مطالعه تجربی تأثیرات محافظتی مصرف قرص‌های تجاری عصاره سیر در مسمومیت کبدی ناشی از کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی

محمدرضا محمدی ملایری[1*]، رضا صداقت[2]، امید مجرد[3]، محی الدین همتی[3]

۱ـ استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار ـ ایران.

۲ـ استادیار گروه علوم تشریح و پاتولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران ـ ایران.

۳ـ دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار ـ ایران.

*نویسنده مسئول: Mmalayeri@Iau-garmsar.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۵ بهمن ۸۹ ، پذیرش نهایی: ۱۸ شهریور ۹۰

چکیده

کادمیوم از آلاینده‌های محیطی مهم محسوب می‌گردد و واجد تأثیرات سمی متنوع می‌باشد. در این مطالعه نقش یکی از قرص‌های تجاری عصاره سیر در پیشگیری از تأثیرات سمی کادمیوم بر کبد موش صحرایی مورد ارزیابی واقع گردید. به این منظور پنج گروه مطالعه و در هر گروه شش رت مطابق با الگوی تحقیقات گذشته (۷) در نظر گرفته شد. گروه‌های مطالعه شامل سرم فیزیولوژی (کنترل منفی)، کادمیوم (کنترل مثبت)، عصاره‌سیر (کنترل تیمار)، کادمیوم و عصاره‌سیر با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (تیمار ۱)، کادمیوم و عصاره‌سیر با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (تیمار ۲) بودند. روزانه کادمیوم کلراید به میزان ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌شکل زیر جلدی تزریق می‌گردید و عصاره‌سیر روزانه به‌شکل مخلوط در روغن ذرت به وسیله گاواژ به داخل حلق خورانده می‌شد. طول دوره مطالعه چهار هفته بود. آنزیم‌های کبدی سرم خون شامل ALT، AST در موش‌های دریافت کننده کادمیوم به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش نشان دادند و متقابلاً تجویز عصاره‌سیر به طور معنی دار منجر به کاهش میزان این آنزیم‌ها گردید. تورم سلولی تنها تغییر آسیب‌شناسی مشاهده‌شده در کبد موش‌های دریافت کننده کادمیوم بود و حال آنکه هیچ‌گونه تغییر مشخصی در کبد موش‌های دریافت کننده دوزهای پیش‌گیرانه عصاره‌سیر مشاهده نگردید. نتایج این مطالعه نقش پیش‌گیرانه مصرف قرص تجاری عصاره‌سیر مذکور را در مسمومیت حاصل از کادمیوم خوراکی اثبات می‌نماید. پژوهشنامه دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۷، شماره ۲، ۷۰-۶۵.

واژه‌های کلیدی: مسمومیت کبدی، عصاره سیر، کادمیوم، هیستوپاتولوژی.

An experimental study of protective effects of commercial garlic extracts tablets consumption on cadmium chloride hepatotoxicity in rats

Mohammadi Malayeri, M. R.[1*], Sedaghat, R.[2], Mojarrad, O.[3], Hemmati, M.[3]

[1]*Pathobiology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Garmsar - Iran.*

[2]*Department of Anatomy and Pathology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran - Iran.*

[3]*Graduated Student, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Garmsar, Branch, Garmsar - Iran.*

Abstract

Cadmium is known as one of the most important environmental contaminants. It has many toxic effects on beings. The aim of the research was studding the role of one of the commercial garlic tablets in prevention of cadmium hepatotoxicity in rats. For this purpose, 30 rats were randomly divided into five groups of six animals each. The study groups were known as normal saline group, cadmium group 3mg / kg , garlic group 100mg / kg, cadmium 3 mg / kg + garlic extract 50 mg / kg, and cadmium 3 mg / kg + garlic extract 100 mg / kg. Cadmium chloride was administered subcutaneously a dose per day although the mixture of garlic extract and corn oil was gavaged a dose per day. The study period continued for four weeks. The results revealed that serum ALT and AST increased in rats which received only cadmium chloride, whereas the garlic extract administration significantly decreased them in cadmium + garlic extract groups. Cellular swelling was the only obvious pathologic change in the livers which got toxic by cadmium. However, there were no obvious change in the livers of the rats that received preventive garlic extract doses . it was concluded that the commercial garlic extract tablet can prevent the hepatotoxic effects of cadmium chloride consumption. ***Vet. Res. Bull. 7,2:65-70, 2012.***

Keywords: Hepatotoxicity, cadmium, garlic extract,histopathology.

