التأثيرات المحسنة للحلبة والنعناع ضد التغيرات الفسيولوجية والنسيجية الكلوية التي يسببها فلوريد الصوديوم في ذكور الأرانب

محمد عمر الباشا*[1]، عزب السيد عزب[2]، حنان خليفة شلغوم[3]**
[1] قسم علم الحيوان- كلية العلوم بالعجيلات/ جامعة الزاوية- ليبيا
[2] قسم وظائف الأعضاء- كلية الطب البشري/ جامعة صبراتة- ليبيا
[3] قسم علم الحيوان- كلية العلوم بالزاوية/ جامعة الزاوية- ليبيا
azabelsaied@yahoo.com ** , m.albasha@zu.edu.ly *

الملخص:
هدفت هذه الدراسة الى معرفة تأثير فلوريد الصوديوم على التركيب النسيجي ووظائف الكلى في ذكور الأرانب البالغة، وتقييم التأثيرت الوقائية المحتملة للحلبة والنعناع ضد التغيرات النسيجية والوظيفية التي يسببها فلوريد الصوديوم. واشتملت هذه الدراسة على عدد أربعة وعشرون من ذكور الأرانب المحلية البالغة، حيث قسمت الى 4 مجموعات (م) ،6 ذكور لكل مجموعة ، وبعد ثلاثون يومـــا أخذت عينات الدم وعينات من الكلى للفحص النسيجي. وأجريت التحاليل لمعرفة تركيز اليوريا والكرياتينين ، وحمض البوليك ، وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دم جميع المجموعات. أظهرت نتائج الدراسة أن معاملة ذكور الأرانب بفلوريد الصوديوم أدى إلى حدوث زيادة معنوية ($P<0.01$) في تركيز اليوريا وحمض البوليك، والكرياتينين، وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل الدم عند الأرانب المعاملة بفلوريد الصوديوم فقط مقارنة بالمجموعة الضابطة، ولوحظ انخفاض معنوي ($P<0.01$) في تركيز اليوريا وحمض البوليك، والكرياتينين، وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل الدم عند المجموعات المعاملة بالنعناع والحلبة مقارنة بمجموعة فلوريد الصوديوم، ولكن هذه القياسات لم تصل إلى المستويات الطبيعة عند المجموعة الضابطة. وقد لوحظ وجود تغيرات نسيجية واضحة في أنسجة الكلى عند المعاملة بفلوريد الصوديوم فقط مقارنة مع المجموعة الضابطة، وقد أدى تناول عصير النعناع أو مسحوق الحلبة مع الحقن بفلوريد الصوديوم إلى حدوث تحسن واضح في التركيب النسيجي للكلى مقارنة بمجموعة الفلوريد فقط. ونلاحظ من النتائج التي توصلت إليها هذه الدراسة أن حقن الأرانب بفلوريد الصوديوم فقط أدي إلى حدوث تغيرات خطيرة في وظائف وأنسجة الكلى، وأدى الحقن بفلوريد الصوديوم مع تناول عصير النعناع أو مسحوق الحلبة إلى حدوث تحسن معنوي ملحوظ في وظائف الكلى، واستعادت أنسجة الكلى شكلها الطبيعي وانتظامها، حيث أصبحت أقرب للمجموعة الضابطة.

الكلمات المفتاحية: فلوريد الصوديوم، التغيرات النسيجية والوظيفية الكلوية ، الحلبة، النعناع، ذكور الأرانب

المقدمة Introduction

تلعب الكلـــى دورا مهمـــا في استخـــراج المواد السّامـــة، وطردهـــا خـــارج الجســـم [1]. وتركـــز الكليتان الفلوريد بمقدار 50 ضعفا من البلازما مما يجعل خلايا الكلى أكثر تأثراً به [2]، حيث يؤدي التعرض لتركيزات عالية منه للإصابة بالفشل الكلوي[3].

يعتبـــر فلوريد الصوديوم مـادة ســـامة ملوّثـة غيـر قـــابلة للتّحـلل، وهو موجود في كل مكان في الأرض وعلى الرغم من كونه مفيدا صحيّاً بكميات قليلة، فالاستهلاك المستمر لكميات كبيرة من أملاحه يتسبب في مشاكل صحيـة خطـيرة. تبين الدراسات التي أجريت أن استخدام الفلوريد أدى الى ظهور تغيرات وظيفية ونسيجية في الكبد والكلى، حيث وجد ان انخفاض في مستوى البروتين الكلي في مصل دم الحيوانات المعالجة بالفلوريد وقد يرجع ذلك للتغيرات في تخليق البروتين أو التمثيل الغذائي، أو تثبيط نشاط إنزيم (ATPase) [4]، وكذلك أدت المعـــالجة بفلوريد الصوديـــوم الى زيـــادة الإجهـــاد التـــأكسدي ومـــوت الخلايـــا [5].

تحتـــوي المستحضـــرات التى تستخـــدم فـــي مراكـــز طب الأسنـــان علـــى نسب متفـــاوتة مـــن الفلوريد حيث تتـــراوح النسب المنخفضة مـــن الفلوريد بين(0.25-1 ملجم لكل قرص) والتركيزات العـــاليـــة 1000-1500 ملجم/ كجم في معجون الأسنـــان، وغسول الفم يحتـــوي علـــى 10000 ملجم/لتـــــر، والمـــواد الهلاميـــة تحتـــــوي علـــى 4000-6000 ملجـــم / كجم [6،7]. بالإضـــــافة لتعرض السكـــان لمستويـــات مرتفعـــة من الفلوريـــد فـــي المـــواد الغذائيـــة والتـــي قـــد تؤثر سلبـــا على وظـــائف الكبـــد [8،9]. تتـــراوح الجرعـــة النصف المميتـــة مـــن فلوريـــد الصوديوم للشخص البالـــغ (5-10 جم) أي (32-64 ملجم/كغ من وزن الجسم)، وعلى الرغم من كونه مفيدا لصحة الأسنان بكميات قليلة، فالتعرض له بشكل متكرر وبكميات كبيرة يؤدي إلى خلل في تكوين العظام [10]. ويختلف الفلوريد المأخوذ يوميا وفقا لمصادر التّعرض المختلفة، وقد أظهرت العديد من الّدراسات أن نسب الفلوريد التى قد يتعرض لها السكان يوميا تتراوح بين 0.46 إلى 3.6 ملجم، ولكن

الفلوريد الذي يؤخذ في المناطق التي يوجد فيها استخدام الفحم، يمكن أن يكون أعلى بكثير، وتوفر التركيزات المنخفضة من الفلوريد (0.25-1 ملجم) حماية ضد تسوس الأسنان، وخاصة عند الأطفال، وقد أدى تناول الفئران لمياه شرب تحتوي على 16 ملجم/لتر من فلوريد الصوديوم لمدة تتراوح من 3 - 5 أسابيع قد أدى إلى تأخر التئام الكسر وقلة سمك العظام نتيجة تثبيط تمعدن العظام وتشكيلها، وزيادة تركيزات الفلوريد عن 64 ملجم/لتر في مياه الشرب للفئران لمدة 6 أشهر أدى إلى هشاشة العظام، وتغّيرات في التّركيب النّسيجي للكلى[7].

نشرت منظمة الصّحة العالمية تقريرا يشير إلى إصابة حوالى 100000 شخص في الهند بمرض الفشل الكلوي والمفاصل المتصلبة وفقر الدم نتيجة تناولهم مياه شرب وأطعمة تحتوي على مستويات عالية من الفلوريد. و أوصت منظمة الصحة العالمية بأن لايزيد مستوى الفلوريد في مياه الشرب عن 0.5-1.0 ملجم/لتر، إذا زادت تركيزه عن هذا المستوى قد يؤدى الى آثار سلبية محتملة [11]. ويسبب الفلوريد إرتفاع مستوى سكر الدم عن طريق الحد من إنتاج الأنسولين ومستقبلات الأنسولين، ويعد مرض السكر من الأسباب الرئيسية للفشل الكلوي، ويمثل 44 ٪ من جميع حالات الفشل الكلوي في الولايات المتحدة الأمريكية [12]. ونلاحظ من بين مصادر الفلوريد التى نتعرض لها في ليبيا هي استخدام مواسير الحديد للمياه وكذلك المبيدات الحشرية ومعاجين الأسنان وتناول الشاي وغيرها.

