قد خفض بشكل معنوي تراكيز كل من ALT و AST ، وحمض البول، والبولة، والكرياتينين، وزاد من تركيز الألبومين، في مصل دم المجموعة الرابعة مقارنة مع المجموعة الثالثة دوراً وقائياً لهذا المستخلص واحتوائه على مضادات أكسدة تخفض من الإجهاد التأكسدي لخلايا الكبد المحدث بعقار ديكلوفيناك الصوديوم والذي يسبب موت كثير من الخلايا الكبدية بالتنخر واطلاق محتواها من أنزيمات AST و ALT وارتفاع تراكيزها في مصل الدم (Raskovic *et al.*, 2015 ; محمد، وآخرون 2017) . ويتوافق ذلك مع نتائج الأبحاث التي أظهرت أهمية المستخلصات النباتية في حماية أنسجة الكبد من الضرر المحدث بفعل المضادات الحيوية مثل السيبروفلوكساسين (Adikwua et Brambaifa, 2012)، والدور

الوقائي لمستخلصات إكليل الجبل (شحادة ، وأخرون 2015) والقرفة والزنجبيل في حماية أنسجة الكبد والكلية والخلايا المولدة للنطاف من الموت الخلوي المحدث بالمضادات الحيوية أموكسيسيللين وجنتامايسين(et Ahmadvan,2011 Zahedi *et al*., 2012; Tavafi ; محمد، وآخرون 2017). ولابد من الإشارة أنه وبالرغم من أن التجريع المتزامن لمستخلص أوراق نبات الزعتر مع الديكلوفيناك خفض بشكل معنوي ($P< 0.001$) التأثير المحدث بفعل ديكلوفيناك الصوديوم ، حيث أعاد تركيز أنزيم AST إلى تركيز مماثل لنظيره في مصل دم المجموعة الشاهده ($P>0.05$) ، إلا أن تراكيز أنزيم ALT بقي مرتفعاً بشكل معنوي في حيوانات المجموعة الرابعة مقارنة مع مثيلاتها في المجموعة الشاهدة. (الجدول 1). كما تشير نتائج الدراسة الاحصائية المقارنة لتراكيز الأنزيمات المدروسة في مصل دم كل من حيوانات المجموعة الثانية (مستخلص الزعتر فقط) مع تراكيزها في مصل دم حيوانات المجموعة الرابعة (زعتر + ديكلوفيناك الصوديوم) الموضحة في الجدول (3) أن تراكيز أنزيمي ALT و AST بقيت أكثر ارتفاعاً وذات دالالة احصائية($P< 0.001$) في المجموعة الرابعة مقارنة مع تراكيزها في المجموعة الثانية. كما أن أن تراكيز البولة وحمض البول والكرياتينين بقيت أكثر ارتفاعاً من مثيلاتها في المجموعة الشاهدة، مما يفترض أن جرعة المستخلص النباتي لأوراق نبات الزعتر المستخدمة لم تكن كافية لحجر تأثير ديكلوفيناك الصوديوم بشكل كامل.

2-نتائج الدراسة النسيجية (التشريح المرضي):

1- تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر على بنية نسيج الكبد في الهامستر:

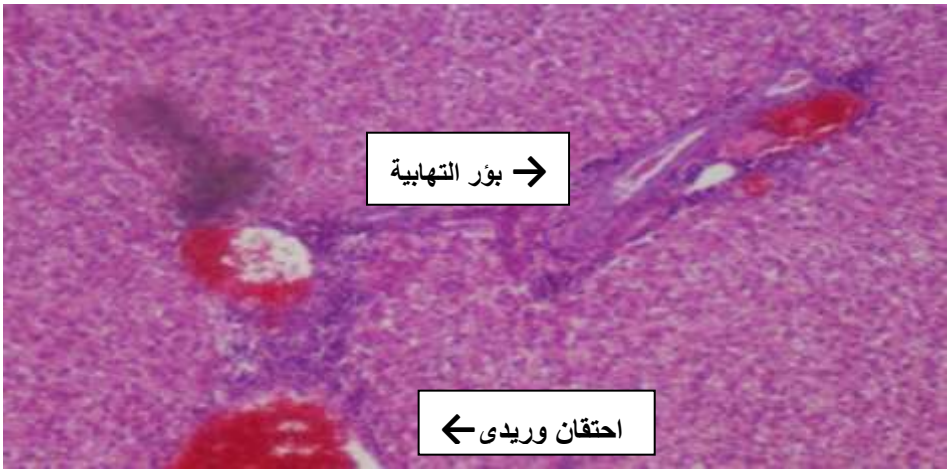
أظهرت نتائج الدراسة لمقاطع نسيجية في أكباد حيوانات المجموعة التجريبية الثانية خلايا كبد طبيعية بمظهرها وبنيتها المماثلة لخلايا أكباد حيوانات المجموعة الشاهدة، حيث لوحظ أن شكل الخلايا ودرجة تلون السيتوبلاسما الخلوية، وشكل النواة، وكذلك المظهر العام للفصيصات الكبدية تبدو جميعها طبيعية، ولم تشاهد أية تغيرات خلوية ذات دلالة على ضرر نسيجي بفعل تجريع الحيوانات بمستخلص أوراق نبات الزعتر. ومع ذلك لابد من الإشارة إلى ملاحظة بعض التوسع في الأوردة المركزية دون أية مظاهر احتقان أوضرر نسيجي أو ظهور بؤر التهابية. (الشكل 1).