مقدمه

کادمیوم از آلاینده‌های محیطی بوده و جزء فهرست ۱۲۶ عنصر برتر آلوده کننده محیطی محسوب میگردد . کارکنان صنایع باطری سازی، رنگ سازی، تهیه روغن، ذوب فلزات و معادن در معرض آلودگی به این فلز می‌باشند (۹). دود حاصل از آتش سوزی جنگل‌ها و گازهای آتشفشانی از جمله منابع مهم آلوده کننده هوا محسوب گردیده و باد نیز در انتشار آن به مناطق دیگر مؤثر می‌باشد. لذا استنشاق هوای آلوده و دود سیگار منجر به آلودگی تنفسی این فلز در انسان می‌گردد(۱۱و۹). در مجموع غذا و دود سیگار از بزرگترین منابع آلودگی انسان به فلز کادمیوم شناخته شده است (۱۱).

تجمعات داخل سلولی کادمیوم منجر به ایجاد ضایعات در اندام‌هایی مانند کبد، کلیه، ریه، مغز، بیضه، جفت و غیره می‌شود. بیشترین غلظت کادمیوم در روده و سپس در کبد و کلیه تشخیص داده شده است؛ ضمن اینکه نیمه عمر کادمیوم در بدن طولانی بوده و در حدود ۳۰-۱۰ سال تخمین زده می‌شود که معرف ویژگی تجمعی آن در سلول‌های بدن و عدم تأثیر مکانیسم‌های سم زدایی بر روی این فلز می‌باشد(۹و۳). در بررسی میکروسکوپی کبد موش‌های مبتلا به مسمومیت با کادمیوم ضایعاتی مانند نکروزهای کانونی، تجمع سلول‌های التهابی، تشکیل دیو سلول‌ها و اتساع سینوزوئیدها گزارش گردیده است (۷).

سیر از جمله گیاهانی است که بدلیل دارا بودن ترکیبات شیمیایی مفید متعدد از زمان باستان بطور وسیع بعنوان دارو مورد استفاده قرار میگرفته است. ازجمله ترکیبات موجود در این گیاه ماده‌ای بنام آلیسین بوده که واجد خواص ضد میکروبی و ضد قارچی می‌باشد(۵).

از جمله ترکیبات شناخته شده دیگر در این گیاه sulfide diallyl tetra می‌باشد که خواص متعددی از جمله آنتی اکسیدانی، ضد موتاسیون زایی و سم زدایی (detoxification) به آن نسبت داده شده است (۷).

در مطالعه‌ای که پیش از این تحقیق صورت گرفته بود تأثیرات محافظتی دی آلیل تتراسولفید در پیشگیری از ضایعات حاصل از مسمومیت با کادمیوم اثبات گردیده بود(۹و۷).

با توجه به گسترش تولید گیاهان دارویی در کشور از جمله عصاره سیر که بشکل قرص در دسترس می‌باشد، مطالعه حاضر به بررسی تأثیر پیشگیرانه یکی از این قرص‌های تجاری تحت عنوان گارلت ساخت شرکت داروسازی امین از طریق ارزیابی شاخص‌های میکروسکوپی و سرمی می‌پردازد. قرص سیر حاوی پودر سیر خشک شده است که بهترین شکل دارویی آن بوده و خواص شبیه به سیر تازه را دارا می‌باشد (۵و۴،۲،۱).

در صورت اثبات وجود تأثیرات مثبت این شکل دارویی از عصاره سیر در پیشگیری از ضایعات حاصل از مسمومیت با کادمیوم و با توجه به وجود منابع آلوده کننده متنوع و بسیار کادمیوم در محیط زندگی انسان، مصرف مداوم اینگونه عصاره دارویی می‌تواند بعنوان یکی از استراتژی‌های پیشگیرانه در سطح جوامع مطرح گردد.

مواد و روش کار

تعداد ۳۰ سر موش صحرایی با وزنی ما بین ۲۲۰-۲۰۰ گرم از انستیتو رازی خریداری و در قفس‌های پلی پروپیلن حیوان خانه دانشکده در شرایط استاندارد آزمایشگاهی نگهداری شدند. موش‌ها دسترسی آزاد به آب آشامیدنی و غذای استاندارد داشتند.

