جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد *Lepidium sativum* على بعض المعايير النسجية والوظيفية ضد التأثيرات السمية المستحثة بمادة نتريت الصوديوم في ذكور الجرذان البيض

رسالة تقدم بها الطالب

ميثم علي كريم الحسناوي

بكالوريوس تربية علوم الحياة-جامعة كربلاء/2005

الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة /علم الحيوان

بإشراف

أ.م.د اشواق كاظم عبيد الطائي

شعبان/ ١٤٤٢هـ

اذار/ 2021م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

﴿ يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ ۚ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة
الآية (١١)

الإهداء

إلى مدينة العلم .. أبي القاسم محمد صل الله عليه و آله وسلم سيد المرسلين..

إلى سفينة النجاة وركابها .. الأئمة الطيبين الأطهار عليهم افضل الصلاة والسلام..

إلى الروح التي غادرت بعد ان خط طريق حياتي وأحاطني بدفء قلبه .. والدي رحمه الله.

إلى الروح التي آزرتني في حياتها وزرعت فيَّ الأمل ومدتني بسر الحياة .. والدتي رحمها الله.

إلى من اسقوني من عذب علمهم .. أساتذتي الكرام.

إلى من غمرتني بالحب وبدعائها وفقني الله.. زوجتي الغالية.

إلى من أجد فيهم النجوى لنفسي.. والصدى لروحي .. أخوتي وأخو اتي .

إلى فلذات قلبي ونبض فؤادي ..زيد وشمس ويوسف .

أهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا

ميثم

شكر وتقدير...

الحمد لله الواحد الأحد الفرد الصمد الذي له العزة والجبروت ، الذي أفاض العلم من معدن الكرم وفتح أبواب رحمته الواسعة بالقلم وعلم الانسان مالم يعلم ، والصلاة والسلام على اشرف الخلق أبي القاسم محمد وعلى آل بيته وصحبه الطاهرين .لا يسعني وانا انهي جهدي المتواضع هذا الا وان اتقدم بوافر التقدير والشكر والاحترام الى استاذتي الفاضلة الأستاذ المساعد الدكتورة اشواق كاظم عبيد الطائي لاقتراحها موضوع الرسالة ولأشرافها ومتابعتها العلمية الدؤوبة ورعايتها الكريمة لي طيلة مدة الدراسة .

ويطيب لي أن أتقدم بوافر شكري وتقديري الى روح المرحوم الأستاذ حسين علي عبد اللطيف الذي ساهم في اعداد خطة البحث فأدعوا من الله ان يتغمده برحمته الواسعة.

ويسرني ان أتقدم ببالغ شكري وتقديري الى رئاسة جامعة كربلاء و الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة لأتاحتها الفرصة لإكمال دراستي وشكري الخاص لرئيس قسم علوم الحياة الأستاذ المساعد الدكتور نصير ميرزا حمزة والاستاذ المساعد الدكتورة نيبال مطير والى الدكتور علاء حسين الصافي والى جميع أساتذة القسم لجهودهم المبذولة في دعم طلبة الدراسات العليا والمساعدة التي ابدوها أذ ذللت كثيرا من المصاعب في انجاز البحث راجياً من المولى عز وجل ان يوفقهم ويحفظهم لما فيه الخير. واتقدم بالشكر والامتنان الى اخي العزيز م.م أحمد علي كريم للمساعدة الكبيرة في إتمام هذا البحث والى الأخ الدكتور علاء ماصخ وزملائي و زميلاتي من طلبة الدراسات العليا وجميع من مد يد العون والمساعدة لإنجاز هذا البحث ، سائلا" الله العلي القدير الموفقية للجميع .

ميثم

إقـــــرار المشرف على الرسالة

أشهد إن إعداد هذه الرسالة الموسومة:(**تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد *Lepidium sativum* على بعض المعايير النسجية والوظيفية ضد التأثيرات السمية المستحثة بمادة نتريت الصوديوم في ذكور الجرذان البيض)** قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/ علم الحيوان .

التوقيع:
المشرف: د. أشواق كاظم عبيد الطائي
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
مكان العمل: كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء
التأريخ: / / 2021

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة الى التوصية أعلاه من قبل الأستاذ المشرف ، احيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع:
الاسم: د. نصير مرزة حمزة
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
مكان العمل: كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء
التأريخ: / / 2021

إقـــــرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة **(تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد *Lepidium sativum* على بعض المعايير النسجية والوظيفية ضد التأثيرات السمية المستحثة بمادة نتريت الصوديوم في ذكور الجرذان البيض)** تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:
الاسم: د. سلام موجد خلخال
المرتبة العلمية: أستاذ
مكان العمل: كلية التربية للعلوم الإنسانية / جامعة كربلاء
التاريخ: / /2021

إقـرار لجنـة المناقشـة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين ادناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة (**تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد *Lepidium sativum* على بعض المعايير النسجية والوظيفية ضد التأثيرات السمية المستحثة بمادة نتريت الصوديوم في ذكور الجرذان البيض**) المقدمة من قبل الطالب (ميثم علي كريم الحسناوي) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير /علم الحيوان / علم الانسجة ، وبعد اجراء المناقشة العلنية وجد انه مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير (امتياز).

رئـيس لجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم : د. بشرى عباس بعيوي

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : جامعة الكوفة / كلية التربية للبنات

التاريخ : / ٣ /٢٠٢١

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. حسين عباس سلمان

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة القادسية / كلية التربية

التاريخ : / ٣ /٢٠٢١

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د . منى حسين حسن

المرتبة العلمية :أستاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء /كلية الطب البيطري

التاريخ : / ٣ /٢٠٢١

عضوا و مشرفاً

التوقيع :

الاسم : د. اشواق كاظم عبيد

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : / ٣ /٢٠٢١

مصـادقة عمـادة كليـة التربيـة للعلوم الصرفة

أُصادق على مـا جـاء في قـرار اللجنـة أعلاه

التوقيع :

الاسم : د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : جامعة كربلاء – كلية التربية العلوم الصرفة

التاريخ : / ٣ /٢٠٢١

الخلاصة

تهدف الدراسة الحالية الى معرفة تأثير المستخلص المائي البارد لبذور الرشاد *Lepidium sativum* وبتركيزين مختلفين ضد الأضرار الكبدية والكلوية المستحثة بنتريت الصوديوم (NaNO2) (E250) في ذكور الجرذ الأبيض وذلك عن طريق دراسة بعض المعايير الفسيولوجية والكيموحيوية والتغيرات النسجية .

أجريت عملية التجريع في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة /جامعة كربلاء اما بقية خطوات الدراسة فتمت في مختبرات كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة /جامعة كربلاء للفترة من بداية شهر ايلول 2020 الى نهاية شهر تشرين الثاني 2020 ، تم استخدام 36 من ذكور الجرذ الأبيض البالغة قسمت عشوائياً الى ست مجاميع تضم(6حيوانات لكل مجموعة)، تراوحت اوزانها (200-220) غم وأعمارها بين (12-14) أسبوع وجرعت فموياً لمدة 30 يوماً ، المجموعة الأولى (G1) جرعت 1 مل ماء مقطر وعدت مجموعة سيطرة سالبة ، المجموعة الثانية (G2) جرعت بنتريت الصوديوم وبتركيز 30 ملغم/كغم من وزن الجسم بعد اذابته بالماء المقطر وعدت مجموعة سيطرة موجبة ، اما المجموعتين الثالثة (G3) والرابعة (G4) جرعت بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيز 350و550 ملغم /كغم من وزن الجسم على التوالي اما المجموعتين (G5،G6) فجرعت بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيز(550،350) ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي قبل ساعتين من تجريعهم بمادة نتريت الصوديوم وبتركيز 30ملغم/كغم من وزن الجسم . تم التضحية بالحيوانات بعد الانتهاء مدة التجربة (30يوماً).

أدى التجريع الفموي لذكور الجرذان بمادة نتريت الصوديوم يومياً ولمدة 30 يوماً الى حدوث ارتفاع معنوي($P<0.05$) في معدل مستوى انزيمات الكبد (ALP، AST،ALT) وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل مستوى البروتين الكلي والكلوبيولين والالبومين وحصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل مستوى اليوريا والكرياتنين والمالون ثنائي الالديهايد (MAD) وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل مستوى الكلوتاثيون (GSH) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

تمثلت التغيرات النسجية في الكبد باحتقان الوريد المركزي وعدم انتظام الحبال الكبدية وتوسع في الجيبانيات وتنكس وتنخر للخلايا الكبدية مع ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية ، كا تبين وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل اقطار كل من الجيبانيات والوريد المركزي والخلايا الكبدية مقارنة

بمجموعة السيطرة السالبة. اما التغيرات النسجية للكلى فتمثلت بضمور شديد في حجم الكبيبة وزيادة فسحة بومان مع وجود احتقان دموي وتحطم للنبيبات البولية مع تنكس وتغلظ نواة خلايا النبيبات وانسلاخ في ظهارتها المبطنة و ارتشاح للخلايا الالتهابية ، حدوث انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل اقطار كل من الكبيبة النبيب الملتوي الداني والقاصي مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة.

ادى التجريع الفموي للجرذان بالمستخلص المائي البارد لبذور الرشاد *Lepidium sativum* في المجموعتين الثالثة والرابعة(G3،G4) الى حصول تغيرات فسيولوجية محدودة للمعايير الوظيفية ممثلة بانخفاض معنوي($P<0.05$) في مستوى انزيم (ALT) للمجموعة الرابعة وارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى البروتين الكلي والكلوبيولين للمجموعتين الثالثة والرابعة وحصول انخفاض معنوي($P<0.05$) في مستوى المالون ثنائي الالديهايد في المجموعتين الثالثة والرابعة وارتفاع معنوي($P<0.05$) في مستوى الكلوتاثيون في المجموعة الرابعة مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة. ولم تظهر أي تغيرات نسجية لسيج الكبد والكلى لكلا المجموعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة.

اظهر التجريع الفموي للجرذان بالمستخلص المائي البارد لبذور الرشاد *Lepidium sativum* في المجموعتين الخامسة والسادسة (G5،G6) حصول تغيرات فسيولوجية للمعايير الوظيفية ممثلة بانخفاض معنوي($P<0.05$) في مستوى انزيمات الكبد (ALT،AST، ALP) مع حدوث ارتفاع معنوي($P<0.05$) في مستوى البروتين الكلي والكلوبيولين والالبومين و انخفاض معنوي($P<0.05$) في مستوى اليوريا و الكرياتنين , كما سجلت انخفاض معنوي($P<0.05$) في مستوى المالون ثنائي الالديهايد وارتفاع معنوي($P<0.05$) في مستوى الكلوتاثيون مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة .

وتمثلت التغيرات النسجية لنسيج الكبد في المجموعة الخامسة احتقان الوريد المركزي مع توسع واحتقان الجيبانيات مع انتظام جزء من الحبال والخلايا الكبدية و ارتشاح اقل في الخلايا الالتهابية وهناك تنكس في بعض الخلايا الكبدية اما في المجموعة السادسة اختفاء احتقان الوريد المركزي مع توسع بسيط للجيبانيات وانتظام الحبال الكبدية وخلايا الكبد و انويتها مع تنكس بعض خلاياها حيث يظهر النسيج اقرب لمجموعة السيطرة السالبة(G1) وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) في المجموعتين لمعدل قطر كل من الخلايا الكبدية والجيبانيات والوريد المركزي مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) . اما نسيج الكلية فتمثلت وجود تغيرات نسجية بسيطة ممثلة بتوسع طفيف في فسحة بومان والكبيبة طبيعية مع بنية طبيعية لبعض النبيبات البولية البعيدة والقريبة وانكماش في الكبيبة وظهور انسلاخات قليلة مع تنكس وتنخر بعض النبيبات البولية مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة

(G2) والسالبة (G1)، ووجود ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في معدل قطر كل من الكبيبة و النبيب الملتوي الداني والنبيب الملتوي القاصي مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) وعلى التوالي .

نستنتج من الدراسة الحالية ان المستخلص المائي البارد لبذور الرشاد بتركيز 550ملغم/كغم له فعالية معنوية اعلى في خفض التأثيرات السمية الناتجة من تجريع ذكور الجرذ الابيض بمادة نتريت الصوديوم على نسيجي الكبد والكلى وبعض المعايير الوظيفية بسبب وجود المواد المضادة للأكسدة في بذور الرشاد .

قائمة المحتويات

الموضوع	رقم الصفحة
الخلاصة	I
قائمة المحتويات	IV
قائمة الجداول	VII
قائمة الاشكال والصور	VIII
قائمة المختصرات	X
الفصل الأول / المقدمة (Introduction)	**3-1**
1.المقدمة	1
1.1.الهدف من الدراسة	3
الفصل الثاني / استعراض المراجع (Literature Review)	**30-4**
1.2. المضافات الغذائية	4
1.1.2. تصنيف المضافات الغذائية	5
2.1.2.المواد الحافظة	5
2.2. نتريت الصوديوم	6
1.2.2.مصادر النتريت	6
2.2.2 . ايض النتريت	8
3.2.2. تحضير نتريت الصوديوم	8
4.2.2.استخدامات نتريت الصوديوم	8
5.2.2.التأثيرات الضارة لنتريت الصوديوم	11
3.2. النباتات الطبية	14
1.3.2.نبذة تأريخية	14
2.3.2. النبات المستعمل في الدراسة	16
1.2.3.2.الوصف العام للنبات	16
2.2.3.2. التصنيف العلمي	17
3.2.3.2. التسمية المحلية لنبات الرشاد	18
4.2.3.2. الموطن الاصلي لزراعته	18
5.2.3.2.المكونات الكيميائية لنبات الرشاد	18
6.2.3.2.المكونات الكيميائية في بذور الرشاد	19
3.3.2.استخدامات نبات الرشاد	19
4.2. الاجهاد التأكسدي	24

1.4.2. الجذور الحرة	24
2.4.2. مضادات الأكسدة	25
1.2.4.2. تصنيف مضادات الأكسدة	25
الفصل الثالث/ المواد وطرائق العمل Materials and Methods	**53-31**
1.3.المواد والأجهزة المستعملة	31
1.1.3. المواد الكيميائية المستعملة	31
2.1.3. الأدوات المستعملة	32
3.1.3. الأجهزة المستعملة	33
3. 2. طرائق العمل	34
3. 2. 1. حيوانات التجربة	34
3. 2. 2. تهيئة بذور نبات الرشاد	34
3.2.3.استخلاص المستخلص المائي البارد لبذور الرشاد	35
4.2.3.تحضير جرعة نترات الصوديوم	35
5.2.3.تصميم التجربة	36
6.2.3.جمع عينات الدم	39
7.2.3.جمع عينات الأنسجة	39
3.3.قياس بعض المعايير الكيموحيوية	40
1.3.3. قياس فعالية الانزيمين الناقلين لمجموعة الامين ALT وAST	40
2.3.3. قياس فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعديAlkaline phosphatase ALP	41
3.3.3. قياس مستوى البروتين الكلي Total protein في الدم	42
4.3.3.قياس مستوى الألبومين Albumin في المصل	43
٥.3.٣. قياس مستوى الكلوبيولين Globulin في مصل الدم	43
6.3.3.قياس مستوى الكرياتنين Creatinine في مصل الدم	43
7.5.3.قياس مستوى اليوريا Urea في مصل الدم	45
8.3.3. تحديد اختزال الجلوتاثيون (GSH) في المصل	46
9.3.3. قياس تركيزالمالون ثنائي الديهايد(MAD) في مصل الدم	49
٤.3. التحضيرات النسجية	50
1.4.3. تثبيت العينات	50
2.4.3. الانكاز	50
3.4.3.الترويق	50
4.4.3.التشريب	51
5.4.3. الطمر	51