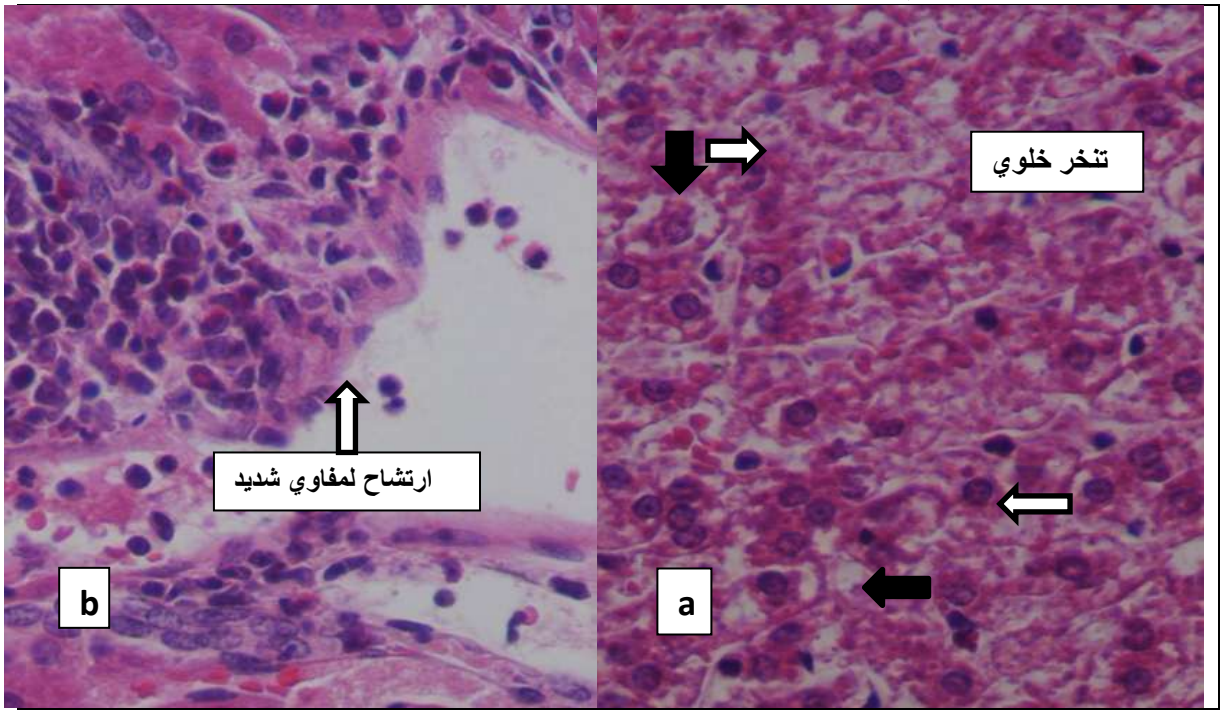
الشكل (1) : صور مجهريه لمقاطع نسيجية في أكباد حيوانات التجربة . a- المجموعة الشاهدة: الوريد المركزي والجيوب الوريدية طبيعية، والخلايا الكبدية بأنويتها المركزية. b- المجموعة الثانية التي جرعت بمستخلص أوراق الزعتر. (X40).

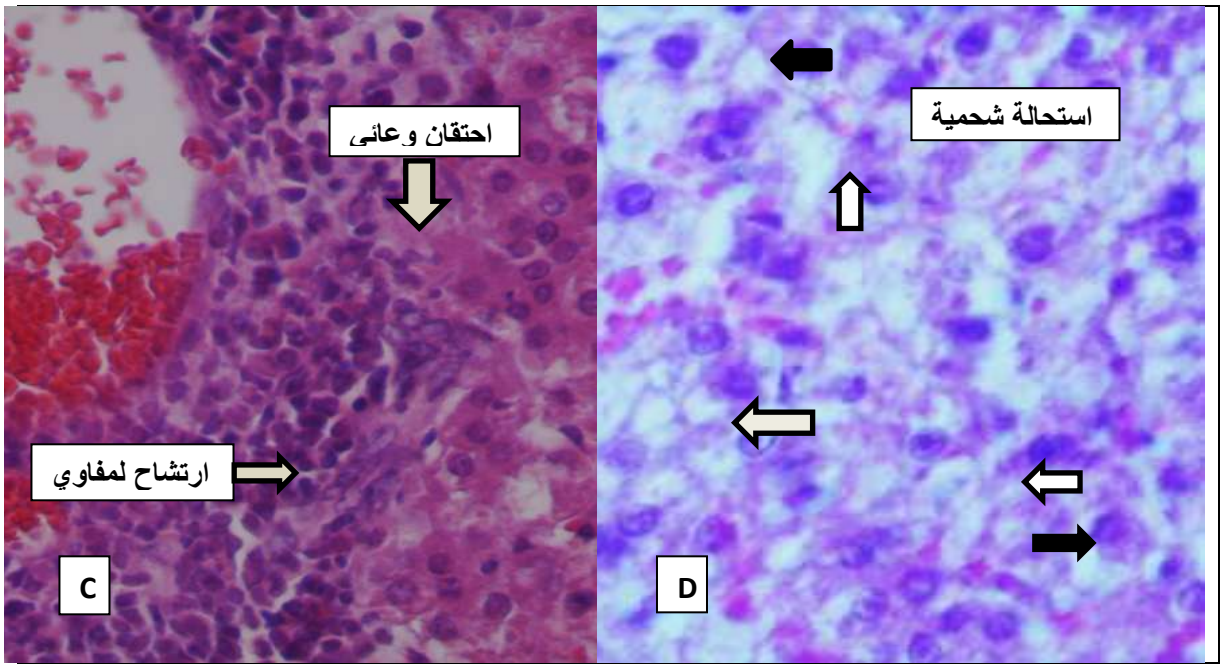
2- تأثير التجريع بعقار ديكلوفيناك الصوديوم على نسيج الكبد :

أظهرت نتائج الدراسة النسيجية لأكباد حيوانات المجموعة التجريبية الثالثة التي جرعت بعقار ديكلوفيناك الصوديوم حدوث تغيرات خلوية ونسيجية متعددة تتمثل بحالات احتقان متكررة داخل الأوعية الدموية (Vascular congestion) وبخاصة الوريد المركزي (CV) والأوردة البابية، وأشباه الجيوب الوريدية، وحدوث انتباج خلوي Cellular (Swelling) فحاد ومتكرر في الخلايا الكبدية لجميع المقاطع النسيجية التي درست. كما لوحظ ضعف شديد في تلون السيتوبلاسما الخلوية، مما يدل على تضرر الأغشية ومكونات الستوبلاسما الخلوية بفعل الانتباج الخلوي. إضافة لذلك، لوحظ في الكثير من الحالات فقدان الخلايا لأنويتها، وتمزق الأغشية السيتوبلاسمية وارتشاح لخلايا الدم البيض من عدلات Neutrophils ولمفاويات Lymphocytes إلى أماكن عديدة في نسيج الكبد المتضرر وبخاصة في المسافات البابية وحالات استحالة شحمية في الخلايا الكبدية(الأشكال2- 3).



