Effect Of Aqueous Extract of Oryctolagus cuniculus coriander Seeds On liver , kidney in the males local Rabbits Oryctolagus cuniculus Induced with Diabetes

تأثير المستخلص المائي لبذور نبات الكزبرةCoriandram sativum على أنسجة الكبد والكلية لذكور الارانب المحليةOryctolagus cuniculus المستحدثة تجريبيا بداء السكري

أ. حسين علي عبداللطيف د. نزار جبار متعب م.م. أحمد نعمه عيسى
جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة دكتوراه نسيج مرضي مديرية تربية كربلاء

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة إلى معرفة تأثير المستخلص المائي لبذور نبات الكزبرة Coriandram sativum على أنسجة الكبد والكلية لذكور الارانب المحلية المستحدث بها داء السكري .

أجريت الدراسة في البيت الحيواني التابع لقسم علوم الحياة في كليــة التربيــة للعلوم الصرفة- جامعـة كربــلاء للفترة من ايار 2013 ولغاية تشرين الاول 2013 ، شملت الدارسة 25 من الذكور الارانب المحلية من نوع Oryctolagus cuniculus تراوحت معدل اوزانها مابين (1500-1750) كيلوغرام وتراوحت معدل أعمارها ما بين (10-12) شهر وقسمت عشوائيا إلى خمسة مجاميع تضم (5 حيوانات لكل مجموعة) المجموعة الأولى G1 مجموعة السيطرة السالبة وجرعت يوميا بمحلول الملح الفسيولوجي ولمدة شهرين ، المجموعة الثانية G2 مجموعة السيطرة الموجبة استحدث بها داء السكري بحقنها تحت البريتون بالالوكسان Alloxan وبجرعة 150 ملغم/ كغم من وزن الجسم ، بينما المجاميع الثالثة G3 والرابعة G4 والخامسة G5 المستحدث بها داء السكري بحقنها بالالوكسان جرعت فمويا بعد مرور شهر من استحداث داء السكري بالمستخلص المائي لبذور الكزبرة وبالجرع 50 ، 100 و150 ملغم/ كغم من وزن الجسم ولكل يوم ولمدة شهر ، وعلى التتالي .

أخذ مقاطع نسجية للكبد والكلية لغرض دراسة التغيرات النسجية عليها ، أظهرت نتائج الدراسة الحالية :

إن استحداث داء السكري أدى إلى حصول تغيرات في انسجة كبد وكلية الحيوانات المصابة مقارنة بمجموعة السيطرة اذ ظهر في الكبد احتقان دموي وركود مادة الصفراء وتفجي السايتوبلازم وتجمع دهني وتنخر الخلايا الكبدية وتغلظ انويتها وعدم وجود الجيبانيات الدموية . اظهرت المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الكزبرة حماية الكبد من التأثيرات الضارة إذ يكون التركيب النسجي للكبد اقرب للطبيعي بأستثناء وجود ارتشاح للخلايا الالتهابية واحتقان بسيط في حين أدى استحداث داء السكري إلى حصول تغيرات في نسيج الكلية اذ ظهر بها احتقان دموي والتهاب الكبيبة وتنكس الانابيب الكلوية وارتشاح الخلايا الالتهابية ووجود المواد البروتينية في النبيبات الكلوية مع توسع محفظة بومان وزيادة خلوية بالكبيبة. اظهرت المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الكزبرة حماية الكلية من التأثيرات الضارة عن طريق اختزال التغيرات التنكسية واقتراب معدل قطر الكبيبة الكلوية من المعدل الطبيعي .

Abstract

This study aimed to determine the effect of aqueous extract of Coriandram sativum coriander seeds on liver, kidney in the males local rabbits had induced diabetes .

The present study was carried ou in the Animal house of biology Department in the College of Education for Pure Science - University of Kerbala for the period from May 2013 until October 2013 . The study involved (25) by using male rabbits local . The average weight between (1500-1750) k.g in weight the average age between (10-12) month and randomly divided into five groups (5 animals per group) the first group G1 was negative control group and it was dosaged daily with a solution of Physiological normal salin for two months, the second group G2 was positive control group induced with diabetes by injected intraperitoneal by alloxan with 150 mg / kg of body weight , while the third , fourth and fifth groups have been induced diabetes before of the dosage by injected with alloxan and dosaged orally after month from induced diabetes with aqueous extract of coriander seeds by 50 , 100 and 150 mg/kg of body weight per a day for a month , respectively .

Taking the histological sections of the liver , kidney in order to study histological changes , the results showed :

The induced diabetes led to changes in the tissues of liver and kidny of infected animals compared with the control group , as showed in the liver congestion and bile stagnation and cytoplasm vacuolation and fatty aggregation and necrosis of liver cells and pyknoted absence of blood sinusoids . A treatment with aqueous extract of Coriandram sativum showed protective the liver from damage effects and explained the installation of histological closer to normal except for the presence of infiltration of inflammatory cells and a simple congestion . when led the induced diabetes to additional changes in the kidney , as showed its by the bloody congestion and glomerulus inflammation , degeneration of the renal tubules , infiltration of inflammatory cells , the presence of protein in the renal tubules , with the expansion of Bowman's capsule and increase cellular glomerulars . At a treatment with aqueous extract of coriander showed protective the kidny from damage effects by reducing degenerative changes and glomerulus - diameter means close to normal .

المقدمة

داء السكري Diabetes mellitus هو مرض ينتج من الاضطرابات الغذائية الشائعة غير المتجانسة متعددة الاسباب المتصفة بأرتفاع سكر الدم المزمن والاضطرابات الايضية للكاربوهيدرات والدهون والبروتينات التي تشترك مع نقص افراز الانسولين داء السكري Type 1 او مقاومة عمل الانسولين Type 2 (2,1) . داء السكري هو مرض متعدد العوامل المسببة له تشمل على تفاعل العوامل الوراثية والبيئية(4,3) . سببه نقص في انتاج الانسولين الوراثي او المكتسب من قبل خلايا بيتا في البنكرياس او عدم فعالية الانسولين المنتج أي نقص الانسولين (6,5) .ان للاستعداد الوراثي و تقدم العمر والاجهاد و الصدمات المفاجئة تاثيراً فعالاً في ظهور المرض ، فضلاً عن التاثير الهرموني غير المباشر اذ تزداد الهرمونات التقويضية Catabolic hormones التي تفرز من الغدد الصماء عند زيادة الاجهاد (7) ، ومن الشائع جدا يترتب على ارتفاع السكر في الدم ارتفاع الدهون في الدم وبعد ذلك ضرر اضافي او تأثير سمي على خلايا بيتا (3) تشارك العديد من العمليات المسببة للامراض في تطوير مرض داء السكري ، وهذه تترتب عليها تدمير المناعة الذاتية لخلايا بيتا في البنكرياس مع نقص الانسولين وينتج عن ذلك مقاومة في عمل الانسولين بحيث يصبح غير كافي للسيطرة على مستوى الكلوكوز في الدم (9,8) .ارتفاع سكر الدم المزمن الذي يحدث في مرض داء السكري من الممكن ان يؤثر على كل عضو وجهاز في الجسم ويترافق مع الضرر على المدى الطويل العجز وفشل الاجهزة المختلفة ويشمل اعتلال الشبكية مع احتمال فقدان الرؤية واعتلال الكلية مما يؤدي الى فشل كلوي والاعتلال العصبي المحيطي مع مخاطر تقرحات القدم (11,10,8) . تحتل النباتات الطبية مكانة مميزة وكبيرة في الانتاج العالمي لما تحتويه من مواد كيميائية طبيعية ذات فائدة واهمية كبيرة في تأثيرها الفسيولوجي ونشاطها العلاجي للانسان والحيوان وقد اثبتت الدراسات العلمية ان المنتجات المشتقة من هذه النباتات لها القابلية على شفاء العديد من الامراض وازالة اعراضها (12) .انتشر استخدام النباتات الطبية والعطرية في علاج العديد من الامراض عالميا وهذا ادى الى الاهتمام بزراعتها وتصنيعها واستخلاص المواد الفعالة منها لاستخدامها في تصنيع المستحضرات الدوائية بدلا من المواد الكيميائية ذات الاثار الجانبية الضارة ولامتلاك الوطن العربي ثروة طبيعية من الاعشاب الطبية والعطرية فإنها استخدمت في الوصفات الشعبية (13) . وقد كانت زيادة في الطلب على الادوية المضادة للسكري الطبيعية وفيها فعالية مضادة لارتفاع السكر في الدم (15,14) .

النباتات الطبية في اكثر الاحيان تعتبر اقل سمية وخالية من الاثار الجانبية من تلك الادوية المصنعة (16) حوالي 80%من سكان العالم الثالث تكاد تعتمد اعتمادا كليا على الطب التقليدي . هناك العديد من النباتات الطبية التقليدية تمتلك خصائص خافضة للسكر مثل الحبة السوداء *Nigella sativa* (17) ومسحوق بذور الحلبة *T.foenum-graecum* (18) واوراق الزيتون *Olea europeae*(19) ونبات القرفة *Cassia auriculata* (20) .