6.4.3. التشذيب والتقطيع	51
7.4.3. التصبيغ	51
8.4.3. التحميل	53
5.3.الفحص والتصوير المجهري	53
6.3. القياسات النسجية	53
7.3.التحليل الاحصائي	53
الفصل الرابع/ النتائج والمناقشة	**88-54**
1.4. الدراسة الكيموحيوية	54
1.1.4.تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد في فعالية انزيمات الكبد (ALT,AST,ALP) لمصل ذكور الجرذان البيض السليمة و المعاملة بنتريت الصوديوم	54
2.1.4. تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى البروتين الكلي والكلوبيولين والالبومين في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم	58
3.1.4.تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى اليوريا والكرياتنين في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم	61
4.1.4.تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى المالون ثنائي الديهايد (MDA) والكلوتاثيون (GSH) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم .	64
2.4. الدراسة النسجية	68
1.2.4. الفحص والقياسات النسجية للكبد	68
1.1.2.4. تأثير المعاملة بنتريت الصوديوم بتركيز30ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1)	68
2.1.2.4.تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيزين(550,350) ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1)	72
3.1.2.4. تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيزين(550,350)ملغم/كغم ضد نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكبد مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة (G2)	74
2.2.4. نسيج الكلية	79
1.2.2.4.تأثير المعاملة بنتريت الصوديوم بتركيز30ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكلية مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1)	79
2.2.2.4. تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيزين(550,350)ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكلية مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1)	83

3.2.2.4.تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيزين(550,350)ملغم/كغم ضد نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكلية مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة (G2)	85
الاستنتاجات والتوصيات	**90-89**
الاستنتاجات	89
التوصيات	90
المصادر	**115-91**
المصادر العربية	91
المصادر الأجنبية	92
الخلاصة باللغة الإنكليزية	I

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
1-2	المميزات الكيميائية والفيزيائية لنتريت الصوديوم	6
1-3	المواد الكيميائية المستعملة مع أسم الشركة والمنشأ	31
2-3	الأدوات المستعملة مع اسم الشركة والمنشأ	32
3-3	الأجهزة المستعملة حسب المنشأ والشركة المصنعة	33
1-4	تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد في فعالية انزيمات الكبد (ALT,AST,ALP) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة و المعاملة بنتريت الصوديوم	55
2-4	تأثير المستخلص المائي لبذور الرشادعلى مستوى البروتين الكلي والكلوبيولين والالبومين في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم	59
3-4	تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى اليوريا والكرياتنين في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم	62
4-4	تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى المالون ثنائي الديهايد (MDA) والكلوتاثيون(GSH) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم	65
5-4	تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على بعض القياسات النسجية لنسيج الكبد لذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم	78
6-4	تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على بعض القياسات النسجية لنسيج الكلية لذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم	87

قائمة الاشكال والصور

رقم الصورة	عنوان الصورة	رقم الصفحة
1-2	شكل دورة النتريت في الجسم	7
2-2	صورة الشكل العام نبات الرشاد	16
3-2	صورة بذور نبات الرشاد	17
4-2	شكل الآلية التحفيزية لتفكيك ايون السوبر أوكساييد بواسطة (SOD)	27
1-3	صورة بذور نبات الرشاد	34
2-3	مستخلص بذور نبات الرشاد	35
3-3	عملية تجريع الجرذ الأبيض	36
1-3	مخطط تصميم التجربة	38
2-3	يوضح التفاعل بين الكلوتاثيون والـ DTNB	47
3-3	المنحنى القياسي لحساب تركيز الكلوتاثيون	48
4-3	تفاعل محلول الثايوباربيتيوريك مع المالون ثنائي الديهايد	49
1-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد لمجموعة السيطرة السالبة (H & E stain 200X)	70
2-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم / كغم (H & E stain 200X)	70
3-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم / كغم (H & E stain 200X)	71
4-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم / كغم (H & E stain 400X)	71
5-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 350 ملغم / كغم(H & E stain 200X)	73
6-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز550ملغم / كغم(H & E stain 200X)	74
7-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 350 ملغم / كغم مع نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم / كغم (H & E stain 200X)	76
8-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 550 ملغم / كغم	77

	مع نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم / كغم (H & E stain 200X)	
9-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية لمجموعة السيطرة السالبة (H & E stain 200X)	81
10-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم / كغم (H & E stain 200X)	81
11-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم / كغم (H & E stain 200X)	82
12-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 350 ملغم / كغم(H & E stain 200X)	83
13-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز550 ملغم / كغم(H & E stain 200X)	84
14-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز350 ملغم / كغم مع نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم / كغم (H & E stain 200X)	85
15-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز550 ملغم / كغم مع نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم / كغم (H & E stain 200X)	86

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح
EFSA	European Food Safety Authority
WHO	World Health Organization
ADI	Acceptable daily intake
FAO	Food and Agriculture Organization
MetHb	Methaemoglobinaemia
ADI	Acceptable Daily Intake
LPO	Lipid Peroxidation
ROS	Reactive Oxygen Species
RNS	Reactive Nitrogen Species
ALP	Alkaline Phosphatase
AST	Aspartate Transaminase
ALT	Alanine Transaminase
D.P.X	Destrin Plasticizer Xylen
H&E	Hematoxylene and Eosin
GSH	Glutathione
GSH-PX	Glutathione Peroxidase
GSH-RD	Glutathion Reductase
CAT	Catalase
SOD	Superoxid Dismutase
LDL	Low Density Lipoprotein
AA	Ascorbic acid
L.S.D	Least Significant Deference
MDA	Malondialdyhde
LD50	The dose is half lethal

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

المقدمة Introduction :

لقد ادى النمو السريع والتطور التكنولوجي في الصناعات الغذائية الى زيادة ملموسة في انواع وكميات المواد الغذائية وما يتطلب ذلك من ضرورة وضع المواصفات القياسية والتشريعات الغذائية لها بما يضمن انتاج مواد غذائية على مستوى عالي من الجودة والسلامة الصحية ، وبذلك تضاف الى الاغذية العديد من المواد لتحسين رائحته ومذاقه ، فالمضافات الغذائية هي مواد تضاف الى الغذاء وتستخدم لأغراض مختلفة ، مثل الحفظ والتلوين وتعزيز الغذاء (AL-Shinnawy , 2009). تم استخدام المضافات الغذائية لسنوات عديدة لحفظ الأطعمة ونكهتها وخلطها وتكثيفها وتلوينها ، وقد لعبت دورًا مهمًا وأساسيًا في الحد من النقص الغذائي الخطير، تساعد الإضافات على ضمان توفير الأطعمة الشهية وبأسعار معقولة والتي تلبي متطلبات المستهلك من موسم إلى آخر (Abdulmumeen *et al*., 2012). ويعد النتريت من المواد الحافظة الرئيسية والذي يستخدم بشكل أملاح أو أحماض حرة (Helal & Soliman, 2008) . تضاف أملاح النتريت إلى اللحوم والدواجن والأسماك بتراكيز دقيقة كوسيلة للحفظ و هي ممارسة شائعة منذ عدة سنوات (Sherif & Al-Gayyar, 2013). وقد يتفاعل إضافة نتريت الصوديوم كمادة مضافة للغذاء مع أمينات الأطعمة الموجودة في المعدة وتنتج النتروزامين Nitrosamine أو أعداد كبيرة من الجذور الحرة. من المعروف أن هذه الجذور الحرة تسبب الإجهاد التأكسدي ، والتي يمكن أن تكون ضارة لمختلف الأعضاء بما في ذلك الكبد والكلى (Aboulgasem *et al*., 2015).كما ان نتريت الصوديوم يتفاعل مع الهيموغلوبين في الدم لتكوين ميتهيموغلوبين Methaemoglobinaemia ، لذلك يؤثر في عملية تكوين الدم ، اي انه يقلل الهيموغلوبين القادر على نقل الأوكسجين (El-Nabarawy *et al*., 2020)، يمكن تحويل نتريت الصوديوم إلى أوكسيد النتريك الذي يسبب ارتخاء العضلات الملساء للأوعية الدموية وبالتالي يؤثر على الكبيبات والأنابيب الكلوية مسبباً توسع الأوعية ومن ثم نقص الأكسجة الخلوية والتليف متبوعاً بالموت (Al-Hiti *et al*., 2018; Arnold *et al*., 2020).

ان استخدام نتريت الصوديوم كمادة حافظة أمر شائع في اللحوم والنقانق المطبوخة نظرًا لاستخدام أكثر من نوع واحد من هذه الأطعمة ،قد تكون النسبة المئوية لمحتوى النتريت في الاستهلاك الغذائي اليومي أعلى من المستوى المقبول والسبب في إضافة نتريت الصوديوم في مجال الأغذية وخاصة اللحوم هو لتأخير تطور التسمم الغذائي وتأخر تطور النتانة (Van *et al*., 2002).

ان النباتات الطبية تعتبر مصادر مهمة للمكونات الفعالة ذات التأثيرات العلاجية وبينت منظمة الصحة العالمية بأن 80% من سكان العالم ما زالوا يرغبون باستخدام الأعشاب كمصدر رئيسي للدواء لعلاج العديد من الامراض والسرطانات التي تنتج من عدة اسباب اهمها التعرض للمواد الكيميائية ومنها المضافات الغذائية Food additives ومن ضمنها المواد الحافظة والمنكهات (De & De, 2019). ويمارس طب الأعشاب منذ آلاف السنين للوقاية والعلاج والشفاء من الأمراض. يشمل الطب العشبي استخدام المركبات الطبيعية ، التي تحتوي على مكونات نشطة معقدة نسبيًا مع درجات متفاوتة من الآثارالجانبية (Yang *et al*., 2018).وتمثل المملكة النباتية مصدراً مهم للمركبات الكيميائية التي تدعم اكتشاف الأدوية ، فإن التقاليد الغنية للأدوية العشبية التي تم تطويرها عن طريق التجربة والخطأ على البشر على مدى آلاف السنين تحتوي على معلومات طبية حيوية لا تقدر بثمن في انتظار الكشف عنها باستخدام الأساليب العلمية الحديثة (Li & Weng, 2017) ، وفي مجتمعاتنا المحلية يتم تداول العشرات من النباتات المختلفة كعلاج بديل في العديد من الأمراض وذلك بسبب التأثيرات الجانبية الطفيفة لها على عكس استخدام الادوية الكيمائية المصنعة التي تظهر تأثيرات جانبية خطرة والتي قد تظهر بصورة تراكمية بمرور الوقت (Al-awad & Jaccob, 2020) . ومن بين هذه النباتات الطبية هو نبات الرشاد والمعروف علمياً بأسم *Lepidium sativum* وهواحد افراد العائله الصليبيةBrassicaceae وهي من اكبر العائلات النباتية وتعتبر العديد من نباتات هذه العائلة ذات أهمية طبية ، ويسمى الرشاد ايضاً بالرشاد الجنائني (garden cress) وهو نبات عشبي سنوي (Prajapati *et al*., 2014) ، وتعد بذور الرشاد من الحبوب الغذائية الطبية الممتازة والتي تمتلك مكونات طبية واقية للجسم مثل مضادات الاكسدة و الفيتامينات و الكاروتينات والتربينات الثلاثية والفلافونويدات والفينولات المتعددة والصابونين والمعادن والانزيمات وانواع مهمة من القلويدات Alkaloidsوالستيرول Sterols (Prajapati & Dave, 2018) .

الهدف من الدراسة Aim of this study

تهدف الدراسة الحالية الى بيان دور المستخلص المائي البارد لبذور الرشاد في تنظيم الفعاليات الحيوية للكبد والكلية وبعض المعايير الوظيفية في ذكور الجرذان البيض المعاملة بمادة نتريت الصوديوم NaNO2 (E250) كمضاف غذائي ذات أهمية متزايدة في تقنية الغذاء الحديثة لذا جاءت اهداف الدراسة الحالية كما يأتي:

اولاً: الجانب الفسلجي ويشمل :

1-قياس مستوى أنزيمات الكبد وتشمل : قياس مستوى تركيز انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP) والانزيمين الناقلين لمجموعة الامين Alanine transaminase (ALT) وAspartate transaminase (AST).

2- معرفة التغيرات في بعض المعايير الكيموحيوية في المصل والتي تشمل مستوى اليوريا Urea، الكرياتنينCreatinine، البروتين الكلي Total protein، الكلوبيولين Globulin و الالبومين Albumin.

3- قياس تركيز المالون ثنائي الديهايد Malondialdehyde (MDA) ومضاد الاكسدة الكلوتاثيون Glutathione (GSH) في مصل الدم .

ثانياً : الجانب النسجي ويشمل :

1- دراسة التغيرات النسجية الناتجة من تأثير نتريت الصوديوم في نسجي الكبد والكلية ومعرفة التأثير الوقائي للمستخلص المائي البارد لبذور نبات الرشاد على هذه التغييرات النسجية.

2- القياسات النسجية للكبد وتشمل معدلات اقطار كل من الخلايا الكبدية والجيبانيات و الوريد المركزي .

3-القياسات النسجية للكلية وتشمل معدلات اقطار كل من الكبيبة الكلوية والنبيب الملتوي الداني والقاصي .

الفصـل الثانــي

استعراض المراجع

Literature Review

1.2.المضافات الغذائية Food Additves

هي المواد التي تضاف الى الغذاء أثناء التحضير و المعالجة أو التصنيع و التعبئة لتعديل الخصائص الكيميائية و البيولوجية ، ومعظمها ليس لها أي قيمة غذائية (Campos *et al*., 2013).في العقود القليلة الماضية ، أدت التغييرات في تكنولوجيا الأغذية وأنماط النظام الغذائي إلى زيادة تطوير واستهلاك مختلف المواد الغذائية المصنعة. أصبحت المضافات الغذائية حاسمة في تلبية طلب المستهلكين . (Kang *et al*., 2014)

تعرف المضافات الغذائية حسب الدستور الغذائي Codex Alimentarius بأنها اي مادة لا تستهلك عادة كغذاء بحد ذاته وإنما تضاف بشكل مقصودة للمادة الغذائية ولا تُعد مكوناً اساسياً من مكونات هذه المادة حيث تضاف لغرض تقني للتأثير في الخواص الحسية اثناء عمليات التصنيع والتجهيز والتحضير والاعداد والتعبئة والتغليف وقد تؤدي الى تغير مباشر او غير مباشر في خصائص هذه الاغذية ولا يشمل المصطلح اي مادة مضافة لتحسين القيمة الغذائية لتلك المادة ، حيث اقترح هذا التعريف عام 1995 من قبل منظمة الاغذية والزراعة Food and Agriculture Organization (FAO)(Meeting & Organization, 2014). وعد نظام ترقيم دولي مشترك للمضافات الغذائية في الاسواق الاوربية من قبل هيئة سلامة الأغذية الأوربيةEuropean Food Safety Authority (EFSA) بالاتفاق مع منظمة الصحة العالميةWorld Health Organization (WHO) بكتابة الحرف E والذي يمثل كلمة Europe ثم رقم معين يدل على نوع المادة المضافة للمادة الغذائية من الرقم E100 الى الرقم E1999 واعتمد هذا الترقيم دوليا ليصبح نظاما دوليا وليس فقط اوربا كما تصدر نشرات خاصة توضح الحدود المسموح باستخدام هذه المضافات خلال اليوم الواحدAcceptable daily intake (ADI) (Committee, 2011 ; Carocho *et al*., 2014) . حيث يوجد أكثر من 2800مادة تستخدم كمادة مضافة في الصناعات الغذائية في الولايات المتحدة الامريكية، ولا توجد قائمة ثابتة بهذا الموضوع نظرا للتغير المستمر للقائمة حيث دائما ما تضاف مواد جديدة أو تحذف مواد مستخدمة بسبب تأثيراتها الضارة ، وتوجد حوالي 400 مادة مصرح باستخدامها كمادة مضافة في الصناعات الغذائية

في أوربا والتصريح باستخدام هذا العدد القليل من المواد المضافة في الصناعات الغذائية في أوربا مقارنة بالعدد الهائل المستخدم في الولايات الأمريكية يجعل المعارضين لاستخدام المواد المضافة اكثر اصراراً على عدم تناول أغذية يستخدم في صناعتها مواد حافظة أو مواد مضافة. (جعفر ، 2009).

