Menoufia Journal of Plant Protection

https:// mjpam.journals.ekb.eg/

Title of Thesis	**:**	Hematological and Immunological Alterations Induced by Certain Pesticides in Albino Rat (Rattus norvegicus)
Name of Applicant	**:**	Esraa Hassan Abdelwahab Hodhod
Scientific Degree	**:**	M.Sc.
Department	**:**	Pesticides
Field of study	**:**	Pesticides
Date of Conferment	**:**	Jan. 17 , 2024

Supervision Committee:

- Prof. Dr. I. M. Ammar : Prof. of Pesticides, Fac. of Agric., Menoufia Univ.
- Prof. Dr. A. Yousef : Prof. of Pesticides, Fac. of Agric., Menoufia Univ.
- Prof. Dr. S. S. Arafa : Lecturer of Toxicology – Depart. of Pesticides Fac. of Agric., Menoufia Univ.

SUMMARY

Aim of the study:

1- Investigation of the hematotoxicity of sulfoxaflor for a diversity of exposure duration, from short-term (acute, repeated, and sub-chronic) to long-term (chronic).
2- Investigation of the immunotoxicity of sulfoxaflor for a diversity of exposure duration, from short-term (acute, repeated, and sub-chronic) to long-term (chronic).
3- Evaluation the potential preventive effect of guava leaf extract against sulfoxaflor-induced toxicity.

Sulfoxaflor insecticide:

The trade name is Closer 240% suspension concentrate, and it belongs to the group of sulfoximines, which represent a new class of insecticides. It is an effective pesticide against a wide range of sap-feeding insects such as (aphids, mealybugs, and whiteflies) that infect vegetable and fruit crops such as (tomatoes, potatoes, cucumbers, wheat, barley, watermelon, and grapes). It acts as agonist to the nicotinic acetylcholine receptors of insects.

**In this thesis, the toxic effect of the pesticide sulfoxaflor on the blood and immune components in the body of the white mouse was studied, while clarifying the importance of *Pisidium guava* extract leaf extract as a protection for the body due to the possibility of reducing the toxic effect of this compound. The results showed the following:

Toxicological studies:

A toxicity profile was conducted for the pesticide sulfoxaflor, and its LD_{50} value was 4405 mg/kg. The sub-lethal doses in the experiments were chosen based on this dose, and from these experiments:

A) Acute toxicity experiment: the animals were exposed to a single dose of sulfoxaflor at 1100 mg/kg (1/25 LD_{50}), and the results were taken after 48 hours and 30 days of treatment.
B) Sub chronic toxicity experiment: the animals were exposed to two doses of sulfoxaflor at 147 and 88 mg/kg (1/30 and 1/50 LD_{50}), and the treatment was daily for 90 days.
C) Chronic toxicity experiment: the animals were exposed to two doses of sulfoxaflor at 147 and 88 mg/kg (1/30 and 1/50 LD_{50}), and the treatment was daily for 180 days.
D) Repeated toxicity experiment: in which the pesticide was used at a dose of 440.5 mg/kg (1/10 LD_{50}) and the treatment was carried out for 28 days. This experiment was divided into four treatments: the first was treated with guava leaf extract only, the second was treated with guava leaf extract an hour before treatment with the pesticide, the third was treated with the pesticide only, and the fourth is without treatment (control).

A) Acute toxicity: the single oral dose of sulfoxaflor at 1100 mg/kg (1/25 $LD_{50)}$ for 30 days:

1- Blood tests:

-HGB, RBCs, HCT and PLT were significantly decreased after 48 h from treatment then increased after 30 days from treatment.

-WBC were significantly increased after 48 h from treatment then decreased after 30 days from treatment.

2- Change in weight:

-The body weight was significantly increased at the end of the experiment with a decrease in the pesticide dose, but at a lower level than without treatment.

3- Histological studies:

Histopathological changes were observed in major organs, i.e., liver, thymus, lymph node, spleen, payer's patches and bone marrow after treatment with (1100 mg/kg) compared to control.

Liver:

Histopathological changes showing regularly arranged hepatocyte around slightly central vein lined by smooth endothelium, but still there are congested blood sinusoid and vacuolated cytoplasm of some hepatocyte.

Thymus:

Histopathological changes showing loss of demarcation between cortex and medulla.

Lymph node:

Histopathological changes showing thick capsule and regularly arranged lymphatic nodules there is some separation between the capsule and the follicle.