الشكل (2): صور مجهريه لمقاطع نسيجية في أكباد حيوانات المجموعة الثالثة التي جرعت بعقار ديكلوفيناك الصوديوم. لاحظ الاحتقان الوريدي الشديد في الأوردة والمسافات البابية والجيوب الوريدية ، وظهور بؤر التهابية متعددة. (X 10).

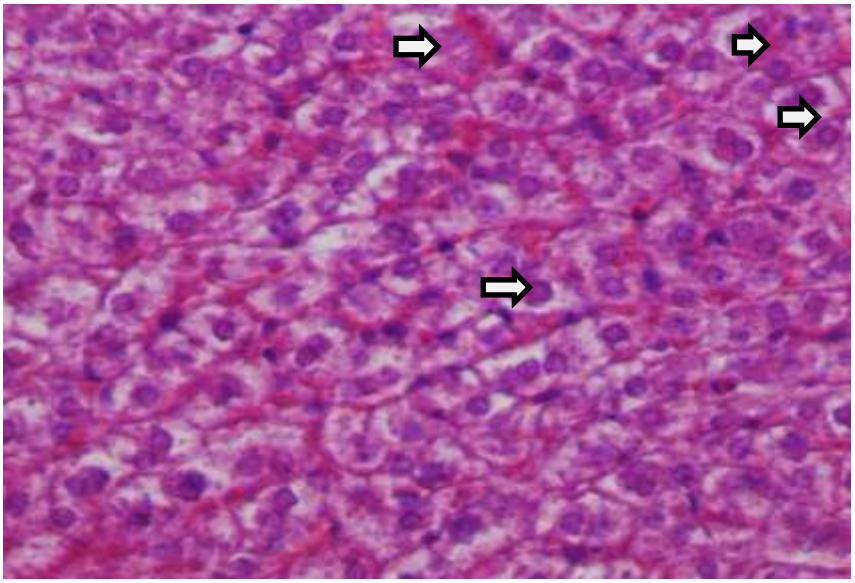


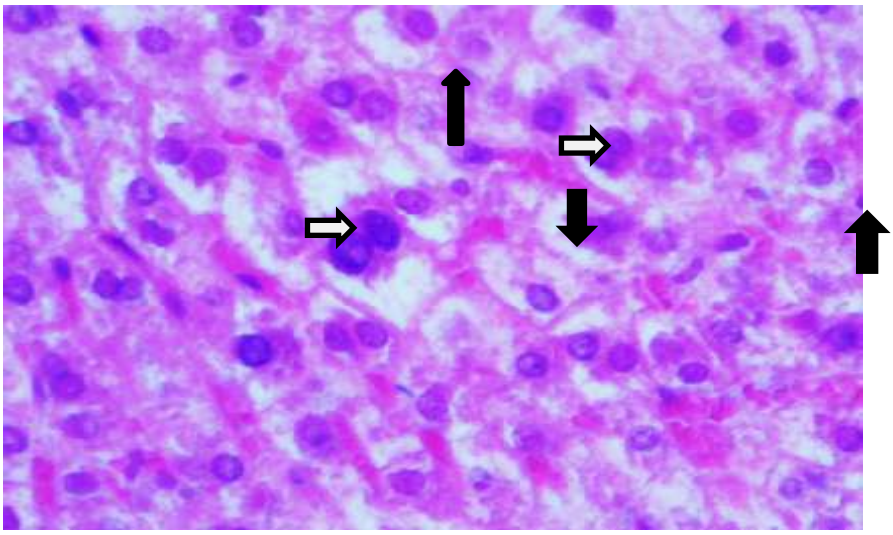


الشكل (3): صور مجهريه لمقاطع نسيجية في أكباد حيوانات المجموعة الثالثة التي جرعت بعقار ديكلوفيناك الصوديوم. (a)- صورة مجهرية تظهر التنخر الخلوي ، ، الانتباج الخلوي (تفجي الخلايا) ،وتمزق الأغشية واختفاء انوية كثير من الخلايا. (b)-ارتشاح لمفاوي شديد إلى أماكن التنخر الخلوي. (c)- صورة تبين احتقان الأوردة البابية وظهور بؤر التهابية شديدة تتمثل بارتشاح خلايا الدم البيض إلى أماكن التنخر. (D)- صورة مجهرية تظهراستحالة شحمية في خلايا الكبد، لاحظ السيتوبلاسما الخلوية مملوءة بمادة شحمية ، ولاحظ التفجي الخلوي بوضوح . (X 40).