1.1.2. تصنيف المضافات الغذائية Food Additives Classification

تصنف المضافات الغذائية الى ست مجاميع رئيسية :

1-المواد الحافظة Preservatives وتشمل:

أ-مضادات الجراثيم ب-مضادات الاكسدة ج-مانعات الاسمرار.

2-مضافات تغذوية Nutritional additives.

3-المواد الملونة Coloring agents .

4-المواد المنكهة Flavoring agents وتشمل :

أ-المحليات ب-المنكهات الطبيعية والاصطناعية ج-محسنات النكهة .

5-المطريات Texturizing agents وتشمل :

أ-مستحلبات ب-مثبتات .

6-مواد مضافة متنوعة Mescllaneous agents وتشمل :

أ-المواد المخلبية ب-الانزيمات ج-المواد المانعة للرغوة والمذيبات د-مواد مساعدة اخرى (Chazelas *et al*., 2020).

2.1.2. المواد الحافظة Preservatives

تعتبر المواد الحافظة مهمة جداً في صناعة الاغذية ومستحضرات التجميل وصناعة الادوية لإطالة عمرها الافتراضي، منع نمو المكروبات ، للحفاظ على المذاق والملمس وتحسين القيمة الغذائية ، تقسم المواد الحافظة الى طبيعية وصناعية ، حيث اظهرت الدراسات الحديثة امكانية استخدام بعض الاعشاب والتوابل كمضادات للبكتريا ،الفطريات ،الفيروسات وكمضادات للأكسدة (Al-dhaher, 2008) . يتم تصنيع المواد الحافظة الصناعية من التفاعلات الكيميائية كبدائل ارخص واكثر فعالية ، ولكن بدون الادارة السليمة لهذه المنتجات يمكن ان تؤدي الى تأثير سلبي ليس على صحة الانسان فقط وانما على مستوى النظام البيولوجي وتلوث البيئة . (Newton, 2007)

2.2. نتريت الصوديوم Sodium Nitrite

وهو مركب ملحي غير عضوي، صيغته الكيميائية NaNO2 ، بلوراته لها لون ابيض الى ابيض مصفر ، يستخدم كمادة حافظة للأطعمة.(Abdel-Reheim *et al*., 2014)، رمزه الدولي E250 وان الاستهلاك اليومي المقبول لنتريت الصوديوم يبلغ 0.1 ملغم/كغم من وزن الجسم (Sindelar & Milkowski, 2012).

جدول (2-1) يوضح المميزات الكيميائية والفيزيائية لنتريت الصوديوم (Lide, 2005).

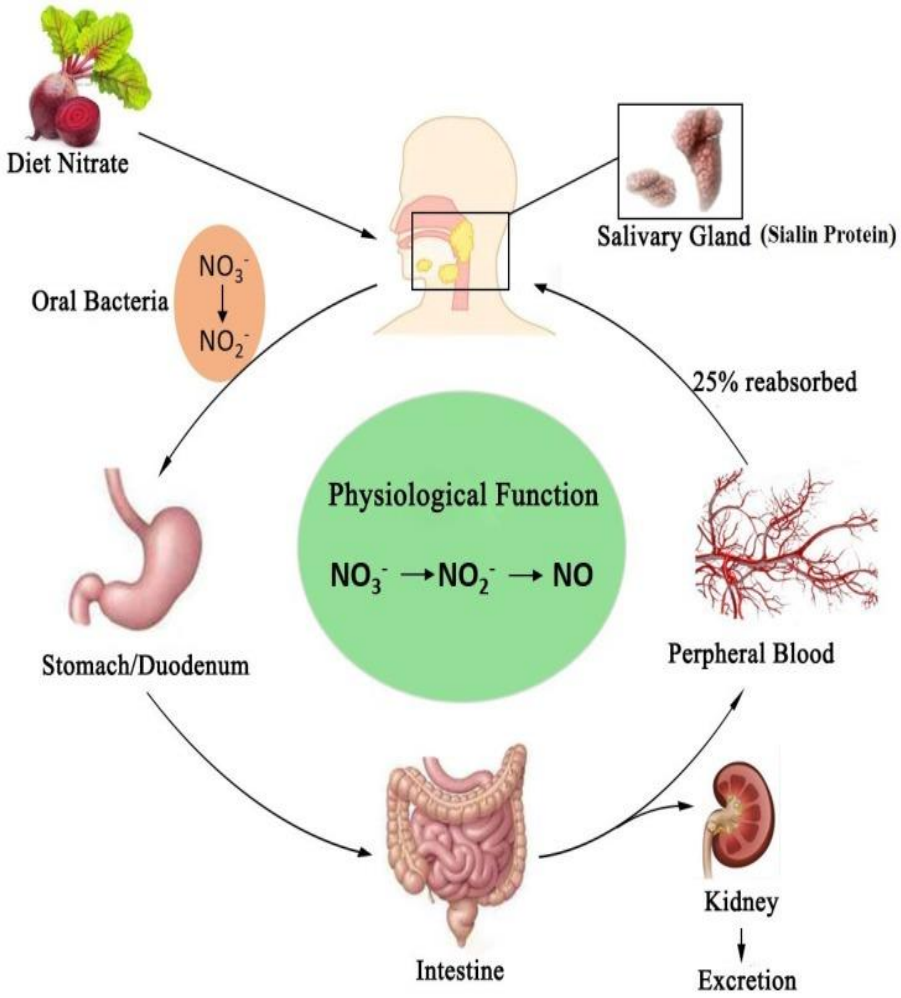
الصيغة الكيميائية	NaNO2
اللون	أبيض الى أبيض مصفر
الكثافة	2.17 غم/سم^3
الوزن الجزيئي	68.985غم/مول
قابلية الذوبان في الماء	(سيليزية25في100مل/84.8غم)
درجة الانصهار	271 درجة سيليزية
درجة الغليان	320درجة سيليزية

1.2.2.مصادر النتريت Sources of Nitrite

المصدر الرئيسي للنتريت هي النترات الغذائية (NO3) الموجودة في الخضار الورقية والتي يتم امتصاصها جزئيًا في الدم من خلال الغشاء المخاطي للأمعاء، يتم إعادة امتصاص النترات المعاد تركيزها وتدويرها بواسطة الغدد اللعابية ثم يتم إفرازها في اللعاب، في عام 2012 تم اكتشاف السيالين Sialin لأول مرة كناقل للنترات في غشاء الغدد اللعابية للثدييات ويلعب دورًا رئيسيًا في تداول النترات غير العضوية حيث تتحول النترات الغذائية إلى نتريت (NO2) عن طريق البكتيريا المتعايشة تحت اللسان أو في المعدة وبعد ذلك يتم تحويل النتريت إلى أكسيد النيتريك (NO) من خلال التخليق غير الانزيمي في ظل ظروف نقص الأكسجة ونقص التروية ، يتم تثبيط إنتاج NO الداخلي من L-arginine بينما يتم تعزيز نشاط NO3 - NO2 - NO خارجي المنشأ (Ma *et al*., 2018) .

يستهلك الانسان حوالي (1.2-3.0) ملغم من النتريت في اليوم حيث يمثل اللعاب ما يقارب 93% من إجمالي الابتلاع اليومي للنتريت بينما تمثل الاطعمة جزءاً صغيراً من إجمالي تناول

النتريت اليومي وذلك بسبب الاختزال الكيميائي للنترات اللعابية الى نتريت بواسطة البكتريا الموجودة في تجويف الفم ، تم الابلاغ عن ان اللحوم المعالجة قد تضمنت 4.8 % من تناول النتريت اليومي والخضروات بنسبة 2.2% فقط وقد ساهمت اللحوم المقددة بنسبة 39% ، منتجات المخابز والحبوب بنسبة 34% و16% من الخضروات (Sindelar & Milkowski, 2012)



شكل رقم (2-1) دورة النتريت في الجسم(Ma *et al*., 2018).

تتم إعادة تدوير النترات الغذائية بشكل أساسي في الغدد اللعابية ، حيث يلعب السيالين دوراً رئيسياً في النقل النشط وتركيز النترات. يتم تحويل جزء من النترات إلى نتريت بواسطة بكتيريا الفم ويتم امتصاصه لاحقًا في المعدة والأمعاء اذ يتم امتصاص ما يقرب من 25٪ من النترات المتداولة بواسطة الغدد اللعابية بينما تفرز الكلى الغالبية (Ma *et al*., 2018).

2.2.2 . ايض النتريت Metabolism of Nitrite

ان أوكسيد النتريك NO في الغدد الصماء محفز للاستجابات البيولوجية في الاجهزة الرئيسية ، حيث ينتج النتريت في الانسجة من اكسدة أوكسيد النتريك NO والغذاء، معدل استهلاك النتريت يختلف من عضو الى اخر ، ينظم الأوكسجين معدل ايض النتريت ، حيث ان نقص الأكسجة Hypoxic يؤدي الى اختزال النتريت الى أوكسيد النتريك NO ، وان زيادة استهلاك النتريت عن طريق المسارات الايضية المؤكسدة ينتج عنها النترات (Curtis *et al*., 2012). يتحول النتريت الى حامض النتروز HNO2 في المعدة بفعل حامضيتها ، ثم ينفصل تلقائياً مع أكاسيد النيتروجين بما فيها أوكسيد النيتريك ، ان النتريت والنترات المتناولة سرعان ما تتحول الى أوكسيد النتريك في الامعاء وهذه المستويات الناتجة تكون أعلى من المستويات الداخلية الناتجة لبناء أوكسيد النيتريك من الارجينين(Ma *et al*., 2018) . وارتفاع امتصاص النتريت يمكن ان يحفز الميتهيموغلوبين الدم في الحيوانات والانسان (Dejam *et al*., 2007) . يفرز النتريت وبشكل كبير في البول (EFSA, 2008) .

3.2.2. تحضير نتريت الصوديوم Preparation Sodium Nitrite

تم انتاج نتريت الصوديوم لأول مرة من تفاعل النتريت مع هيدروكسيد الصوديوم مع احادي وثنائي أوكسيد النتروجين (Hayes & Britton, 1936) .

$$NO+NO2+2NaOH \longrightarrow 2NaNO2+H2O$$

4.2.2.استخدامات نتريت الصوديوم Uses of Sodium Nitrite

اولاً: الاستخدام الطبي Medical Use

كان يعتبر النتريت سابقا خاملًا لكنه أصبح معروفاً الآن قيامه بوظائف حيوية متنوعة في أنسجة مختلفة من الجسم البشري بتراكيز فسيولوجية منخفضة وهو مصدر لأوكسيد النتريك (NO) الذي يلعب دورًا رئيسيًا في علم المناعة وعلم وظائف الأعضاء وعلم الأعصاب(Lundberg *et al*., 2008).ومن هذه الاستخدامات: .

1-ترياق ضد التسمم بالسيانيد: يمكن استخدام نتريت الصوديوم كجزء من خليط وريدي لعلاج التسمم بالسيانيد (Ansari *et al*., 2017).

2-يدعم وظيفة القلب والاوعية الدموية : يعتبر أوكسيد النتريك دواء مضاد للذبحة الصدرية حيث يعمل على توسع الاوعية الدموية والذي قد يساعد في علاج لآم نقص التروية المعروفة بالذبحة الصدرية عن طريق تقليل عبء الجهد القلبي كتأثير موسع للأوعية (Liu *et al*., 2020) .

3-يقلل من ضغط الدم (Blood pressure) : ارتفاع ضغط الدم هو سبب رئيسي لأمراض القلب والأوعية الدموية وبالتالي فان الأساليب العلاجية المحسنة والمصممة بالتدخل في الآليات الفيزيولوجية المرضية ذات الصلة قد تساعد على خفض ضغط الدم وتقليل حالات المرضى والوفيات، وفي هذا الصدد كشفت بعض الدراسات الآثار الخافضة للضغط الدموي لكل من النترات والنتريت الغير عضوي (Montenegro *et al*., 2011).

اذ بينت دراسة Rochon وجماعتهُ ،(2020) ان لنتريت الصوديوم تأثير موسع للأوعية وبالتالي يقل ضغط الدم.

4-يدعم صحة الجهاز الهضمي ان أوكسيد النتريك NO يحسن صحة الجهاز الهضمي عن طريق التوسط في تدفق الدم الى المعدة و يحافظ على البطانة الظهارية للمعدة والحاجز المخاطي ويمنع انضمام الكريات البيض إلى البطانة (Hord *et al*., 2009). كما وجد ان النتريت يعزز إنتاج أوكسيد النتريك مما يؤدي إلى تقليل الدهون الثلاثية (Zand *et al*., 2011).

5-استخدامات طبية أخرى : ويعمل نتريت الصوديوم على تثبيط بعض الخلايا مثل الخلايا المضادة للأورام ومستجيبات الخلايا السامة مثل الخلايا القاتلة الطبيعية ضد مسببات الامراض والخلايا الورمية (Abuharfeil *et al*., 2001).

اظهرت بعض الدراسات انه يمكن انتاج أوكسيد النتريك مباشرةً من النتريت وبالتالي التحكم في تدفق الدم لعضلة القلب والأنسجة الاخرى (Bryan *et al*., 2007) . وكذلك يستخدم نتريت الصوديوم كموسع للأوعية والقصيبات ومرخي معوي(Hunter *et al*., 2004) .

ثانياً: الاستخدام الصناعي Industrial Use

الاستخدام الرئيسي لنتريت الصوديوم هو في الانتاج الصناعي لمركبات النتروجين العضوية اذ انهُ يدخل في صناعة اصباغ الازو ومركبات عضوية اخرى ، حيث ينتج النتروز من النتريت ويستخدم في صناعة المطاط (EFSA , 2009) ، يدخل النتريت في معالجة المنسوجات وفي الزراعة وهو ضروري لخصوبة التربة (Gonchar *et al*., 2006; Hassan, 2007)،كما ان نتريت الصوديوم ($NaNO_2$) يستخدم على نطاق واسع في صناعة المواد الغذائية كمادة مثبتة للون وحافظة للأسماك ومنتجات اللحوم، يعتبر(5-20) ملغم من النتريت لكل كغم من اللحوم

كافياً لتطوير اللون الأحمر بينما يلزم 50 ملغم لكل كغم لتطوير خصائص الطعم و 100 ملغم لكل كغم ليكون لها تأثير مضاد للميكروبات(Pradhan *et al*., 2019) . وله العديد من الأغراض الصناعية (Mcnnally *et al*., 2016) وهي:

1-مثبط للتنخر(النتانة) Inhibition of Rancidity: نتريت الصوديوم لدية القدرة وبشكل فعال على تأخير تشكيل التنخر التأكسدي Oxidative rancidity والذي يعتبر السبب الرئيسي لتدهور الجودة في منتجات اللحوم والدواجن والتي تؤدي غالباً الى تطور النتانة وأكسدة الدهون Lipids oxidation والتي ترتبط بخمسة عوامل هي مستويات الدهون غير المشبعة ، الوقت ، التعرض للأوكسجين ، ازالة الاوكسجين ودرجة الحرارة (Sindelar & Milkowski, 2011).

2-مثبط للنمو الميكروبي Inhibition of Microbial Growth :استخدمت العديد من المواد الحافظة المضادة للميكروبات مثل نتريت الصوديوم و نترات الصوديوم و ثنائي أوكسيد الكبريت و ثنائي كبريتات الصوديوم وغيرها (Lamas *et al*., 2016). اذ يستخدم نتريت الصوديوم للحفاظ على الاسماك ومنتجات اللحوم والدواجن من التلف (Anand & Sati, 2013; Ferysiuk & Wojciak, 2020) .

تعتمد طبيعة المعالجة بالنتريت التي تجعله نشطاً كمركب مضاد للبوتولينوم Anti botulinum على تفاعلات النتريت مع عوامل اخرى مثل الملح ، الرقم الهيدروجيني ، المعالجة الحرارية ، مستوى الجراثيم ، مستوى النتريت اثناء التصنيع ومستويات النتريت المتبقية في اللحوم (Crowe *et al*., 2019; Wojciak *et al*., 2019).