يعد نبات الكزبرة(coriander) *Coriandram sativum* واحد من هذه النباتات والتي أكدت العديد من مصادرالعلاج بطب الأعشاب أمكانية استخدام بذوره لعلاج حالات عديدة حيث يدخل في تركيبها العديد من المكونات الفعالة ذات التأثيرات المختلفة داخل الجسم وبالنتيجة عرف عنه استخدامها في العلاج البديل (22,21) . تعد الزيوت الطيارة وبنسبة 15% من أهم مركباته الفعالة ذات التأثير الفعال ومنها دلتا الليناليول وألفا البينين والتربينين والفلافونويدات كمضاد للأكسدة والكومارينات والفيثاليدات وحامض الفوليك (23) ذات التأثير الاحيائي المضاد المزدوج للمايكروبات والأكسدة وقابليتها لكبح الجذور الحرة (24) ان القلويدات ومركبات الفينول والفلافونيدات والايزوكيورستين والكيورستين . وجدت بكثرة في المستخلصات الكحولية لبذور الكزبرة تمتلك فعالية مميزة لحماية الكبد من رابع كلوريد الكاربون CCl4 بوساطة تخفيض وزن الكبد وفعالية ASTو ALTوALP والبيليروبين في الحيوانات المتسممة برابع كلوريد الكاربون CCl4 ان تجريع مستخلص الكزبرة بجرعة 300 mg/ kg اظهرت اختفاء الترسبات الدهنية والتنكسات الناتجة من التضخم ممايؤكد فعاليتها لحماية الكبد (25).

كما أنه فاتح للشهية وطارد للغازات ومقوي للمعدة ومضاد للتشنجات وتنظيم حركة القناة الهضمية (27,26) والخافض لضغط الدم والأثر المدرر للبول (26) . والسيطرة على سكر الدم (28) من خلال نشاطه المنظم لافراز الأنسولين (30,29) .

هدفت الدارسة الحالية الى تقويم آلية تأثير المستخلص المائي لبذور الكزبرة وبجرع مختلفة في تنظيم بعض الفعاليات الحيوية وباستعمال الارانب كبديل للبائن ونظرا لدور الكبد والكليتين في تنظيم الفعاليات الحيوية في الجسم . لذلك استهدف البحث دراسة

بعض المقاطع النسجية للكبد والكلية والناتجة من استحداث داء السكري ، والمساهمة في إيجاد علاج نباتي أمين لداء السكري والذي يؤدي الى تجنب استعمال الادوية والمواد الكيميائية التي من المحتمل ان يكون لها تأثيرات جانبية .

لذا تم دراسة تأثير استحداث داء السكري والمعاملة بالمستخلص المائي لبذور الكزبرة من خلال دراسة التغيرات النسجية للكبد والكلية .

المواد وطرائق العمل

بعد الحصول على بذور نبات الكزبره من محل لبيع الاعشاب الطبيه في قضاء الهنديه في مدينة كربلاء المقدسه ، تم تنظيف البذور جيدا ثم طحنت بطاحونة الاعشاب الطبية خاصة للاعشاب فقط للحصول على مسحوق ناعم وحفظ المسحوق في اكياس نايلون نظيفة في الثلاجه لحين الاستعمال .

1. حيوانات التجربة :

استخدمت في هذه الدراسة 25 من ذكور الأرانب المحلية يتراوح معدل أوزانها ما بين (1500- 1750) كيلوغرام و تراوحت معدل أعمارها ما بين (10-12) شهر ، وضعت في أقفاص حديدية في البيت الحيواني التابع لكلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء، وتم توفير الماء والعليقة الحيوانية الخاصة تحت ظروف تهوية مناسبة وبدرجة حرارة 25 درجة مئوية ، واعتمدت الأضاءة الطبيعية (12)ساعة ضوء (12) ساعة ظلام .

2. تصميم التجربة :

وزعت عشوائيا 25من ذكور الارانب المحلية الى خمسة مجاميع وبواقع 5 حيوانات لكل مجموعة و كالتالي :

1- المجموعة الاولى G1 جرعت يوميا بمحلول الملح الفسيولوجي ولمدة شهرين وعدت مجموعة سيطرة سالبة.

2- المجموعة الثانية G2 استحدث بها داءالسكري وعدت مجموعة سيطرة موجبة ولمدة شهرين .

3- المجموعة الثالثةG3 استحدث بها داءالسكري وجرعت فمويا بعد مرور شهر من استحداث داءالسكري بالمستخلص المائي لبذور الكزبرة وبجرعة مقدارها50ملغم/ كغم من وزن الجسم يوميا ولمدة شهر.

4- المجموعة الرابعةG4 استحدث بها داءالسكري وجرعت فمويا بعد مرور شهر من استحداث داءالسكري بالمستخلص المائي لبذور الكزبرة وبجرعة مقدارها 100ملغم/ كغم من وزن الجسم يوميا ولمدة شهر.

5- المجموعة الخامسة G5 استحدث بها داءالسكري وجرعت فمويا بعد مرور شهر من استحداث داءالسكري بالمستخلص المائي لبذور الكزبرة وبجرعة مقدارها150ملغم/ كغم من وزن الجسم يوميا ولمدة شهر.

بعد أن منعت الارانب من الأكل لمدة 24 ساعة تم وزنها وحقنها بمادة الالوكسان Alloxan المنتجة من شركة (Afco,India) بتركيز 150ملغم/كغم من وزن الجسم (31) واستخدمت محقنة طبية نبيذة سعة 5 مل لحقن الارانب داخل الخلب ، وقد أعطي لها بعد الحقن في اليوم الأول محلول كلوكوز بتركيز 5% مع ماء الشرب لمنع حدوث نقص السكر الحاد الناتج من تلف البنكرياس الذي قد يؤدي إلى هلاكها، ثم سمح للحيوانات بتناول العلف بعد الحقن وتم التأكد من استحداث داء السكري في الارانب المعاملة بالالوكسان ،وذلك بأخذ قطرة من الوريد الاذني للتأكد من حصول الاصابة بالمرض بعد تصويمها ، وذلك بفحص الدم والتأكد من وجود سكر الكلوكوز فيه عن طريق استخدام الشريط الكاشف لسكر الدم Blood Glucose Test Strips المصنع من شركة (ACON Laboratories. Inc. USA) مرة كل ثلاثة أيام ولمدة ثلاثين يوماً، إذ إن بعض الحيوانات المستحدث فيها داء السُكري قد تعود إلى حالتها الطبيعية بسبب قيام خلايا بيتا-البنكرياسية غير المتضررة بإفراز الأنسولين بشكل يعوض عن الخلايا الأخرى (32) ان الحيوانات التي لديها تركيز كلوكوز أعلى من 200 ملغم / ديسلتر عدت مصابة بداء السكري (33) .

3. طريقة الاستخلاص :

أستعمل 10 غم من مسحوق البذور الجاف مع 200 مل من الماء المقطرالمغلي ، وضع الخليط في خلاط كهربائي وخلط لمدة 15 دقيقة ثم ترك المحلول لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة بعد تغطيته ، ثم رشح الخليط باستعمال عدة طبقات من الشاش الطبي للتخلص من العوالق ، و بعد ذلك فصل المحلول بجهاز الطرد المركزي centrifuge بسرعة 3000 دورة /دقيقة و لمدة 10 دقائق ، اخذ الراشح وترك الراسب ، بعدها وضع الراشح في أطباق معدنية نظيفة و معقمة وجفف المستخلص باستعمال الفرن بدرجة 40 °م وكان وزنه 1.غم (34) .

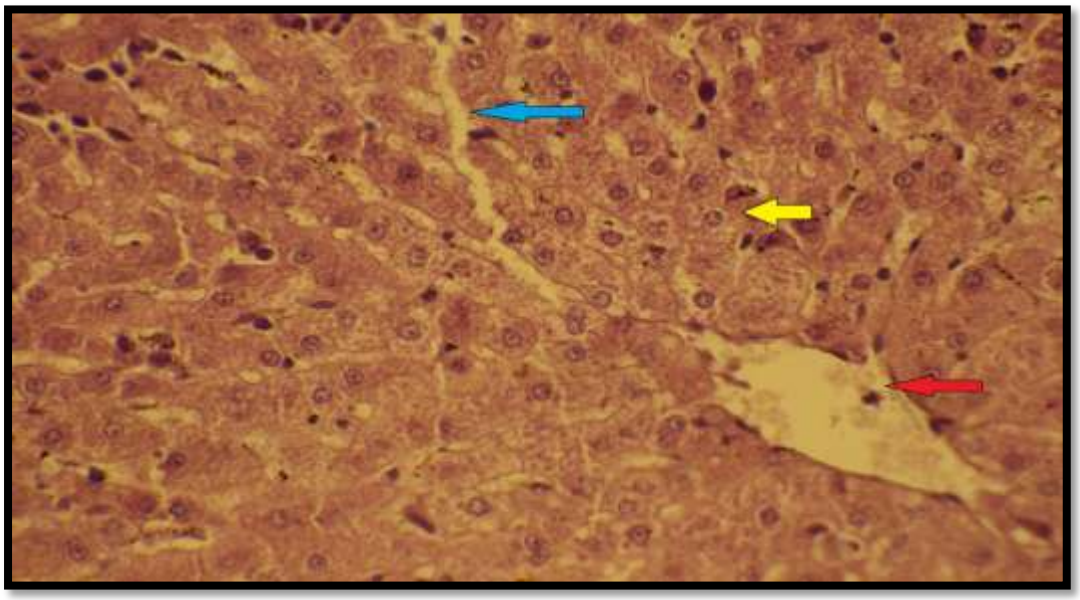
4. جمع عينات االكبد والكلية :

بعد انتهاء التجربة تم التضحية بالحيوانات بوساطة التخدير بالايثر وشرحت الحيوانات لاستئصال الكبد والكلية وبعد ازالة المواد الدهنية والانسجة الملتصقة بها ، وضعت العينات بعد غسلها بمحلول normal saline في عبوات بلاستيكية جافة ونظيفة بعد تعليمها وحفظت بمادة حافظة هي الفورمالين بتركيز 10 % لمدة 48 ساعة لحين إجراء التقطيع النسجي عليها .