Spleen:

Histopathological changes showing slightly loss of demarcation between white pulp and red pulp.

Payer's patches:

Histopathological changes showing slightly disturbed patches.

Bone marrow:

Histopathological changes showing good architecture of the bone marrow tissue with blood cells and multiple fat cells in between.

B) Subchronic toxicity: (147 & 88 mg /kg) (1/ 30 & 1 /50 of sulfoxaflor for 90 days).

1- Blood tests:

HGB, RBCs, HCT, MCH, MCHC, WBCs, NEUT, Lymph, Mono,

Eo, Baso, CD4, CD8, CD19 and CD56 were decreased significantly in both doses of sulfoxaflor.

-PLT, Bleeding time and Clotting time were increased

Significantly in both doses of sulfoxaflor.

-ESR First hour and ESR Second hour were increased significantly in both doses of sulfoxaflor.

-RP and RC levels were increased significantly in both doses of sulfoxaflor.

- PT and APTT were increased significantly in both doses of sulfoxaflor.

2- Change in weight:

- The body weight was increased significantly at the end of the experiment with the lower dose of sulfoxaflor, but at a lower level than control.
- A decrease in the weight of thymus gland, while the weight of the liver and spleen were increased significantly with the increase in the dose of sulfoxaflor compared to control.

3- Biochemical studies:

Ferritin, LDH, Bili T, Fibrinogen and transferrin levels were increased in both doses of sulfoxaflor.

- VB12 and Haptoglobin levels were decreased significantly in both doses of sulfoxaflor.

IgA and IgM levels were decreased and IgG levels were increased significantly in both doses of sulfoxaflor.

4- Histological and Immunohistochemical studies:

Histopathological changes were observed in major organs, i.e., liver, thymus, lymph node, spleen payer's patches and bone marrow of all groups.

Liver:

Histopathological changes showing disturbed hepatic architecture with dilated central vein surrounded by cellular infiltration and congested blood sinusoid and hydropic degeneration in some areas comparing with control.

Thymus:

Histopathological changes showing loss of demarcation between cortex and medulla and widening of the septa between the lobules and sever congestion of the blood vessels comparing with control.

Lymph node:

Histopathological changes showing disturbed architecture with no demarcation between cortex and medulla and lost tissue and dilated sinusoid in between the cortical tissue and under the capsule, thick capsule also seen comparing with control.

Spleen:

Histopathological changes showing disturbed architecture with exhaustion of the lymphoid tissue of white pulp thick septa and disturbed lymphoid follicle comparing with control.

payer's patches:

Histopathological changes showing disturbed architecture with loss of lymphoid tissue in some areas and multiple congested blood vessels comparing with control.

Bone marrow:

Histopathological changes showing depletion of the bone marrow and lost tissue with disturbed bone marrow architecture comparing with control.

Immunohistochemical study: Immunohistochemical changes revealing that increasing the dose in the sub chronic group significantly upregulated the TNF–α brown immunoreaction comparing with control who showing mild reaction.

C) Chronic toxicity: (147&88 mg/kg) (1/30& 1/50 of sulfoxaflor for 180 days).

1- Blood tests:

-HGB, RBCs, HCT, RDW-CV, RDW-SD, MCH, MCHC, PLCR WBCs, NEUT, Lymph, Mono, Eo and Baso were decreased significantly in both doses of sulfoxaflor.

-PLT, RP and RC levels were decreased significantly in both doses of sulfoxaflor.

- PT and APTT were increased significantly in both doses of sulfoxaflor.

2- Change in weight:

- The body weight was increased significantly at the end of the experiment with the lower dose of sulfoxaflor, but at a lower level than control.
- The weight of thymus gland, and spleen were decreased, and the weight of the liver were increased significantly with the higher dose of sulfoxaflor compared to control.

3- Biochemical studies:

- TNF-α, IL-1β , IL-6 and LDH levels were increased significantly in both doses of sulfoxaflor.
- D-Dimer, ALT and AST levels were increased significantly in both doses of sulfoxaflor.
- Protein C and Protein S levels were decreased significantly in both doses of sulfoxaflor.

IgA, IgG and IgM levels were increased significantly in both doses of sulfoxaflor.

4- Histological and Immunohistochemical studies:

Histopathological changes were observed in major organs, i.e., liver, thymus, lymph node, spleen, payer's patches and bone marrow of all groups.