3-تثبيت اللون Fixation of color : يعمل النتريت على تثبيت اللون الاحمر المرغوب والوردي المظلل ويعتبر في الغالب ميزة مهمة لقبول المستهلك ، وان كمية النتريت المستخدمة للحصول على اللون المرغوب يعتمد على نوع المادة التي يضاف اليها النتريت ، ان الآلية المسؤولة عن التغير اللوني هي تكوين عوامل النتروزيل Nitrosylating agents من النتريت والتي لها القدرة على نقل أوكسيد النتريك الذي يتفاعل مع الهيموغلوبين لإنتاج لون اللحم المعالج (Sindelar & Milkowski, 2011) .

5.2.2.التأثيرات الضارة لنتريت الصوديوم Harmful Effects of Sodium Nitrite

في العصر الحالي للعولمة والتصنيع الدولي السريع ، فإن الاستخدام المكثف للنتريت كعامل مخصب في الزراعة ،المواد الحافظة ،عامل الصباغة ،المضافات الغذائية وكمانع للتآكل في القطاعات الصناعية يؤثر سلبًا على البيئة الطبيعية وصحة الإنسان، أدت مسألة السمية والسرطنة بسبب الإفراط في تناول النتريت عن طريق المدخول الغذائي إلى حاجة ماسة لمراقبة كمية المادة المضافة (Gahlaut *et al*., 2019). تكمن خطورة نتريت الصوديوم في انتاجه للجذور الحرة Free radicals والتي تسبب خلل في توازن النظام المضاد للأكسدة (Naik *et al*., 2006) . حدد الاتحاد الأوروبي الحد الأقصى والبالغ 150 ملغم لكل كغم من النتريت في منتجات اللحوم غير المعالجة حرارياً والمعالجة بالحرارة (باستثناء منتجات اللحوم المعقمة)(Pradhan *et al*., 2019).ومن اهم هذه التأثيرات :

1-بيروكسيد الدهون Lipid peroxidation

تعتبر الدهون من الجزيئات الهامة واللازمة للتحكم في الوظائف الخلوية والتوازن ، اذ يلعب الكبد دوراً حيوياً في عملية التمثيل الغذائي بما في ذلك تركيبها وخزنها ونقلها (Ghadir *et al*., 2010) .

ان عملية اكسدة الاحماض الدهنية المتعددة الغير مشبعة Polyunsaturated fatty acid في اغشية الخلايا بسبب تفاعلات متسلسلة للجذور الحرة لتكوين بيروكسيدات الدهون Lipid peroxides التي تتفكك لتكون المالون ثنائي الالديهايد (MDA) كناتج لعملية بيروكسدة الدهون(Halliwell & Gutteridge, 2015) ، ينتج عن ذلك زيادة في مستويات اصناف الاوكسجين الفعالة ومن ثم يتفاعل مع مضادات الاكسدة Antioxidant مسببا انخفاضا في تراكيزهـــا (Schieber & Chandel, 2014).

من أهم تأثيرات بيروكسيد الدهون هي فقدان سيولة الاغشية ، زيادة نفاذيتها ، مسبباً تمزق للغشاء وبالتالي خروج العضيات الخلوية للخارج(Nigam & Schewe, 2000) . اذ اشارت بعض الدراسات الى ان آلية انتاج انواع الاوكسجين الفعالة Reactive oxygen species (ROS) قد تكون هي مسؤولة عن سمية النتريت(Jan *et al*., 2020) .

ان الجرعة السامة للنتريت تحفز بيروكسيد الدهون وبالتالي التغير في نشاط مضادات الأكسدة (Gonchar *et al*., 2006).

المالون ثنائي الديهايد Malondialdehyde (MDA) هو المنتج النهائي لبيروكسيد الدهون والذي يمكن ان يتفاعل مع المجاميع الامينية للبروتينات والجزيئات الحيوية الاخرى مثل الاحماض النووية والتي تكون مطفرة وربما مسرطنة (Cline *et al*., 2004).

2- الميتهيموغلوبين الدم Methaemoglobinaemia

من التأثيرات البيولوجيا للنتريت هو أكسدة الهيموغلوبين (Hb) الى الميتهيموغلوبين (metHb) ليصبح الهيموغلوبين غير قادر على نقل الأوكسجين للأنسجة وتحصل هذه العملية عندما يتحول الحديدوز (Fe^{+2}) في الهيموغلوبين الى الحديديك (Fe^{+3}) ، وذلك عندما تتعرض كريات الدم الحمراء لعوامل مؤكسدة وجذور حرة ، حيث تنخفض القدرة على ربط الأوكسجين وبشكل واضح سريرياً عندما يصل تركيز (metHb) الى 10% او اكثر من تركيز الـ (Hb) الطبيعي والتراكيز العالية تسبب الازرقاق والاختناق (Azab *et al*., 2015). ان الجذور الحرة مركبات تفاعلية تمتلك الكترون واحد او اكثر والتي يتم انتاجها بشكل طبيعي في جسم الانسان عن طريق العمليات البيولوجية الطبيعية او قد تكون قادمة من مصدر خارجي مثل (دخان التبغ او السموم والملوثات) وقد تكون بشكل انواع الأوكسجين الفعالة (ROS) او انواع النيتروجين الفعالة (RNS) ، تكون هذه الجذور الحرة سامة يمكن ان تهاجم الجزيئات الحيوية واتلافها بضمنها (الدهون ، البروتينات والاحماض النووية) ، مسببة اضرار مختلفة منها تصلب الشرايين والتهاب المفاصل والسرطان وغيرها (Naithani *et al*., 2011) .

3- **السرطنة Carcinogenicity**

ان تفاعل النتريت مع الامينات من الاطعمة في المعدة لإنتاج مركبات N-nitroso مثل النتروزامين Nitrosamines والجذور الحرة ، كما ان هناك العديد من مركبات N-nitroso المسببة للسرطان في جميع الانواع الحيوانية والتي قد تكون مسرطنة ايضاً لدى الانسان(Zhang *et al*., 2019)، يسبب النتروزامين Nitrosamines السرطان من خلال تفاعله مع انسجة الجسم وتعزيز بيروكسيد الدهون ويحفز انتاج انواع الأوكسجين الفعالة (ROS) مما يؤدي الى الاجهاد التأكسدي وتغير نظام الدفاع المضاد للأكسدة في الانسجة والاصابات الخلوية والتي قد تكون احد العوامل المسببة للسرطان(Mittal *et al*., 2006).

يحرض النتروزامين Nitrosamines سرطان المريء والمعدة والامعاء الدقيقة (Sellimi *et al.*, 2017; Vickers, 2017).

4- التأثير على الكبد والكلى Effect on Liver and Kidney

الكبد هو اكثر الاعضاء عرضة للمواد السامة ، اذ لنتريت الصوديوم تأثيرا سام على نسيج الكبد مرتبطاً بإصابة المايتوكوندريا والإجهاد التأكسدي في خلايا الكبد المعزولة من الجرذان كما تسبب حدوث اضطراب في وظيفة الكبد (Kiani *et al.*, 2017) ، ان تكوين النتروزامين Nitrosamines نتيجة تفاعل النتريت او غيره من المواد الحافظة مع الامينات للأطعمة في المعدة وبالتالي قد تزيد هذه المنتجات من بيروكسيد الدهون (LPO) الذي يكون له تأثير ضار على الاعضاء المختلفة وخاصةً الكبد والكلى (Hassan *et al.*, 2012) .

لنتريت الصوديوم دور في تكوين الجذور فائقة الأكسدة في الكبد وبالتالي يحصل تلف للأغشية الخلوية وحدوث تنخر كبدي ، وارتشاح خلايا الالتهابية في القنوات البابية Portal canals ، إضافة الى تغييرات نسيجية في الخلايا الكبدية اظهرت مناطق تنخر واسعة مع توسع الجيبانيات (Sierra *et al.*, 2018) .

اشارت بعض الدراسات الى ان سبب انخفاض محتوى كبد الفئران من الكلايكوجين بعد معاملتها بنتريت الصوديوم هو دورة في تحفيز عملية الـ Gluconegensis (Abdul-Ameer & Abed, 2012)، دراسات أخرى بينت ان هناك علاقة مباشرة بين زيادة استهلاك المنتجات المعالجة بالنتريت وحدوث تلف الأنسجة ، والسمية الكبدية ، والسمية الكلوية وبعض أنواع السرطان(Uslu *et al.*, 2019) .

وأظهرت دراسة على ذكور الجرذان المعاملة 75ملغم/كغم نتريت الصوديوم ارتفاع معنوي في الكرياتين واليوريا للجرذان والذي يمكن أن يعزى إلى تفاعل نتريت الصوديوم مع أمينات الأطعمة وإنتاج النيتروزامين والجذور الحرة مما يؤدي إلى زيادة بيروكسيد الدهون التي يمكن أن تكون ضارة لأعضاء مختلفة بما في ذلك الكلى(El-Nabarawy *et al.*, 2020).

5- التأثير على الجهاز التناسلي الذكري

يعمل نتريت الصوديوم على احداث تغيرات في الاوعية الدموية والهورمونات للخصية ، حيث وجدت زيادة في وزن الخصية ومؤشر الغدد التناسلية إضافةً الى انخفاض في وزن البربخ وعدد الحيوانات المنوية في كل من الفئران والجرذان بعد معاملتها بنتريت الصوديوم (Pavlova *et al*., 2017) . كشفت النتائج على الجرذان المعاملة بنتريت الصوديوم عن تغيرات تنكسية مدمرة في الخصية ، حيث ظهرت النبيبات المنوية بشكل غير منظم وتكتل في الخلايا الجرثومية الغير متمايزة واختفاء النطف من العديد من تجاويف النبيبات المنوية (Pavlova *et al*., 2013) . تضمنت التغيرات في الخصى المعرضة لنقص الأكسجة بسبب ظهور اوعية دموية جديدة وزيادة في درجة حرارة الخصية (Farias *et al*., 2005) .

3.2. النباتات الطبية Medicinal plants

1.3.2.نبذة تأريخية: Historical view

استخدمت النباتات الطبية كمعالجة تقليدية للإمراض التي تصيب البشر منذ الاف السنين في أجزاء مختلفة من العالم ، حيث توارثت المجتمعات البشرية استخدام النباتات للسيطرة على الأمراض أو الوقاية منها على مدى قرون عديدة، فقد كان السومريون والأكديون أول من سجل استعمال النباتات علاجاً للعديد من الأمراض في حوالي عام2600 قبل الميلاد ، اذ تعد الأعشاب الطبية مصدراً دوائياً ضد الامراض المختلفة وذلك لما تحتويه بعض اجزائها النباتية من مركبات كيميائية ذات فائدة كبرى لتأثيرها الوظيفي ونشاطها العلاجي للإنسان والحيوان ومصدر غذائي من جهة اخرى (الزبيدي وآخرون ، 1996) . وشكلت قاعدة الرعاية الصحية في كافة أنحاء العالم منذ الأيام الأولى للبشرية وما زالت كثيرة الاستخدام لأهميتها في البحث الدوائي وتطور الأدوية (Ahmad *et al*., 2006; Hussain & Ghani, 2008) .

تعتبر النباتات الطبية في العالم العربي موارد مهمة للرعاية الصحية ، وذلك لأنها عناصر بارزة في الطب النبوي(Aati *et al*., 2019). تعد الاعشاب الطبية Herbalism هي الدواء أو الطب التقليدي أو الطب الشعبي القائم على استخدام النباتات او المستخلصات النباتية بالإضافة الى ذلك يعرف ايضاً بطب العقاقير النباتية أو علم الأعشاب أو العلاج بالنباتات (Acharya & Shrivastava, 2008) .

تُستخدم العديد من النباتات المزروعة والبرية لإدارة الأمراض المختلفة ، وخاصة أمراض الكلى والكبد وأمراض الجهاز المناعي والقلب والأوعية الدموية . أدت الزيادة الأخيرة في شهرة المنتجات الطبيعية والطب البديل إلى إحياء الاهتمام بالعلاجات التقليدية التي تم استهلاكها لبعض الأمراض من المحتمل أن تكون الخصائص الوقائية للأعشاب المختلفة ناتجة عن أنشطتها المضادة للأكسدة ، ومضادات فرط كولسترول الدم ، ومضادة نقص تروية الدم وغيرها (Naveed *et al*., 2020).

لقد استخدمت النباتات من قبل الإنسان في علاج الأمراض والاضطرابات الصحية منذ العصور القديمة فكانت النباتات المنزلية والأعشاب في الحضارات القديمة ذات علاقة بالإنسان لأغراضه التغذوية والصحية بما في ذلك الأمراض المختلفة مثل الحمى والأوجاع والالتهابات والعقم وغيرها (Alaribe *et al*., 2011) ، وذلك بسبب الخصائص العلاجية والنشاط الدوائي لتلك النباتات، وبالتالي يطلق عليها النباتات الطبية (Silva & Fernandes, 2010).وتعتمد اغلب المجتمعات البشرية على استعمال النباتات للرعاية الصحية الأولية. على الرغم من أن الاستخدام البشري للنباتات الطبية قد زاد في العالم ، إلا أن المعرفة في هذا المجال قليلة، ولاسيما في آلية العلاج وايض النباتات (Mamedov, 2012).

ان تواجد عدة انواع من النباتات الطبية امرا جيدا في توفير مصادر متنوعة وعديدة من الدواء للإنسان نتيجة اختلاف التركيب الكيميائي لكل نبات , ورغم قلتها في الوقت الحاضر وعدم الاهتمام بها وانقراض انواع عديدة منها الا ان المتوفر حاليا يسد الحاجة اذا ما استغلت بشكل جيـــــــــــد (موسى واخرون ، 2015) . أن التوجه نحو العلاج بالأعشاب الطبية له مبرراته ، حيث تبين ان الأدوية المصنعة كيميائياً لها تأثيرات جانبية خطيرة، ربما تظهر بمرور الوقت وبصورة تراكمية. وبالمقابل فإن استعمال النباتات ومستخلصاتها عبر مئات السنين لم يظهر الا القليل من التأثيرات الجانبية وذلك لاحتوائها على مركبات فعالة ذات خصائص علاجية ضد الامراض اذ تحتوي مجموعة من المركبات الفعالة المهمة مثل الفينولات والكلايكوسيدات والتربينات والفلافونات والاحماض العضوية والكاريتينويدات وغيرها ، واستعملت النباتات أيضا كمواد منكهة وحافظة للأغذية بجانب أهميتها كمصدر للتغذية (Hassan, 2012).

2.3.2. النبات المستعمل في الدراسة : نبات الرشاد *Lepidium sativum*

1.2.3.2.الوصف العام للنبات:

الرشاد نبات عشبي حولي يتراوح طوله بين 40-10 سم ، وله ساق كثير التفرع تكون اوراقه السفلية رمحيه مقلوبه حيث تكون السفلية ريشية والعلوية جالسة وتكون مرتبة بشكل متعاكس وذات لون اخضر لامع وملمسها محبب ، أزهارها بيضاء اللون وكثيفة التزهير ، الثمار تكون خردلية والبذور تكون ملساء صغيرة تشبه القرميد Brick ولونها أحمر الى أصفر باهت والسويداء Endosperm يكون لونها أصفر وحجم البذور (1.3-2.8) ملم (Manohar *et al*., 2012; Sharma & Agarwal, 2011) . ويعد نبات الرشاد من الخضروات الذي يتميز بسرعة نموه ويشترك مع نبات الجرجير Water Cress والخردل Mustard بالطعم الشوكي اللاذع الحاد والرائحة المميزة (Manohar *et al*., 2012) .