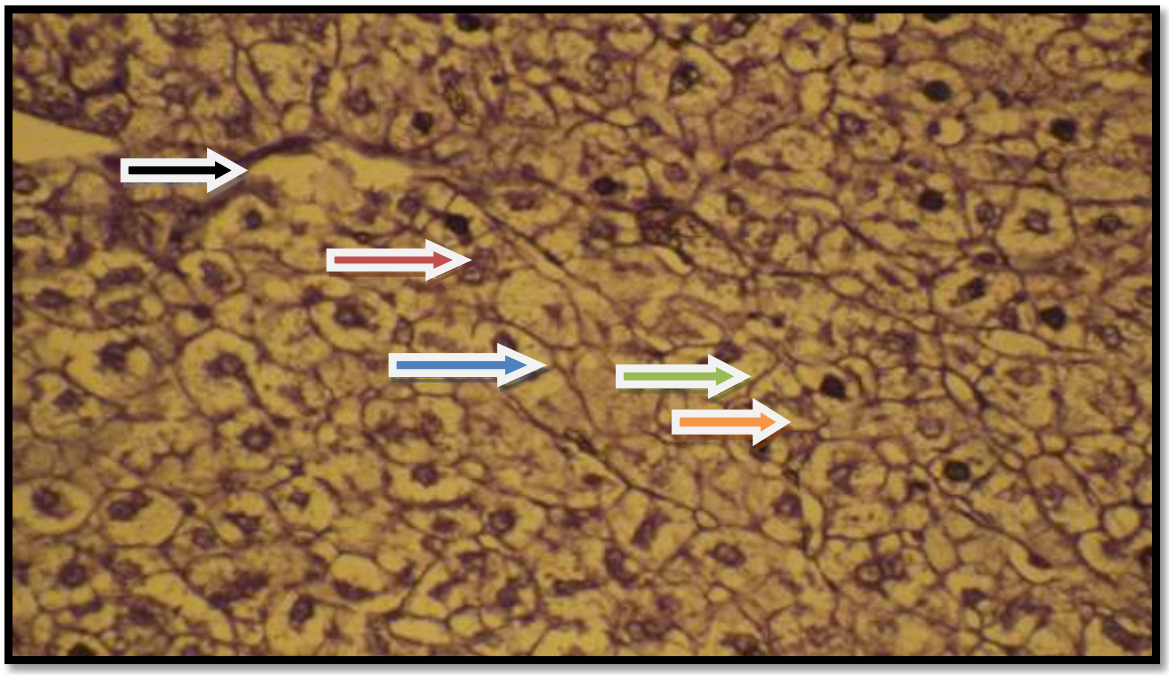
5. تحضيرالمقاطع النسجية Preprations of histological section :

وبعد تثبيت العينة استخرجت من الفورمالين وغسلت بماء الحنفية لمدة (6-3) ساعات وبعدها اجريت عليها سلسلة من العمليات اعتماداً على الطريقة الموصوفة في (35) .

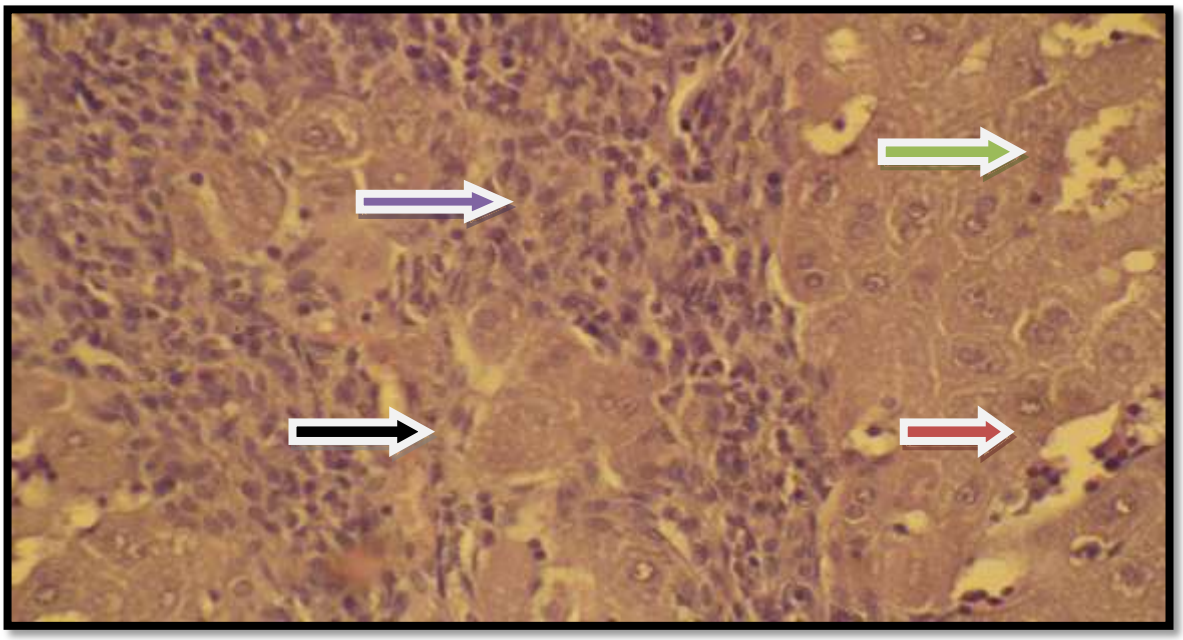
1. الانكاز والترويق Dehydration and Clearing :
تم سحب الماء من النسيج وذلك بتمرير النماذج في سلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%، 80%، 90%، 95%، 100%) ولمدة ساعتين في كل تركيز بعدها روقت النماذج بوضعها في الزايلين لمدة ساعتين .
2. التشريب Infiltration :
بعد الانتهاء من عملية الترويق نقلت النماذج الى قناني حاوية على خليط من شمع البرافين Paraffin wax ذي درجة انصهار تتراوح بين (57-60) درجة مئوية المنصهر والمرشح والزايلين بنسبة 1:1 لمدة نصف ساعة داخل فرن كهربائي درجة حرارته 60 مْ وذلك لابقاء الشمع منصهراً ولضمان تمام عملية التشريب الكامل للنماذج بالشمع نقلت الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين داخل الفرن ايضاً لمدة ساعة واحدة ثم نقلت مرة اخرى الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين لمدة ساعة واحدة ايضاً .
3. الطمر Embedding :
تم عمل قوالب من الشمع حاوية على نماذج العينات وذلك بصب الشمع في قوالب بلاستيكية خاصة طمرت فيها النماذج وتركت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ثم فصلت عن القالب وحفظت حتى وقت تقطيعها .
4. التقطيع Sectioning :
تم استعمال جهاز المشراح اليدوي Rotary Microtome لتقطيع النماذج وبسمك تراوح ما بين 5-6 مايكروميتر، ثم حملت اشرطة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة بعد ان وضعت في حمام مائي درجة حرارته 45-50 درجة مئوية لمدة(2-1) دقيقة لضمان فرش المقاطع بعدها تركت على صفيحة ساخنة Hot Plate لتجف بدرجة حرارة 37 درجة مئوية .
5. التصبيغ والتحميل Staining and Mounting :
صبغت جميع المقاطع النسجية باستعمال صبغة هيماتوكسلين- ايوسين Haematoxylin-Eosin stain اذ وضعت الشرائح في الزايلين لمدة 5 دقائق للتخلص من الشمع ثم مررت بسلسلة تراكيز تنازلية من الكحول الاثيلي (100%، 100%، 90%، 80%، 70%، 50%) لمدة دقيقتين في كل تركيز بعدها صبغت بصبغة الهيماتوكسلين لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت بماء الحنفية لمدة دقيقتين بعدها غطست بالكحول الحامضي لمرتين أو ثلاث مرات لإزالة الصبغة الزائدة ثم صبغت بصبغة الايوسين لمدة ربع دقيقة وبعدها غسلت بماء الحنفية ونقلت بعدها إلى سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (50%، 70%، 80%، 90%، 95%، 100%، 100%) ولمدة دقيقتين في كل تركيز ما عدا التركيز الأخير وضعت فيه لمدة 5 دقائق ثم روقت بالزايلين بمرحلتين في كل مرحلة لمدة 10 دقائق بعدها أجريت عليها عملية التحميل باستعمال بلسم كندا Canada Balsam لتثبيت غطاء الشريحة ثم تركت على صفيحة ساخنة لتجف لمدة 8 ساعات لتكون جاهزة للفحص .
التصوير المجهري Microphotography :
تم تصوير المقاطع النسجية باستعمال مجهرضوئي نوع MEIJI light microscope مزود بكاميرا مجهر Digital Camera نوع Canon عالية الدقة .
النتائج والمناقشة
تأثير داء السكري على نسج كبد :
يلاحظ من الصورة (1) مقطع نسجي مستعرض لكبد ذكور الارانب يعود لمجموعة السيطرة السالبة يلاحظ فيه انه مكون من عدة فصيصات كل فصيص يحتوي على وريد مركزي Central vein محاطا بخلايا مكعبة الشكل هي الخلايا الكبدية Hepatocytes ومرتبة بشكل أشرطة وما بين هذه الأشرطة توجد فسح دموية تسمى بالجيبانيات Sinusoids .
تبين الصورة (2) مقطع نسجي مستعرض لكبد ذكور الارانب المستحدث بها داء السكري حصول التغيرات في مقطع نسج الكبد، حيث لوحظ في مناطق متعددة من الفصيصات الكبدية احتقان دموي في الأوردة المركزية والجيبانيات الوريدية Venous sinusoids وعدم انتظام الجيبانيات فضلاً عن تلف موضعي Focal destruction تمثل في تنخر Necrosis بعض الخلايا الكبدية وتغلظ أنويتها Pykonosis وإنحلال أغشيتها مع وجود خلايا التهابية احادية النواة وركود مادة الصفراء وتنكس دهني في خلايا الكبد مع تفجي السايتوبلازم مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة الصورة (1).
إذ لوحظ حصول تحسن في المقاطع النسجية للكبد بعد العلاج بالمستخلص المائي لبذور الكزبرة وبجرع 50 ،100 ،150 ملغم/كغم وهو موضح في الصور (3) و (4) و(5) .
توضح الصورة (3) مقطع نسجي مستعرض لكبد ذكور الارانب المستحدث بها داء السكري حصول التغيرات في مقطع نسج الكبد ، حيث يلاحظ في مناطق متعددة بعد العلاج ب 50 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة ولمدة شهر يظهر تنخر في بعض الخلايا الكبدية وارتشاح التهابي متوسط في بعض الخلايا الالتهابية احادية النواة مع ركود بمادة الصفراء والاوعية الدموية وعدم انتظام الجيبانيات مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة الصورة (2) .
اما الصورة (4) توضح مقطع نسجي مستعرض لكبد ذكور الارانب المستحدث بها داء السكري حصول التغيرات في مقطع نسج الكبد، حيث لوحظ في مناطق متعددة بعد العلاج ب 100ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة ولمدة شهر يظهر تنخر قليل في بعض الخلايا الكبدية و ارتشاح قليل في الخلايا الالتهابية احادية النواة مع ركود بمادة الصفراء والاوعية الدموية وتوسع بسيط في الجيبانيات مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة الصورة (2) .
تبين الصورة (5) مقطع نسجي مستعرض لكبد ذكور الارانب المستحدث بها داء السكري حصول التغيرات في مقطع نسج الكبد، حيث لوحظ في مناطق متعددة بعد العلاج ب 150 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة ولمدة شهر يظهرارتشاح شبه منعدم للخلايا الالتهابية احادية النواة مع ركود بسيط جدا بمادة الصفراء والاوعية الدموية وشكل الوريد المركزي والجيبانيات شكلها قريب للشكل الطبيعي وعدم وجود تغيرات نسجية ملحوضة مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة الصورة (2) .