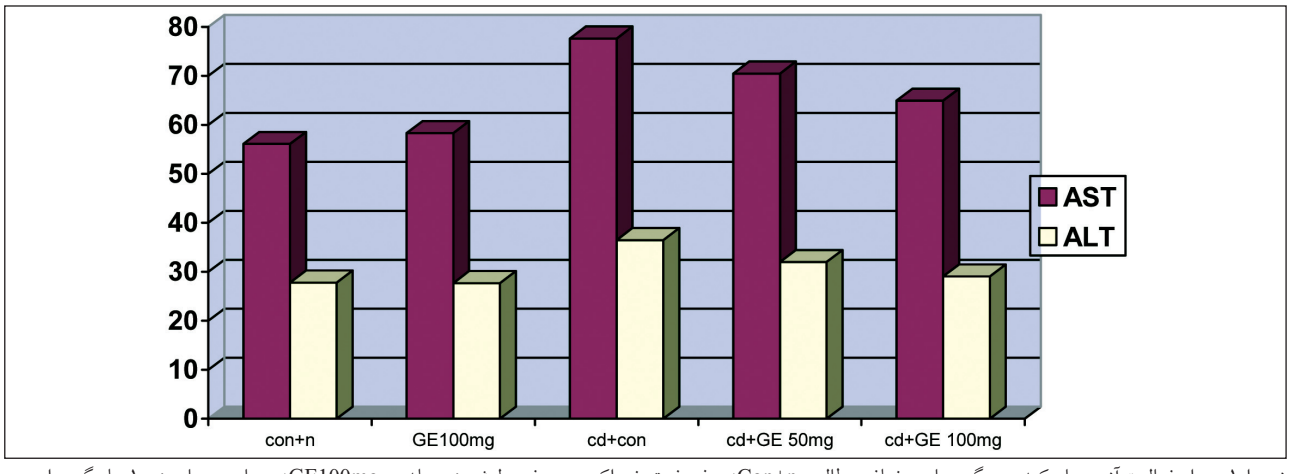
با توجه به اینکه استفاده از عصاره کامل سیر مد نظر می‌بود و همینطور در دسترس و فراهم بودن عصاره فوق بشکل قرص، از این محصول با نام تجاری گارلت در تحقیق حاضر استفاده شد. هر قرص حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم پودر سیر و محتوی بیش از ۱۲۰۰ میلی‌گرم آلیسین بود. بمنظور القاء مسمومیت در موش‌های صحرایی از کادمیوم کلراید ساخت شرکت مرک آلمان استفاده شد. بمنظور ایجاد گروه‌های مطالعه، موش‌ها بطور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند که در هر گروه شش موش قرار می‌گرفتند . طول دوره مطالعه چهار هفته بود.

در گروه اول هر یک از حیوانات این گروه تنها سرم فیزیولوژی را بصورت زیر جلدی و همینطور ۲ میلی لیتر روغن ذرت بوسیله لوله مری دریافت کردند.

درگروه دوم، حیوانات عصاره سیر با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را بصورت مخلوط با ۲ میلی لیتر روغن ذرت از طریق لوله مری دریافت کردند.

در گروه سوم حیوانات روزانه ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کلرید کادمیوم محلول در سرم فیزیولوژی استریل بصورت زیر جلدی دریافت کردند.

حیوانات گروه چهارم روزانه ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کلرید کادمیوم بصورت زیر جلدی و ۵۰ میلی‌گرم به ازای



نمودار ۱- میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی در گروه‌های مختلف مطالعه. Con+n: روغن ذرت خوراکی و سرم فیزیولوژی زیرجلدی، GE100mg: عصاره سیر با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن، cd+con: ۳ میلی‌گرم کادمیوم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و روغن ذرت بصورت خوراکی، Cd+GE 50 mg: ۳ میلی‌گرم کادمیوم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و ۵۰ میلی‌گرم عصاره سیر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن. cd+GE100mg: ۳ میلی‌گرم کادمیوم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره سیر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن.

هر کیلوگرم وزن بدن عصاره سیر بصورت مخلوط با ۲ میلی لیتر روغن ذرت دریافت کردند.