تعتبر أغلب الأعشاب أمنة وثبت فعاليتها ضد مختلف الأمراض البشريّة، وإن استخداماتها تزيد تدريجيا في البلدان المتقدمة [13]. كما إنّ مضادات الأكسدة الطبيعية لهذه الأعشاب تقوي الدفاعات الذاتية المضادة للأكسدة وتعيد التوازن الأمثل بمعادلة الجذور الحّرة [14]، ومن بين هذه الأعشاب الطبية النعناع (*Mentha piperita*) وموطنه منطقة البحر الأبيض المتوسط، وزيوته الأساسية هي المنثون، المنثول وخلات الميثيل، وهو منشط وطارد للغازات لذلك يستخدم لتخفيف الغثيان، وانتفاخ البطن والقيء [15،16]. ويستخدم كمطهر، ومضاد للميكروبات ولعلاج متلازمة القولون العصبي، والتهاب الأمعاء وفي علاج أمراض ومشاكل الكبد وخصوصا اضطرابات المجاري الصفراوية[17]، ويحتوي النعناع على المواد المضادة للأكسدة الآتية: الأوجينول، حامض الكافيك، وحامض الروزمارينك، الفلافونويد وألفا-توكوفيرول، وهذه المواد لها القدرة على الوقاية وعلاج العديد من الأمراض وله خصائص مضادة للأورام [18]، وكذلك بإزالة الجذور الحرة [19].

تستخدم أيضا الكثير من بذور النباتات والأعشاب لعلاج الأمراض في الطّب الشّعبي، ومنها **بذور الحلبة** (***Trigonella foenumgraecum***) الّتي تعتبر من النباتات العشبية الحولية التي تنتمي لعائلة البقوليات ، وتزرع على نطاق واسع في الهند ،ومصر ودول الشرق الأوسط [9،20]. تستخدم على نطاق واسع لأغراض الطهي والأغراض الطبية [9]، ولها تأثيرها المضاد للأكسدة لمرضى السكري وذلك لاحتوائها على مكونات نشطة مختلفة مثل الفلافونويد Flavonoids، والقلويات والفيتامينات والأحماض الأمينية [21]. وتحتوي علي مركبات لها خصائص مثيرة للاهتمام تجعلها تستخدم في الطب والتغذية والمشروبات والعطور ومستحضرات التجميل ، ولأغراض صناعية أخرى، وتدخل بذورها المحمصة والمطحونة كعنصر أساسي في مساحيق الكاري ، وكثيرا ما تخلط مع الطحين. ، وقد زاد استعمالها في العديد من المجالات بسبب استخدامها الأمن وقلة أثارها الجانبية بالمقارنة مع الأدوية الكيميائية. وتستخدم كعلاج مضاد للجراثيم، ومضادة للسرطان، مضادة للأكسدة وخافضة للسكر والكولستيرول في الدم لذلك لها دورها الجيد في علاج مرض السكري [9]. وقد أظهرت الدراسات أنها تستخدم على نطاق واسع من قبل الأمهات المرضعات لزيادة إنتاج الحليب لديهم [9،22]. وتنصح النساء الحوامل بعدم أخذ كمية كبيرة منها لأنها غالبا ماتسبب الإجهاض [9،23]. وتهدف هذه الدراسة إلى التعرف على تأثير فلوريد الصوديوم على التركيب النسيجي ووظائف الكلى في ذكور الأرانب المحلية، وتقييم التأثيرات الوقائية المحتملة للنعناع والحلبة ضد هذه التغيرات.

المواد وطرق البحث

1. الحيوانات المستخدمة في التجربة Experimental Animal:-

تم استخدام عدد 24 من ذكور الأرانب البالغة المحلية ،عمرهم بين 35-37 اسبوع ووزنهم بين 1.5-1.8 كجم، وتم إيواء الأرانب في غرفة تحت ظروف قياسية من حيث التّهوية ودرجة الحرارة (25

درجة مئوية +/-2) ودرجة رطوبة (60-70%)، وتم فصل الأرانب في أقفاص بلاستيكيّة، زودت الحيوانات بماء شرب عادي بصورة حرة وأعطت طعام تجاري قياسي.

2. المواد المستخدمة Materials Experimental

تم شراء فلوريد الصّوديوم (من شركة سيجما للكيماويات)، وتم حقن الأرانب بفلوريد الصّوديوم تحت الجلد بجرعة 15 ملجم/كجم من وزن الجسم مذابة في 1 مل من ماء مقطر لمدة 30 يوما متتالية [24].

تم شراء بذور الحلبة والنعناع من سوق الزاوية، وتم طحن بذور الحلبة وأضيفت بمعدل 10 جم من طحين بذور الحلبة لكل كيلو جرام من وزن الغذاء الذي قدم للأرانب لمدة ثلاثون يوماً، وتم عمل عصير النعناع بخلط 20جم من أوراق النعناع مع 200 مل من الماء المقطر في الخلاط ثم تصفيته، وأعطي عصير النعناع عن طريق الفم بجرعة 0.6جم/كجم من وزن الجسم لمدة 30 يوما [25].

أ- **تصميم التجربة Experimental Design:** بعد أسبوع واحد من التأقلم ، قسمت الحيوانات إلى أربعة مجموعات مجموعات (6 أرانب في كل منها) كالتالي:

أ. المجموعة الأولى (مجموعة السيطرة) : هذه المجموعة تشمل 6 حيوانات زودت بماء شرب عادي وأعطيت وجبة عادية لمدة 30 يوما.

ب **- المجموعة الثانية (مجموعة فلوريد الصوديوم)** :تم حقن الأرانب بفلوريد الصوديوم تحت الجلد بجرعة 15 ملجم/كجم من وزن الجسم لمدة 30 يوما.

ج- المجموعة الثالثة (مجموعة فلوريد الصوديوم والنعناع معاً) :أعطيت عصير النعناع للأرانب عن طريق الفم بجرعة 0.6جم/كجم من وزن الجسم/ يوم، وتم حقن الأرانب بفلوريد الصوديوم تحت الجلد بجرعة 15 ملجم/كجم من وزن الجسم/يوم معا لمدة 30 يوما.

د- المجموعة الرابعة (مجموعة فلوريد الصوديوم والحلبة معاً) : تم إضافة طحين بذور الحلبة بمعدل 10جم لكل كيلو جرام من وزن الغذاء الذي قدم للأرانب، وتم حقن الأرانب بفلوريد الصوديوم تحت الجلد بجرعة 15 ملجم/كجم من وزن الجسم/يوم معا لمدة 30 يوما.

4. جمع عينات الدم Collect blood samples: عند نهاية التجربة وبعد 24 ساعة من الجرعة الأخيرة، تم تخدير كافة الحيوانات بالأيثير وجمع عينات من الدم عن طريق ثقب القلب. وجمع العينات في أنابيب نظيفة وجافة وتم إجراء عملية الطرد المركزي بمعدل 3000 لفة بالدقيقة لمدة 15 دقيقة، ومن ثم فصل مصل الدم وحفظه بالمجمدة عند درجة حرارة -20 مئوية وتم إجراء كافة القياسات و التحاليل عليه.

5. التحاليل الكيموحيوية Biochemical Analysis: تم تحديد تركيز البولينا حسب طريقة Fawcett and Scott [26]، وتركيز حمض البوليك حسب طريقة Fossatti, [27]، وتم قياس الكرياتين بدون ترسيب البروتين بطريقة Bartels, [28]، وتم قياس تركيز أيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل الدم حسب طريقة Tietz, [29] باستخدام مواد من شركة Chiron.

6. التحضيرات النسيجية Histological Preparation: تم تشريح الحيوانات في الحال بعد تخديرها بالإيثر في نهاية التجربة وبعد 24 ساعة من أخر جرعة، وتم أخذ عينات صغيرة من الكبد و الكلى ووضع العينات في 10% من محلول الفورمالين للتثبيت، وبعد عملية التثبيت تم انتزاع الماء من العينات بتمريرها في سلسلة تصاعدية من الكحول وبعد ذلك حفظت في التربينول وذلك للتأكد من إزالة الماء من العينات وتم إجراء عملية الترويق وذلك بتمرير العينات في الزايلين قبل إجراء عملية الطمر في شمع البرافين التي تمت عند درجة حرارة تتراوح بين 56-58°م(درجة انصهار الشمع). وأخذت عدة قطاعات سمك القطاع 5 ميكرون من كل عينة من عينات الكلى بحيث كان بين كل قطاع وأخر على الأقل 500 ميكرون من نفس العينة. ووضعت القطاعات على شرائح نظيفة. للفحص النسيجي صبغت القطاعات بصبغتي الهيماتوكسلين والإيوسين. وتم فحصها باستخدام المجهر الضوئي العادي [30].

7. التحليل الإحصائي Statistical Analysis:

النتائج عبر عنها بالمتوسط ± الانحراف المعياري، وتم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام برنامج الرزم الإحصائية للعلوم الاجتماعية (SPSS) الحاسوبي. وتمت مقارنة الفروقات بين متوسطات القيم والإنحراف المعياري باختبار الـ ANOVA بطريقة الاتجاه الواحد عند احتمالية أقل من 0,05، باستخدام اختبار دانكان، ويعتبر مستوى الاحتمالية ($P < 0.05$) في كل الاختبارات الإحصائية معنوياً.

النتائج RESULTS

يبين الجدول رقم (1) والأشكال من (1- 5) تأثير معاملة ذكور الأرانب بفلوريد الصوديوم بالحقن تحت الجلد بجرعة 15 ملجم/كجم/يوم لمدة 30 يوماً وبعد المعاملة بالنعناع أو الحلبة على تركيز اليوريا وحمض البوليك والكرياتينين في مصل دم جميع المجموعات.