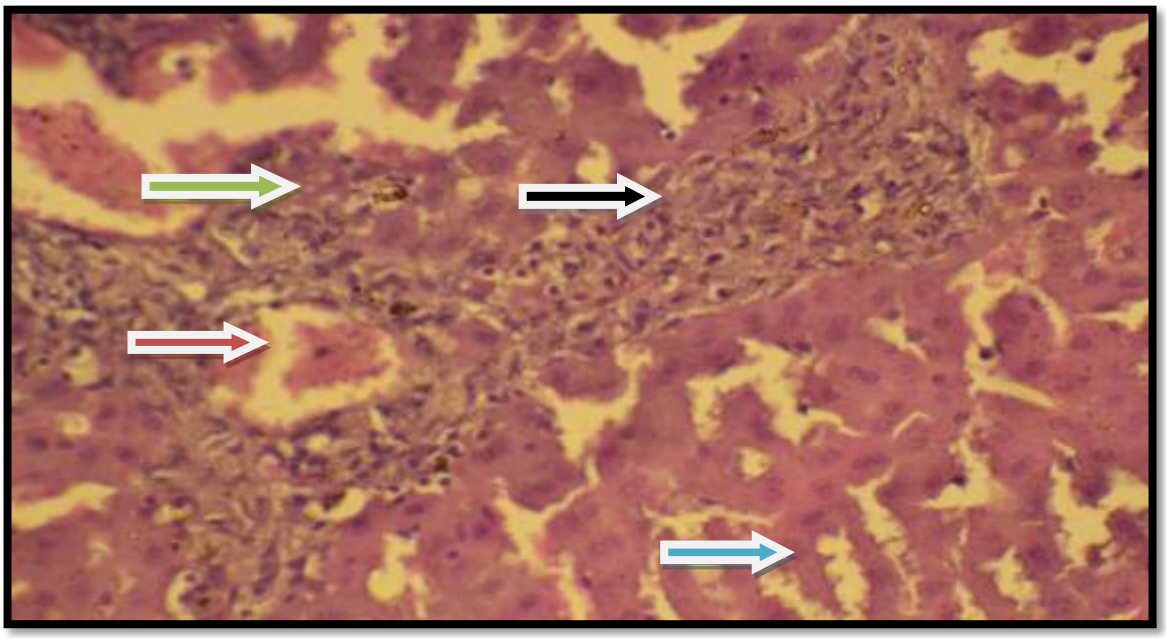
صورة (1): مقطع في نسيج الكبد لأرنب يعود لمجموعة السيطرة السالبة يظهر فيه يظهر وريد مركزي ← جيبانيات ← خلية كبدية ← (قوة التكبير 400X ، ملون H&E) .



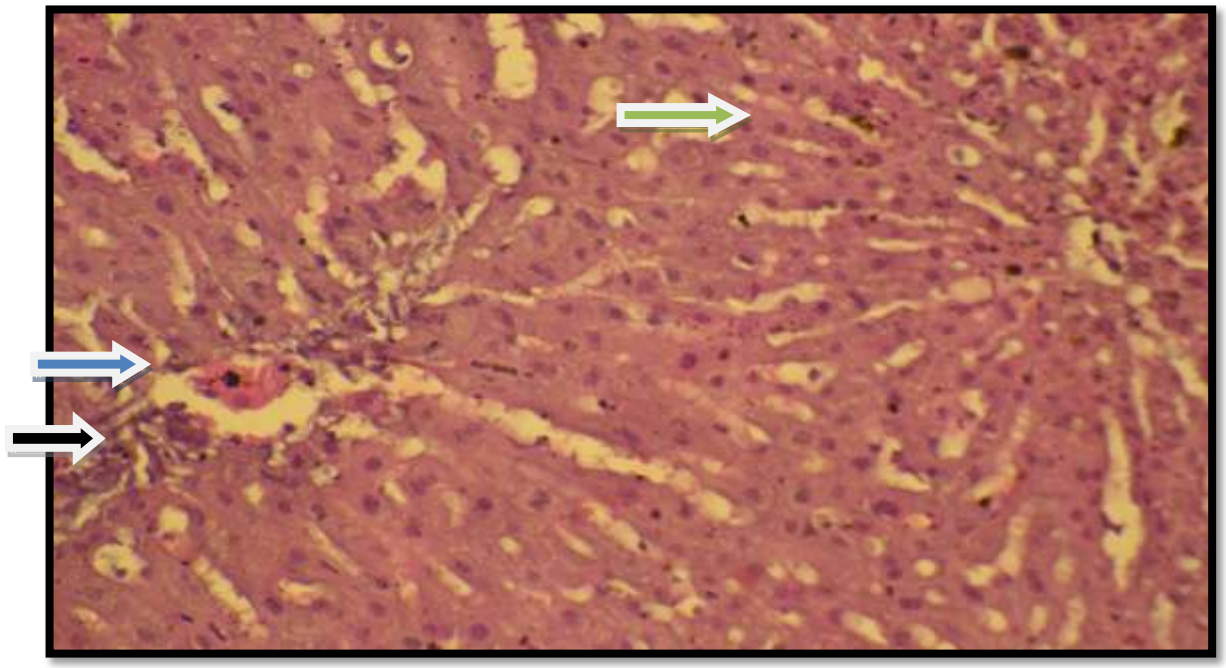
صورة (2): مقطع في نسيج الكبد لأرنب مصاب بداء السكري بواسطة الألوكسان قبل العلاج بالمستخلص يظهر تفجي السايتوبلازم ← س الخلايا ← س دهني في خلايا الكبد ← انتظام الجيبانيات ← ـط الانوية ← قوة التكبير400X ، ملون H&E) .