Liver:

Histopathological changes showing disturbed hepatic architecture with dilated congested central vein surrounded by cellular infiltration and congested blood sinusoid and sever hyperplasia of Kupffer cells with sever hydropic degeneration in some areas comparing with control.

Thymus:

Histopathological changes showing necrosis in cortical lymphocytes and depletion in medulla with sever congestion of the blood vessels comparing with control.

Lymph node:

Histopathological changes showing disturbed architecture with no demarcation between cortex and medulla and dilated sinusoid in between the cortical tissue comparing with control.

Spleen:

Histopathological changes showing disturbed architecture with exhaustion of the lymphoid tissue of white pulp and lymphoid depletion comparing with control.

payer's patches:

Histopathological changes showing disturbed architecture with depletion of lymphoid tissue in some areas comparing with control.

Bone marrow:

Histopathological changes showing disturbed architecture with depletion of the bone marrow and lost tissue comparing with control.

Immunohistochemical study: Immunohistochemical changes revealing that increasing the dose in the sub chronic group significantly upregulated the TGF β1 brown immunoreaction comparing with control who showing mild reaction.

5-Electron microscope histology:

Electron histopathological changes were observed in major organs, i.e., liver, thymus and lymph node of all groups.

Liver:

Electron histopathological changes showing small electron dense nucleus lined with very condensed chromatin, dilated irregular rough endoplasmic reticulum and degenerated mitochondria comparing with control.

Thymus:

Electron histopathological changes showing lymphocyte with small irregular electron dense nucleus rich in condensed heterochromatin with very degenerated mitochondria comparing with control.

Lymph node:

Electron histopathological changes showing lymphocyte with shrinked irregular shaped nucleus and plasma cell with irregular nucleus surrounded by very dilated rough endoplasmic reticulum comparing with control.

D) Repeated toxicity: 440.5 mg/kg (1/10 LD_{50} of sulfoxaflor)and the protective effect of *Pisidium guava* extract at 250 mg/kg for 28 days

1- Blood tests:

- HGB, RBCs, WBCs, NEUT, Lymph Mono, EO, Baso, HCT and PLT were decreased significantly in the treated animals with sulfoxaflor only comparing with the control.
- PT and APTT were increased significantly in the treated animals with sulfoxaflor only comparing with the control.
- *Pisidium guava* extract have a protective effect on toxicity induced by sulfoxaflor.

2- Change in weight:

- The body weight was significantly increased at the end of the experiment in mice treated with *Pisidium guava* extract 1h before SFX compared to those treated with sulfoxaflor only.
-The weight of the spleen and thymus gland were decreased significantly, with an increase in the weight of the liver in mice treated with sulfoxaflor only compared to control.

3- Biochemical studies:

- MDA levels were increased, CAT, GSH, GPX and GST levels were decreased significantly the treated animals with sulfoxaflor only comparing with the control.
- *Pisidium guava* extract have a protective effect on toxicity induced by sulfoxaflor.

4- Histological studies:

Histopathological changes were observed in major organs, i.e., liver, thymus, lymph node, spleen payer's patches and bone marrow of all groups.

Liver:

The treatment of *Pisidium guava* extract 1h before sulfoxaflor treated showing regularly arranged hepatic cords around slightly congested central vein while the treatment of pesticide showing disturbed hepatic architecture with dilated congested central vein surrounded by cellular infiltration and dilated blood sinusoid and hydropic degeneration in some areas comparing with control.

Thymus:

The treatment of *Pisidium guava* extract 1h before sulfoxaflor treated showing good demarcation between cortex and medulla more or less like control group while the treatment of pesticide showing disturbed architecture with lost tissue and loss demarcation between cortex and medulla comparing with control.

Lymph node:

The treatment of *Pisidium guava* extract 1h before SFX treated showing thick capsule, good demarcation of the lymphoid follicles while the treatment of pesticide showing disturbed architecture with very thin capsule with disturbed lymphoid tissue comparing with control.

Spleen:

The treatment of *Pisidium guava* extract 1h before sulfoxaflor treated showing good demarcation between white and red pulp while the treatment of pesticide showing disturbed architecture with lost lymphoid tissue comparing with control.

Payer's patches:

The treatment of *Pisidium guava* extract 1h before sulfoxaflor treated showing thick capsule regularly arranged lymphoid follicles more or less like control group while the treatment of pesticide showing disturbed architecture with destruction of intestinal lumen comparing with control.