صورة رقم (2-2) توضح الشكل العام لنبات الرشاد***Lepidium sativum***

صورة رقم (2-3) تبين بذور نبات الرشاد ***Lepidium sativum***

2.2.3.2. التصنيف العلمي :

التصنيف والتسمية العلمية لنبات الرشاد كالآتي وحسب (Warwick, 2011)

Kingdom: Planta	المملكة : النباتات
Phylum: Angiosperms	الشعبة : مستورات البذور
Class: Eudicots	الصنف : ثنائية الفلقة
Order: Brassicalis	الرتبة : الكرنبيات
Family: Brassicaceae	العائلة : الصليبية
Genus: *Lepidium*	الجنس : الرشاد
Species: *Sativum*	النوع : المزروع

Scientific name*: Lepidium sativum*

3.2.3.2. التسمية المحلية لنبات الرشاد:

يعرف نبات الرشاد بأسماء محلية حسب (Bender, 2006) وهي:

رشاد أو ثفاء	Cress or Cresson
رشاد حدائق أو كرسون الحديقة	Garden Cress
رشاد أرض	Land Cress
رشاد فلفل	Pepper Cress
رشاد فلفل حديقة	Garden Pepper Cress
رشاد ملتوي	Curly Cress
عشب فلفل	Pepper Grass
نبتة فلفل	Pepper Wort

4.2.3.2. الموطن الاصلي لزراعته:

يزرع نبات الرشاد في المناطق الظلية أو جزئية الظل ويتميز بتحمله لمدى واسع من درجات الحرارة ويتميز بسرعة نموه (Manohar *et al*., 2012) ، وتنتشر زراعته في مدن العراق لقيمته الغذائية العالية ولفوائده الصحية (Weiss & Hammes, 2003) ، اذ تعتبر منطقة الشرق الاوسط موطن النبات الاصلي ويوجد بكثرة في سوريا وخاصةً في الجولان وحوران ، ويكون طبيعياً او مزروعاً في مصر وجنوب غرب اسيا كما يزرع بشكل كبير في تركيا(Karazhiyan *et al*., 2009). .

5.2.3.2.المكونات الكيميائية لنبات الرشاد Chemical Compounds in Cress

يحتوي كل 100غم من الرشاد الأخضر على 5.5غم كربوهيدرات ، 2.6غم بروتين ، 0.7 غم دهون ،1.1غم ألياف ، 81 ملغم كالسيوم ، 76ملغم فسفور ، 38ملغم مغنسيوم ،1.3ملغم حديد ،0.25ملغم خارصين ، 0.26ملغم رايبوفلافين ،0.08 ملغم ثيامين ،1ملغم نياسين ،0.08ملغم حامض الفوليك و69ملغم حامض الأسكوربيك (Sharma & Agarwal, 2011)

6.2.3.2.المكونات الكيميائية في بذورالرشاد Chemical Compounds in Cress Seeds

تحتوي البذور على 35-54% كربوهيدرات ، 14-26% دهون ، 27% بروتين و8% الياف خام ،كما تحتوي البذور على 90% سكريات غير نشوية ، 10% نشاء و20-25% احماض دهنية (متعددة غير مشبعة بنسبة 46.8% واحادية غير مشبعة بنسبة 37.6%) ومنها A linolenic acid (ALA) بنسبة 32% Linolenic acid (LA) بنسبة 12%. كما توجد في بذور الرشاد الستيرويدات ،التربينات الثلاثية وزيوت دهنية بنسبة 14-25.5% (Bhandari, 2015; Prajapati & Dave, 2018; Roughani & Miri, 2018) ، وتحتوي البذور على الفيتامينات وتشمل التوكوترينولات Tocotrienols والتوكوفيرولات Tocopherols إضافة الى فيتامينات (A, B6,C,) (Moser *et al*., 2009) ، ومركبات الكلايكوسايدات Glycoside ، الفلافونويداتFlavonoids و ايزوثيوسيانات Isothiocynates ، كما تحتوي بذور الرشاد على العديد من العناصر مثل (الحديد ، النحاس ، المغنيسيوم ، المنغنيز ،الصوديوم ، الكالسيوم ، البوتاسيوم ، اليود والفسفور) وعناصر غذائية مهمة لصحة الانسان مثل الالياف الغذائية ،حامض البيهينيك (Behenic Acid) وحامض الاراكيديك (Arachidic Acid)(Jain & Grover, 2018; Musara *et al*., 2020) .

3.3.2.استخدامات نبات الرشاد Cress Uses

أولاً: الاستخدام الغذائي : Food Use

تدخل اوراق الرشاد في تحضير السلطات والطبخ مع الخضروات الاخرى في أوربا وأمريكا ، كما يستخدم الرشاد كتابل في تزيين الاطعمة (Bekalo *et al*., 2009) . تحتوي بذور الرشاد على البروتينات والألياف الغذائية وأحماض أوميغا 3 الدهنية والحديد والعناصر الغذائية الأساسية الأخرى والمواد الكيميائية النباتية ، وبالتالي تضاف هذه البذور إلى بعض الوجبات الغذائية (Sharma, 2020) . ويمكن استخدامه كعلف للخيول والحيوانات الأخرى (Sharma & Agarwal, 2011).

ثانياً: الاستخدام الطبي Medical Use

1-مضاد للالتهابات Anti-inflammatory

اثبتت الدراسات والبحوث العلمية ان اوراق وبذور الرشاد تمتلك العديد من المركبات والعناصر الغذائية المهمة التي تعزز الجسم صحياً ،اذ تمتلك اوراق الرشاد وبذوره خصائص مضادة للالتهابات Anti-inflammatory حيث يمكن ان تساعد بذوره المطحونة والمضافة الى عصير الليمون على تخفيف الالتهابات والآلام المرافقة لمرض الروماتيز (Doke & Guha, 2014; Alqahtani *et al*., 2019) .

استخدمت بذور نبات الرشاد في الطب التقليدي في الجمهورية الايرانية لمعالجة التهاب الامعاء الناتج عن استخدام الاندوميثاسين Indomethacin في الجرذان عن طريق آلية تثبيط صنع الموثينات (Rahimi *et al*., 2010). كشفت الدراسة الدوائية أن نبات الرشاد *Lepidium sativum* له فعالية مضادة للميكروبات ، الالتهاب ، مسكن للآلام ، وخافض للحرارة وتأثيرات وقائية اخرى (AL-Snafi, 2019). تعد بذور الرشاد من الأغذية الوظيفية (Functional Foods) نظرا لما تحتويه من المكونات الطبية ونظرا لأهميتها الصحية وتأثيرها في الوظائف الفسيولوجية والهرمونية (Aydemir & Becerik, 2011; Datta *et al*., 2011). تصنف بذور النبات من المواد الغذائية العلاجية (Nutraceutical Foods) لأهمية الألياف التي يحتويها(بنسبة 75% من الألياف) والتي تعد من النوع الواقي للجسم من عدة أمراض، كما ان وجود الفلافونويد Flavonoid واشباه القلويَات Alkaloids والعديد من المركبات الاخرى في نبات الرشاد يكسبه تأثيراً مضاداً للمكروبات (Jain & Grover, 2018) .

2-مضاد للسرطان Anti-Cancer

اظهرت دراسة التأثير السام لمستخلص بذور الرشاد على خلايا سرطان الثدي البشري ، حيث يعزى تأثيره لوجود نظير الثيوسيانات Isothiocyanates وخاصةً الـ Benzyl Isothiocyanates في مستخلص البذور وبالتالي له القدرة على منع نمو خلايا سرطان الثدي(Mahassni & Al-Reemi, 2013b) . تم تحديد امكانية مستخلص بذور الرشاد على احداث التنخر والموت المبرمج في خط خلايا سرطان الثدي البشري (Mahassni & Al-Reemi, 2013a). ويعد نظير الثيوسيانات Iso thiocyanate من المركبات الاروماتية المستخلصة من بذور الرشاد وله تأثير ايجابي في منع المسرطنات Carcinogens

لمواقع مختلفة من الجسم بواسطة منع فعالية المسرطنات وابطال تأثيراتها السامة الناتجة من نشاطها بواسطة تحفيز فعالية انزيم Glutathione -S- Transferase (GSH-ST) الذي يعد نظام دفاعي خلوي مهم ويسرع ازالتها من الجسم (Drewnowski & Gomez, 2000; Munday & Munday, 2004) .

كما اظهر المستخلص الكحولي لبذور الرشاد نشاطاً ساماً لخلايا سرطان القولون وبطانة الرحم بطريقة تعتمد على التركيز، حيث تمت زيادة نشاط موت الخلايا المبرمج والتأثيرات السامة للجينات بشكل كبير خاصة مع تركيز 200 ميكروغرام / مل عند الحضانة لمدة 48 ساعة (Selek *et al*., 2018).

3-مضاد للسكر Anti-Diabetes

اشارت النتائج إلى أن التجريع الفموي بـ 200و400 ملغم/كغم للمستخلص الايثانولي لبذور الرشاد له تأثيرات مفيدة كعامل وقائي ضد الآثار الضارة لمرض السكري على الجهاز التناسلي لذكور الجرذان المصابة بداء السكر(Kamani *et al*., 2017) . كما ان تجريع الجرذان فموياً بـتركيز 20 ملغم/ كغم من المستـــخلص المائي لبـــذور الرشاد لمدة 15 يوم حفز انخفاض سكر دم الحيوانات المصابة بمرض السكر المستحث بمركب ستربتوزوتوسين (Streptozotocin) من خلال تثبيط أعـادة أمـتصـاص الكلـوكوز خافضاً بـــدوره ســـكـــر الـــدم (Eddouks & Maghrani, 2008;Bhushan *et al*., 2010) . حيث يستخدم بذور الرشاد كطب شعبي في جمهورية مصر ضد المرض السكري ومضاد للبكتريا بسبب وجود مادة Benzyl Isothiocyanate (Sharma & Agarwal, 2011) .

4-مضاد للأكسدة Anti-oxidant

بذور الرشاد لها خصائص مضادة للأكسدة Antioxidant وبهذا يساعد على وقاية الكبد من اضرار عمليات الاكسدة الناتجة من الجذور الحرة (Abdel-Aty *et al*., 2019) .

ذكرت دراسات ان لنبات الرشاد دوراً في حماية الكبد ضد رباعي كلوريد الكاربون (Abuelgasim *et al*., 2008)، ان المستويات العاليـــــــة للكاروتينات و التوكوفيرولات وحامض الاسكوربك والفينولات في نباتات العائلة الصليبية التي اثبتتها العديد من الدراسات جعلته مصدراً لمضادات الاكسدة، إذ تحمي هذه المركبات جسم الانسان من الضرر الناتج عن الانواع الأوكسجينية الفعالة (ROS) (Rose *et al*., 2005; Souri *et al*., 2008) . وقدرته

على تثبيط بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) Hydrogen Peroxide بمساعدة بعض المعادن ، و القدرة على كسح المحبات Electrophiles و الانواع النيتروجينية والكلور الفعال وكعوامل مخلبية للمعادن وبالتالي يمنع امراض عديدة تصيب الانسان (Halliwell & Gutteridge, 2015) .

5-ضد امراض الكلى Anti-Kidney Disease

أشارت عدة دراسات إلى دور المركبات في بذور الرشاد ومنها كومارينات Coumarins ،الفلافونويدات Flavonoids ،التربينات الثلاثية ،الستيرويدات steroids وكليوسيدات الكبريتية Sulphur Glycosides في معالجة أمراض الكلى Renal disease وفرط الضغط Hypertension (Wright *et al*., 2007; Patel *et al*., 2009; Kumar *et al*., 2010) . ان التجريع الفموي بـ 20 ملغم / كغم من المستخلص المائي لنبات الرشاد لمدة ثلاثة أسابيع ادى إلى زيادة طرح الصوديوم والبوتاسيـوم بسبب تواجد المركبات المدرة للبول ومنها المركبات القلوانية Alkaloids والمركبـات الفينوليـة ومنها التانين Tannin اضافة الى التربينات الثلاثية (Maghrani *et al*., 2005;Gupta & Arya, 2011) . بينت دراسة ان المستخلص الكحولي لنبات الرشاد بتركيز (400 ملغم / كغم) يكون فعال لحماية ومعالجة الكلية ضد مادة Cisplatinالمحفزة لسمية الكلى والتي تقلل الوزن وتزيد من افراز اليوريا ومستويات الكرياتينين في مصل الدم(Yadav & Vipin, 2010b) .

6-ضد امراض المفاصل والكسور Anti-Arthritis and Fractures

استخدمت المجتمعات العربية نبات الرشاد كعلاج جيد لجبر العظام المكسورة في الإنسان ، فأعتمد علية في الطب العربي والهندي التقليدي لعلاج التهاب العظم المفصلي Osteoarthritis ، مرض الروماتيزم Rheumatism ،آلام أسفل الظهر Lower back pain ،ألم المفاصل Joint pain ،الانتفاخ في المفصل Swelling in the joint ،تصلب المفاصل Joint stiffness ،علاج الخلل في المفصل مثل الفرقعة Pop in the join ،هشاشة العظام Osteoporosis والصعوبة في الحركة (Bafeel & Ali, 2009; Raval & Pandya, 2009; Yadav *et al*., 2011) .

بينت بعض الدراسات بأن التجريع الفموي بـ 400 ملغم/كغم من مستخلص الكحولي لبذور الرشاد أدى إلى معالجة الكسور في نموذج العظمي الفخذي Osteotomy Model

Formoral في الجرذان بسبب وجود مركبات الكلايكوسايد والقلوانية والفنيولات ، ومنها التانين والفلافونويدات وأيضا الأحماض الأمينية ومنها الكلايسين Glycine الذي يشكل الليفات Fibril المكون الأساسي للكولاجين الأول والثاني ، حيث يشكل الكولاجين الأول 90% من البروتين العظمي الكلي (Yadav *et al*., 2011) .

كما ان لبذور الرشاد دور في معالجة التهاب المفاصل الروماتيزي وذلك لاحتوائه مركبات قلوانية التي تعرف باسم Lepidine والتي اثبتت فعاليتها المسكنة للجهاز العصبي المركزي (Rajendran & Krishnakumar, 2010; Shukla *et al*., 2011) .

7-استخدامات اخرى Other Uses

يمكن ان تساعد بذور الرشاد على تخفيف شدة اعراض النوبات التي يعاني منها مرضى الربو Asthma (Jain & Grover, 2018) .اذ أظهر التجريع الفموي بـ1 ملغم من مسحوق بذور النبات وبمعدل ثلاث مرات في اليوم ، تخفيف معتدل لمرضى الربو القصبي في كلا الجنسين ، وذلك لفعالية البذور كمضاد للتشنج (Paranjape & Mehta, 2006). كما يستخدم في علاج التهاب الشعب الهوائية Bronchitis (Manohar *et al*., 2012) . وفي الهند تستخدم بذور الرشاد لعلاج السعال Cough والبرد و الإسهال Diarrhea والزحار Dysentery (Sharma & Agarwal, 2011;Manohar *et al*., 2012) . وتستخدم بذوره في حالات الامساك لامتلاك بذوره خصائص ملينة ، ويعتبر مدر للبول ، يمنع حدوث النزف بعد الولادة ومنشط جنسي كما تستخدم اوراقه في علاج البواسير (Ghosh, 2012; Doke & Guha, 2014a) .

ففي دراسة تضمنت التجريع الفموي بـ 20 غم من بذور الرشاد المغلي في كوب من الحليب لمدة 15 دقيقة وبمعدل ثلاث مرات في اليوم أدى الى تقليل الاضطرابات المعدية والمعوية وتخفيف الآم الظهر بتناوله مع الشاي الأخضر أو الحليب قبل الفطور (Hussain & Ghani, 2008) . كما اظهر التجريع الفموي للمواشي المنتجة للحليب بـ 500 غم من بذور النبات المغلي في لترين من الحليب لمدة ٨ أيام إلى معالجة التهاب الثدي Mastitis (Dilshad *et al*., 2010) . وقد تميزت بذور الرشاد بفعاليتها الملينة في علاج مغص الماشية وذلك بعد مزجها وغليها مع جذور نبات الخبازة *Malva neglecta* لان بذور الرشاد تحتوي على المركبات القلوانية والصابونين Saponin والفلافونويدات (Ali & Qaiser, 2009) .