صورة (3): مقطع في نسيج الكبد لارنب مصاب بداء السكري بواسطة الالوكسان بعد العلاج ب 50 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة لمدة شهر تظهرخلايا في النسيج تنخر في بعض الخلايا الكبدية ← ارتشاح كبير في بعض الخلايا الالتهابية عديدة النواة ← ترسب بمادة الصفراء ← انتظام الجيبانيات ← قوة التكبير400X ، ملون H&E) .



صورة (4): مقطع في نسيج الكبد لارنب مصاب بداء السكري بواسطة الالوكسان بعد العلاج ب 100 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة لمدة شهر تظهر خلايا النسيج ارتشاح كبير في بعض الخلايا الالتهابية عديدة النواة ← ركود بمادة الصفراء ← احتقان الاوعية الدموية ← توسع بسيط في الجيبانيات ←
(قوة التكبير400X ، ملون H&E) .



صورة (5): مقطع في نسيج الكبد لارنب مصاب بداء السكري بواسطة الالوكسان بعد العلاج ب 150 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة لمدة شهر تظهرخلايا النسيج ارتشاح شبه منعدم للخلايا الالتهابية عديدة النواة ركود بسيط بمادة الصفراء تقان بسيط بالاوعية الدموية بانيات شكلها اقرب للطبيعي وعدم وجود تغيرات نسيجية ملحوضة (قوة التكبير400X ، ملون H&E) .

بينت نتائج الدراسة إن استحداث داء السكري في ذكور الارانب أدى إلى حصول تغيرات في كبد ذكور الارانب المستحدث بها داء السكري مقارنة مع مجـموعة السيـطرة السالبة وهي متـفقة مع دراسة كل من (36) و (37) التي اجريت على الارانب وقد بينت ان ار تفاع مستوى الكلوكوز بالدم نتيجة الحقن بالالوكسان يؤدي الى حصول توسع بسيط في الجيبانيات ربما يعود سببه الى ضعف التدفق الوريدي على مستوى الوريد الكبدي Hepatic vein او الوريد الاجوف الاسفل Inferior Vena cava ، كما وقد يعود سبب التوسع في الجيبانيات الى ارتفاع ضغط الوريد البوابي الكبدي Hepatic portal vein (38) . وكذلك لوحظ تنخر للخلايا الكبدية وهذا يتفق مع ماتوصلت اليه الباحثة (39) من ان الجرذان المصابة بالسكري تعاني من حدوث تنخر في الخلايا الكبدية بسبب ضعف التجهيز الدموي للكبد نتيجة لانسداد شرياني Arterial thrombosis occlusion وحصول تخثر في الشريان الكبدي Hepatic artery والذي يؤدي نقص في الاوكسجين Hypoxia وهذا النقص يسبب تحرر انزيمات الجسيمات الحالة Lysosomal enzymes ومواد افرازية اخرى Secretary Product الى الدم وهذا يفسر حدوث تنخر وتلف للخلايا الكبدية (40) . فضلاً عن ظهور عدة مناطق التهابية Inflammation ومناطق تفجي السايتوبلازم وسببه حدوث تلف Damage لخلايا الكبد يحدث نتيجة لاسباب مناعية Immunologic او نتيجة للتأثير السمي للالوكسان الاجهاد التأكسدي الناتج من تجمع الجذور الحرة تسبب تحطم الخلايا الكبدية فضلاً عن اكسدة الدهون Lipid peroxidation لغشاء الخلية او اغشية المايتوكوندريا مسبباً ظهور الاستجابة الالتهابية والمناعية (41) .

وكذلك ظهور تفجي سايتوبلازمي دهني داخل الخلايا الكبدية هذا التجمع للمواد الدهنية وتجمع الكوليسترول يعكس فعالية انزيم Lipase نتيجة لانخفاض هرمون الانسولين لذا نلاحظ صفاء ونقاء السايتوبلازم ووضوح غشاء الخلية (42) .

من المعروف ان داء السكري من النوع الثاني يسبب تنكس دهني في خلايا الكبد عند كل من الانسان والدراسات التجريبية على حد سواء من خلال وجود الدهن في حشوة (سدى) الكبد (44,43) . كما تم ملاحظة احتقان دموي في بعض المناطق سببه يعود الى ضعف التصريف الدموي نتيجة لانسداد وريدي كبدي ، مسبباً توقف او تعطيل للانسياب الدموي خلال الخلايا البرنكيمية الكبدية وهذا مالاحظه (39) و (45) من حدوث احتقان دموي عند الاصابة بالسكري . ان اعطاء مستخلصات بذور نبات الكزبرة الى الفئران المعاملة بالتسمم بمادة نترات الرصاص فان المجاميع المعالجة ظهرت التغيرات المرضية فيها بمدى معتدل وهذا يكون بسبب وجود الفلافونيدات وحامض الاسكوربيك وهي من مضادات الاكسدة ومن خواص مضاد الاكسدة يكون واحد من اليات عمل عقار حماية او وقائية الكبد و الفلافونيدات وحامض الاسكوربيك تعمل مضادات اكسدة التي بواسطتها تكسح الجذور الحرة و الفلافونيدات تكون حماية للكبد (46) وبالتالي يمكن ان تعزى حماية الكبد الى فعالية وجود الفلافونيدات وحامض الاسكوربيك في نبات الكزبرة .

تأثير داء السكري على نسج الكلية :

يلاحظ من الصورة (6) مقطع نسجي مستعرض لكلية ذكور الارانب في مجموعة السيطرة السالبة يلاحظ فيها وجود اعداد من النفرونات الاعتيادية التي تحتوي على كرية مالبيجي والتي تتكون من محفظة بومان والكبيبة ولوحظ في المقطع العرضي للكلية النبيبات البولية الملتوية القريبة والبعيدة مبطنة بخلايا ظهارية مكعبة .

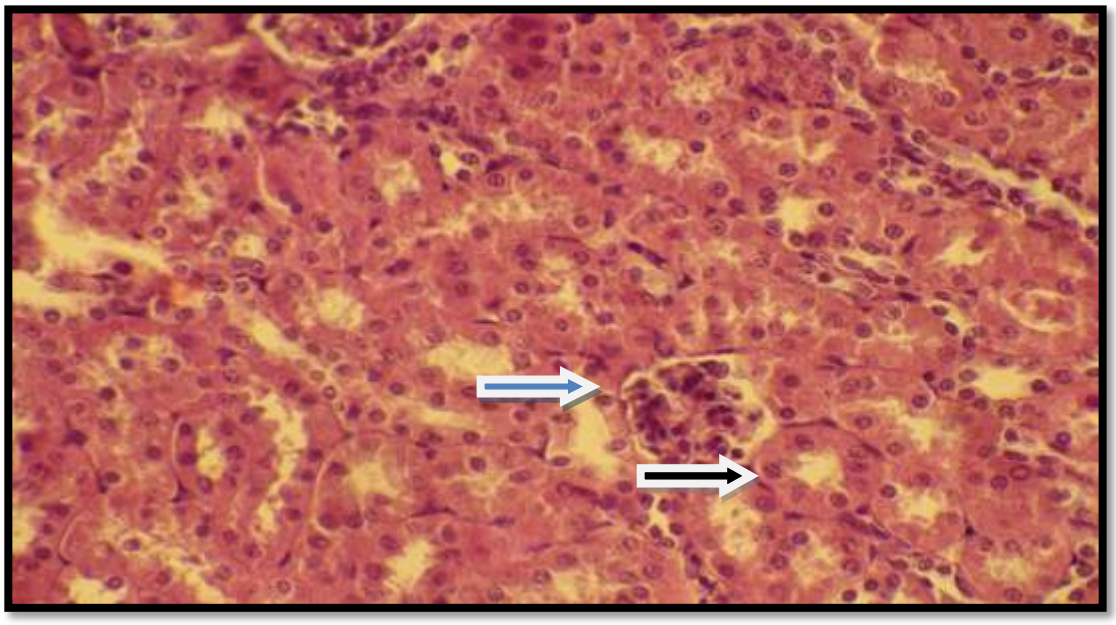
توضح الصورة (7) مقطع نسجي مستعرض لكلية ذكور الارانب المستحدث بها داء السكري وجود بعض التغيرات النسجية المرضية كما في معظم التغيرات التنكسية في الانابيب الكلوية واحتقان بالاوعية الدموية وتكاثر خلوي واحتقان داخل الكبيبة وتفجي في منطقة النبيبات وارتشاح الخلايا الالتهابية عديدة النواة ولوحظ ايضا وجود تجمع المواد البروتينية المترسبة في الانابيب الكلوية . إذ لوحظ تنخر في خلايا جدران النبيبات الكلوية مما أدى إلى تدميرها بشكل كامل في بعض المواقع تاركاً بقايا خلوية Cell debris ، أما الكبيبات فقد أدى نضح السوائل Exudation فيها إلى توسع الفراغات بين الكبيبات ومحافظها المحيطة مع ظهور نزف دموي وضمور في الحجم والتهاب خلايا الكبيبات مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة الموضحة في الصورة (6) .