Bone marrow:

The treatment of *Pisidium guava* extract 1h before sulfoxaflor treated showing good architecture of the bone marrow tissue more or less like control group while the treatment of pesticide showing lost cells and tissue comparing with control.

5- GC-MS analysis of *Pisidium guava* extract

The chemical component of *Pisidium guava* extract was identified using GC mass. The chemical components were bicyclo [7.2.0] undec-4-ene,4,11,11trimethyl-8-methylene[1R-(1R,4E,9S)](Caryo-phyllene), Aromandendrene and Globulol

عنوان الرسالة: التغيرات الناتجة عن بعض المبيدات على الدم و المناعة في الجرذ الأبيض
اسم الباحث : إسراء حسن عبدالوهاب هدهد
الدرجة العلمية: الماجستير فى العلوم الزراعية
القسم العلمى : مبيدات الآفات
تاريخ موافقة مجلس الكلية : ٢٠٢٤/١/١٧
لجنة الإشراف:
أ.د. إبراهيم محمود عمار أستاذ مبيدات الافات، كلية الزراعة، جامعة المنوفية
أ.د. عادل غطاس يوسف أستاذ مبيدات الآفات، كلية الزراعة، جامعة المنوفية
أ.د. سماح سعيد عرفـــه مدرس المبيدات، كلية الزراعة، جامعة المنوفية

الملخص العربي

الهدف من الدراسة :

١- دراسة السمية الدموية للسلفوكسافلور في فترات تعرض متنوعة من المدي القصير (السمية الحادة ، السمية المتكررة ، السمية شبه المزمنة) إلي المدي الطويل (السمية المزمنة) .
٢- دراسة السمية المناعية للسلفوكسافلور في فترات تعرض متنوعة من المدي القصير (السمية الحادة ، السمية المتكررة ، السمية شبه المزمنة) إلي المدي الطويل (السمية المزمنة) .
٣- تقييم التأثير الوقائي المحتمل لمستخلص أوراق الجوافة ضد التسمم الناتج عن السلفوكسافلور.

مبيد السلفوكسافلور :

الاسم التجاري له كلوزر ٢٤٠% مركز معلق وهو يتبع مجموعة السلفوكسيمينات التي تمثل فئة جديدة من المبيدات الحشرية. وهو مبيد فعال ضد مجموعة واسعة من الحشرات الثاقبة مثل (المن ،البق الدقيقي ،الذبابة البيضاء) التي تصيب محاصيل الخضر والفاكهة مثل (الطماطم، البطاطس، الخيار، القمح، الشعير، البطيخ، العنب). ويعمل كمشابه لمستقبلات الاستيل كولين النيكوتين للحشرات.

**تم في هذه الأطروحة دراسة التأثير السام لمبيد السلفوكسافلورعلى مكونات الدم والمناعة في جسم الفأر الأبيض مع توضيح أهمية مستخلص أوراق الجوافة كحماية للجسم لإمكانية تقليل التأثير السام لهذا المركب وقد أوضحت النتائج ما يلي:

الدراسات التكسوكولوجية :

تم عمل خط سمية لمبيد السلفوكسافلور وكانت قيمة الجرعة النصفية له ٤٤٠٥ مجم /كجم. وتم اختيار الجرعات تحت المميتة في التجارب بناءًا علي هذه الجرعة ومن هذه التجارب :

أ – تجربة السمية الحادة وفيها تم تعريض الحيوانات لجرعة واحدة من المبيد مقدارها ١١٠٠مجم/ كجم (١/ ٢٥ من الجرعة النصفية) مرة واحدة وأخذت النتائج بعد ٤٨ساعة و٣٠ يوم من المعاملة.

ب – تجربة السمية تحت المزمنة وفيها تم تعريض الحيوانات لجرعتين مقدارهم ٨٨،١٤٧مجم/ كجم (٣٠/١، ٥٠/١ من الجرعة النصفية) وكانت المعاملة يوميا لمدة ٩٠يوم .

ج – تجربة السمية المزمنة وفيها تم تعريض الحيوانات لجرعتين مقدارهم ٨٨،١٤٧مجم/ كجم (٣٠/١، ٥٠/١ من الجرعة النصفية) وكانت المعاملة يوميا لمدة ١٨٠يوم.