4.2. الاجهاد التأكسدي Oxidative stress

ويمكن تعريف الاجهاد التأكسدي بأنه حالة عدم توازن بين الجذور الحرة وأنظمة الدفاع المضادة للأكسدة وذلك عندما يحصل اضطراب في عمل مضادات الاكسدة او نتيجة تعرض الخلية لمستوى عالي من الجذور الحرة او كلاهما (Selvaraju *et al*., 2012)، فالإجهاد التأكسدي هو عملية فسيولوجية طبيعية وفيها تتغلب جذور الأوكسجين الحرة على استراتيجيات الكسح لمضادات الأكسدة وبالتالي يحصل اختلال بالتوازن بين أنواع الأوكسجين التفاعلية ومضادات الاكسدة (Sies, 2020)،فيرفع الاجهاد التأكسدي من مستويات أنواع الأوكسجين الفعالة (ROS) والتي تسمى أيضاً بالمؤكسدات ، اذ تزداد تراكيز الجذور الحرة الفعالة مثل جذر الهيدروكسيل Hydroxyl radical ، جذر سوبر اوكسيد Superoxide radical وبيروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide الى درجة تفوق قدرة مضادات الاكسدة للتخلص منها مسببة تأثيرات سامة وخلل في وظائف اعضاء الجســـــــــم (Birben *et al*., 2012) .

1.4.2. الجذور الحرة Free Roots

وهي عبارة عن ذرات او جزيئات لها واحداً من الإلكترونات غير المزدوجة في غلافها الخارجي (Pan *et al*., 2019; Suleman *et al*., 2019).وتتميز ذراته او جزيئاته بعدم الاستقرار وذات طاقة عالية نتيجة الخلل الحادث في توزيع وانتظام الالكترونات الموجودة في مدارها وبالتالي تكون فعاله جداً لتصل الى حالة الاستقرار عن طريق التفاعل مع جذر اخر أو جزيئة اخرى بتفاعلات مختلفة مسببة توليد جذور حرة متسلسلة ومتعاقبة ، اذ ينتج من هذه العملية انشطار الجزيئات المجاورة مما يجعل الجذور الحرة مفيدة وخطرة في نفس الوقت (Nimse & Pal, 2015).

تصنف الجذور الحرة حسب تفاعلاتها الى جذور مختزلة واخرى مؤكسدة والتي لها القدرة على اكسدة الجزيئات الحيوية مثل الدهون والبروتينات والكربوهيدرات والاحماض النووية (El-Bahr, 2013; Lushchak, 2014) . تتولد الجذور الحرة بسبب التعرض للإشعاع والملوثات البيئية وكمنتجات ثانوية للأدوية والعمليات الأيضية وهذه الجذور تكون معادية لجزيئات تدعى مضادات الأكسدة في الطبيعة وهي التي تمنع الأكسدة (Neha *et al*., 2019).

2.4.2. مضادات الأكسدة Antioxidents

يمكن اعطاء تعريف لمضادات الاكسدة على انها المادة التي تؤخر او تمنع او تزيل الضرر الناجم من أكسدة جزيء الهدف (Sisein, 2014) ، ذلك تعتبر الخط الدفاعي الاول ضد ضرر الجذور الحرة وان الاستهلاك المنتظم لمضادات الاكسدة من خضروات وفواكه وغيرها يقلل من خطر الامراض المزمنة (Dembinska *et al*., 2008) ، بالرغم من التراكيز الواطئة نسبياً لهذه المضادات الا ان لها دور فسيولوجي مهم جداً ومتنوع ، فتعمل على تثبيط عملية الاكسدة فيكون بمثابة كاسح او مزيل للجذور الحرة ويساعد هذا بتحويلها الى انواع اقل تفاعلية ، تتواجد هذه المضادات في المصادر الغذائية المختلفة من الخضروات والفواكه والشاي (Nem *et al*., 2009;Kurutas, 2015). تتبرع مضادات الأكسدة بالإلكترونات للجذور الحرة لتقليل تفاعلها والحفاظ على توازن الأكسدة الخلوي ، هناك أنواع عديدة من الجزيئات ذات نشاط مضاد للأكسدة التي تلعب دوراً مهماً في تقليل مخاطر الاصابة بالأمراض وخاصة القلب والسرطان والسكري والكبد (Rajendran *et al*., 2014;Neha *et al*., 2019) .

1.2.4.2. تصنيف مضادات الأكسدة Antioxidant Classification

صنفت مضادات الأكسدة الى صنفين وفقاً الى طبيعتها: (Kefer *et al*., 2009)

اولاً- مضادات الاكسدة الانزيمية (Enzymatic antioxidant)

وهي انظمة حيوية وقائية تعمل على ازالة السموم ومنها:

1-الكلوتاثيون بيروكسيديز Glutathion Peroxidase (GSH-PX)

هو احد مضادات الأكسدة الانزيمية حيث يبلغ وزنه الجزيئي 44000 دالتون ، يوجد في السايتوبلازم و المايتوكوندريا للخلايا الحية ، يقوم بالتخلص من البيروكسيد H2O2 من خلال نقل الالكترون من المادة الاساس الى البيروكسيد ثم يختزل الى الماء بالإضافة الى الهيدروجين العضوي (Sisein, 2014) ، اذ يعمل على حماية أغشية كريات الدم الحمراء من التحطم والتلف نتيجة زيادة تكوين البيروكسيد ونواتجه وبوجود السيلينيوم الذي يكون تأثيره على السيلينيوم المختزل وبالتالي ينتج كلوتاثيون مؤكسد وماء حسب المعادلة ادناه (Sisein, 2014;Oroian & Escriche, 2015) .

$$2GSH + H_2O_2 \longrightarrow GSSG + 2H_2O$$

2-الكلوتاثيون ريدكتيز(Glutathion Reductase (GSH-RD

يقوم هذا الانزيم باختزال الكلوتاثيون المؤكسد Oxidized Glutation نتيجة وجود العامل المساعد NADPH الناتج من تحول السكر الخماسي Pentose Shunt تحت تأثير انزيم (G-6-PD)Glucose-6-phosphate dehydrogenase وحسب المعادلة ادناه (Sisein, 2014)

$$GSSG + NADPH^{+H} \longrightarrow 2GSH + NADP^{+}$$

3-الكاتاليز(Catalase (CAT

هو أنزيم رباعي الهيم (Tetra haem enzyme) ويتكون من اربع وحدات ثانوية مرتبطة بشكل رباعي السطوح(Oroian & Escriche, 2015) ، يعتبر احد انواع الانزيمات المعروفة بـ Hydroperoxidase والذي هو من مضادات الاكسدة الانزيمية الموجودة في مختلف خلايا الكائن الحي وعمله هو تحطيم البيروكسيد H2O2 وتحويله الى جزيئة ماء وأوكسجين جزيئي (Pisoschi & Pop, 2015) ، وتختلف فعالية الكاتاليز في الثديات من نسيج الى أخر فتكون واطئة في الانسجة الرابطة وعالية في الكبد والكلية ، يوجد انزيم الكاتاليز وانزيم الكلوتاثيون بيروكسيديز في كريات الدم الحمراء حيث يمتلكان وظيفة حماية الهيموغلوبين والبروتينات ، وكلما قل مستوى الكاتاليز في كريات الدم الحمراء تزداد فعالية العوامل المؤكسدة وخاصة البيروكسيد H2O2 (Sisein, 2014;Melo *et al*., 2019)

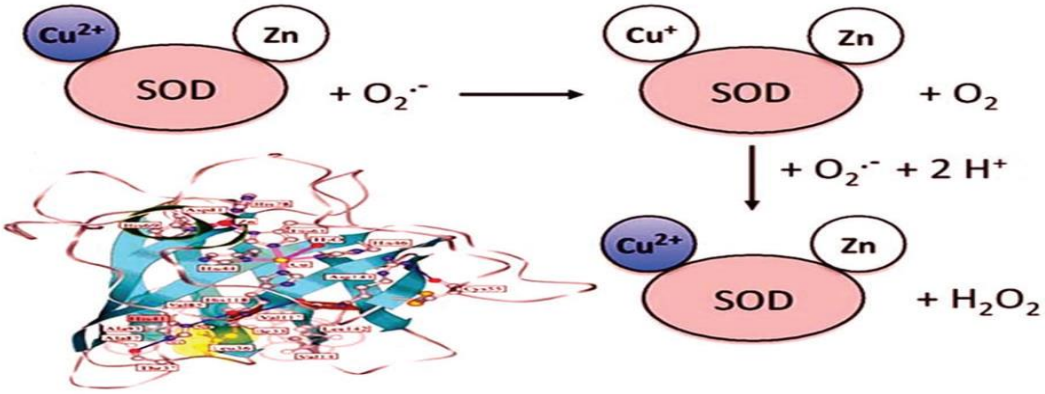
4-سوبر اوكساید ديسموتيز (Superoxid Dismutase (SOD

يعمل هذا الأنزيم كعامل علاجي جيد ضد الأمراض التي تسببه أنواع الأوكسجين الفعالة مثل السرطان ، الأمراض الالتهابية ، التليف الكيسي ، نقص التروية ، الشيخوخة ، السكري والتنكس العصبي . لكن لهذا الأنزيم محددات معينة في التطبيقات السريرية ، لذلك تم تطوير اتحادات SOD لزيادة كفاءته العلاجية (Younus, 2018) ، وهو يعتبر من البروتينات المعدنية ويعد احد الدفاعات الخلوية الاساسية ضد ايون السوبر أوكسايد $O2^{\cdot -}$ وتحويله الى H2O2 وبالتالي هو من أهم الانزيمات المضادة للأكسدة بالجسم ، ويتواجد بشكل لافت في خلايا الانسجة ذات معدلات الايض العالي ، شخصت ثلاثة انواع منه في اللبائن (Pham *et al*., 2008;Neha *et al*., 2019a) وهي:

1-أنزيم Cu,Zn-SOD حيث يتواجد داخل الخلايا (السايتوبلازم) .

2-أنزيم Mn-SOD يتواجد داخل الخلايا وفي المايتوكوندريا تحديداً.

3-أنزيم Ec-SOD يتواجد خارج الخلية وبالتالي يفرز ثم يرتبط مع كبريتات الهيبارين Heparine Sulfate على سطح الخلية ويؤدي وظيفتهُ الرئيسية في الشرايين(Kabel, 2014) .



شكل (2-4) الآلية التحفيزية لتفكيك ايون السوبر أوكسايد بواسطة (SOD) (Younus, 2018).

شكل (2-5) الخط الاول عن مضادات الاكسدة ضد أنواع الاوكسجين الفعالة (Ighodaro & Akinloye, 2018)

ثانياً- مضادات الأكسدة غيرالأنزيمية (Non Enzymatic antioxidant)

وتشمل حسب العلماء (Halliwell & Gutteridge, 2015; Reddy *et al*., 2018) **:**

1-المركبات الفينولية Phenolic Compounds

تشكل المركبات الفينولية مجموعة واسعة من المواد الكيميائية ذات التراكيب الكيميائية المتنوعة والانشطة البيولوجية المختلفة ، حيث يشمل أكثر من 8000 مركب مختلف ويمثل جزء مهم في النظام الغذائي البشري والحيواني(Martínez *et al*., 2000). المركبات الفينولية لها القدرة على منح الهيدروجين للجذور الحرة او لتخليب ايونات المعادن مثل النحاس والحديد عن طريق تثبيط اكسدة الدهون البروتينية واطئة الكثافة (LDL) ، ترتبط خصائص المركبات

الفينولية مع انخفاض مخاطر أمراض الأعصاب ، القلب ، الاوعية الدموية ، سرطان الجهاز الهضمي (Paran *et al*., 2009;Amani *et al*., 2017) ، وسرطان الثدي والمبايض (Vafadar *et al*., 2020) ،كما تعمل المركبات الفينولية على تمدد الاوعية الدموية ومضاد لنشاط الحساسية (Sakakibara *et al*., 2003) . توجد الفينولات في بذور الرشاد ، وبالتالي تمتلك القدرة في حماية الجسم من ضرر الاجهاد التأكسدي المحفز للجذور الحرة (Souri *et al*., 2008;Agarwal & Verma, 2011) . اذ اشارت الدراسات الى دور المركبات الفينولية مثل التانينات والفلافونويدات وكذلك الاحماض الأمينية ومنها (الكلوتامين Glutamine وكلايسين Claysine والسيستين Cysteine) التي تدخل في تركيب الكلوتاثيون في تقليل تسمم الكلية الناجم عن الجهد التأكسدي المستحث بالمركب Cisplatin (Yadav *et al*., 2010a) . ان قدرة مضادات الأكسدة للمركبات الفينولية والفلافونويدات والاحماض الفينولية ترجع الى عدد ومواقع المجاميع الهيدروكسيلية في الجزيئة (Aberoumand & Deokule, 2008) . حيث ان مضاد الأكسدة يكون ذو فعالية عالية عندما يمتلك عدد أكبر من مجاميع الهيدروكسيلية ، وتقل فعاليته كلما يفقد مجموعة واحدة من الهيدروكسيل(Cho *et al*., 2004). تمتلك الفينولات فعالية مضادة للأكسدة خارج جسم الكائن الحي مقارنة مع فيتامين C,E (Kaur & Arora, 2010) .

2-المركبات الكاروتينية Carotenoids Compounds

توجد الكاروتينات في جميع الكائنات الحية تقريباً ، وتم تحديد أكثر من 700 نوع من هذه المركبات (Britton *et al*., 2012) . تقوم الكاروتينات بمنح الصبغة في النظام البيولوجي فضلاً عن وظيفتها كمضاد للأكسدة ، ان الجزءالاساسي للتركيب الهيكلي هو سلسلة مترافقة غير مشبعة ، وهذا الجزء مسؤول في المقام الأول عن قدرة هذه المركبات على تثبيط الجذور الحرة ، ان الاختلاف في السلسلة المتعددة الغير مشبعة من مركب الى آخر مع وجود مجاميع الهيدروكسيل هما المسؤولان الاساسيان عن تعديل تفاعل الكاروتينات فضلاً عن تأثيرات الظروف البيئية الخارجية ، لقد وجد ان الكاروتينات تغير سلوكها المضاد للأكسدة الى معززات للأكسدة Pro oxidant كدالة لتركيز الأوكسجين(Edge & Truscott, 2018) .

3-فيتامينC (Ascorbic acid)

وهو أحد الفيتامينات المهمة التي لها القابلية على الذوبان في الماء وهو ضروري لبناء الكولاجين والكرياتين والناقلات العصبية ، تبني معظم النباتات والحيوانات هذا الفيتامين ماعدا البشر والقرود وخنازير غينيا والخفافيش بسبب نقص إنزيم Gulonolactone Oxidase وبالتالي يجب تناولهُ من خلال الفواكه والخضروات والاقراص التي تحتوي على هذا الفيتامين ، ان الكمية البديلة الموصى بأخذها من حامض الاسكوربيك تتراوح بين (100-120) مليغرام يومياً للبالغين(Naidu, 2016) . يعد حامض الأسكوربيك والحديد من العناصر الغذائية الأساسية للنمو والتطور الطبيعي للإنسان ، ويمكن أن يؤدي نقصهما إلى أمراض خطيرة ، يستخدم ملايين الأشخاص المستحضرات الصيدلانية والمغذيات لهذين المغذيين بما في ذلك أسكوربات الحديدوز لعلاج فقر الدم الناجم عن نقص الحديد تتمثل الوظيفة الرئيسية لفيتامين C واستخدامه في نشاطه المضاد للأكسدة ضد أنواع الأكسجين التفاعلية (Kontoghiorghes *et al*., 2020)، كما يعمل مضاد للتصلب العصبي ومانع للبرد ومضاد للسرطان ، حيث تم الكشف عن مشتقات حامض الاسكوربك (استرات حامض الاسكوربك) Ascorbic acid esters في تثبيط تكاثر الخلايا السرطانية البشرية (Naidu, 2016).