نلاحظ من الجدول رقم (1) إرتفاع متوسط تركيز اليوريا معنوياً (P<0.01) في مصل الدم عند الأرانب المعاملة بفلوريد الصوديوم (2.61±38.00) وفلوريد الصوديوم والنعناع (2.81±28.50) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (1.47±22.17). وانخفاض معنوى (P<0.01) في متوسط تركيز اليوريا في مصل الدم (P<0.01) في المجموعة المعالجة بفلوريد الصوديوم وعصير النعناع (2.81±28.50) وفلوريد الصوديوم ومسحوق الحلبة (1.05±23.50) مقارنة بمجموعة فلوريد الصوديوم فقط (2.61±38.00) (شكل. 1).

جدول.1: يوضح تأثير فلوريد الصوديوم وعصير النعناع وبدور الحلبة على تركيز اليوريا، حمض البوليك، الكرياتنين، وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دّم جميع المجموعات.

المجموعات / المتغيرات	التحكم	فلوريد الصوديوم	فلوريد الصوديوم+النعناع	فلوريد الصوديوم +الحلبة
	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري
اليوريا	1.47±22.17	**2.61±38.00	$^{\#**}$2.81±28.50	$^{\#}$1.05±23.50
حمض البوليك	0.19±2.60	**0.42±4.12	$^{\#**}$0.49±3.22	$^{\#}$0.24±2.75
الكرياتينين	0.10±1.05	**0.20±2.00	$^{\#*}$0.11±1.30	$^{\#}$0.20 ±1.16
ايونات الصوديوم	1.8 ±122.5	**2.8±135.0	$^{\#*}$2.81±128.5	$^{\#}$3.1±123.8
ايونات البوتاسيوم	0.28±1.92	**0.41±3.10	$^{\#*}$0.31±2.42	$^{\#}$0.24±2.03

*: تغير معنوي (P<0.05) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة ، **: تغير معنوي (P<0.01) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة. #: تغير معنوي (P<0.05) بالمقارنة مع مجموعة فلوريد الصوديوم.

أيضا إرتفع متوسط تركيز حمض اليوريك معنوياً (P<0.01) في مصل الدم عند مجموعة الأرانب المعاملة بفلوريد الصوديوم (0.42±4.12) وفلوريد الصوديوم والنعناع (0.49±3.22)بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (0.19±2.60). وانخفاض معنوى (P<0.01) في متوسط تركيز حمض اليوريك في مصل الدم (P<0.01) في المجموعة المعالجة بفلوريد الصوديوم وعصير النعناع (0.49±3.22) ومجموعة فلوريد الصوديوم ومسحوق الحلبة (0.24±2.75) مقارنة بمجموعة فلوريد الصوديوم (0.42±4.12) (شكل. 2).

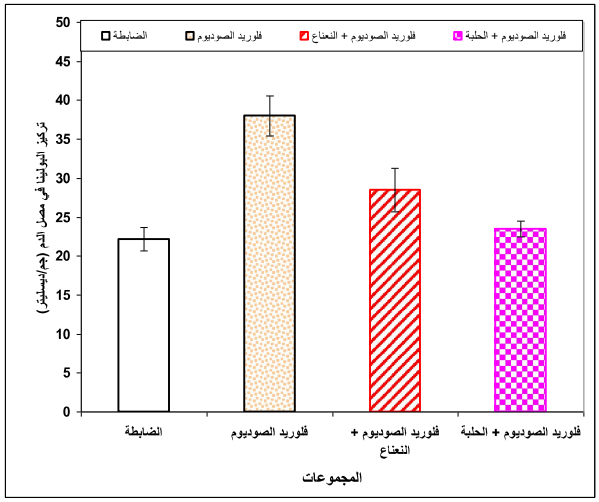
تبين وجود ارتفاع معنوي (P<0.01) في متوسط تركيز الكرياتينين (Creatinine) في مصل دم الأرانب في مجموعة فلوريد الصوديوم فقط (0.20±2.00) ، وارتفاع معنوي عند (P<0.05) في متوسط تركيز الكرياتينين للمجموعة التى حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت عصير النعناع (0.11±1.30) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (0.10±1.05) ، وقد حدث انخفاض معنوى (P<0.01) في متوسط تركيز الكرياتينين للمجموعة التى حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت عصير النعناع (0.11±1.30) ، والمجموعة التي حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت مسحوق الحلبة (1.16± 0.20) بالمقارنة مع مجموعة فلوريد الصوديوم فقط (0.20±2.00) (شكل.3).

لقد أدى حقن الأرانب بفلوريد الصوديوم فقط إلى حدوث زيادة معنوية (P<0.01) في متوسط تركيز أيونات الصوديوم في مصل الدم (2.8±135.0)، وزيادة معنوية عند (P<0.05) في متوسط تركيز أيونات الصوديوم للمجموعة التى حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت عصير النعناع (2.81±128.5) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (1.8 ±122.5) ، ولا يوجد أي تغير معنوى في مجموعة فلوريد الصوديوم ومسحوق الحلبة. وحدث انخفاض معنوى (P<0.01) في متوسط تركيز الصوديوم في مصل الدم في المجموعة التى حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت عصير النعناع(2.81±128.5)، والمجموعة التى حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت مسحوق الحلبة في الغذاء (123.8±3.1) بالمقارنة بالمجموعة التي حقنت بفلوريد الصوديوم فقط (2.8±135.0)(شكل. 4).

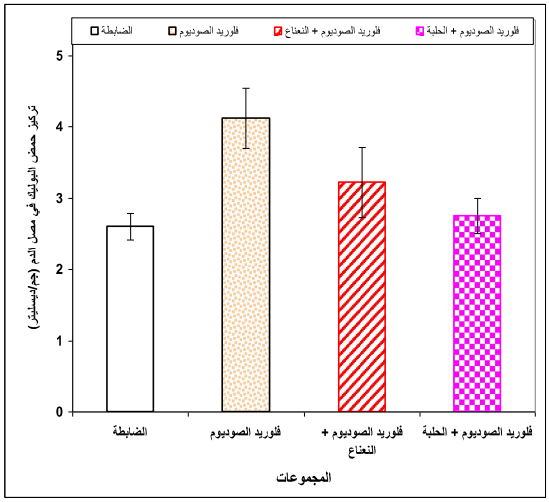
ومن الشكل رقم (5) نلاحظ وجود زيادة معنوية (P<0.01) في متوسط تركيز أيونات البوتاسيوم (K^+) في مصل دم الأرانب التي حقنت بفلوريد الصوديوم فقط (0.41±3.10) وزيادة معنوية عند (P<0.05) في متوسط تركيز أيونات البوتاسيوم في مصل الدم للمجموعة التى حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت عصير النعناع (0.31±2.42) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (0.28±1.92) ، ولا يوجد أي تغير معنوى في مجموعة فلوريد الصوديوم ومسحوق الحلبة. وحدث انخفاض معنوى (P<0.01) في متوسط تركيز البوتاسيوم في مصل الدم (0.31±2.42) في المجموعة التى حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت عصير النعناع ، والمجموعة التى حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت مسحوق الحلبة في الغذاء (0.24±2.03) بالمقارنة بالمجموعة التي حقنت بفلوريد الصوديوم فقط (0.41±3.10) .

صور مجهرية لقطاعات نسيجية في كلى ذكور الأرانب للمجموعات المختلفة:-

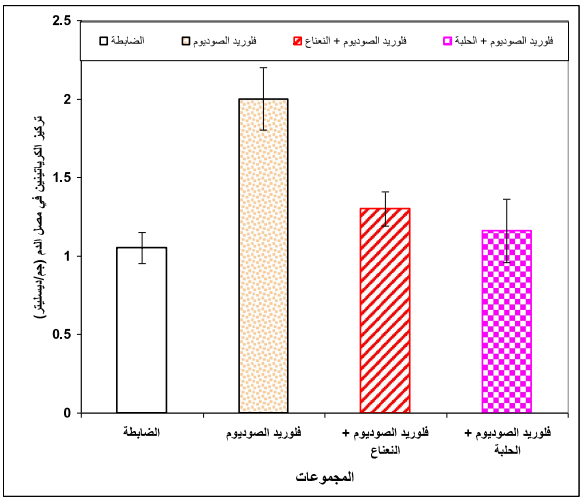
أن طبقة القشرة تحتوي على كريات ملبيجى منتظمة، وتتكون كل كرية من محفظة بومان مبطنة بنسيج طلائي بسيط وكبيبة، والأنابيب البولية جدارها سميك وفارغة من الداخل أي لا توجد بها أي رواسب (شكل. 6).