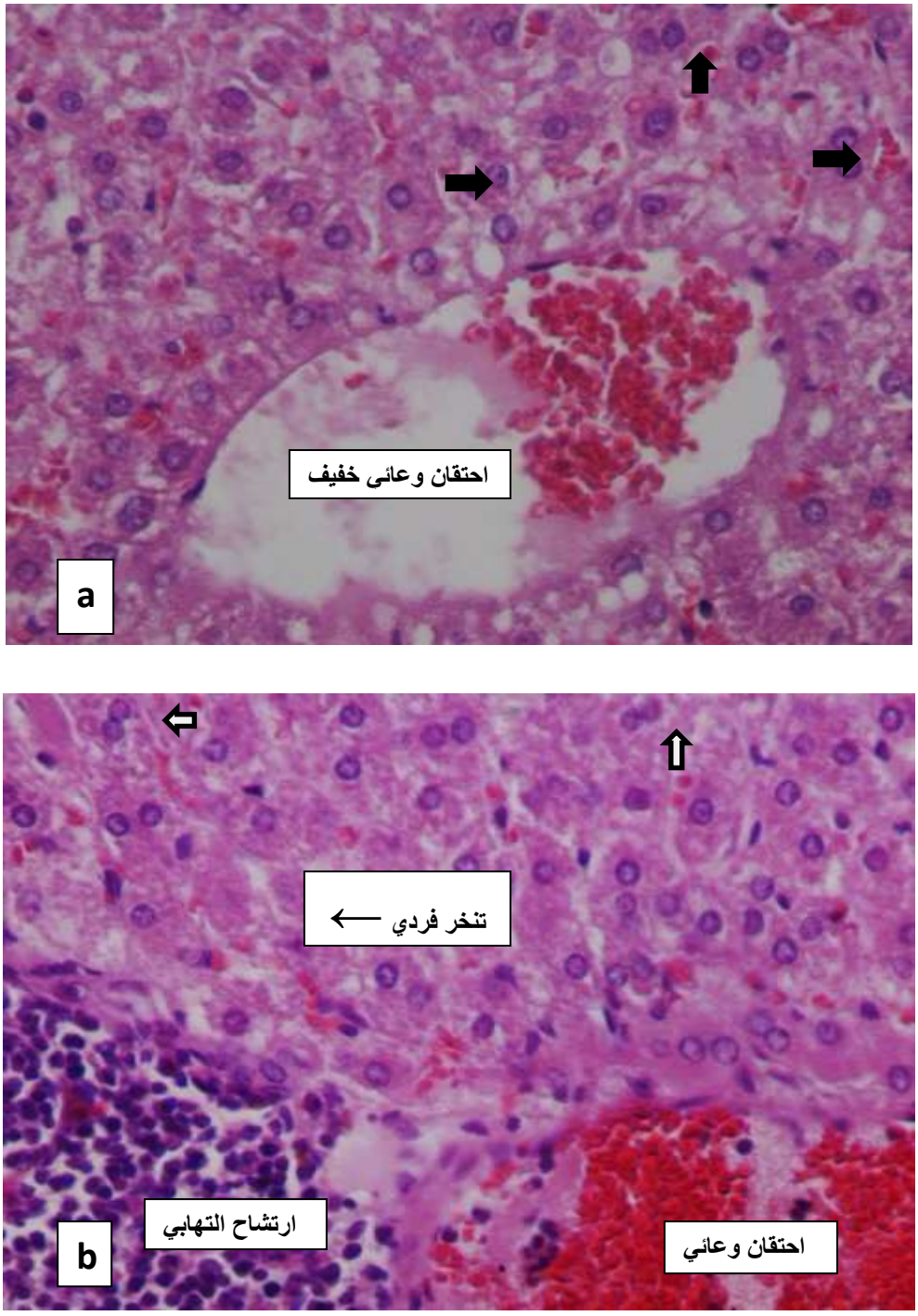
3-تأثير التجريع المتزامن بعقار ديكلوفيناك الصوديوم مع مستخلص الزعتر في نسيج الكبد:

أظهرت نتائج الدراسة النسيجية لأكباد حيوانات المجموعة التجريبية الرابعة التي جرعت بجرعات يومية من عقار ديكلوفيناك الصوديوم بالتزامن مع المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر حدوث تغيرات خلوية ونسيجية متكررة لكنها قليلة مقارنة مع التغيرات المشاهدة في أكباد المجموعة الثالثة التي جرعت فقط بعقار ديكلوفيناك الصوديوم. وتمثلت هذه التغيرات بظهور علامات تنخر خلوي فردي في بعض الحالات، إضافة إلى ظهور احتقان وعائي وبؤر التهابية بعدد أقل وبكثافة أقل في حالات أخرى، وشوهدت تغيرات بالونية خفيفة في الخلايا الكبدية غير مترافقة بأذى نسيجي. كما سُجل وجود خلايا كبدية بنواتين وتكثف الكروماتين فيها دلالة على حدوث انقسام خلوي في خلايا أكباد حيوانات المجموعة الرابعة.(الأشكال 4-6)