4-فيتامين E (Vitamin E)

اشارت دراسة ان بذور الرشاد تحتوي فيتامين E الذائبة بالدهون وبنسب 21 جزء بالمليون ألفا-توكوفيرول α- Tocopherol ،1422 جزء بالمليون كاما-توكوفيرول γ - Tocopherol و35جزء بالمليون سكما-توكوفيرولδ- Tocopherol ، بالاضافة الى التوكوترينولات Tocotrienols(Moser *et al*., 2009). يعد الكبد هو المسؤول عن التنظيم الداخلي لفيتامين E ، حيث يحتفظ بألفا-توكوفيرول اختيارياً وتحليل بقية الاشكال الاخرى ثم يفرز الكبد الفا-توكوفيرول ويصل للبروتينات الدهنية عن طريق فعالية البروتين الناقل للتوكوفيرولTocophereol Protein Transfer ثم يسلم الى انسجة الهدف ، يقوم الفا-توكوفيرول بحماية الخلايا لقدرته على ابطال الجذور الحرة اذ يعمل كمضاد تأكسدي ذائب في الدهون (Qian *et al*., 2005) ، وبسبب وجود توكولات المثيل Methyl Tocols في التوكوفيرولات جعلته مضاد قوي ضد الاكسدة وفي كبح الضرر الناتج من الجذور الحرة للدهون الغير مشبعة أو تركيب اغشية الخلايا (Christie, 2010) .

5-الكلوتاثيون Glutathion

احد مضادات الأكسدة الخلوية الاولى هو الجلوتاثيون Glutathione (GSH) وهو عبارة عن ببتيد ثلاثي يتكون من الاحماض (L-Cysteine, L-Glutamic,Glycine) ، ويوجد بشكل مختزل (GSH) اوبشكل مؤكسد (GSSG) داخل الخلايا ، حيث يحتوي على مجموعة الثيول Thiol group من السيستين Cysteine القادر على ابطال الجذور الحرة عن طريق منح مكافئ الاختزال ($H^+ + e^-$) ، ويشمل هذا اخماد (ROS) المختلفة التي يتم تكوينها اثناء استخدام الأوكسجين من قبل الخلايا في التمثيل الغذائي الهوائي(Ribas *et al*., 2014)، يدخل الكلوتاثيون في العديد من العمليات البيولوجية مثل نقل الاحماض الامينية ومضاد فعال للأكسدة وهو من المضادات الغير أنزيمية الذائبة في الماء ، ويصنع بالجسم بواسطة عمل الانزيمين GSH synthase و δ-glutamylcysteine synthase واستهلاك 2ATP ، وبالتالي يختلف عن بقية مضادات الأكسدة الغير أنزيمية الغذائية من حيث قدرة الجسم على تخليقهُ (Rajendran *et al*., 2014) .

يساهم الكلوتاثيون في تكوين البروتينات والنيوكليوتيدات فهو يدخل كمادة اساسية او مرافق انزيمي لبعض العمليات الانزيمية داخل الخلية وبالتالي يساهم في فعالية بعض الانزيمات (Flohe, 2018) ، يعتبر الانزيمان GSH-Peroxidase و GSH-transferase من اهم انواع انزيمات الكلوتاثيون واللذان يعملان في الكبد ، وبالتالي فان صحة الكبد والاعضاء الاخرى تعتمد على الكلوتاثيون (Ahmadvand *et al*., 2019).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials &Methods

3. المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1.3. المواد والأجهزة المستعملة Material and Device

1.1.3. المواد الكيميائية المستعملة :

جدول (3-1) المواد الكيميائية المستعملة مع أسم الشركة والمنشأ

ت	المواد Materials	المنشأ Origin	الشركة COMPANY
1	اوكسيد الزئبق الاحمر Mercuric Oxide	Switzerland	Fluka, AG,Buch,
2	أيثانول مطلق تركيز99% absolute Ethanol	France	CARLO ERBA
3	حامض الخليك الثلجي Glacial Acetic acid	England	BDH, Chem, Ltd, Pool
4	حامض الخليك ثلاثي الكلور TCA	England	BDH
5	حامض ثايوباربيتيورك TBA	England	BDH
6	زايلين Xylene	Spain	Scharlau
7	شب البوتاسيوم والألمنيوم Aluminum- Potassium Alum	England	BDH, Chem, Ltd, Pool
8	شمع البارافين Paraffin	Spain	Scharlau
9	صبغة الايوسين Eosin	England	. BDH, Chem, Ltd, Pool,
10	صبغة الهيماتوكسلين Hemotoxyline	England	BDH, Chem, Ltd, Pool,
11	عدة فحص إنزيم الفوسفاتيز القلوي (ALP Kit)	France	Biomerieux
12	عدة فحص انزيم ناقل امين الألنين (ALT Kit)	United Kingdom	Randox
13	عدة فحص انزيم ناقل امين الأسبارتيت (AST kit)	United Kingdom	Randox
14	عدة فحص البروتين الكلي (Total (protein kit	France	Biolabosa
15	عدة فحص الكلوبيولين (Globulin kit)	Spain	Biosystems
16	عدة فحص الالبومين (Albumin Kit)	Spain	Biosystems
17	عدة فحص اليوريا (Urea kit)	France	Biomerieux
18	عدة فحص الكرياتنين (Ceratnine kit)	France	Biomerieux

19	عدة فحص الكلوتاثيون (GSH kit)	China	Solarbio
20	عدة فحص المالونداياالديهايد (MDA kit)	China	Solarbio
21	فورمالين Formalin	المملكة العربية السعودية	كيميائيات
22	كحول ايثانول صناعي % 96 Ethanol	Spain	Scharlau
23	كلوروفورم Chloroform	England	BDH, Chem, Ltd, Pool
24	مادة (D.P.X)	India	Himedia Lab. Pvt. Ltd
25	ماء مقطر Distilld water	------	------
26	نتريت الصوديوم E250 Sodium Nitrite	Germany	Riedel - Haen,

2.1.3. الأدوات المستعملة :

جدول (3-2) الأدوات المستعملة مع اسم الشركة والمنشأ.

ت	الأدوات Tools	المنشأ Origin	الشركة Company
1	اداة تجريع Ingestion device	USA	Oxford
2	ادوات بلاستكية مختلفة الاحجام	Denmark	Nunclon
3	أنابيب اختبار خالية من المادة المانعة للتخثر Gel test tube	Jordan	Gold star
4	جار تصبيغ زجاجي Staining Gar	Germany	Harshman
5	حامل شرائح	China	
6	زجاجيات مختلفة الاحجام Pyrex	England	Volac
7	شاش طبي	Turkey	Kardelen Hidrophile
8	شرائح زجاجية واغطيتها Slides and cover	China	China MHEC
9	عدة تشريح dissecting	Pakistane	S.I.E.
10	قطن طبي Medical cotton	Turkey	Papatya
11	ماصة Micropipette	Germany	ALBET
12	محاقن طبية Disposable Syringe	S.A.R.	Medical ject-
13	ورق ترشيح	Belgium	Zelpa

3.1.3. الأجهزة المستعملة:

الجدول (3-3) يوضح الأجهزة المستعملة حسب المنشأ والشركة المصنعة

ت	الأجهزة Devices	المنشأ Origin	الشركة Company
1	ثلاجة	France	Concord
2	جهاز الطرد المركزي	Germany	Hermile Lab
3	حمام مائي water bath	USA	Chicago Surgical & Electrical USA co
4	خلاط كهربائي blender	Japan	Sanyo
5	صفيحة الساخنة Warming plate	India	Lassco
6	فرن كهربائي Electric oven	Germany	Xmta
7	كاميرا Digital Camera Eyepiece (DCE-PW1)	JAPAN	Canon
8	مجهر ضوئي Microscope	Germany	Human scop
9	المشراح الدوار rotatory microtome	Italy	Histo-Line Lab. Mod. MRS 3500
10	المطياف الضوئي Spectrophotometer	England	Biotech Engeneering
11	ميزان الكتروني	Germany	AG GOTTNGEN Sartorius

3. 2. طرائق العمل

3. 2. 1. حيوانات التجربة Experimental Animals

أجريت هذه الدراسة للمدة من بداية شهر ايلول 2020الى نهاية شهر تشرين الثاني 2020 , استخدمت في هذه الدراسة 36 من ذكور الجرذان البيض *Rattus norvegicus* البالغة التي تراوحت اوزانها (200- 220) غرام وأعمارها بين (14- 12) أسبوع تقريبا بعد ان جلبت من حقول تربية خاصة في محافظة بغداد ، وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية خاصة لتربية الجرذان أبعادها (15×40×25)سم مغطاة بأغطية معدنية ، وبظروف مختبريه ملائمة من حيث درجة حرارة (20-25 مْ) ومدة الإضاءة 12 ساعة باليوم والتهوية الجيدة ، فرشت أرضيتها بنشارة الخشب الناعمة وتمت العناية بنظافة الأقفاص وتبديل الأرضية باستمرار وتعقيمها بالمطهرات وكذلك العناية المستمرة بنظافة قناني الإرواء وغرفة الإيواء ، زودت الحيوانات بالماء والعليقة القياسية بصورة حرة Ad libitum طيلة مدة التربية والبحث، تركت الجرذان للتأقلم لمدة ثلاث أسابيع قبل بدء التجربة .

3. 2. 2. تهيئة بذور نبات الرشاد *Lepidium sativum*

تم شراء بذور نبات الرشاد ذات اللون الاحمر البني من محل لبيع البذور في محافظة كربلاء المقدسة ، وتم تصنيفها من قبل الأستاذ المساعد الدكتورة نيبال امطير الكرعاوي اختصاص تصنيف نبات في جامعة كربلاء كلية التربية للعلوم الصرفة/ قسم علوم الحياة.

تم غسل البذور من الاتربة والشوائب العالقة بها وجففت جيداً في الظل وبدرجة حرارة الغرفة ، بعد ذلك تم طحنها بواسطة طاحونة الاعشاب الطبية للحصول على مسحوق ناعم جداً وحفظ المسحوق في أكياس نايلون في الثلاجة الى حين الاستخدام في عملية الاستخلاص .

صورة رقم (3-1) تبين بذور نبات الرشاد *Lepidium sativum*

3.2.3. استخلاص المستخلص المائي البارد لبذور الرشاد Extraction of the cold aqueous extract of *Lepidium sativum*

أضيفت خمس غرام من مسحوق نبات بذور الرشاد المجفف والمطحون الى 100مليلتر من الماء المقطر، تم ترشيح المحلول باستخدام الشاش ، بعدها رسب المعلق باستخدام جهاز الطرد المركزي عند 5000 دورة لمدة 10 دقائق مرتين على التوالي ، ثم جمع السائل الطافي وبخر الماء من المستخلص بدرجة حرارة الغرفة لغرض تجفيفه ثم جمع المستخلص الناتج (ابوالقاسم وآخرون ، 2016) وحضر منه الاوزان المطلوبة في التجربة 350 ملغم/كغم ,550 ملغم/كغم وحسب اوزان الحيوانات ثم تجرع فموياً بعد أذابتها بالماء المقطر لكل وزن باستخدام اداة التجريع Gavage (Bafeel & Ali, 2009).

صورة رقم (3-2) تبين مستخلص بذور نبات الرشاد *Lepidium sativum*

4.2.3.تحضير جرعة نترات الصوديوم Paraparation of Sodium Nitrate dose:

استعملت في هذه الدراسة مادة نتريت الصوديوم $NaNO_2$ كمادة حافظة E250 المانية المنشأ جهزت من مكتب سكما للتجهيزات الكيميائية / بغداد اسم الشركة المجهزة – Riedel Haen/Germany وتم تحضير تركيز الجرعة المطلوبة والتي مقدار 30ملغم/كغم تم تجريع الحيوانات بها فمويا بعد اذابتها ب1 مل من الماء المقطر لكل تركيز باستخدام اداة التجريع Gavage علما ان الجرعة نصف القاتلة (LD50) في الجرذان تبلغ 180ملغم/كغم (Salama *et al*., 2013) .

صورة رقم (3-4) تبين عملية تجريع الجرذ الأبيض

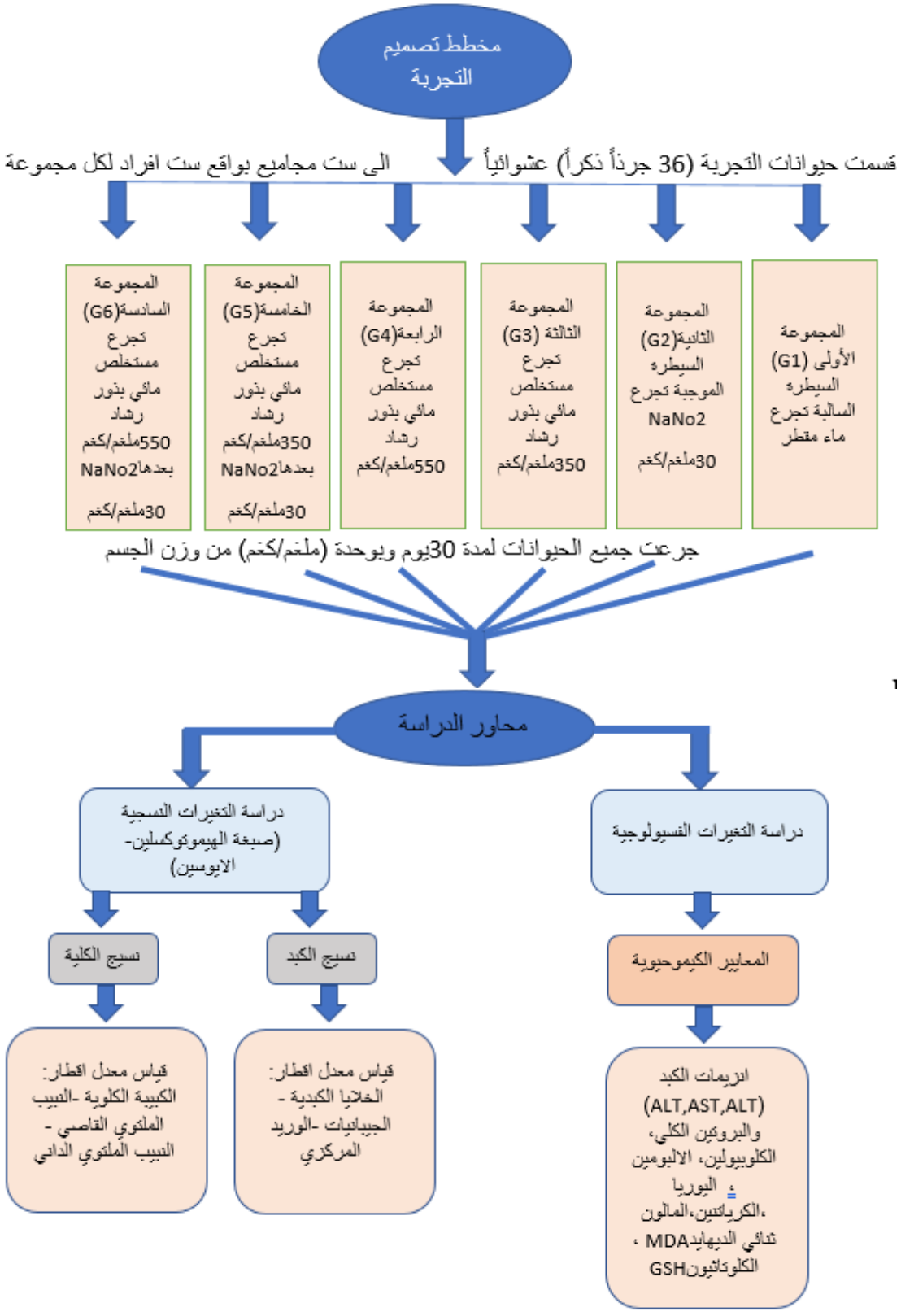
5.2.3.تصميم التجربة : Design Experience

قسمت 36 من الحيوانات التجريبية عشوائيا الى ست مجاميع وبواقع ستة ذكور من الجرذان لكل مجموعة وعلى النحو التالي :

- المجموعة الاولى (G1) : مجموعة السيطرة حيث تجرع يومياً 1مل من الماء المقطر ولمدة 30 يوما وعدت مجموعة سيطرة .
- المجموعة الثانية (G2) : حيوانات تجرع يومياً بنتريت الصوديوم وبتركيز 30ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً ولمدة 30 يوماً .
- المجموعة الثالثة(G3) : حيوانات تجرع يومياً بالمستخلص المائي البارد لبذور الرشاد وبتركيز 350 ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً ولمدة 30 يوماً.
- المجموعة الرابعة(G4) : حيوانات تجرع يومياً بالمستخلص المائي البارد لبذور الرشاد وبتركيز 550 ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً ولمدة 30 يوم.