د – تجربة السمية المتكررة وفيها استخدم المبيد بجرعة مقدارها ٤٤٠.٥ مجم/ كجم (١٠/١من الجرعة النصفية) وتمت المعاملة لمدة ٢٨يوم قسمت هذه التجربة إلي أربعة معاملات: الأولي عوملت بمستخلص ورق الجوافة فقط والثانية عوملت بمستخلص ورق الجوافة قبل المعاملة بالمبيد بساعة و الثالثة عوملت بالمبيد فقط والرابعة بدون معاملة (كنترول).

أ) **السمية الحادة :تم فيها المعاملة بجرعة مقدارها ١١٠٠مجم/ كجم (٢٥/١من الجرعة النصفية المميتة) وكانت النتائج كالتالى :**

١. تحاليل الدم :

- انخفض الهيموجلوبين وعدد كرات الدم الحمراء والهيماتوكريت والصفائح الدموية معنويا بعد ٤٨ ساعة من المعاملة ثم زاد كلا منهم بعد ٣٠ يوم من المعاملة .
- زاد عدد كرات الدم البيضاء معنويا بعد ٤٨ ساعة من تطبيق المعاملة ثم انخفضت بعد ٣٠ يوم من المعاملة.

٢. التغير فى الوزن :

- زاد الوزن الكلي للجسم معنويا في نهاية التجربة مع الجرعة المنخفضة من المبيد ولكن بمستوي أقل من الغير معامل .

٣ . الدراسات الهستولوجية :

لوحظ تغيرات نسيجية مرضية في الأعضاء الرئيسية ، مثل الكبد ، والغدة الثيموسية ، والعقد الليمفاوية ، وعقد باير والطحال ونخاع العظام بعد المعاملة ب ١١٠٠مجم/ كجم مقارنة بالغير معامل.

الكبد :

ظهور خلايا كبدية مرتبة بانتظام حول الوريد المركزي وتصطف على جانبيه بطانة ناعمة ولكن لا يزال هناك دم محتقن جيبي وسيتوبلازم فارغ في بعض خلايا الكبد.

الغدة الثيموسية :

فقدان الترسيم (الحدود) بين القشرة والنخاع .

العقد الليمفاوية:

تظهر العقد الليمفاوية كبسولة سميكة وعقيدات ليمفاوية مرتبة بانتظام، وهناك بعض الانفصال بين الكبسولة والمسام .

الطحال:

ظهور فقد طفيف للحدود بين اللب الأبيض واللب الأحمر.

عقد باير :

ظهور اضطراب قليل في عقد باير.

نخاع العظم:

ظهور بنية جيدة لأنسجة نخاع العظم مع خلايا الدم والخلايا الدهنية المتعددة بينهما.

<u>ب) السمية تحت المزمنة: تم فيها المعاملة بجرعتين مقدارهم ١٤٧و٨٨م</u>

<u>جم/كجم (٣٠/١&٥٠/١ من الجرعة النصفية المميتة) يوميا لمدة ٩٠يوم مقارنة بالغير معامل أوضحت النتائج الآتى:</u>

١. تحاليل الدم :

- انخفاض الهيموجلوبين وكرات الدم الحمراء و الهيماتوكريت، ومتوسط حجم الهيموجلوبين، ومتوسط تركيز الهيموجلوبين وكرات الدم البيضاء وأنواعها بالإضافة إلى انخفاض فى تعبير أنواع كرات الدم البيضاء الليموفيست و أنواع الخلايا الفاتكة الطبيعية (CD4 و CD8 و CD19 و CD56) معنويا فى الفئران التى تم معاملتها بالجرعتين مقارنة بالغير معامل.
- ازدياد عدد الصفائح الدموية و وقت النزيف و وقت التجلط معنويا في كل من الجرعتين مقارنة بالغير معامل.
- ارتفاع نسبة الخلايا الشبكية وعدد الخلايا الشبكية معنويا في كل من الجرعتين مقارنة بالغير معامل .
- ازدياد معدل الترسيب في الساعة الأولي والثانية معنويا في كل من الجرعتين مقارنة بالغير معامل .
- ازدياد وقت البروثرومبين ووقت الثرومبوبلاستين معنويا في كل من الجرعتين مقارنة بالغير معامل .

٢. التغير فى الوزن:

- زاد الوزن الكلي للجسم معنويا في نهاية التجربة مع الجرعة الأقل للمبيد ولكن بمستوى أقل من الغير معامل .
- انخفاض وزن الغدة الثيموسية، بينما زاد وزن كلا من الكبد والطحال معنويا مع ازدياد جرعة المبيد مقارنة بالغير معامل.