و نهایتاً گروه پنجم روزانه ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کلرید کادمیوم و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن عصاره سیر دریافت نمودند.

در انتهای دوره مطالعه حیوانات به طریقه جدا کردن سر کشته شدند. در ادامه نمونه‌های خون جمع آوری شده و پس از جدا نمودن سرم جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های سرمی مورد نظر به آزمایشگاه ارسال گردیدند. کبد حیوانات جدا شده و جهت تهیه مقاطع میکروسکوپی در داخل محلول فرمالین بافر خنثی ده درصد نگهداری شدند.

نمونه‌های سرمی جهت اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ALT و AST بوسیله کیت‌های تشخیصی ساخت شرکت سیگما و با تکنیک اسپکتوفتومتری بوسیله دستگاه اتوآنالایزر اندازه گیری شدند.

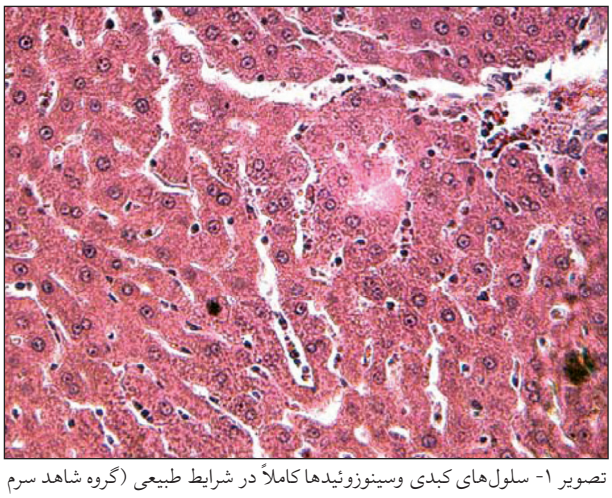
پس از تثبیت نمونه‌های بافتی در محلول فرمالین، از آنها به روش متداول تهیه لام‌های میکروسکوپی، برش‌های بافتی تهیه و به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. نتایج حاصل از فعالیت آنزیم‌های کبدی در گروه‌های مختلف از طریق روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه مورد ارزیابی واقع گردیدند.

نتایج

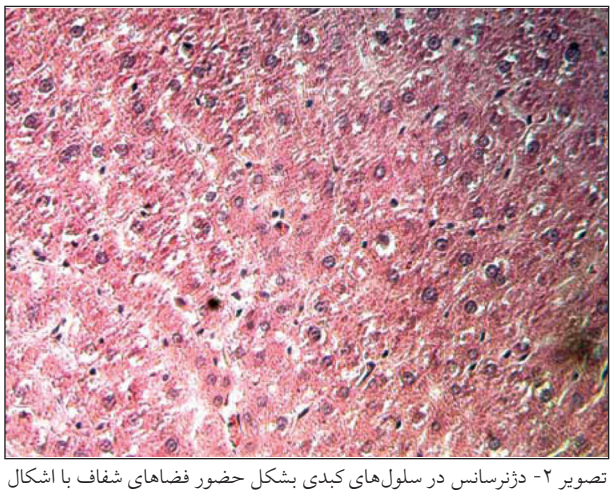
نتایج حاصل از سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی در گروه‌های مطالعه در نمودار شماره یک آورده شده اند.

نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم‌های ALT و AST در گروه‌های مطالعه نشان می‌دهند که در گروه دریافت کننده کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل سرم فیزیولوژی فعالیت آنزیم‌های فوق بطور معنی دار افزایش یافتند و حال آنکه تجویز عصاره سیر بر حسب دوز موجب کاهش فعالیت آنزیم‌ها گردید؛ بعلاوه استفاده از عصاره سیر با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن بطور معنی داری موجب برگرداندن فعالیت این آنزیم‌ها به حالت طبیعی گردید ($p<۰/۰۵$). این در حالی است که استفاده از عصاره سیر با دوز ۵۰ میلی‌گرم در مقایسه با گروه دریافت کننده کادمیوم تنها منجر به ایجاد کاهش معنی دار در آنزیم AST گردید ($p<۰/۰۵$).