إذ لوحظ وجود تحسن في مقاطع نسج الكلية بعد العلاج بالمستخلص المائي لبذور الكزبرة وبجرع 50 ،100 ،150 ملغم/كغم ووضحت بالصور (8) و (9) و (10) .

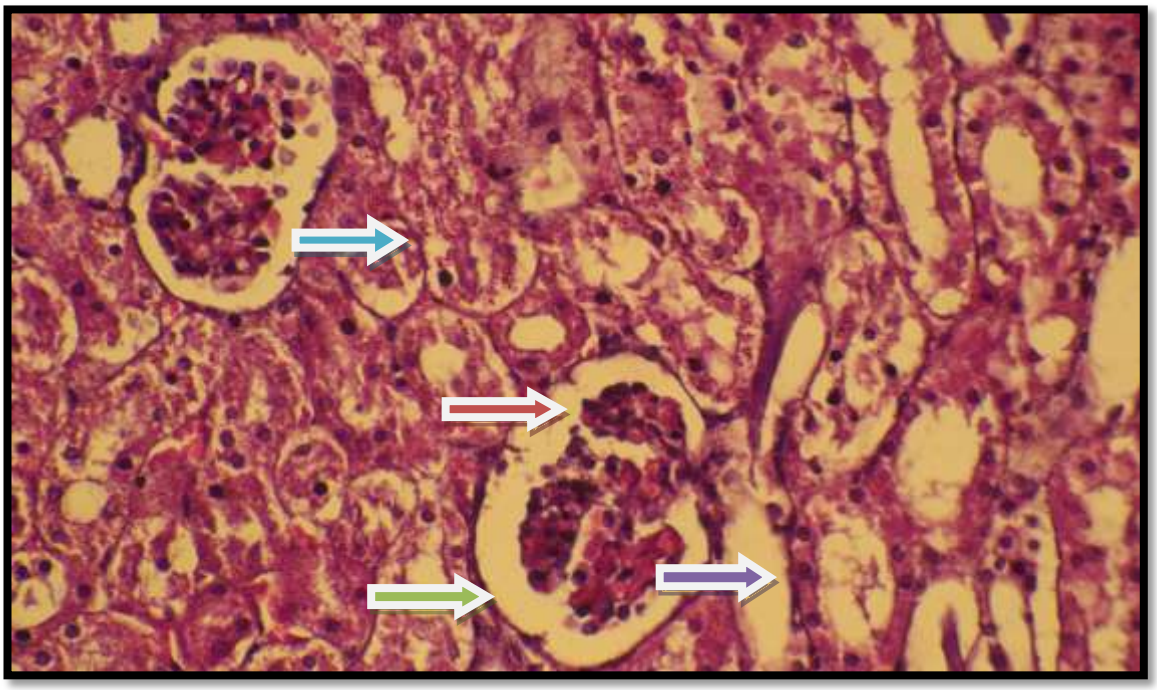
توضح الصورة (8) مقطع نسجي مستعرض لكلية ذكور الارانب المستحدث بها داء السكري التغيرات في مقطع نسج الكلية ، إذ لوحظ في مناطق متعددة بعد العلاج ب 50 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة ولمدة شهر يظهر تنخر في بعض خلايا الكلية في منطقة النبيبات وتجمع المواد البروتينية داخل النبيبات وارتشاح متوسط في بعض الخلايا الالتهابية عديدة النواة داخل الكبيبة مع احتقان بالاوعية الدموية في منطقة النبيبات وداخل الكبيبة وزيادة خلوية بالكبيبة مع بقاء الضمور بالقطر والتهاب بخلايا الكبيبة واضمحلال في السايتوبلازم وتوسع محفظة بومان بشكل ملحوظ مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة الصورة (7) .

توضح الصورة (9) مقطع نسجي مستعرض لكلية ذكور الارانب المستحدث بها داء السكري التغيرات في مقطع نسج الكلية ، حيث لوحظ في مناطق متعددة بعد العلاج ب 100 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة ولمدة شهر يظهر قطر الكبيبة قريب للطبيعي ولاتوجد زيادة ملحوظة للخلايا المكونة للكبيبة وقلة المواد البروتينية المترسبة في النبيبات مع ارتشاح قليل للخلايا الالتهابية ولاتوجد تغيرات ملحوضة في توسع محفظة بومان مع احتقان بالاوعية الدموية مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة الصورة (7) .

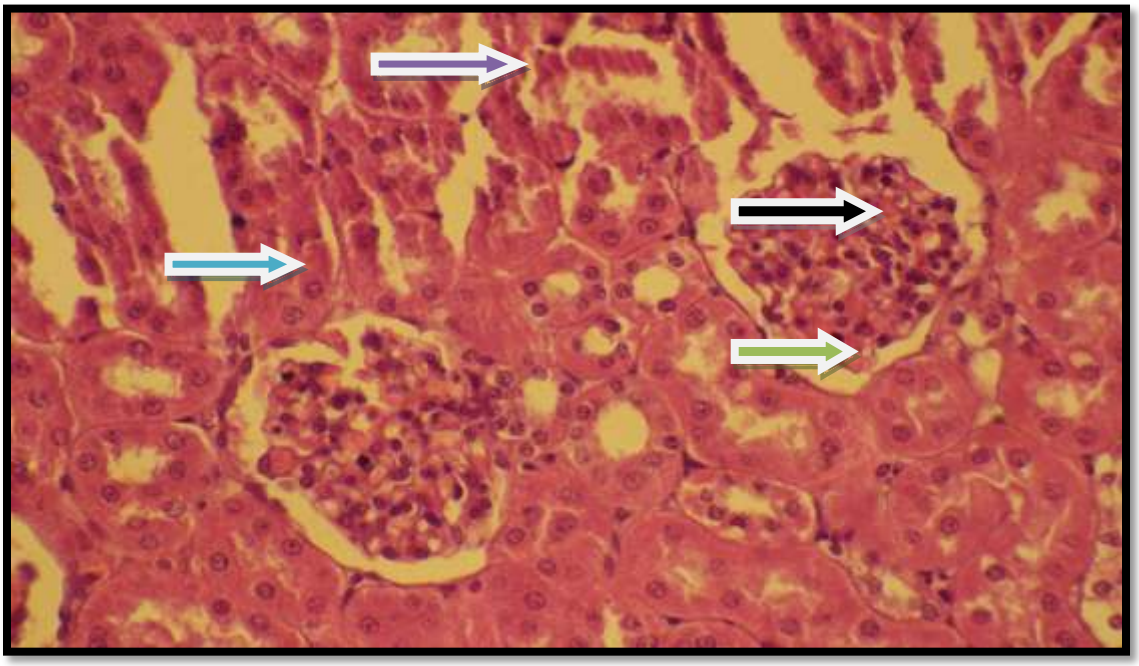
توضح الصورة (10) مقطع نسجي مستعرض لكلية ذكور الارانب المستحدث بها داء السكري التغيرات في مقطع نسج الكلية ، حيث لوحظ في مناطق متعددة بعد العلاج ب 150 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة ولمدة شهر يظهر قطر وشكل الكبيبة قريب للطبيعي وعدم وجود التهاب في خلاياها وعدم وجود المواد البروتينية المترسبة في النبيبات مع احتقان دموي بسيط والخلايا الالتهابية احادية النواة قليلة متناثرة على النبيبات القريبة مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة الصورة (7) .



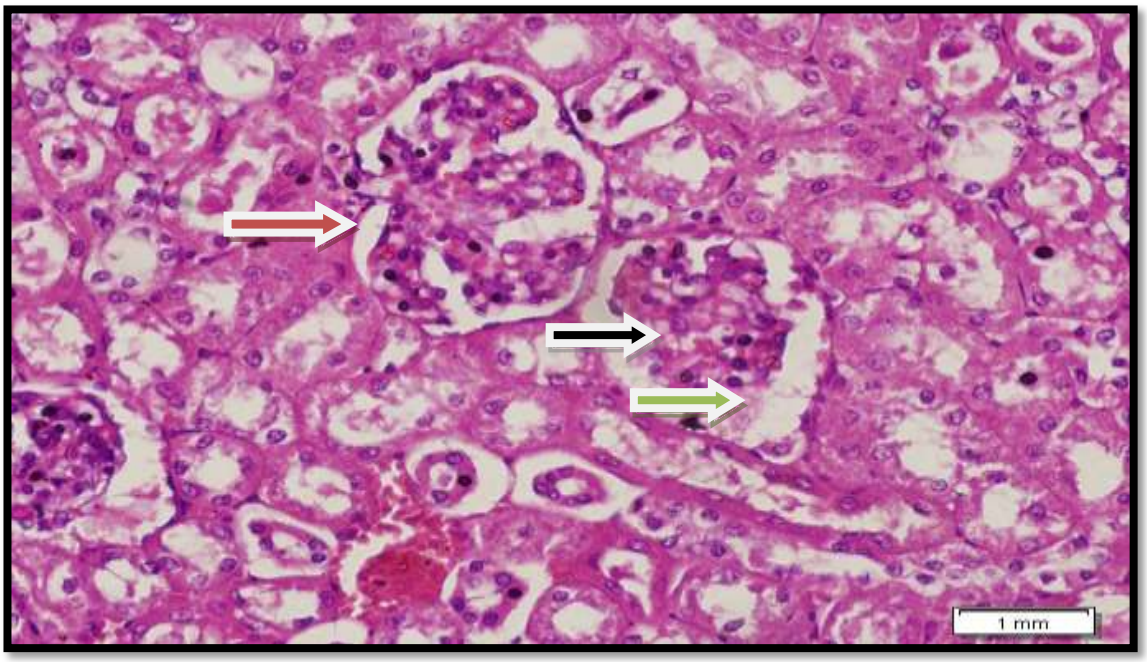
صورة (6): مقطع في نسيج الكلية لأرنب يعودلمجموعة السيطرة السالبة تظهر فيها الكبيبات الدموية طبيعية ⟹ نبيبات بولية طبيعية مبطنة بخلايا ظهارية مكعبة ⟹ (قوة التكبير400X ، ملون H&E) .