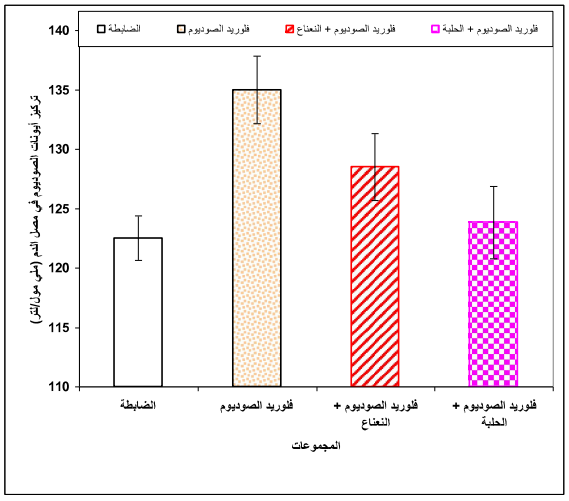
1. أومسحوق الحلبة على متوسط تركيز اليوريا في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.



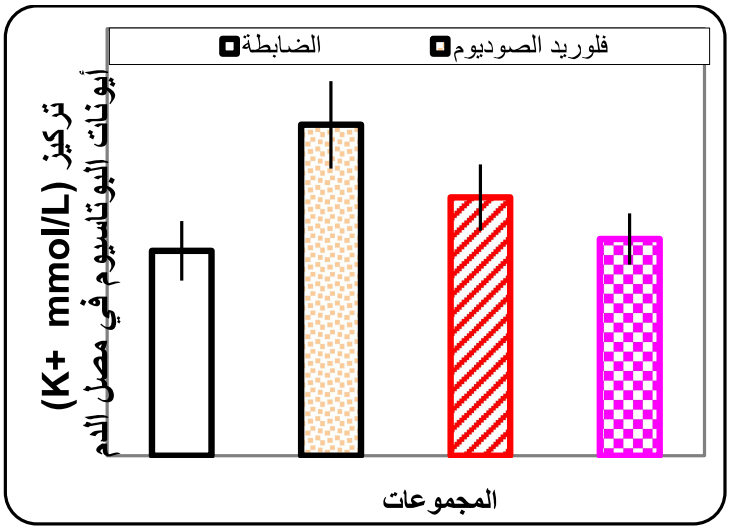
2. أومسحوق الحلبة على متوسط تركيز حمض البوليك في البالغة.



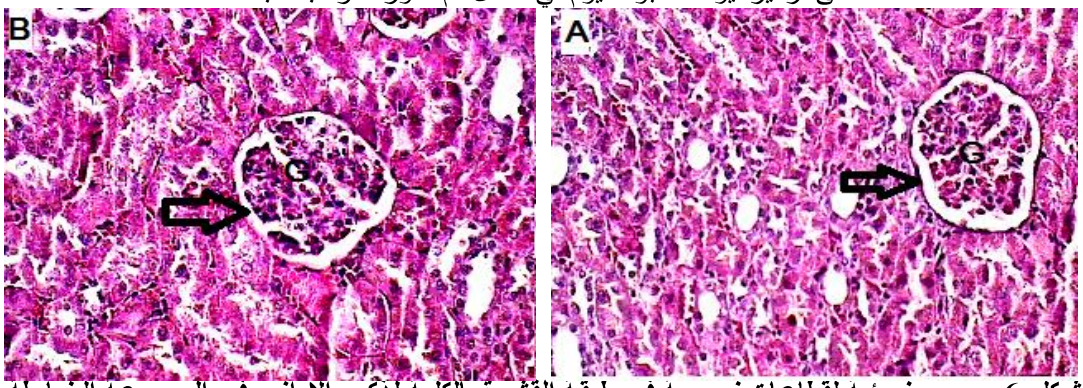
3. أومسحوق الحلبة علي متوسط تركيز الكرياتينين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة



4. عصير النعناع علي تركيز أيونات الصوديوم في مصل الدم ذكور الأرانب البالغة .



شكل.5. يوضح تأثير فلوريد الصوديوم، عصير النعناع أو مسحوق الحلبة على تركيز أيونات البوتاسيوم في مصل دم ذكور الأرانب البالغة



شكل. 6: صور ضوئية لقطاعات نسيجية في طبقة القشرة بالكليه لذكور الارانب في المجموعه الضابطه.
توضح الصور(**B&A**): أن طبقة القشرة تحتوي على كريات ملبيجي منتظمة، وتتكون كل كرية من محفظة بومان مبطنة بنسيج طلائي حرشفي بسيط **(السهم الأسود المتجه إلى اليمين)**وكبيبة(G)، والأنابيب البولية جدارها سميك وفارغة من الداخل أي لا توجد بها أي رواسب (400X ;H&E).

تأثير حقن ذكور الأرانب بفلوريد الصوديوم على التركيب النسيجي للكلى:

توضح صور القطاعات النسيجية لقشرة الكلية في ذكور الأرانب التي حقنت بفلوريد الصوديوم فقط حدوث انكماش في الكبيبات الكلوية وإتساع في محفظة بومان وتحلل بعض أجزاء الجدار المبطن لها. وحدوث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبيجي وزيادة سمك جدرها. ووجود ترسيبات في تجاويف الأنيبيبات الكلوية، وقد قل سمك جدرها مما يدل على فقد أسطح خلاياها للخميلات الدقيقة. وحدوث ارتشاحات بخلايا الدم البيضاء بالقرب من كريات ملبيجي. وفي بعض القطاعات الأخرى نلاحظ وجود التصاق جدر محافظ بومان وأصبحت ملتصقة في الكبيبات الكلوية. بالإضافة لوجود نزف دموى ووجود توسع وارتشاح دموي بين الأنابيب البولية نتيجة لتداخل كرات الدم الحمراء مع كرات الدم البيضاء وهذا يعنى تلف شديد في الكلى ونخر خلوى (شكل. 7).

تأثير تناول عصير النعناع مع الحقن بفلوريد الصوديوم على التركيب النسيجي للكلية:

تظهر صور القطاعات النسيجية للكلية في طبقة القشرة للأرانب التي حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت عصير النعناع أن كرية ملبيجى شكلها أصبح أقرب للطبيعي، وجدار محفظة بومان سليم ولكن فراغها في بعض كريات ملبيجي ضيق وفي البعض الآخر واسع، ومازال وجود بعض الرواسب البروتينية في تجاويف الأنيبيبات الكلوية، ويوجد تحلل طفيف في الأنيبيبات البولية القريبة والبعيدة (شكل. 8).

تأثير تناول مسحوق الحلبة في الغذاء مع الحقن بفلوريد الصوديوم على التركيب النسيجي للكلى:

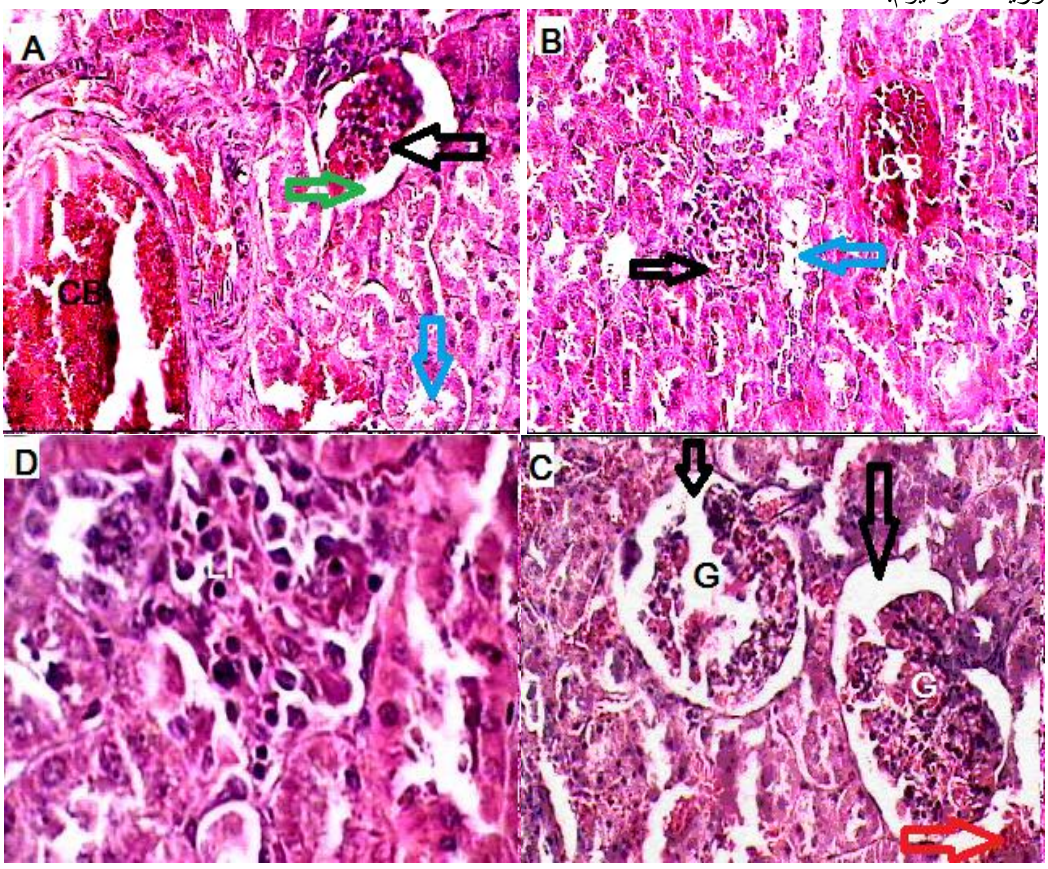
تظهر صور القطاعات النسيجية للكلية في طبقة القشرة للأرانب التي حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت مسحوق الحلبة أن كريات ملبيجي والأنيبيبات الكلوية أصبحت منتظمة واستعادة كريات ملبيجى شكلها الطبيعي، والأنيبيبات جدارها سميك والقليل منها يحتوي على رواسب بروتينية (شكل.9).