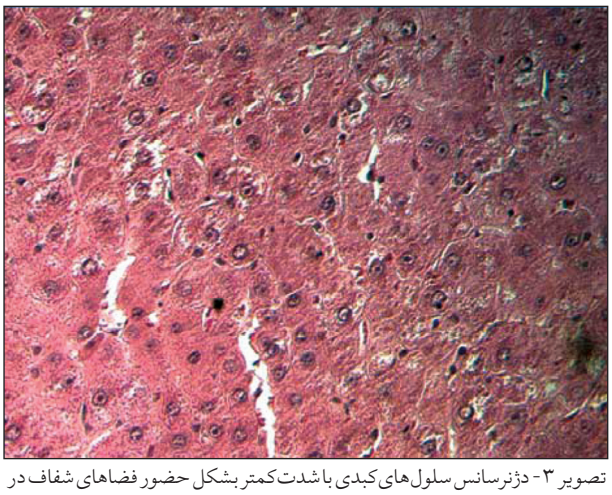
بررسی میکروسکوپی مقاطع بافتی مربوط به گروه کنترل تجویز کادمیوم نشان دهنده تغییرات غیر اختصاصی نظیر تورم سلولی، پرخونی غیر فعال و در برخی موارد تجمع سلول‌های التهابی تک هسته‌ای در نواحی پورتال بود. تورم‌های سلولی (Cellular swelling) بصورت فضاهای شفاف با اشکال نا منظم و حاشیه‌ها ی نا مشخص در اطراف هسته سلول‌های کبدی مشاهده گردیدند؛ هسته‌ها ی سلول‌ها از لحاظ محل استقرار و ویژگی‌های ظاهری کاملاً طبیعی دیده شدند. در بررسی میکروسکوپی گروه دریافت کننده عصاره سیر با دوز ۵۰ میلی‌گرم، دژنرسانس سلولی با شدت کمتر مشاهده شدند؛ و حال آنکه در گروه دریافت کننده عصاره سیر با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم هیچ یک از تغییرات مذکور مشاهده نشدند و مقاطع بافتی کاملاً طبیعی دیده شدند.



تصویر ۱- سلول‌های کبدی وسینوزوئیدها کاملاً در شرایط طبیعی (گروه شاهد سرم فیزیولوژی بزرگنمایی x ۴۰۰).



تصویر ۲- دژنرسانس در سلول‌های کبدی بشکل حضور فضاهای شفاف با اشکال نامنظم و مسدود شدن سینوزوئیدها در اثر تورم سلول‌های کبدی (گروه دریافت کننده کادمیوم, H & E، x ۴۰۰).



تصویر ۳- دژنرسانس سلول‌های کبدی با شدت کمتر بشکل حضور فضاهای شفاف در سیتوپلاسم و تورم سلول‌ها. (گروه دریافت کننده عصاره سیر با دوز ۵۰ میلی گرم x ۴۰۰)، H & E.

تصویر ۴- ظاهر طبیعی سلول‌ها و سینوزوئیدهای کبدی (گروه دریافت کننده عصاره سیر با دوز ۱۰۰ میلی گرم, H & E، x ۴۰۰).

بحث

ایجاد مسمومیت در اندام‌های بدن از جمله کبد به واسطه‌ی کادمیوم به خوبی به اثبات رسیده است و حتی در مسمومیت‌های مزمن تأثیرات کارسینوژنیک نیز مطرح می‌باشد (۷).

آنزیم‌های کبدی از جمله ALT و AST به عنوان شاخص‌های معرف ضایعات کبدی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار می‌باشند (۷). لذا در این تحقیق نیز از تغییرات این آنزیم‌های جهت ارزیابی شدت ضایعات کبدی بهره گرفته شد. رابرت و همکاران نشان دادند که با تزریق ۳/۹ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کادمیوم به فاصله هر ۱۰ ساعت نکروز کبدی و افزایش فعالیت ALT و AST حادث می‌گردد (۱۰).

تاندون نشان داد که با تزریق ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کادمیوم کلراید به صورت داخل صفاقی پس از شش هفته افزایش غلظت این فلز در داخل بافت‌های بدن از جمله خون، کبد و کلیه اتفاق خواهد افتاد (۱۳).