٣. الدراسات البيوكيمائية:

- ازدياد مستوي الفيريتين ولاكتات ديهدروجينيز والفبرينوجين والترانسفرين والبيلروبين الكلي مع كل من الجرعتين مقارنة بالغير معامل.
- انخفاض مستوى الغلوبولين المناعي IgM و IgA و ارتفاع مستوى IgG معنويا في كل من الجرعتين.
- انخفاض مستوي الهابتوجلوبين وفيتامين ب١٢ مع كل من الجرعتين مقارنة بالغير معامل.

٤. الدراسات الهستولوجية والهستوكيمائية المناعية:

لوحظ تغيرات نسيجية مرضية في الأعضاء الرئيسية مثل الكبد، والغدة الثيموسية، والعقد الليمفاوية، وعقد باير والطحال ونخاع العظام مع كل من الجرعتين مقارنة بالغير معامل كما يلي:

الكبد:

ظهراضطراب في نسيج الكبد مع إتساع الوريد المركزي المحاط بالإرتشاح الخلوي واحتقان اشباه الجيوب الكبدية والتنكس المائي في بعض المناطق.

الغدة الثيموسية:

فقدان الترسيم بين القشرة والنخاع واتساع الحاجز بينها واحتقان شديد في الأوعية الدموية.

العقد الليمفاوية :

اضطراب في النسيج مع عدم وجود ترسيم بين القشرة والنخاع والأنسجة المفقودة والجيوب المتسعة بين الأنسجة القشرية وتحت الكبسولة ، كما شوهدت الكبسولة سميكة.

الطحال :

ظهر اضطراب مع استنفاد النسيج الليمفاوي للحواجز السميكة من اللب الأبيض واضطراب المسام الليمفاوية.

عقد باير :

ظهور بنية مضطربة مع فقدان الأنسجة اللمفاوية في بعض المناطق وازدحام الأوعية الدموية المتعددة.

نخاع العظم :

ظهوراستنفاد نخاع العظام وفقدان الأنسجة مع اضطراب في بنية نخاع العظم.

- **<u>في الدراسة الهيستوكيميائية المناعية</u>** أوضحت النتائج أن زيادة الجرعة يؤدي إلى زيادة تعبيرعامل نخر الورم ألفا بشكل كبير مقارنةً بالغير معامل الذي أظهر تفاعلً خفيفً.

<u>ج) السمية المزمنة: تم فيها المعاملة بجرعتين مقدارهم ١٤٧و ٨٨مجم/كجم (١/ ٣٠&١/٥٠من الجرعة النصفية المميتة) يوميا لمدة ١٨٠يوم مقارنة بالغير معامل أوضحت النتائج أن :</u>

١. تحاليل الدم :

- انخفاض الهيموجلوبين وعدد كرات الدم الحمراء والهيماتوكريت وتوزيع خلايا الدم الحمراء ومتوسط الهيموجلوبين، ومتوسط تركيز الهيموجلوبين ونسبة الخلايا الكبيرة للصفائح الدموية وعدد كرات الدم البيضاء وأنواعها معنويا مع كل من الجرعتين .
- انخفاض الصفائح الدموية و نسبة الخلايا الشبكية وعددها معنويا مع كل من الجرعتين.

- ازدياد وقت البروثرومبين و وقت الثرومبوبلاستين معنويا مع كل من الجرعتين.

٢. التغير فى الوزن:

- زاد الوزن الكلي للجسم معنويا في نهاية التجربة مع الجرعة الأقل من المبيد ولكن بمستوى أقل من الغير معامل .
- انخفاض وزن كلا من الغدة الثيموسية والطحال وازدياد وزن الكبد معنويا مع الجرعة الأعلي من المبيد مقارنة بالغير معامل.

٣.الدراسات البيوكيمائية :

- ازدياد معدل عامل نخر الورم ألفا وانترلوكين ١ بيتا وانترلوكين ٦ ولاكتات ديهيدروجينيز معنويا مع كل من الجرعتين.
- ازدياد د-ديمر وإنزيمات الكبد (أسبرتات أمينو ترانسفيراز و الانين أمينو ترانسفيراز) معنويا مع كل من الجرعتين.
- انخفاض بروتين سي و إس معنويا مع كل من الجرعتين.
- ارتفاع مستوى الغلوبولين المناعي IgG و IgA و IgM معنويا مع كل من الجرعتين.