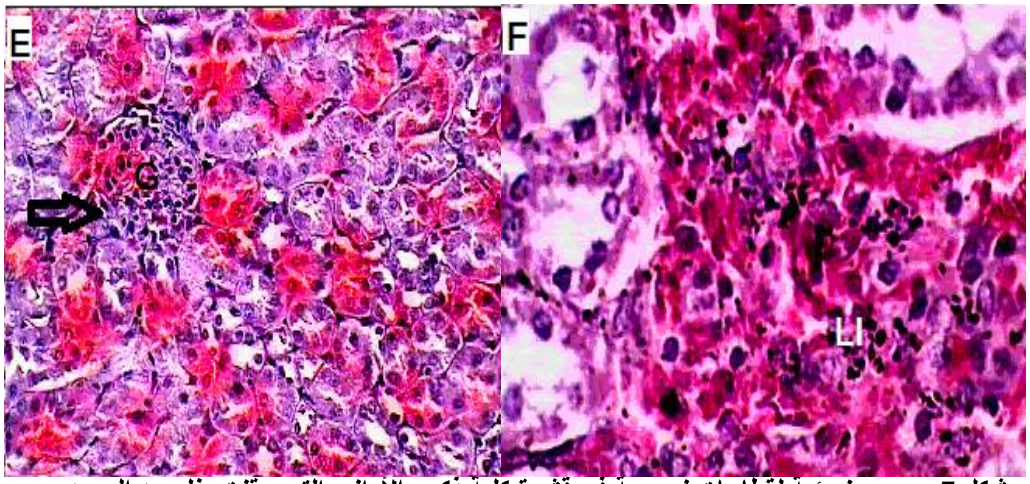
المنـــاقشـــة Discussion

تناولـت الدّراسـة الحاليّـة تـأثير الحقـن بفلوريـد الصـوديوم علـى الوظـائف، والتّركيـب النّسـيجي للكلـى ذكـور الأرانـب البالغـة المحليـة ، وتقليـل الآثـار الضـارة لـه بتنـاول عصـير النعنـاع ومسـحوق الحلبـة. وأوضـحت الدرّاسـات السّـابقة وجـود تـأثير ضـار لفلوريـد الصـوديوم علـى أنسـجة الكلـى فـي حيوانـات التّجـارب، تبـين نتـائج هـذه الدراسـة أن حقـن الأرانـب بفلوريـد الصـوديوم قـد أدى إلـى حـدوث زيـادة معنويـة فـي تركيـز البولينـا والكريـاتيينين فـي مصـل الـدم مقارنـة بالمجموعـة الضـابطة . وهـذه النتـــائج تتفـق مـع نتـائج العديـد مـن الدراســات [32،31]. أظهـرت دراسـة Zhan *et al.*,[31] ان اضـافة فلوريـد الصـوديوم لغـذاء الخنـازير لمـدة 50 يومـا قـد أدى إلـى حـدوث زيـادة معنويـة فـي تركيـز كـلا مـن البولينـا والكريـاتيينين فـي مصـل الـــدم مقارنـــة بالمجموعـة الضابطـــة ، وكـــذلك أكـــدت دراســـة Emejulu *et al.*, [32] هذه الزيادة في مصل دم الجرذان التى تم معاملتها بفلوريد الصوديوم.

قد يرجع سبب ارتفاع تركيز اليوريا والكرياتينين في مصل دم الأرانب التي حقنت بفلوريد الصوديوم لحدوث تلف في كريات ملبيجي والأنيبيبات الكلوية وعدم قدرة الكلية على استخلاص الفضلات النيتروجينية وخصوصا اليوريا والكرياتينين. وقد يرجع ذلك أن الفلوريد يؤدي إلى توليد الجذور الحرة التي تسبب الإجهاد التأكسدي مما يؤدي إلى إرتفاع مستوى بيروكسيد الدهون (LPO) مما يؤدي إلى تلف لأغشية الخلايا [33].

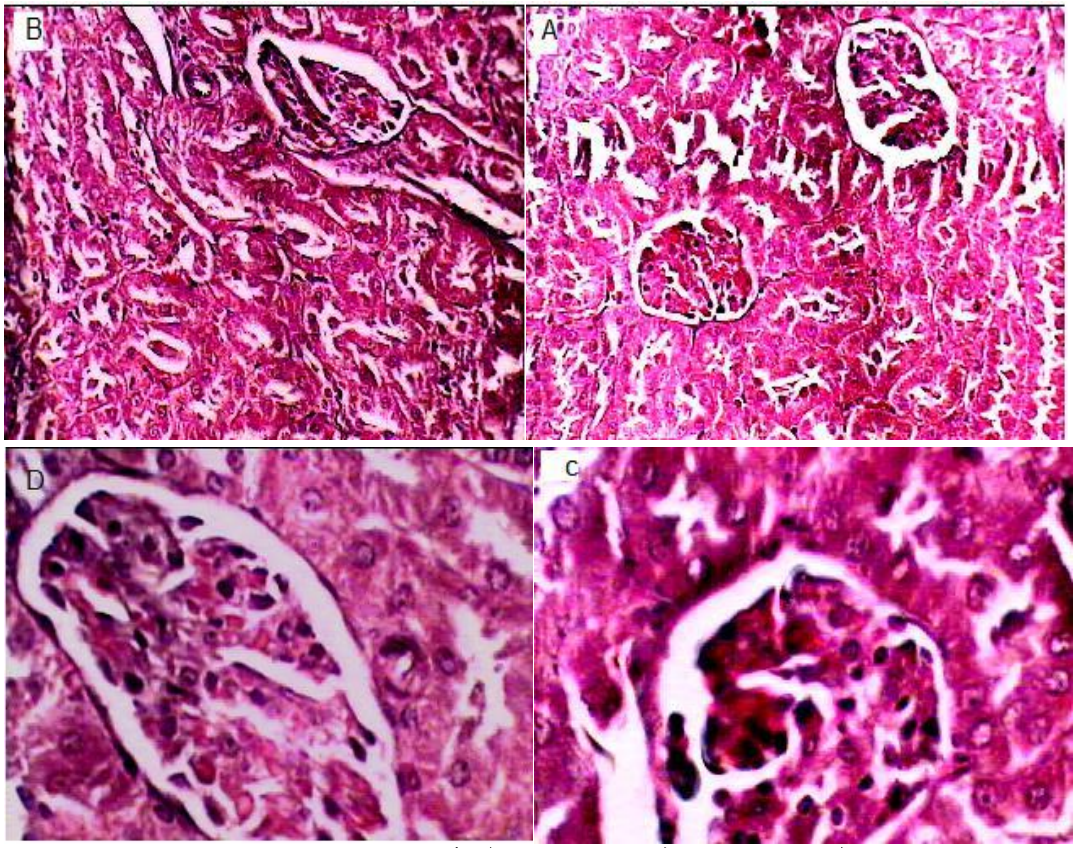
أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن تناول الأرانب لمسحوق الحلبة وعصير النعناع مع فلوريد الصوديوم أدى إلى حدوث انخفاض معنوي في مستوى اليوريا والكرياتينين في مصل الدم مقارنة بالمجموعة التي حقنت فقط بفلوريد الصوديوم.





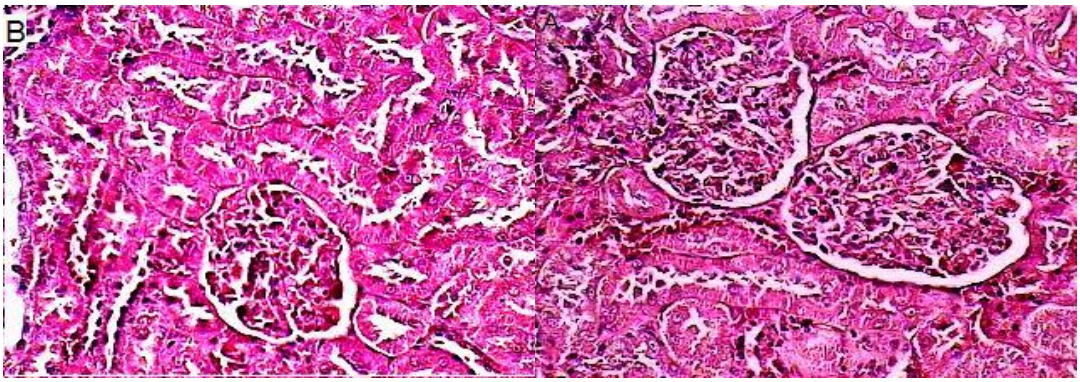
شكل.7: صور ضوئية لقطاعات نسيجية في قشرة كلية ذكور الارانب التى حقنت بفلوريد الصوديوم.