استو و همکاران در سال ۲۰۰۳ ضایعات حاصل از تجویز دوزهای تحت کشنده کادمیوم را در اندام‌های گوسفند بررسی کردند. تغییرات هیستولوژیک اصلی شامل degeneration granular در لوله‌های ادراری نزدیک و تکثیر سلول‌های اندوتلیوم گلومرول‌ها و همچنین دجنرسانس دانه دار در کبد، ادم اطراف مویرگی و فعالیت اندوتلیوم مویرگ‌ها و سلول‌های کوپفر در کبد بود. تغییرات دژنراتیو و ادم نیمکره‌های مغز و در سلول‌های پورکنژ مخچه و موارد دیگر مشاهده گردیدند (۱۲).

همچنین موروگاول و همکارش با تزریق زیر جلدی ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کادمیوم کلراید پس از ۳

هفته ضایعاتی از قبیل کانون‌های نکروز تجمع سلول‌های التهابی و تشکیل دیوسلول‌ها و همچنین افزایش ALT و AST را مشاهده نمودند. با این حال در تحقیق حاضر تزریق زیر جلدی ۳ میلی‌گرم کادمیوم کلراید پس از ۴ هفته اگر چه منجر به بروز تغییرات دژنراتیو غیر اختصاصی مانند تورم ابری سلول در کبد گردید به طور معنی دار افزایش فعالیت آنزیم‌های ALT و AST مشاهده گردیدند.

بروز خفیف تر ضایعات کبدی در این تحقیق در مقایسه با مطالعه ی موروگاول ممکن است با نوع کادمیوم مورد استفاده قرار گرفته که متعلق به شرکت مرک آلمان می‌بود در مقایسه با کادمیوم شرکت سیگما در مطالعه موروگاول مرتبط باشد.

در تحقیقات دیگری دیده شد که مصرف همزمان عصاره سیر و فلزات سنگین بطور قابل ملاحظه‌ای تجمع این فلزات را در بافت‌های بدن کاهش می‌دهد که نشانه ارزش بالقوه این گیاه در درمان اینگونه مسمومیت‌ها می‌باشد (۸).

همچنین گزارش گردیده که تجویز غلظت‌های مختلف سیر در آب آشامیدنی برای کاهش غلظت‌های رسوب یافته کادمیوم در اندام‌های بدن مفید بوده است (۶+).

موروگاول و همکارش با استفاده از آلیل تتراسولفید (DTS) مستخرج از گیاه سیر توانستند به طور معنی دار منجر به کاهش شدت ضایعات ناشی از مسمومیت با کادمیوم در سلول‌های کبدی و در نتیجه بازگرداندن فعالیت آنزیم‌های ALT و AST به وضعیت طبیعی گردند. وی از غلظت‌های ۴۰ و ۲۰ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از DTS به صورت خوراکی استفاده و مشاهده نمود که غلظت ۴۰ میلی‌گرم مؤثر تر از دوزهای دیگر در جلوگیری از بروز ضایعات و کاهش شدت آنها عمل می‌نماید (۷).

با توجه به اینکه ماده مذکور جزئی از گیاه سیر می‌باشد در تحقیق حاضر سعی گردید تا تأثیرات پیشگیرانه عصاره کلی که در قالب قرص‌های تجاری موجود می‌باشند در مسمویت با کادمیوم مورد ارزیابی قرار گیرد چرا که مصرف مداوم عصاره کلی سیر با هدف پیشگیری از اینگونه مسمومیت‌ها در عمل به لحاظ هزینه و دسترسی آسانتر برای جوامع کاربردی تر به نظر می‌رسد. لذا به دلیل ذکر شده از قرص تجاری عصاره سیر با نام گارلت برای این تحقیق استفاده شد.

در تحقیق حاضر از غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن قرص سیر گارلت برای این منظور استفاده شد. نتایج نشان می‌دهند که بر حسب دوز مصرف عصاره سیر منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های ALT و AST گردید و خصوصاً در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم میزان فعالیت آنزیم‌ها در مقایسه با گروه دریافت کننده کادمیوم به تنهایی، فعالیت آنزیم‌ها به طور معنی داری کاهش نشان دادند.

تحلیل آماری مابین فعالیت آنزیم‌های گروه شاهد سرم فیزیولوژی و گروه شاهد مصرف کننده سیر و همچنین مطالعات میکروسکوپی نشان از وجود وضعیت طبیعی و عدم وجود اختلاف معنی دار مابین یافته‌ها داشت که به معنی عدم بروز عوارض جانبی در اثر مصرف عصاره سیر در طول دوره مطالعه بود.