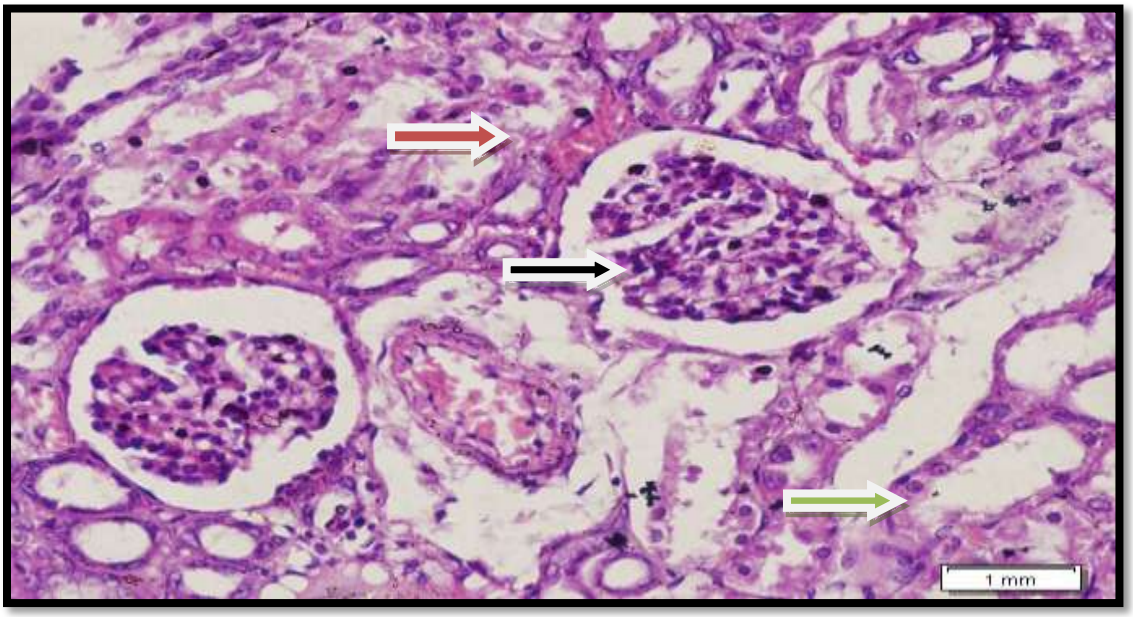
صورة (7):مقطع في نسيج الكلية لارنب مصاب بداء السكري قبل العلاج بالمستخلص يشير الى وجود التهاب بالكبيبة واحتقان بالاوعية الدموية مناطق منخرة توسع الفراغ المحيط بالكبيبة مع توسع في محفظة بومان تجمع المواد البروتينية في داخل النبيبات (قوة التكبير400X ، ملون H&E) .



صورة (8): مقطع في نسيج الكلية لارنب مصاب بداء السكري بواسطة الالوكسان بعد العلاج ب 50 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة لمدة شهر تظهر خلايا النسيج احتقان دموي في منطقة النبيبات والكبيبة زيادة في محفظة بومان اكثر من الطبيعي تجمع المواد البر في النبيبات مناطق منخرة (قوة التكبير00X ن H&E) .



صورة (9): مقطع في نسيج الكلية لارنب مصاب بداء السكري بواسطة الالوكسان بعد العلاج ب 100 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة لمدة شهر تظهر خلايا النسيج قطر الكبيبة قريب من الطبيعي ← تغيرات في توسع محفظة بومان و قلة المواد البروتينية في داخل النبيبات ← ن دموي في منطقة الكبيبة ← وة التكبير400X ، ملون (H&E



صورة (10): مقطع في نسيج الكلية لارنب مصاب بداء السكري بواسطة الالوكسان بعد العلاج ب 150 ملغم/كغم من مستخلص بذور الكزبرة لمدة شهر تظهرخلايا النسيج خلايا التهابية عديدة النواة قليلة متناثرة على النبيبات القريبة وعدم وجود المواد البرونينية فيها ← قان دموي بسيط ← ية ذات قطر اقرب للطبيعي وغير ملتهبة ← كبير400X ، ملون (H&E) .

بينت نتائج الدراسة إن استحداث داء السكري في ذكور الارانب أدى إلى حصول تغيرات في كلية ذكور الارانب المستحدث بها داء السكري مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة وهي متفقة مع دراسة (47) التي اجريت على الارانب وايضا تتفق مع دراسة (48) التي اجريت على الجرذان اذ بينت ان التغيرات التنكسية في الكلية للجرذان المصابة بداء السكري هذه التنكسات تكون ذات صلة بالتأثيرات المباشرة للالوكسان كما ذكرنا سابقا ان الالوكسان له تأثيرات تنخرية (50,49) . وايضا لوحظ تنخرات في الكلية للجرذان المصابة بداء السكري بأعتبارها واحدة من التشوهات التي يسببها داء السكري (51) . يلعب الاجهاد التأكسدي دورا رئيسا

في تسبب اعتلال الكلية السكري . (52) الزائد من البروتينات في تجويف الانابيب الناتجة اخيرا لها تأثير يحدث التهاب الكلية من خلال تسمم خلايا النبيب وارتشاح الخلايا الالتهابية (53) ، هذه التغيرات غير الملائمة تكون بسبب الطرح في الانابيب الكلوية واحتقان نسيج الكلية في الجرذان المصابة بداء السكري وجود الاحتقان والخلايا الالتهابية تكون بسبب الاجهاد التأكسدي . ان اعطاء مستخلصات بذور نبات الكزبرة الى الفئران المصابة بالتسمم بمادة نترات الرصاص قد ظهرت النبيبات البولية في كلية الفئران اقل من الطبيعي وهذا يثبت ان مستخلصات الكزبرة انتجت مؤثرات وقائية في النسيج الكلوي ضد سمية المادة (54) .

المصادر

(1)Baquer, N.Z.; Kumar, P.; Taha, A.; Kale, R.; Cowsik, S.M. and Mclean, P. (2011). Metabolic and molecular action of Trigonella foenum-graecum (fenugreek) and trace metals in experimental diabetic tissues. J. Biosci., *36*(2): 383–396.

(2)Sayyed, S.G.(2010). Role of pro-inflammatory and homeostatic chemokines in diabetic nephropathy. Dissertation Universität München.

(3)Poitout, V. and Robertson, R. P. (2008). Glucolipotoxicity: fuel excess and β- cell dysfunction. Endocrine Reviews.,*29*(3):351–366.

(4)Drucker, D.J. and Nauck, M.A. (2006).The incretin system: Glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes.Lancet.,*368*:1696–705.

(5)Kanter, M.; Uysal, H.; Karaca, T. and Sagmanligil, H. O. (2006). Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic b-cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats . Arch Toxicol., *80*: 362–369.

(6)Wild, S.; Roglic, G.; Green, A.; Richard, S. and King, H. (2004). Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care., *27*:1047–1053.

(7) الزهيري ، عبد الله محمد ذنون . (1992) . " تغذية إنسان " . دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل / العراق : 52- 60 .

(8) American Diabetes Association. (2011). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*., *34*(1): 62- 69.

(9) Moore, D.; Gregory, J.; Kumah-Crystal ,Y. and Simmons, J. H. (2009). Mitigating micro- and macro-vascular complications of Diabetes beginning in adolescence. *Vascular Health and Risk Management*.,5: 1015–1031.

(10)Sharma, V.K.; Kumar, S.; Patel, H.J. and Hugar, S. (2010). Hypoglycemic activity of *Ficus glomerata* in alloxan induced diabetic rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.,1*(2):18-22.

(11)Nawale, R.B.; Mourya, V.K. and Bhise, S.B. (2006). Non-enzymatic glycation of proteins:A cause for complication in Diabetes.Indian J.Biochem.Biophys.,*43*:337-344.

(12)المنظمة العربية للتنمية الزراعية . (1988) . النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي . جامعة الدول العربية . الخرطوم . ص 250 –. 251

(13)الدجوي ، علي . (1996) . موسوعة إنتاج النباتات الطبية والعطرية . الطبعة الأولى . مكتبة مدبولي جمهورية مصر العربية . ص 158 – 160.