توضح صور القطاعات النسيجية لقشرة الكلية: A: وجود انكماش في الكبيبات الكلوية(G) (السهم الأسود المتجه إلى اليسار)، وإتساع في محفظة بومان (السهم الأخضر المتجه إلى اليمين)، وتحلل بعض أجزاء الجدار المبطن لها. وحدوث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبيجي وزيادة سمك جدرها(CB). ووجود ترسيبات في تجاويف الأنيبيبات الكلوية (السهم الأزرق المتجه إلى أسفل)؛ B: تحلل الخلايا المكون الأنيبيبات الكلوية وقل سمك جدارها (السهم الأزرق المتجه إلى اليسار)، وانتفاخ بعض الكبيبات والتصاقها بجدار محافظ بومان (السهم الأسود المتجه إلى اليمين)، وحدوث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية(CB). D&C: حدوث ارتشاحات بخلايا الدم البيضاء (LI) بالقرب من كريات ملبيجي، ووجود انكماش في الكبيبات الكلوية، وإتساع في محفظة بومان(السهم الأسود المتجه إلى أسفل)، ونزف دموي بين الأنيبيبات البولية (السهم الأحمر المتجه إلى اليمين). F&E: في بعض القطاعات الأخرى نلاحظ حدوث ارتشاح بخلايا الدم البيضاء (LI) ونزف دموي بين الأنيبيبات الكلوية، وانتفاخ بعض الكبيبات (G) والتصاقها بجدار محافظ بومان (السهم الأسود المتجه إلى اليمين) (H&E) (400X:E, C, B, A) , (1000 x :F&D).



شكل.8: صور ضوئية لقطاعات نسيجية في كلى مجموعة الأرانب التى حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت عصير النعناع.

تظهر الصور أن كرية ملبيجى شكلها أصبح أقرب للطبيعي، وجدار محفظة بومان سليم ولكن فراغها في بعض كريات ملبيجي ضيق وفي البعض الآخر واسع، ومازال وجود بعض الرواسب البروتينية في تجاويف الأنيبيبات الكلوية، ويوجد تحلل طفيف في الأنيبيبات البولية القريبة والبعيدة (H&E)، (**B&A** : 400X)، (**D&C**: 1000 x).



شكل.9: صور ضوئية لقطاعات نسيجية في كلى مجموعة الأرانب التى حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت مسحوق الحلبة.

تظهر الصور أن كريات ملبيجي والأنيبيبات الكلوية أصبحت منتظمة واستعادة شكلها الطبيعي، والقليل منها يحتوي على رواسب بروتينية (H&E; 400X).

وهذه النتائج تتفق مع العديد من الدراسات منها دراسة [34] ,.Khalil *et al* الذي أعطى زيت النعناع

للجرذان مع رابع كلوريد الكربون مما أدي إلى حدوث نقص معنوي في تركيز اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك في مصل الدم مقارنة مع الجرذان المعاملة برابع كلوريد الكربون فقط، وقد يرجع ذلك لقدرة زيت النعناع على مكافحة الجذور الحرة ونشاطه كمضاد للأكسدة . ولقد ادي اعطاء مستخلص النعناع المائي للفئران المعاملة بسيسبلاتين (عقار لعلاج السرطان) إلى انخفاض معنوي في تركيز اليوريا والكرياتينين في مصل الدم مقارنة بالمجموعة المعاملة بسيلاتين فقط، وقد أكدت النتائج النسيجية ذلك [35]. وكذلك دراسة [36] ., Eidi et al الذي درس تأثير تناول جرذان الويسترن (Wistr rats) المصابة بالسكري للمستخلص الكحولي لبذور الحلبة (0.1 ، 0.25، 0.5) جم/كجم من وزن الجسم لمدة 14 يوما، وأظهرت نتائج دراسته حدوث تحسن في تركيز البولينا وحمض البوليك ، والكرياتينين في مصل الدم مقارنة بالمجموعة المصابة بالسكري. وأدي حقن الأرانب في التجويف البروتيوني بالجنتاميسين 80 ملجم/ كجم لمدة 7 أيام إلى حدوث ارتفاع معنوي في تركيز البولينا والكرياتنين في مصل الدم وأدي إعطاء المستخلص الكحولي الإيثانولي للحلبة بجرعة 500 ملجم / كجم / يوم عن طريق الفم بالتزامن مع الحقن بالجنتاميسين لمدة اسبوع مع تناول المستخلص الكحولي من بداية الحقن والاستمرار حتى 21 يوما و28 يوما إلى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.01$) في تركيز البولينا والكرياتينين في مصل الدم مقارنة بالمجموعة التي حقنت فقط بالجنتاميسين[37].
وقد يرجع إنخفاض مستويات تركيز اليوريا والكرياتنين وحمض البوليك عند إعطاء مسحوق الحلبة وعصير النعناع لإحتوائهما على تركيزات عالية من مضادات الأكسدة ذات القدرة العالية على مكافحة الجذور الحرة.
أوضحت نتائج الدراسة الحالية حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في تركيز ايونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دم الأرانب التي حقنت بفلوريد الصوديوم فقط ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج [32] ,.Emejulu *et al* التي تبين حدوث ارتفاع ملحوظ في تركيز ايونات الصوديوم في مصل دم الجرذان المعاملة بفلوريد الصوديوم مقارنة بالمجموعة الضابطة، وقد ترجع زيادة تركيز ايونات الصوديوم إلى زيادة الإبقاء على ايونات الصوديوم بالدم وعدم قدرة الكلية على التخلص من ايونات الصوديوم والبوتاسيوم الزائدة في البول نتيجة التأثير الضار لفلوريد الصوديوم علي أنسجة الكلي التي تؤكدها التغيرات النسيجية الكلوية [32،31].
تظهر الدراسة الحالية حدوث انخفاض معنوي في تركيز ايونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دم الأرانب التي تناولت مسحوق الحلبة وعصير النعناع وحقنت بفلوريد الصوديوم مقارنة بمجموعة التي حقنت بفلوريد الصوديوم فقط ، وتتفق هذه النتائج مع نتائج [38] ,Al-Atwi، الذي أعطي المستخلص المائي والكحولي لبذور الحلبة لذكور الأرانب البيضاء مما أدي إلى انخفاض تركيزات ايونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل الدم وحدوث زيادة في إفرازهما مع البول وقد خلصت هذه الدراسة إلى إن الحلبة لها تأثير مدر للبول. أثبتت

دراســـة أخري أجـراها Rohini *et al.*, [39] أن إعطاء المستخلصات المائية والإيثانولية والإيثيرية والكلوروفورمية والبنزينية لبذور الحلبة للفئران أدي إلى زيادة كبيرة في كمية البول وزيادة تركيز ايونات الصوديوم والبوتاسيوم فيه مقارنة بالمجموعة الضابطة وقد أكد الباحثون ان هذه المستخلصات المختلفة لها تأثير مدر للبول. وعلى عكس من ذلك أدي إعطاء المستخلص الكحولي لأوراق النعناع مع الحقن بالجنتاميسين للجرذان البيضاء إلى حدوث ارتفاع معنوي في مستوى ايونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل الدم مقارنة بالمجموعة التي حقنت بالجنتاميسين فقط، وقد أرجع الباحثين إلى أن هذا الارتفاع يرجع لأن المستخلص الكحولي للنعناع قلل من التأثيرات الجانبية للجنتاميسين علي الكلي [40].