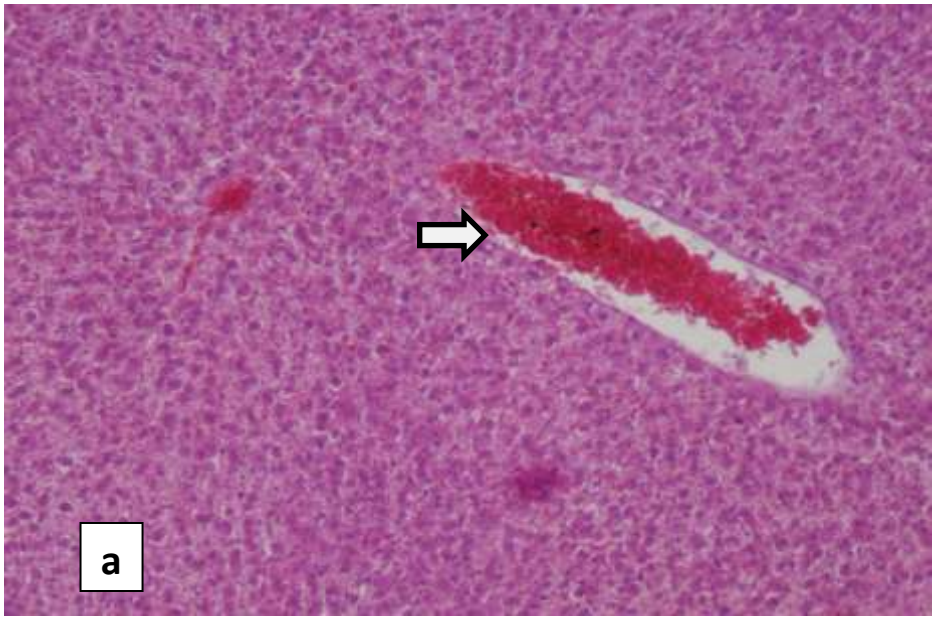


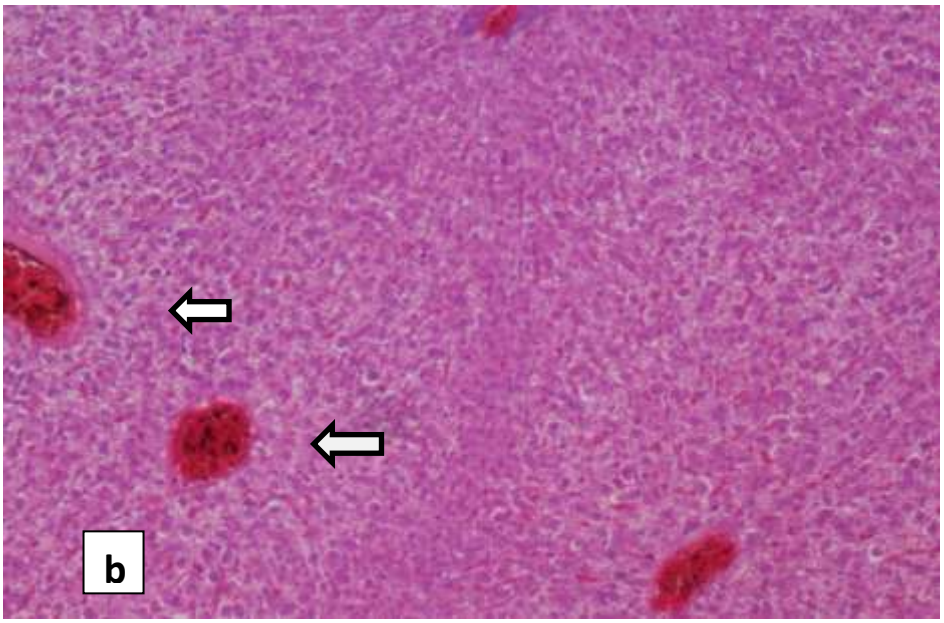


الشكل (4): صور مجهرية لمقاطع نسيجية في أكباد حيوانات المجموعة الرابعة ، لاحظ ظهور استحالة بالونية في خلايا الكبد مع أنوية طبيعية دون علامات نخر خلوي ⬅ . (X40 و X60). تشير الأسهم إلى خلايا كبدية منقسمة ⇨



الشكل (5): a- صور لمقطع نسيجي في كبد أحد حيوانات المجموعة الرابعة ، لاحظ ظهور احتقان وعائي خفيف مع علامات نخر خلوي فردي، وأنوية طبيعية في معظم الخلايا. b – صورة مجهرية تبين ارتشاح التهابي في المسافة البابية مع احتقان وعائي وتنخر فردي في بعض الخلايا. . تشير الأسهم إلى خلايا كبدية منقسمة (بداخلها نوتاتين) (X40).





الشكل (6 a و b): صور مجهرية لمقاطع نسيجية في أكباد حيوانات المجموعة الرابعة تظهر احتقان وعائي فقط مع استحالة بالونية خفيفة دون أذى نسيجي واضح في خلايا الكبد. (x10).

تتوافق نتائج الدراسة الحيوية الكيميائية مع نتائج الدراسة النسيجية التي تظهر تضرر خلايا الكبد بفعل الإجهاد التأكسدي الناتج عن تجريع حيوانات التجربة بديكلوفيناك الصوديوم وحدوث موت خلوي بالتنخر والذي يؤدي إلى إطلاق محتوى الخلايا الكبدية المتضررة من الأنزيمات وارتفاع تركيزها في مصل الدم وبخاصة أنزيمات ALT، وAST وهذا يعود لاستقلاب ديكلوفيناك الصوديوم في الكبد من قبل أنزيمات السيتوكروم P-450 وإنتاج مستقلبات نشطة منها 4-هيدروكسي ديكلوفيناك و 5- هيدروكسي ديكلوفيناك التي ترتبط مع بروتينات الكبد وتتلفها وتولد الجذور الحرة ROS التي تهاجم ليبيدات الأغشية الخلوية مما يؤدي إلى تخربها وخرج الأنزيمات إلى الدوران الدموي وارتفاع تركيزها بالدم (Daly,*et al.*2007). كما يُعد ازدياد تراكيز حمض البول، والبولة، والكرياتنين، وانخفاض معدل ألبومين مصل الدم من مؤشرات الإجهاد التأكسدي المحدث بديكلوفيناك الصوديوم. وتتفق هذه النتائج مع نتائج الدراسات السابقة التي

أجريت على الثدييات وبخاصة الفئران والأرانب و الهامستر والتي أظهرت ارتفاع معدل معايير الدم المدروسة بتأثير عدد من عوامل الكرب الخلوي وبخاصة الباراسيتامول (El-Banna, *et al* 2013)، وديكلوفيناك الصوديوم (Maity*et al*.,2012) ورابع كلور الكربون (Raskovic, *et al*.2015) والكادميوم (Elgaml and Hashish, 2014) ومضادات السرطان مثل Adriamycin و Cisplatin (Abu-Raghif, *et al*. 2016; Saker, *et al*. 2011) ، وكذلك بفعل المضادات الحيوية وبخاصة الجنتامايسين (Zahedi, *et al*.2012) والأمبيسلين (Selvamohan, *et al* 2012) والأموكسيسيللين (محمد، وآخرون2017). كما تؤكد نتائج الدراسة الحالية التي استخدم فيها التجريع المتزامن للمستخلص المائي لأوراق الزعتر مع ديكلوفيناك الصوديوم تأثيراً وقائياً لهذا المستخلص في حماية خلايا الكبد من خلال تخفيض آثار الإجهاد التأكسدي المحدث بعقار ديكلوفيناك الصوديوم. وتجلى هذا الدور الوقائي بخفض تراكيز أنزيمات (ALT و AST) وكذلك الكرياتنين، وحمض البول، والبولة، وارتفاع معدل الألبومين في مصل دم حيوانات المجموعة الرابعة، كما انخفضت بدرجة كبيرة جميع مظاهر الضرر والتنخر الخلوي النسيجي مثل الاستحالة البالونية والشحمية، واحتقان الأوعية الدموية وبخاصة الأوردة البابية والجيوب الوريدية والموت الخلوي بالتنخر وانخفاض معدل الارتشاح الالتهابي لخلايا الدم البيض. إضافة لذلك، تبين نتائج الدراسة النسيجية أن مستخلص الزعتر ينشط انقسام الخلايا الكبدية وبخاصة في حيوانات المجموعة الرابعة، وتُعد هذه النتيجة الأولى التي تظهر تأثيراً للمستخلص المائي لأوراق الزعتر في تنشيط انقسام خلايا الكبد، والتي تفترض احتواء المستخلص المائي للزعتر مضادات أكسدة تخفف من الإجهاد التأكسدي بفعل ديكلوفيناك الصوديوم وتحمي الخلايا الكبدية من الضرر وتنشط انقسامها. ويتفق ذلك مع نتائج الدراسات والأبحاث العلمية التي أظهرت الدور الوقائي للمستخلصات المائية والعضوية للزعتر وإكليل الجبل في حماية خلايا الكبد والكلية من التنخر الخلوي وفي تخفيض تراكيز أنزيمات ALT، AST، وALP في مصل دم فئران التجربة المُحدث سواء بالمضاد الحيوي جنتامايسين Gentamycin أو بعقار اسيتامينوفن Acetaminophen (Hegazy, *et al*. 2018; Abdel-Azeem, *et al*. 2017; Grespan, *et al* 2014) أو باراسيتامول (Abd El-Kader and Mohamed, 2012)، وكذلك في خفض تراكيز جميع هذه المعايير إضافة إلى خفض تركيز عامل التنخر الورمي ألفا في مصل دم الأرانب المحدث بعقار السيسبلاتين Cisplatin(Abu-Raghif, *et al*. 2016) أو بعقار الميثوتركسات Methotrexate (Swayeh, *et al*. 2014)، وفي مصل دم الهامستر السوري بفعل التجريع بالأموكسيسلين (محمد، وآخرون 2017). كما تتفق مع الدراسات التي بينت احتواء مستخلصات الزعتر مضادات أكسدة طبيعية مثل الفينولات، وبيتا-كاروتين، والفلافونيدات Flavonoids، والتانيين Tannins ، والتايمول، والتربينين Terpenine تفيد في حماية الكبد والكلى والأنسجة الأخرى من آثار الإجهاد التأكسدي (El-Newory, *et al*. 2017 ;Lee, *et al*. 2016; Stayal, *et al*. 2016).