٤.الدراسات الهستولوجية والهستوكيمائية المناعية:

لوحظ تغيرات نسيجية مرضية في الأعضاء الرئيسية مثل الكبد، والغدة الثيموسية، والعقد الليمفاوية، وعقد باير والطحال ونخاع العظام مع كل من الجرعتين مقارنة بالغير معامل كما يلي.

الكبد :

ظهرت التغيرات النسيجية المرضية في بنية الكبد المضطربة مع اتساع في الوريد المركزي المزدحم المحاط بالتليف الخلوي واحتقان في الجيوب الكبدية بالدم وتضخم شديد لخلايا كوبفر مع جفاف مائي شديد في بعض المناطق.

الغدة الثيموسية :

ظهر تنخر في الخلايا الليمفاوية القشرية ونضوب في النخاع مع احتقان شديد في الأوعية الدموية.

العقد الليمفاوية :

ظهر في بنية العقد الليمفاوية اضطراب مع عدم وجود ترسيم بين القشرة والنخاع والجيوب المتسعة بين الأنسجة القشرية.

الطحال:

ظهر في بنية الطحال اضطراب مع استنفاد الأنسجة اللمفاوية للب الأبيض ونضوب اللمفاويات.

عقد باير :

ظهراضطراب في البنية مع نضوب الأنسجة اللمفاوية في بعض المناطق.

نخاع العظم :

ظهر في نخاع العظم اضطراب للبنية مع نضوب نخاع العظام وفقدان الأنسجة .

- **<u>في الدراسة الهيستوكيميائية المناعية</u>** ظهر أن زيادة الجرعة يؤدي إلى زيادة تعبير TGF beta 1 بشكل كبير مقارنةً بالغير معامل الذي أظهر تفاعلً خفيفً.

٥. دراسة الأنسجة بالميكروسكوب الإلكتروني:

لوحظت تغيرات الكتروهيستوباثولوجية في الأعضاء الرئيسية مثل الكبد ، والغدة الثيموسية ، والعقد الليمفاوية في كل من الجرعتين مقارنة بالغير معامل.

الكبد:

أظهرت التغيرات النسيجية المرضية نواة صغيرة كثيفة الإلكترون مبطنة بالكروماتين المكثف للغاية، والشبكة الإندوبلازمية الخشنة غير المنتظمة المتسعة والميتوكوندريا المتدهورة.

الغدة الثيموسية:

أظهرت التغيرات النسيجية المرضية الخلايا الليمفاوية مع نواة صغيرة غيرمنتظمة كثيفة الإلكترون غنية بالكروماتين المغاير المكثف مع الميتوكوندريا المتدهورة للغاية.

العقد الليمفاوية:

أظهرت التغيرات النسيجية المرضية الخلايا الليمفاوية مع نواة غير منتظمة الشكل متقلصة وخلية بلازما ذات نواة غير منتظمة محاطة بشبكة إندوبلازمية خشنة متسعة للغاية.

د) السمية المتكررة : تم فيها المعاملة بمبيد السلفوكسافلور بجرعة مقدارها ٤٤٠.٥ مجم/ كجم (١٠/١ من الجرعة النصفية) لمدة ٢٨يوم و تأثير المعاملة بمستخلص أوراق الجوافة بجرعة مقدارها ٢٥٠ مجم /كجم على حماية الجسم من سمية السلفوكسافلور ، كانت النتائج كالآتى :

١ . تحاليل الدم :

- إنخفاض الهيموجلوبين وعدد كرات الدم الحمراء وعدد كرات الدم البيضاء وأنواعها و إنخفاض الهيماتوكريت و قلة عدد الصفائح الدمويه معنويا عند معاملة الفئران بالمبيد فقط مقارنه بالغير معامل.
- ارتفاع وقت البروثرومبين ووقت الثرومبوبلاستين معنويا عند معاملة الفئران بالمبيد فقط مقارنه بالغير معامل .
- عند معاملة الفئران بمستخلص اوراق الجوافه قبل المبيد بساعه تم تحسين جميع النتائج و كانت متقاربه بالغيرمعامل.