أظهرت الدراسة الحالية تغييرات ملحوظة في التركيب النسجي للكلى عند حقن الأرانب بفلوريد الصوديوم وتتمثل هذه التغيرات في انكماش الكبيبات الكلوية وإتساع في محفظة بومان وتحلل بعض أجزاء الجدار المبطن لها. وحدوث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبيجي وزيادة سمك جدرها، ووجود ترسبات في تجاويف الأنيبيبات الكلوية، وقد قل سمك جدرها مما يدل على فقد أسطح خلاياها للخميلات الدقيقة، وحدوث ارتشاحات بخلايا الدم البيضاء بالقرب من كريات ملبيجي. وفي بعض القطاعات الأخرى نلاحظ وجود التصاق جدر محافظة بومان وزيادة حجم بعض الكبيبات الكلوية. بالإضافة لوجود نزف دموى ووجود توسع بين الأنابيب البولية يحتوي على كريات دم حمراء وارتشاح بخلايا الدم البيضاء وهذه التغيرات تتفق مع نتائج العديد من الدراسات السابقة ، ومنها دراسة Basha and Rao, [41] التي عرضت الفئران لفلوريد الصوديوم وبينت نتائج فحص عينات الأنسجة الكلوية وجود نخر أنبوبي، وتمدد التجويف الأنبوبي، وفقد بعض الخلايا الأنبوبية القريبة الخميلات الدقيقة، وتسلل الخلايا الالتهابيـــة وتضخم الكبيبـــات الكلوية مـــع نـــزف أنبوبي معتدل. وكذلك أفادت دراســـة Shashi & Kaur, [42] أن الإعطاء الفموي لـ 300 و 600 جزء في المليون من فلوريد الصوديوم للجرذان لمدة 40 يومًا تسبب في حدوث تغيرات نسيجية في الكلية، عبارة عن تغيرات مورفولوجية في القشرة الكلوية، حيث أظهرت الكبيبات أشكال مختلفة من التنكس، وظهرت بعض الكبيبات متضخمة في حين ظهر البعض الآخر منكمشاً وتمدد في محفظة بومان. كما ظهرت بعض الانيبيبات الكلوية مدمرة. قد يكون تضخم الكبيبات نتيجة الضغط المرتفع في الشعيرات الدموية بها أو بسبب حدوث تشوهات في الخلايا نتيجة تأثير فلوريد الصوديوم، ويرجع ذلك جزئيا إلى استهلاكها العالي للأكسجين وضعف أنظمة الإنزيمات بها. وظهرت مثل هذه التغيرات التنكسية بشكل واضح في الأنيبيبات الملتفة القريبة.

أظهرت الدراسة الحالية أن القطاعات النسيجية في كلى الأرانب التي حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت عصير النعناع شكل كريات ملبيجى أقرب للطبيعي، وجدار محفظة بومان سليم ولكن فراغها في بعض الكريات ضيق وفي البعض الآخر واسع، ومازال وجود بعض الرواسب البروتينية في تجاويف الأنيبيبات الكلوية، ويوجد تحلل طفيف في الأنيبيبات البولية القريبة والبعيدة. وهذه النتائج تتفق مع نتائج دراسة Ogaly *et al.*, [35] الذي أعطى مستخلص النعناع المائي للفئران المعاملة بسيسبلاتين مما أدى إلى حدوث تحسن واضح في أنسجة الكلى مقارنة بالمجموعة المعاملة بسيلاتين فقط. وكذلك ادي تناول الجرذان لزيت أوراق النعناع 15 ملجم و 40 ملجم لكل كيلو جرام من وزن الجسم مع الحقن برابع كلوريد الكربون إلى عودة خلايا وأنسجة الكلى إلى شكلها الطبيعي، وكان التحسن أكثر وضوحا في المجموعة التي تناولت الجرعة العالية (40 ملجم/كجم) من زيت أوراق النعناع [43]. وقد يرجع ذلك لإحتواء النعناع على المنـــثـــون، المنثول وخـــلات الميثيل التي لـــها خصـــائص مضـــادة للأكســـدة التي تقـــوي الدفـــاعـــات الذاتيـــة المضـــادة للأكســـدة وتعيـــد التوازن الأمثل بمعادلة الجذور الحرة وحماية أنسجة الكلى ضد الإجهاد التأكسدي.

في الدراسة الحالية تظهر القطاعات النسيجية للكلية في طبقة القشرة للأرانب التي حقنت بفلوريد الصوديوم وتناولت مسحوق الحلبة أن كريات ملبيجي والأنيبيبات الكلوية أصبحت منتظمة وجدار الأنيبيبات سميك والقليل منها يحتوي على رواسب بروتينية، واستعادة كريات ملبيجى شكلها الطبيعي وهذه التغيرات تتشابه مع نتائج العديد من الدراسات السابقة التي أجريت على حيوانات التجارب، ومنها دراسة[37] Hilmi *et al.*, التي أظهرت أن حقن الأرانب بالجنتاميسين أدى إلى حدوث ضمور في الكبيبات الكلوية وتحلل للأنيبيبات البولية ووجود رواسب في الانيبيبات البولية ووجود ارتشاح بالخلايا الالتهابية أحادية النواة، وقد أدي إعطاء المستخلص الكحولي الإيثانولي للحلبة بجرعة 500 ملجم/كجم/ يوم عن طريق الفم بالتزامن مع الحقن بالجنتاميسين لمدة أسبوع مع تناول المستخلص الكحولي من بداية الحقن والاستمرار حتى 21 يوما و28 يوما إلى استعادة أنسجة الكلى شكلها الطبيعي. وكذلك أدى إعطاء المستخلص المائي والكحولي للنعناع عن طريق الفم للجرذان التي حقنت بالجنتاميسين إلى استعادة أنسجة الكلى شكلها الطبيعي وأصبحت مماثلة لأنسجة الكلى في المجموعة الضابط، وقد يرجع ذلك إلى احتواء النعناع على مضادات أكسدة قوية تقاوم تأثير الجذور الحرة وتقلل من أكسدة الدهون [44].

الاستنتاجاتConclusions

نستنتج من هذه الدراسة أن حقن الأرانب بفلوريد الصوديوم فقط أدي إلى حدوث تغيرات خطيرة في وظائف وأنسجة الكلى، وأدى الحقن بفلوريد الصوديوم مع تناول عصير النعناع أو مسحوق الحلبة إلى حدوث تحسن معنوي ملحوظ في وظائف الكلى، واستعادت أنسجة الكلى شكلها الطبيعي وانتظامها، حيث أصبحت أقرب للمجموعة الضابطة، عليه توصي هذه الدراسة بعدم شرب المياه المفلورة التى تحتوي على تراكيز عالية من فلوريد الصوديوم، الحد من استخدام مستحضرات طب الأسنان المحتوية على تراكيز عالية منه، الابتعاد عن الأماكن المحتوية على تراكيز عالية من فلوريد الصوديوم كأماكن صناعة الحديد الصلب والسيراميك وأماكن احتراق الفحم وغيرها، تناول الحلبة وشراب النعناع لما لهما من فوائد صحية وغذائية كبيرة ، اجراء المزيد من الدراسات والبحوث العلمية لمعرفة آلية الحلبة والنعناع في الحد من سمية فلوريد الصوديوم، وإجراء دراسات اخرى مشابهة لهذه الدراسة على حيوانات مختلفة وبجرعات مختلفة من فلوريد الصوديوم والحلبة والنعناع .

المراجعReferences

1 Choi JJ; Moffett BS; McDade and Palazzo DL. (2011). Altered gentamicin serum concentration in obese pediatric patients. Pediat Infect Dis J, 30: 347-349

2 Chinoy N. J ; and Shah S. D. (2004). Beneficial effects of some antidotes in fluoride and arsenic induced toxicity in kidney of mice. Fluoride, 37(3): 151-161.

3 Collins T. F. and Sprando R. L. (2005). Fluoride-Toxic and pathologic aspects: Review of current literature on some aspects of fluoride toxicity. in reviews in food and nutrition toxicity, CRC Press. Volume 4. pp. 112-148.

4 Bouasla A; Bouasla I; Boumendjel A;El Feki A; and Messarah M. (2014). Hepatoprotective role of gallic acid on sodium fluoride-induced liver injury in rats. Int J Pharm Sci Rev Res, 29(2): 14-18

5 Song C. Fu . B. ; Zhang J; Zhao J; Yuan M; Peng W and Wu H. (2017). Sodium fluoride induces nephrotoxicity via oxidative stress-regulated mitochondrial SIRT3 signaling pathway. Sci Rep, 7(1), 672. DOI:10.1038/s41598-017-00796-3

6 Slooff W. (1988). Basisdocument fluoriden. Bilthoven, Netherlands, National Institute of Public Health and Environmental Protection (Report No. 758474005).

7 Fawell JK ; Ohanian E, Giddings M; Toft P, Magara Y and Jackson P. (2004). Fluoride in drinking-water, background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. 3rd ed., World Health Organization.

8 Al-Harbi M.S ; Hamza R.Z and Dwari A.A. (2014) (b). Sodium fluoride induced antioxidant defense impairment and impaired renal biomarkers and the ameliorative role of selenium and curcumin in male mice. Asian Pac J Trop Dis 4(2): S990-S997.

9 Shitaw KN (2015). Studies on the levels of fluoride in selected spices cultivated and consumed in Ethiopia. Master of Science in Analytical Chemistry, Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Addis Ababa University.

10 Gosselin R.E; R.P ; Smith H.C and Hodge. (1984). Clinical toxicology of commercial products. 5th ed. Baltimore: Williams and Wilkins. pp. 111-116.

11 Dharmaratne R. W. (2015). Fluoride in drinking water and diet: the causative factor of chronic kidney diseases in the North Central Province of Sri Lanka. Environ Health Prev Med, 20(4): 237-242. .

12 Harinarayan C. V; Kochupillai N ; Madhu, S. V; Gupta N and Meunier P. J. (2006). Fluorotoxic metabolic bone disease: an osteo-renal syndrome caused by excess fluoride ingestion in the tropics. Bone, 39(4): 907-914.