على أية حال، لابد من الإشارة أنه وبالرغم من أن التجريع المتزامن لمستخلص أوراق نبات الزعتر مع الديكلوفيناك خفض بشكل معنوي ($P< 0.001$) التأثير المحدث بفعل ديكلوفيناك الصوديوم ، حيث أعاد تركيز أنزيم AST إلى تركيز مماثل لنظيره في مصل دم المجموعة الشاهده ($P>0.05$) ، إلا أن تراكيز أنزيم ALT بقي مرتفعاً بشكل معنوي في حيوانات المجموعة الرابعة مقارنة مع مثيلاتها في المجموعة الشاهدة، إلا أنه انخفض بشكل معنوي عند مقارنته مع حيوانات المجموعة الثالثة (المجرعة بديكلوفيناك الصوديوم فقط) (الجدول 1). كما تشير نتائج الدراسة الاحصائية المقارنة لتراكيز الأنزيمات المدروسة في مصل دم كل من حيوانات المجموعة الثانية (مستخلص الزعتر فقط) مع تراكيزها في مصل دم حيوانات المجموعة الرابعة (زعتر + ديكلوفيناك الصوديوم) الموضحة في الجدول (3)

أن تراكيز أنزيمي ALT و AST بقيت أكثر ارتفاعاً وذات دالالة احصائية($P< 0.001$) في المجموعة الرابعة مقارنة مع تراكيزها في المجموعة الثانية. تشير هذه النتائج أن الجرعة المستخدمة من المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر لم تكن كافية لحجر تأثير ديكلوفيناك الصوديوم بشكل كامل. وهذا ما أكدته الدراسة النسيجية لأكباد حيوانات المجموعة الرابعة التي أظهرت بقاء بعض آثار الاجهاد التأكسدي مثل الاستحالة البالونية الخفيفة وكذلك علامات احتقان وريدي خفيف في الأوردة البابية.

إن الدراسة النسيجية الحالية والتي تبين تنشيط مستخلص الزعتر لانقسام الخلايا الكبدية في أكباد حيوانات المجموعة الرابعة تدعم فكرة الدور الوقائي للمستخلص المائي للزعتر في حماية نسيج الكبد وتؤكد حقيقة انخفاض تأثير ديكلوفيناك الصوديوم في إحداث الضرر النسيجي في أكباد هذه الحيوانات (الأشكال 4-6). وتفترض هذه النتائج أن لبعض مكونات المستخلص النباتي وبخاصة الثايمول والكارفاكرول وكذلك التيربينين فعالية بيولوجية في تحفيز الخلايا الكبدية على دخول الدورة الخلوية والانقسام من جديد للتعويض عن الخلايا التالفة بالتنخر بفعل الاجهاد التأكسدي. , ويتوافق ذلك مع نتائج الدراسات التي أظهرت قدرة خلايا الكبد على التجدد والانقسام بعد الاجهاد التأكسدي المحدث بالنتروزومورفين (Kuhlmann &Peschke, 2006) وفعالية المستخلص المائي لنبات Baccharis trimaera على تحفيز انقسام الخلايا الكبدية عند الفئران (Lima, *et al*. 2017). وقد أثبتت الدراسات العلمية أن الخلايا الكبدية وبالرغم من كونها عالية التمايز إلا أنها تستطيع الانقسام من جديد للتعويض عن الخلايا التي أصابها التلف. (Bria, *et al*. 2017; Manzini, *et al*. 2017; Peno, *et al*. 2010).

الاستنتاجات والتوصيات:

1- يحدث استخدام عقار ديكلوفيناك الصوديوم ضرراً نسيجياً على الكبد يتجلى بارتفاع معدل المعايير الحيوية الكيميائية لأنزيمات الكبد في مصل الدم ويستمر ذلك طيلة فترة التجريع وبعدها بعدة أيام على الأقل، إضافة إلى ظهور علامات تنخر خلوي واضحة جداً وبخاصة الانتباج الخلوي وزوال نوى الخلايا وحدوث تدفق لخلايا الدم البيض إلى أماكن الضرر النسيجي.

2- يقي المستخلص المائي لأورق الزعتر انسجة الكبد من السمية الخلوية والتأثيرات الضارة المحدثة بعقار ديكلوفيناك الصوديوم.

3- ينشط المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر انقسام خلايا الكبد .

4- يوصى بعزل المركبات الفعالة في المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر وإجراء المزيد من الأبحاث والتجارب العلمية بقصد الاستعمال الدوائي للمستخلص ومركباته الفعالة في اضطرابات الكبد.

5- ينصح المرضى الذين يتعاطون عقار ديكلوفيناك الصوديوم استعمال المستخلص المائي لأوراق نبات الزعتر أو منقوع الزعتر كمشروب وقائي، سيما أنه استخدم كمشروب وقائي وعلاجي للعديد من الأمراض وبخاصة امراض الجهاز التنفسي في المجتمع السوري.

المراجع

– سليمان، سوسن; جبور، رامي ; مره ، محمد. *تأثير المستخلص المائي للحاء نبات القرفة في بعض معايير الخصوية عند ذكور الأرانب المحلية*. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية– سلسلة العلوم البيولوجية، المجلد 40 (1)، 2018.