٢. التغير فى الوزن:

- زاد الوزن الكلي للجسم معنويا في نهاية التجربة في الفئران المعاملة بمستخلص اوراق الجوافة قبل المبيد بساعة مقارنة بالمعامل بالمبيد فقط .
- انخفض وزن كلا من الطحال والغدة الثيموسية مع زيادة في وزن الكبد معنويا في الفئران المعاملة بالمبيد فقط مقارنة بالغير معامل.

٣. الدراسات البيوكيمائية:

- ارتفاع نسبة البروكسيد للدهون وانخفاض نسبة كلا من الكاتالازوجلوتاثيون إس ترانسفيرازو جلوتاثيون بيروكسيدازوجلوتاثيون معنويا عند المعاملة بالمبيد فقط مقارنه بالغير معامل .
- عند معاملة الفئران بمستخلص اوراق الجوافه قبل المبيد بساعه تم تحسين جميع النتائج و كانت قريبة من الغيرمعامل.

٤. الدراسات الهستولوجية:

لوحظت تغيرات نسيجية مرضية في الأعضاء الرئيسية مثل الكبد، والغدة الثيموسية، والعقد الليمفاوية، وعقد باير والطحال ونخاع العظام بعد المعاملة ب ٤٤٠.٥مجم/ كجم (١٠/١من الجرعة النصفية) ومستخلص أوراق الجوافة 250 مجم/ كجم وكانت النتائج كالآتي.

الكبد :

أوضحت النتائج أن الفئران المعاملة بالمبيد + مستخلص أوراق الجوافة حبال كبدية مرتبة بشكل منتظم حول الوريد المركزي المزدحم قليلاً بينما الأفراد المعاملة بالمبيد فقط ظهر عليها بنية كبدية مضطربة مع وريد مركزي مزدحم متسع محاط بالتليف الخلوي وتوسع الجيوب الكبدية و احتقانها بالدم والتنكس والجفاف المائي في بعض المناطق مقارنة بالغير معامل .

الغدة الثيموسية :

أوضحت النتائج أن الفئران المعاملة بالمبيد + مستخلص أوراق الجوافة ترسيمًا جيدًا بين القشرة المخية والنخاع يشبه إلى حد ما مجموعة الكنترول بينما الأفراد المعاملة بالمبيد فقط ظهرعليها اضطرابًا في البنية مع فقدان الأنسجة وفقد الترسيم بين القشرة والنخاع مقارنةً بالغير معامل .

العقد الليمفاوية :

أوضحت النتائج أن الفئران المعاملة بالمبيد + مستخلص أوراق الجوافة كبسولة سميكة ، ترسيم جيد للحويصلات اللمفاوية بينما الأفراد المعاملة بالمبيد فقط ظهرعليها بنية مضطربة مع كبسولة رفيعة للغاية مع أنسجة ليمفاوية مضطربة مقارنة بالغير معامل .

الطحال :

أوضحت النتائج أن الفئران المعاملة بالمبيد + مستخلص أوراق الجوافة تماسًا جيدًا بين اللب الأبيض والأحمر بينما الأفراد المعاملة بالمبيد فقط ظهرعليها اضطرابًا في البنية مع فقدان الأنسجة اللمفاوية مقارنةً بالغير معامل.

عقد باير :

أوضحت النتائج أن الفئران المعاملة بالمبيد + مستخلص أوراق الجوافة كبسولة سميكة بانتظام حويصلات ليمفاوية مرتبة بشكل أو بآخر تشبه مجموعة الكنترول بينما الأفراد المعاملة بالمبيد فقط ظهرعليها اضطرابًا في البنية مع تدمير تجويف الأمعاء مقارنة بالغير معامل .

نخاع العظم:

أوضحت النتائج أن الفئران المعاملة بالمبيد + مستخلص أوراق الجوافة بنية جيدة لنخاع العظام تشبه إلى حد ما مجموعة الكنترول بينما ظهرت في الأفراد المعاملة بالمبيد فقط الخلايا والأنسجة المفقودة مقارنة بالغير معامل .

٥- تحليل الكروماتوجرافيا الغازي لمستخلص أوراق الجوافة :

تم التعرف على المكون الكيميائي لمستخلص أوراق الجوافة باستخدام الكروماتوجرافيا الغازي. وكانت المركبات الكيمائية:

bicyclo [7.2.0] undec-4-ene,4,11,11 trimethyl-8-methylene-,[1R-(1R,4E,9S)](Caryophyllene), Aromandendrene and Globulol