تحقیقات نشان می‌دهند که استرس‌های اکسیداتیو و تولید گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) که در حضور کادمیوم تشکیل می‌گردند مسئول اعمال تأثیرات سمی این فلز سنگین در بسیاری از اندام‌های بدن و سلول‌ها می‌باشند که می‌توانند به عنوان پیغام‌هایی جهت القاء مرگ سلولی عمل نمایند (۸).

لذا کادمیوم با مداخله در مکانیسم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی و همچنین تولید ROS منجر به القاء مرگ سلولی می‌گردد که بر اساس یافته‌ها مرگ سلولی از نوع آپوپتوز می‌باشد (۸).

با توجه به موارد فوق به نظر می‌رسد که عصاره سیر با اعمال تأثیرات آنتی اکسیدانی قادر به پیشگیری از بروز ضایعات می‌باشد. از نتایج تحقیقات حاضر اینگونه می‌توان نتیجه گرفت که مصرف مداوم عصاره سیر که به شکل قرص‌های تجاری در دسترس می‌باشند می‌تواند در جلوگیری از تجمع کادمیوم در سلول‌های بدن و در نتیجه به منظور پیشگیری از بروز ضایعات مربوط به تجمع این فلز در بدن مؤثر واقع گردد.

منابع

۱. پور عبداله، ع. (۱۳۷۳) درمان بیماری‌ها با سیر و پیاز، انتشارات ققنوس.

۲. زرگری، ع. (۱۳۷۲) Allium Sativum در گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران، جلد چهارم، صفحات ۶۲۳-۶۱۸.

۳. سالار آملی، ج، قراگزلو، ح.، بکایی، س.، مدیر صانعی، ح.، خاکی، ذ. (۱۳۸۱) تأثیر کادمیوم در ضریب تبدیل غذا و رشد در جوجه‌های گوشتی نژاد راس، مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، صفحات ۵۷-۹-۱۳.

۴. صمصام شریعت، ه. (۱۳۷۸) تکنیک‌های عصاره گیری گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، فصل دوم

۵. ناطقی بابکی، ع. (۱۳۷۶) بررسی اثر ضد قارچی و ضد ویروسی عصاره سیر در invitro، پایان نامه دانشکده داروسازی دانشگاه تهران.

6. Massadeh, A.M., Al - safi, S.A., Abmary, A.A., Jaradat, Q.M., Alkofahi, A.S. (2007) Garlic (Allium sativuml.) as potential anti dote for Cadmium and Lead in toxication: Cadmium and lead distribution and analisis in different mice organs. *boil trace Elem Res*. **120 (1 - 3):** 227 - 34.
7. Murugavel, P., pari, L. (2007) Effects of diallyl tetrasulfide on Cadmium- Induced oxidative damage in the Liver of rats. *Human akd Experimental toxicology*. **26:** 527 - 534.
8. Pari, L., Murugavel, P., Sitasawad, S.L., Sandeep kumar, K.(2007) Cytoprotective and antioxidant role of dially L Tetrasulfide on Cadmium induced renal injury: An in Vivo and in vitro study, *life Sciences*. **80:** 650 - 658
9. Pari, L., Murugavel, P. (2005) Role of diallyl tetrasulfide in ameliorating the cadmium induced biochemical changes in rats. *Environmental Toxicolog and Pharmacology*. **20:** 493 - 500.
10. Robert, E., Donald, J. (1982) Acute exposure to Cadmium Cause severe liver injury in rat. *Toxicology and applied pharmacology*. **65:** 302 - 313.
11. Satarug, S., Moore, M.R. (2004) Adverse health effects of chronic exposure to low - level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke, *environ health perspect*. **112(10):** 1099 - 1103.
12. Stoev, S.D., Grozeva, N., Simeonov, R., Borisov, I., Hobenov, H., Nikolov, Y., Tsaneva, M., Lazarova, S. (2003) Experimental Cadmium poisoning in sheep. *EXP. Toxicol pathol*. **55 (4):** 309 - 14.
13. Tandon, S.k., Singhs., prasad, S. (2001) Influence of Garlic on Cadmium in the disposition and toxisty of lead and Cadmium in the rat. *Pharmaceutical Biology*. **39 (6):** 450 - 454.