– فاضل، هيام ; دريوس، محمد ; شحادة، كوكب. تأثير المستخلص المائي لأوراق إكليل الجبل في بعض وظائف الكبد في الأرانب بعد المعاملة بالأسيتامينوفين. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية– سلسلة العلوم البيولوجية ، المجلد (37) العدد(5) ، 2015 .

– محمد، ضحى; داود، علي ; مره، محمد. *الدور الوقائي للمستخلص المائي لنبات إكليل الجبل على السمية الكبدية المستحثة بالمضاد الحيويAmoxicillin عند الهامستر السوري*. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية– سلسلة العلوم البيولوجية، المجلد 39 (3) ، 2017.

-ABDEL-AZEEM, AS; HEGAZY, AM; ZEIDAN, HM; IBRAHIM, KS; EL-SAYED, EM. *Potential Renoprotective Effects of Rosemary and Thyme Against Gentamicin Toxicity in Rats*. J Diet Suppl. Vol:14 (4), 2017. 380-394.

-

ABD EL-KADER, M.A.; AND MOHAMED, N.Z. *Evaluation of Protective and Antioxidant Activity of Thyme (Thymus Vulgaris) Extract on Paracetamol-Induced Toxicity in Rats***.** Australian Journal of Basic and Applied Sciences, Vol: 6(7), 2012. 467-474.

ABU-RAGHIF , A.R; AHMED SALIH SAHIB, A.S; AND HASAN, S.A. *Hepatoprotective effects of thyme extract in Cisplatin-induced liver toxicity in rabbits*. Der Pharmacia Lettre, Vol: 8 (19), 2016, 24-28.

-AHMED, A.; ABD-ELHAMIED, M.M.; AND ALI, K.M.G. *Histological And Histomorphometric Changes Of The Rabbit Testis During Development*. Res.J.vet. sci, vol; 5 (2), 2012. 42-50.

-AKHTER, R.; and SARKER, M.A.W. *Effect Of Diclofenac Sodium In Broilers*. Bangl. J. Vet. Med. 13 (1), 2015. 19- 24.

-ALTMAN, R; BOSCH, B; BRUNE, K; PATRIGNANI, P; YOUNG, C. (2015). *Advances in NSAID Development: Evolution of Diclofenac Products Using Pharmaceutical Technology*. Drugs. Vol: 75(8) . 2015, 859–877.

-Al-SAADY, M.A.J.; Al-SHEMMERY, H.N.; ABDUL-LATIF, A-R .*Pharmacological Effects of Diclofenac Sodium on Some Hematological Parameters of Male Rabbits*. Medical Journal of Babylon, Vol:. 8(3), 2011, 34-39.

-BRIA. A.; MARDA, J.; ZHOU, J.; CAO, Q.; PETERSEN, B.E., LIYA, P. *Hepatic progenitor cell activation in liver repair*. Liver Research, Vol 1(2), 2010, 81-87.

-CARRASCOSA, M.F.; ISABEL LUCENA, M.; RAUL J. ANDRADE. R.J. *Acute liver failure following atorvastatin dose escalation: Is there a threshold dose for idiosyncratic hepatotoxicity?*. Journal of Hepatology , Vol: 62 , 2015. 739–752.

- Daly, A.K., G.P. Aithal, J.B. Leathart, R.A. Swainsbury, T.S. Dang and C.P. *Day Genetic susceptibility to diclofenac-induced hepatotoxicity: contribution of UGT2B7, CYP2C8 and ABCC2 genotypes*. Gastroenterology , 2007. 132: 272-281.

-DRURY, R. A., AND WALLINGTON, E. A. *Carleton's Histology Technique,4th Ed.* Oxford University Press.NewYork, Tornoto, 1980.

-El-BANNA H., SOLIMAN M. AND Al-WABEL N. *Hepatoprotective Effects of Thymus and Salvia Essential oils on Paracetamol-Induced Toxicity in Rats.* J. Phys. Pharm. Adv, 3(2), 2013, 41-47.

-ELGAML, S.A. and HASHISH, E.A.(2014). *Clinicopathological studies of Thymus vulgaris Extract Against Cadmium Induced Hepatotoxicity in Albino Rats.* Global J. Pharmacol., 8 (4). 2014 , 501-509.

-El- MADDAWY ,Z; IBRAHIM, M; El-ASHMAWY. *Hepato-Renal and ematological Effects of Diclofenac Sodium in Rats*. Global Journal of Pharmacology .Vol 7 (2), 2013. 123-132 .

-EL-NAGGAR, S; SELIM, A; EL-MAHALAWAY, A. *Effects of Thyme Extract on Hepatotoxicity Induced by Fenitrothion on Mice: Histological, Histochemicaland ,Immmunohistochemical,* Study. J. Cell and Tissue Res .Vol 15(1), 2015. 4737-4746.

-El-NEWORY, S.A.; SHAFFIE, N.M.; OMER,E.A. *The protection of thymus vulgaris leaves alcoholic extract against hepatotoxicity of alcohol in rats.* Asian pacific J. Tropical Medicine, Vol: 10 (4), 2017 , 361-371.

-HEGAZY, AM; ABDEL-AZEEM, AS; ZEIDAN HM; IBRAHIM, KS; SAYED ,EE. *Hypolipidemic and hepatoprotective activities of rosemary and thyme in gentamicin-treated rats.* Hum. Exp. Toxicol. Vol: 37 (4), 2018. 420-430.

-Hörl, W.H. *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and the Kidney*. Pharmaceuticals, Vol: 3, 2010. 2291-2321.

-GRESPAN, R; PAZINATTO AGUIAR, R; NUNES GIUBILEI, F; ROCCO FUSO, R; JOSÉ DAMIÃO, M; LEITE SILVA, E; GRATON MIKCHA, J; LUZMARINA HERNANDES, L; BERSANI AMADO, C; and NAKAMURA CUMAN, R.K. *Hepatoprotective Effect of Pretreatment with Thymus vulgaris Essential Oil in Experimental Model of Acetaminophen-Induced Injury.* Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Vol: 7, 2014, 8 -14.