(14) Kim, J. M.; Chung, J. Y.; lee, S.Y.; choi, E.W.; kim, M. K.; Hwang, C.Y. and Young, H.Y.(2006) Hypoglycemic effect of vanadium on alloxan monohydrate induced diabetic dogs. J.Vet. Sci.; *7*:391-395.

(15)Resmi, C. R.; Venukumar, M. R. and Latha, M. S.(2006). Antioxidant activity of *Albizzia lebbeck* (Linn.) benth in alloxan diabetic rats. *Indian J Physiol Pharmacol.,50* (3): 297–302.

(16)Santhakumari, P.; Prakasam, A. and Pugalendi, K.V. (2006).Antihyperglycemic activity of Piper betle leaf on streptozotocin-induced diabetic rats. J. Med. Food., *9*: 108-112.

(17)Zaoui, A.; Cherrah, Y.; Mahassine, N.; Alaoui, K.; Amarouch, H. and Hassar, M. (2001). Effets de *Nigella sativa* surl'homeostasie sanguine chez le rat *Ières Journées de la Société Marocaine d'Athérosclérose Fès*., 1–3.

(18)Gad, M.Z.; El-Sawalhi, M.M.; Ismail, M.F.; and El-Tanbouly, N.D. (2006). Biochemical study of the anti-diabetic action of the Egyptian plants fenugreek and balanites. *Molecular and Cellular Biochemistry*., *281*: 173–183.

(19)Dekanski, D.; Janicijevic-Hudomal, S.;Tadic,V.; Markovic, G.; Arsic, I. and Mitrovic, D.M. (2009). Phytochemical analysis and gastroprotective activity of an olive leaf extract. *J. Serb. Chem. Soc.*, *74* (4): 367–377.

(20)Pari, L.; Murugan, P. and Roa, C.A. (2007). Influence of Cassia auriculata flowers on insulin receptors in streptozotocin induced diabetic rats: studies oninsulin binding to erythrocytes. Afr. J. Biochem. Res., *1* (7):148-155.

(21)PDR. (1998). (physician Desk References). For Herbal Medicines. 1st ed. Medical Economics Company.

(22)Al-Rawi, A. & Chakravarty, H. L. (1988).Medicinal Plants of Iraq.

(23)Burdock GA And Carabin IG(2008).Saftey assessment of coriander (Corandrum sativum)essential oil as a food ingredient .Food.Chem. Toxicol. *47*(1):22-34.

(24)Peter, W. Y. & David, K. D. (2006). Studies on the dual antioxidant and antibacterialproperties of (Coriandrum Sativum) extract. J. Food. Chem., *97*(3):505-515.

25.Pandey A, Bigoniya P, Raj V, and Patel KK(2011) Pharmacological screening of Coriandrum sativum Linn. for hepatoprotective activity. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences; *3*(3):435-41.

(26) Jabeen, Q.; Bashir, S.; Lyoussi, B. & Gilani, A. H.(2009). Coriander Fruit exhibits gut modulatory, blood pressure lowering and diuretic activities. J. Ethnopharmacol. *25*(1):123-130.

(27) شوفاليه، أندرو.(2003) .الطب البديل والتداوي بالاعشاب والنباتات الطبية .ترجمة عمر الأيوبي أكاديما . انترناشيونال -بيروت، لبنان .ص13

(28)Eid, M.; Saeid, A.; Molanaei, S.; Sadeghipous, A.; Baher, M. & Bahar, K. (2009).
Effect of coriander seed (Coriandrum Sativum) ethanol extract on insulin release from Pancreatic beta cells in streptozotocin induced diabetic rats. Phytother. Res. Mar., *23*(3): 404-406.

(29)Sushuta, K.; Satyanarayana, S.; Sriniras, B. & Raja, J. (2006). Evaluation of the blood Glucose reducing effect of Aqueous Extracts of the selected Umbelliferous Fruits used in culinary practices. Tropical J. of Pharmaceutical Res., *5*(2):613-617.

(30)Gray A.M. and Flatt P.R. (1999). Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional anti-diabetic plant Coriandrum sativum (coriander). Br. J. Nutr. *81*: 203-209.

(31)Saikat,D.; Sekahar, B.; Ranabir, S. and Subhash,M. (2008) Antidiabetic effect of matured fruits of *Diospyros peregrine* in alloxan induced diabetic rats. International journal of green pharmacy .*2*(2):95-99.

(32)deCarvalho, E. N., deCarvalho, N. A. S. and Ferreiva. L. M. (2003). Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats. Acta. Cir. Bras ., 18.

(33)Alarcon-Aguilara, F. J. ; Romas, R. ; Perez-Gutierrez, S. ; Aguilar-Contreras, A. ; Contreras-Weber, C.C. and Flores-Saenz, J.L. (2002). Study of antihyperglycemic effect of plant used of antidiabetic. J. Ethnopharmacol. , *61* (2) : 101 – 110.

(34)Chakravarty H.L. (1976). Plant Wealth of Iraq. A Dictionary of Economic Plants., *1*, Baghdad. : 160-162.

(35) Presnell, J.K. and Schreibman, M.P. (1997) . Humason's animal tissue techniques, 5thedn., John Hopkins Univ. Press, Balfimore, *546*.

(36) الزوري ، سارة غازي عبد الكريم . (2009) . تأثير المستخلص الكحولي لنبات القطب على بعض المعايير الفسلجية والنسجية في اناث الارانب المصابة بداء السكري . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .

(37) Shafiq , Z . A . (2012) . The Effect of Resveratrol Extracted from Vitis vinifera & Their Derivatives on Some Physiological & Histopathological Traits of Experimentally-infected Female Rabbits with Diabetes Mellitus Type 2 . Ph.D. thesis . Genetic Engineering and Biotechnology Institute. Baghdad University .

(38) Kakar, S.; Kamath,P.S. and Burgart, L.J.(2007) . Sinusoidal dilation and Congest ion in liver biopsy: Is it always due to venous outflow impairment? Archived of Pathology and Laboratory medicine. *128*: 901- 904 .

(39) 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 .

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

(41)Majumdar, A.S.;Saraf ,M.N.;Andraves,N.R.and Kamble,R.Y. (2008) . Preliminary studies on the antioxidant activity of *Tribulus terrestris*. and *Eclipta alba* .Phcog . Mag. *4* (13): 102-107.

(42) محي الدين، خير الدين، ويوسف وليد حميد ، وتوحله سعد حسين . (1990) . فسلجة الغدد الصم والتكاثر في الثدييات في الطيور. دار الحكمة للطباعة والنشر، الموصل .

(43) Prashant, B. and Bhanudas, K. B. (2011) . Assessment of hypoglycemic andPreliminary studies on the antioxidant activity of *Tribulus terrestris*. and *Eclipta alba* .Phcog . Mag.*4* (13): 102-107.

(44) Franciscus, A. (2011) . Disease progression: steatosis, a series of fact sheets written by experts in the field of liver disease. *Hepatitis C Support Project.*,3:1-2 .

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

(46) Wenger, T. & Fintelmann, V. (1999) . Flavonoids and bioactivity. Wien. Med. Wochenschr;*149*:241-247.

(47) محسن ، بان موحان . (2006) . تأثير المستخلص المائي الخام لقرون الفاصوليا الخضراء *Phaseolus vulgaris* L. في السيطرة على مرض السكري المحدث بالالوكسان في الارانب . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة المستنصرية .

(48) AL-Joubori , M . A . H . (2012) . Histological and Cytological Effects of Some Plants Extracts on Hyperglycemic Male Rats . Ph.D. thesis . College of Science University of Babylon .

(49) Zhang, Y.; Lee, A.S.; Shameli, A.; Geng, X.; Finegood, D.; Santamaria, P. and Dutz, J.P. (2010) . TLR9 blockade inhibits activation of diabetogenic CD8+T cells and delays autoimmune diabetes. *J Immunol.,184*: 5645-5653 .

(50) Ravi, K.; Rajasekaran, S. and Subramanian, S. (2005) . Antihyperlipidemic
effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Food Chem Toxicol* ., *43*:1433-1439.

(51)Teoh, S. L.; Abd- Latiff, A. and Das, S. (2010) . Histological changes in the
kidneys of experimental diabetic rats fed with *Momordica charantia* (bittergourd) extract. *Romanian Journal of Morphology and Embryology.,51*(1):91–95 .

52. Abo-Salem, O. ; EL-Edel, R. H. ; Harisa, G. E. ; AL-Halawany, N. andGhonaim, M. M. (2009) . Experimental diabetic nephropathy can be prevented by propolis: effect on metabolic disturbances and renal oxidative parameters. *Pak. J. Pharm. Sci*., *22*(2):205-210.

(53) Negri, M. and Ospedaliera, A. (2011) . The remission clinic approach to halt the
progression of kidney disease. *J Nephrol* .,*24*(03): 274-281.

(54) Kansal, L.; Sharma, V.; Sharma, A.; Lodi, S. & Sharmam S. H. (2011) . Protective role of *Coriandrum Sativum* (Coriander) extracts against lead nitrate induced oxidative stress and tissue damage in the liver and kidney in male mice. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology., *2*(3):65-83 .