13 Heeba G. H and Abd-Elghany M. I. (2010). Effect of combined administration of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) and atorvastatin on the liver of rats. Phytomed, 17(14): 1076-1081.

14 Ho C; Ferrara T; Chen Q; Rosen R; and Huang M.(1994). Phytochemicals in teas and rosemary and their cancer preventive properties in food phytochemicals for cancer prevention. Amer. Chem. Soci., Washington. pp. 2-19.

15 Rita P and Animesh DK. (2011). An updated overview on peppermint (*Mentha piperita* L). IRJP, 2(8): 1-10.

16 Ali Z.Y. (2012). Biochemical evaluation of some natural products against toxicity induced by anti-tubercular drugs in rats. New York Sci J, 5(10): 69-80.

17 Bouchra C; Achouri M; Idrissi Hassani LM and Hmamouchi M.(2003). Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against Botrytis cinerea. J Ethnopharm, 89: 165-169.
18 Knekt, P., Kumpulainen, J., Järvinen, R., Rissanen, H., Heliövaara, M., Reunanen, A., and Aromaa, A. (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. Amer J Clin Nutr., 76(3): 560-568.
19 Wang, S. P., and Huang, K. J. (2004). Determination of flavonoids by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. J Chromat A., 1032(1-2): 273-279.
20 Flammang AM ; Cifone MA; Ereson GL and Stankowskci LF. (2004). Genotoxicity testing of fenugreek extract. J Food Chem Toxicol., 42: 205-208.
21 Smith, M. (2003). Therapeutic applications of fenugreek. Alternat Med Rev., 8(1): 20-27.
22 Akbari M ; Rasouli H and Bahdor T. (2012). Physiological and pharmaceutical effect of fenugreek: a review. IOSR J Pharm., 2(4): 49-53.
23 Taloubi L. M; Rhouda H; Belahcen A ; Smires N ; ThimouA and Mdaghri A. A. (2013). An overview of plants causing teratogenicity: fenugreek (*Trigonella foenum graecum*). Inter J Pharm Sci Res, 4(2): 516-519.
24 Shashi A, Singh; J. P and Thapar S. P. (2002). Toxic effects of fluoride on rabbit kidney. Fluoride, 35(1): 38-50.
25 Barbalho S.M ; Machado FMVF; Oshiiwa M ; Abreu M ; Guiger EL, Tomazela P, and Goulart RA. (2011). Investigation of the effects of peppermint (*Mentha piperita*) on the biochemical and anthropometric profile of university students. Cienc Tecnol Aliment Campinas, 31(3): 584-588.
26 Fawcett J.K. and Scott J.E.(1960). A rapid and precise method for the determination of urea. J. Clin. Path.,13: 156 -159.
27 Fossatti P; Prencipe L. and Berti G.(1980). Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzene-sulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system indirect enzymic assay of uric acid in serum and urine. Clin. Chem., 26: 227- 231.
28 Bartels H ; Bohmer M ; and Heierli C.(1972). Serum creatinine determination without protein precipitation. Clin. Chem. Acta, 37: 193-197.
29 Tietz N.W. (1986). Textbook of clinical chemistry, Saunders, E.B. Co. London Philadelphia. P: 796.
30 Ross MH; Reith EJ and Romrell LJ. (1989) Histology: A Text Atlas (2nd ed.). Baltimore. Williams &Wilkins, pp.51-84.
31 Zhan XA; Wang M; Xu ZR and Li J-X. (2006). Toxic effects of fluoride on kidney function and Histological structure in young pigs. Res Rep Fluoride, 39(1): 22–26.
32 Emejulu A. A; Alisi C. S ; Asiwe E. S ; Igwe C. U. and Nwogu L. A. (2016). Renal and hepato-protective effects of irvingia gabonensis juice on sodium fluoride-induced toxicity in Wistar rats. J Clin Toxicol, 6(296): 2161-0495.
33 Inam F; Tahir M; Lone KP and Latif W. (2015). Protective effect of vitamin E on fluoride induced hepatotoxicity. Biomed, 31(1): 1-6.
34 Khalil A. F; Elkatry H. O and El Mehairy H. F. (2015). Protective effect of peppermint and parsley leaves oils against hepatotoxicity on experimental rats. Ann Agric Sci, 60(2): 353-359.
35 Ogaly HA; Eltablawy NA and Abd-Elsalam RM. (2018). Antifibrogenic Influence of *Mentha piperita* L. Essential Oil against CCl4-Induced Liver Fibrosis in Rats. Oxid Med Cell Long, 2018, Article ID 4039753, 15 pages https://doi.org/10.1155/2018/4039753
36 Eidi A; Eidi M. and Sokhteh M. (2007). Effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) seeds on serum parameters in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Nutr Res, 27(11): 728-733.
37 Hilmi S. R ; Dewan Z. F; and Kabir A. N. (2018). Effect of ethanol extract of Trigonella foenum-graecum on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. Bangabandhu Sheikh Mujib Med Univ J, 11(2): 107-111.
38 Al-Atwi LF. (2010). Clinical evaluation for the diuretic effect of the alcoholic extract of Trigonella *faenum-gracum* seeds (fenugreek) on rabbits. Koufa J Veter Sci, 1(1):116-121.

39 Rohini RM; Nayeem M and Das AK. (2008). Diuretic effect of *Trigonella foenum graecum* seed extracts. Inter J Alter Med, 6(2): 1-4.

40 Tarish RJ; Ghazi AM and Abd-Alhassen JK. (2017). Nephroprotective roles of local licorice, peppermint extracts and their mixture on gentamicin-induced renal insufficiency in Wistar albino rats. Al-Qadisiyah J Vet Med Sci, 16(2): 61-68.

41 Basha Sk and Rao KJ. (2014). Sodium fluoride induced histopathalogical changes in liver and kidney of albino mice. Acta Chim. Pharm. Indica: 4(1): 58-62.

42 Shashi A. and Kaur J. (2017) Attenuation of fluoride-induced nephrotoxicity in rats by leaf extract of punarnava (*Boerhaavia diffusa* L.). Eur Acad Res, 5: 3805-3822.

43 Bellassoued K ; Hsouna A. B; Athmouni K ; van Pelt J ; Ayadi F. M ; Rebai; T and Elfeki A. (2018). Protective effects of Mentha piperita L. leaf essential oil against CCl 4 induced hepatic oxidative damage and renal failure in rats. Lipids Health Dis, 17(9): 1-14.

44 Dhanarasu S; Selvam M; Alkhalaf A.A; Aloraifi AK and Al-Shammari NKA. (2018). Ameliorative And Erythrocytes Membrane Stabilizing Effects of *Mentha piperita on* Experimentally Induced Nephrotoxicity by Gentamicin. Egypt. Acad. J. Biolog. Sci, 10(1): 23- 37.

Ameliorative effects of fenugreek and peppermint against renal physiological and histological changes induced by sodium fluoride in male rabbits

Mohamed Omar Albasha[1], Azab Elsayed Azab[2], and Hanan KA Shalghoum[3]
[1] Department of Zoology, Alejelat Faculty of Science, Zawia University, Libya
[2] Department of Physiology, Faculty of Medicine, Sabratha University, Libya
[3] Department of Zoology, Faculty of Science, Zawia University, Libya
m.albasha@zu.edu.ly *, azabelsaied@yahoo.com**

Abstract:
This study aimed to evaluate the effect of sodium fluoride on the renal physiological and histological changes in adult male rabbits, and to assess the ameliorative effects of fenugreek and peppermint against these changes. This study included twenty-four adult male rabbits, which were divided into 4 groups, 6 rabbits for each. After thirty days, blood samples and kidney samples were taken for biochemical analysis and histological examination. Biochemical analyzes were performed to measure of the serum concentrations of urea, creatinine, uric acid, sodium, and potassium ions in all groups. The results of the study showed that the treatment of male rabbits with sodium fluoride resulted in a significant increase ($P<0.01$) in the serum concentration of urea, uric acid, creatinine, sodium, and potassium ions in rabbits treated with sodium fluoride only compared to the control group, and a significant decrease was observed ($P<0.01$) in these parameters in groups treated with fenugreek and peppermint compared to the sodium fluoride group, but these measurements did not reach normal levels in the control group. It was observed that there are a histological changes in the kidney tissues in sodium fluoride treated group compared with the control group. Treatment of animals with peppermint juice or fenugreek powder with an injection of sodium fluoride resulted in an improvement in the histological structure of the kidney tissues compared to the sodium fluoride group. The results showed that injection of rabbits with sodium fluoride led to serious changes in the function and histological structure of the kidney tissues, and the injection with sodium fluoride and treatment of fenugreek powder or peppermint juice led to improvement in the kidney function, and the histological structure of the kidney tissues, which regained their structural shape and regularity, it became closer to the control group.

Keywords: Sodium fluoride, Renal histological and physiological changes, Fenugreek, peppermint, Male rabbits