-KRR, A; KURREY, N.K; KAG, V. *Protective effects of phenolics rich extract of ginger against Aflatoxin B1-induced oxidative stress and hepatotoxicity*. Biomed. Pharmacother.Vol 91, 2017, 415-424.

-KUHLMANN, W.D.; AND PESCHKE, P. *Hepatic progenitor cells, stem cells, and AFP expression in models of liver injury.* Int J Exp Pathol. Vol: 87(5), 2006, 343–359.

-LEE, A.Y; WU, T.T; HWANG, B.R; LEE, J; LEE, M-H; LEE, S; AND CHO, E.J. *The Neuro-Protective Effect of the Methanolic Extract of Perilla frutescens var. japonica and*

Rosmarinic Acid against H2O2-Induced Oxidative Stress in C6 Glial Cells. Biomolecules & Therapeutics. Vol: 24(3), 2016, 338-345.

-LI, S; TAN, H-Y; WANG, N; ZHANG, Z-J; LAO, L; WONG, C-W; AND YIBIN FENG, Y. *The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases*. Int. J.Mol.Sci. Vol 16(11), 2015, 26087–26124.

-LIMA, S.O.; DE ALMEIDA FIGUEIREDO, M.B.C.; DE SANTANA, V.R. ; ANDRADE SANTANA, D.P.; DE SOUZA NOGUEIRA, M.; SOBRAL PORTO, E.; BATALHA DE ANDRADE, R.L.B.; SANTOS, J.M.; DE ALBUQUERQUE JUNIOR, R.L.C. ; CARDOSO, J.C. *Effect of aqueous extract of the leaves of Baccharis trimera on the proliferation of hepatocytes after partial hepatectomy in rats.* Acta Cir. Bras. Vol:32(4), 2017, 2624.

-LU, Y.L ; OU, N ; LU, Q-B. *Antioxidant Induces DNA Damage, Cell Death and Mutagenicity in Human Lung and Skin Normal Cells.* Scientific Reports, Vol 3, 2013, 31-69.

-MAITY,T; AHMAD, A; PAHARI, N; SUBARNA, G. *Hepatoprotective Activity of Mikania scandens (l.) willd. against diclofenac sodium induced liver toxicity in rats.* asian j. pharm. clin .reash , Vol 5(2), 2012 . 185-189.

-MANNEM, P. *Protective Effects of Ginger Extract against Lead Induced Hepatotoxicity in Male Albino Rats.* J.Enviro. Sci. Toxicol. Food Technology, Vol 8 (5), 2014 . 53-59.

-MANZINI, B.M.; DA SILVA SANTOS DUARTE, A.; SANKARAMANIVEL. S; RAMOS, A.L; LATUF-FILHO. P; ESCANHOELA, C.; KHARMANDAYAN, P.; OLALLA SAAD, S.T; BOIN, I.; MALHEIROS LUZO, Â.C. Useful properties of undifferentiated mesenchymal stromal cells and adipose tissue as the source in liver-regenerative therapy studied in an animal model of severe acute fulminant hepatitis. Cytotherapy. Vol:17(8), 2015, 1052-65.

-MIRAZI, N; MOVASSAGH,S-N; AND RAFIEIAN-KOPAEI, M. *The protective effect of hydro-alcoholic extract of mangrove (Avicennia marina L.) leaves on kidney injury induced by carbon tetrachloride in male rats.* J Nephropathol. Vol 5(4), 2016.118–122.

-NGUYEN , D ; TAKACSOVA , M ; JAKUBIK , T. DANG, M. *Antioxidative effect of thyme in rape-seed oil. Biology Slovak Republic.section* .celluar and molecular biology.,55(3), 2000. 277-281.

-PALIPOCH, S.; and PUNSAWAD, C. *Biochemical and Histological Study of Rat Liver and Kidney Injury Induced by Cisplatin*. J Toxicol Pathol; 26, 2013. 293–299.

-Peno, N.; LI, L.; CAI, X.; TAN,S.; WU, T. Liver system progenitor cells in the canals of Hering: cellular origin of hepatocellular carcinoma with bile duct tumor thrombi. Stem Cell Rev. Vol: 6(4), 2010, 579-584.

-RAŠKOVIC´, A.; PAVLOVIC´, N.; KVRGIC, M.; GORANA MITIC, I.C.; MIKOV, M. *Effects of pharmaceutical formulations containing thyme on carbon tetrachlorideinduced liver injury in rats*. BMC Complementary and Alternative Medicine. Vol: 15, 2015, 442.

-SAKER, S. A.; MAHRAN, H.A.; LAMFON, H.A. *Protective effect of ginger (Zingiber officinale) on adriamycin - induced hepatotoxicity in albino rats.* Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(1), 2011, pp. 133-140.

-SELVAMOHAN, T .; RAMADAS .S.; KISHORE, S.S. Antimicrobial activity of selected medicinal plants against some selected human pathogenic bacteria; Advances in Applied Science Research, 3 (5): 2012, 3374-3381.

-SATYAL, P. ; MURRAY, B.L; MCFEETERS, R.L; AND SETZER, W.N. Essential Oil Characterization of Thymus vulgaris from Various Geographical Locations. Foods , Vol: 5, 70. 2016.

-SHETTY , K. AND LABBE, R. *Food –borne pathogens health and role of dietary phytochemicals. Department of food science*, university of Massachusetts, Amherst, MA, USA, 7(3/4). 1998, 270-276.

-SOLIMAN, M.M.; AHMED, M.M.; EL-SHAZLY, S.A.*Cinnamon extract regulates gene expression of lipids and carbohydrates metabolism in streptozotocin induced diabetic Wistar rats.* American J. Biochemistry and Biotechnology , Vol: 9(2), 2013, 172-182 ·

-SWAYEH,N.H; AHMED R. ABU-RAGHIF, A.R; BAN JUMAA, K; SAHIB, H.B. *The Protective Effects of Thymus vulgaris Aqueous Extract against Methotrexate Induced Hepatic Toxicity in Rabbits*. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., Vol: 29(2), 2014. Pages: 187-193

-ZAHEDI, A; FATHIAZAD , F; KHAKI, A; BEHNAM AHMADNEJAD, B. *Protective Effect of Ginger on Gentamicin-Induced Apoptosis in Testis of Rats Afshin* . Advanced Pharmaceutical Bulletin, 2012, 2(2), 197-200.