- المجموعة الخامسة(G5) : حيوانات تجرع يومياً بالمستخلص المائي البارد لبذور الرشاد وبتركيز 350 ملغم/كغم من وزن الجسم قبل ساعتين من تجريعها بنتريت الصوديوم وبتركيز30 ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً ولمدة 30 يوم .

- المجموعة السادسة(G6) : حيوانات تجرع يومياً بالمستخلص المائي البارد لبذور الرشاد وبتركيز 550 ملغم/كغم وزن الجسم قبل ساعتين من تجريعها بنتريت الصوديوم وبتركيز 30 ملغم/كغم من وزن الجسم يومياً ولمدة 30 يوم .



شكل (3-1) مخطط تصميم التجربة

6.2.3.جمع عينات الدم Blood sample collection

خدرت الحيوانات باستعمال قطعة من القطن حاوية على كمية من كلوروفورم وضعت في علبة شفافة محكمة الغلق ثم حمل الحيوان ووضع بسرعة داخلها واعيد احكام الغطاء وبعد التأكد من تخديره تم إخراجه وسحب الدم من القلب مباشرةً عن طريق طعنة القلب Heart puncture باستعمال محقنة طبية معقمة نبيذه سعة 5 مل للحصول على اكبر كمية من الدم ووضعت عينات الدم مباشرة في انابيب اختبار معقمة خالية من المادة المانعة للتخثر Gel tubes ، ثم نقلت الأنابيب الى جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة /دقيقة ولمدة 15 دقيقة لغرض الحصول على المصل والذي ينقل الى انابيب بلاستيكية صغيرة Eppendorf tubes نظيفة جافة ومعلمة ويتم حفظ الامصال في الثلاجة Refrigerator بدرجة حرارة منخفضة -20 درجة مئوية لحين اجراء الفحوصات الكيموحيوية عليها والتي تشمل معايير وظائف الكبد (AST و ALT و ALP)، وبعض المعايير الوظيفية للكلية (Creatinine و Urea)، وبعض معايير الدم (Total protein و Glubulin و Albumin)، وقياس تركيز المالون ثنائي الديهايد Malondialdehyde (MDA) ، قياس تركيز الكلوتاثيون المختزل Reduced Glutathion (GSH) .

7.2.3.جمع عينات الأنسجة Collection of tissue samples

بعد سحب الدم من ذكور الجرذان شرحت مباشرةً عن طريق شق التجويف البطني من الاسفل باتجاه القلب وتم استئصال الكبد والكلى بعد ازالة الانسجة الدهنية والرابطة المحيطة بها ، ثم غسلت بالماء لإزالة الدم الموجود عليها، بعدها تم تجفيفها من خلال وضعها على ورق ترشيح ، تم تقطيع هذه الاعضاء الى قطع صغيرة بشكل طولي وعرضي لسهولة حفظها مع ضمان وصول المادة الحافظة اليها ، ثم حفظت الاعضاء في الفورمالين بتركيز10% في عبوات بلاستيكية نظيفة بعد تعليمها وتغلق بأحكام ، لمدة 48 ساعة لحين إجراء التقطيع النسجي عليها.

3.3.قياس بعض المعايير الكيموحيوية

1.3.3. قياس فعالية الانزيمين الناقلين لمجموعة الامين ALT وAST

Alanine transaminase(ALT) & Aspartate transaminase(AST)

تم قياس مستوى فعالية إنزيمي AST, ALT في دم الجرذان باستخدام عدة تقدير جاهزة Kit وعلى أساس التفاعلين الآتيين :

$$\alpha\text{-oxoglutarate} + \text{L-alanine} \xrightarrow{ALT} \text{L-glutamate} + \text{Pyruvate}$$

$$\alpha\text{-oxoglutarate} + \text{L-aspartate} \xrightarrow{AST} \text{L-glutamate} + \text{Oxaloacetate}$$

إذ يعتمد تقدير فعالية الانزيم ALT على البايروفيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة تفاعل الإنزيم مع ثنائي فنيل الهايدرازين. وكذلك تم تقدير فعالية الانزيم AST من الاوكزالوأسيتيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة الإنزيم مع ثنائي فنيل الهايدرازين (Bergmeyer & Rej, 1985) , وأجريت التجربة و كما يأتي (جميع الحجوم محسوبة بالمليلتر).

المحاليل Solutions	العينة Sample	المحلول الكفء Blank
العينة	0.1 ml	-----
محلول الفوسفات الدارئ	0.5 ml	0.5 ml
مزجت محتويات الانابيب جيدا وحضنت لمدة30 دقيقة بدرجة حرارة 37 م°		
محلول ثنائي فنيل الهايدرازين العينة	0.5 ml	0.5 ml
مزجت محتويات الأنابيب وحضنت لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة 20-25 م°		
محلول هيدروكسيد الصوديوم	5.0 ml	5.0 ml

بعد مزج محتويات الأنابيب جيدا تترك لمدة خمس دقائق في درجة حرارة الغرفة , وبعدها يتم قياس الامتصاص لها عند طول موجي 546 نانومتر.

واستعملت المحاليل في التجربة وتشمل :

1- محلول الفوسفات الدارئ:

A- لإنزيم ALT ويتكون من الانين (200mM) والفاكيتوكلوتاريت (2.0 mM) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (pH 7.4).

B- لإنزيم AST ويتكون من حامض الاسبارتيك (100 mM) والفاكيتوكلوتاريت (2.0 mM) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (pH 7.4).

2- محلول 4.2 ثنائي نايتروفنيل هايدرازين (2.0 mM).

3- محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.4 N): خفف هذا المحلول عشر مرات بوساطة الماء المقطر قبل استعماله .

4- محلول البايروفيت القياسي (2.0 mM) .

2.3.3. قياس فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase ALP

تم تقدير مستوى فعالية إنزيم ALP باستعمال طريقة انزيمية وذلك اعتمادا على طريقة Belfield & Golderg, (1971) وهي طريقة لونية تستند على استعمال المادة الأساس Substrate التي يعمل عليها إنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase إذ يضاف محلول Phenyl phosphate للمادة الأساس الى المصل ويحضن التفاعل لمدة ربع ساعة في درجة حرارة 37 م° فيقوم الإنزيم بتحويل المادة الأساس الى الفينول الذي يمكن الكشف عنه وتقديره كميا ذلك بإضافة المحلول 4-amino-anti pyrine والذي يكون معقداً أحمر اللون يعرف بالكينون وهو ذو شدة تتناسب طرديا مع فعالية الانزيم في المصل (Belfield & Golderg, 1971). ويمكن قراءة الامتصاصية لمركب الكينون عند طول موجي قدره 510 نانوميتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي . ويمكن توضيع التفاعل بالمعدلات الاتية :

$$\text{Phenyl phosphate} \xrightarrow{\text{Alkaline phosphate}} \text{Phenol} + \text{Phosphate ion}$$

$$\text{Phenol} + \text{4-amino-anti pyrine} \xrightarrow[\text{NaHCO3}]{\text{K3Fe(CN)6}} \text{Red Quinone (Color Complex}$$

طريقة العمل:

تم وضع (2 مليلتر) من المحلول المنظم كاربونات – بيكاربونات الصوديوم بتركيز mmol/L 1-50 وبدالة قاعدية 10 المحتوى على المادة الأساس فوسفات الفنيل الثنائية الصوديوم mmol/L 5 في أنبوبة اختبار في حمام مائي بدرجة حرارة 37 م° مدة 5 دقائق بعد ذلك يضاف اليها 50 مايكرولتر من مصل الدم ثم تمزج وتترك في حمام مائي مدة 15 دقيقة . بعدها يضاف 0.5 مليلتر من كاشف 4-amino-anti pyrine 6 mmol/L . وصوديوم ارسينت 70 g/l ويمزجان جيدا , اما بالنسبة للمحلول الكفئ يضاف 50 مايكرولتر من الماء المقطر بدل المصل ثم توضع جميع الأنابيب في مكان مظلم ولمدة 10 دقائق إذ يتكون لون وردي يميل الى الاحمرار ذو شدة تتناسب طرديا مع تركيز الإنزيم في الدم . تقاس شدة اللون الوردي عند طول موجي 510 نانوميتر مقابل محلول الكفئ ومحلول قياس 500 µl من المحلول القياسي .

الحسابات Calculations :

تم حساب فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي في العينة وفق القانون الآتي :

$$\text{Activity of enzyme} = \frac{\text{oD Serum sampl} - \text{oDserm blank}}{\text{oD standard}} \text{ Xn(UL)}$$

3.3.3. قياس مستوى البروتين الكلي Total protein في الدم

يقاس مستوى البروتين الكلي في مصل الدم بالطريقة اللونية وفقا لطريقة البايوريت Biuret Method إذ تعتمد هذه الطريقة.على تفاعل ايون النحاس .الموجودة ضمن تركيب كاشف البايوريت (وهو محلول قاعدي) مع ببتيدات البروتين. (الأواصر الببتيدية للحوامض الامينية) الموجودة في البروتين, في وسط قاعدي وتكوين معقد بنفسجي – ازرق اللون. (Young Friedman, 2001).

طريقة العمل:

يبين الجدول الآتي طريقة قياس البروتين الكلي في مصل الدم.

	Blank	Sample
R(μL)	1.0	1.0
Standard(μL)	---	---
Sample (μL)	---	25

مزجت محتويات الأنابيب جيدا وحضنت لمدة 5 دقائق عند درجة حرارة 37 درجة مئوية أو 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة.(25) درجة مئوية.

الحسابات Calculations :

قرأت الامتصاصية للنماذج.(وهي للعينة والمحلول القياسي.) بوساطة جهاز المطياف الضوئي وعلى طول موجي قدرة 540 نانوميتر , ويقاس تركيز البروتين الكلي وفقا للمعادلة الآتية :

$$\textbf{Total Protein Conc} = \frac{(A)SamPle}{(A)Standard} \textbf{ x7 (Standard Conc.)}$$

4.3.3.قياس مستوى الألبومين Albumin في المصل

يقاس مستوى الألبومين في مصل الدم بالطريقة اللونية واعتمادا على قابلية الألبومين على الارتباط مع صبغة. Bromocresol Green (BCG)., إذ يتغير اللون من الاصفر المخضر إلى الأزرق المخضر (Young & Friedman, 2001) .

طريقة العمل:

يبين الجدول الاتي طريقة قياس الألبومين في مصل الدم :

	Blank	Standard	Sample
R(μL)	1.0	1.0	1.0
Standard(μL)	---	5	---
Sample (μL)	---	---	5

مزجت محتويات الأنابيب جيدا وحضنت لمدة 10دقائق بدرجة حرارة الغرفة (15-25) درجة مئوية

الحسابات Calculations

قرأت الامتصاصية للنماذج (وهي للعينة والمحلول القياسي) بوساطة جهاز المطياف الضوئي وعلى طول موجي قدرة (630) نانوميتر, وقيس تركيز الألبومين في مصل الدم حسب المعادلة الآتية :

$$\text{Albumin ConC. (g/dl)} = \frac{(A)\text{SamPle}}{(A)\text{Standard}} \text{ x5 (Standard Conc)}$$

5.3.3. قياس مستوى الكلوبيولين Globulin في مصل الدم

قيس مستوى الكلوبيولين في مصل الدم بطريقه غير مباشرة وذلك بعد قياس مستوى الألبومين في المصل بعدها يطرح الناتج من ناتج قياس البروتين الكلي وحسب المعادلة الآتية :

Globulin Concentration (g/dl) =Total protein – albumin (Tietz, 1986)

6.3.3.قياس مستوى الكرياتنين Creatinine في مصل الدم:

تم قياس مستوى الكرياتنين حسب طريقة (Andresen, 1986) . طريقة لونيه مع ترسيب البروتين.

مبدأ التجربة:

يتفاعل الكرياتينين مع حامض البكرك في محلول قاعدي ليكون معقد ملون.

$$\text{Creatinine} + \text{Picrate} \xrightarrow{NaOH} \text{yellow-red complex}$$

الكواشف:

- الكرياتنين القياسي 2 ملغم \ ديسي لتر او 177 ملي مول \ لتر.
- الكاشف الاول (R1) حامض البكرك 38 mmol/ L .
- الكاشف الثاني (R2) هيدروكسيد الصوديوم 1.6 mmol/ L .

الكواشف الأضافية:

حامض الخليك ثلاثي الكلور (TCA) mol/L1.2 .

طريقة العمل:

1-اضيف 0.5 مل TCAالى انابيب الطرد المركزي.

2-اضيف 0.5 مل من مصل الدم إلى الانابيب.

3- تخلط جيدا لنشر الراسب بقضيب زجاجي.

4-نفصل الراشح بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة بالدقيقة لمدة 10 دقائق.

5- أخذ 1 مل من الراشح ووضع في أنبوبة اختبار نظيفه ويهمل الراسب.

6- أخذ حجم 1 مل لكل من R1 وR2 ويتم خلطهما معا لعمل الخليط ثم يؤخذ 1 مل من الخليط ويتم اضافته إلى انابيب العينات ثم يخلط جيدا ويترك لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة ويتم بعد ذلك قياس الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي على طول موجي 546 نانومتر.

الحسابات Calculations :

تم حساب مستوى الكرياتنين وفقا للمعادلة التالية: -

$$\text{مستوى الكرياتنين (ملغم/ديسيلتر)} = \frac{\text{امتصاصية}}{\text{Standard}} \times 2$$

المحاليل	الكاشف	القياسي	العينة
ماء مقطر	0.5 ml		
القياسي		0.5 ml	
TCA	0.5 ml	0.5 ml	
الراشح			1 ml
خليط التفاعل	1 ml	1 ml	1 ml

7.5.3.قياس مستوى اليوريا Urea في مصل الدم.

قيس مستوى اليوريا في المصل (Urease) على وفق المعادلة التالية بحسب الطريقة المذكورة في عدة التقدير kit (Patton & Crouch, 1977).

مبدأ التجربة:

يعتمد على التحلل المائي لليوريا بوجود إنزيم اليوريز

$$\text{Urea} + H_2O \xrightarrow{\text{Urease}} 2\,NH_3 + CO_2$$

ايون الامونيوم يتفاعل مع السليكات (Salicylate) ووالهايبوكلوريت (Hypochlorite) ليكون معقداً اخضر اللون من 2-2 ثنائي كاربوكسيل اندوفينول (2.2 dicarboxylindophenol) .

Reagent Type	Material	Concentration
Reagent (1) a	**Urease**	**≥ 5000µ/L**
Reagent (1) b	**Phosphate buffer** **Sodium salicylate** **Sodium nitroprusside** **EDTA**	**120 mmol/L,PH7** **63.4 mmol/L** **500 mmol/L** **1.5mmol/L** **18 mmol/L**
Reagent (2)	**Sodium Hypochlorite** **Sodium Hydroxid**	**18 mmol/L** **750 mmol/L**
CAL.	**Standard**	

طريقة العمل :

محلول العمل Working Reagent

ويتم تحضيره بمزج R1a مع R1b.

Reagent	Blank	Standard	Test
Standard	---	10 µL	---
Serum	---	---	10 µL
Working Reagent	1 ml	1 ml	1 ml

يمزج وتحضن الأنابيب لمدة (3 min) في حمام مائي بدرجة (37 درجة سليزية)

Reagent (2)	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml

يمزج وتحضن الأنابيب لمدة (5 min) في حمام مائي وبدرجة (37 درجة سليزية) , بعدها يتم قراءة الامتصاصية في جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer على الطول الموجي (600 mn).

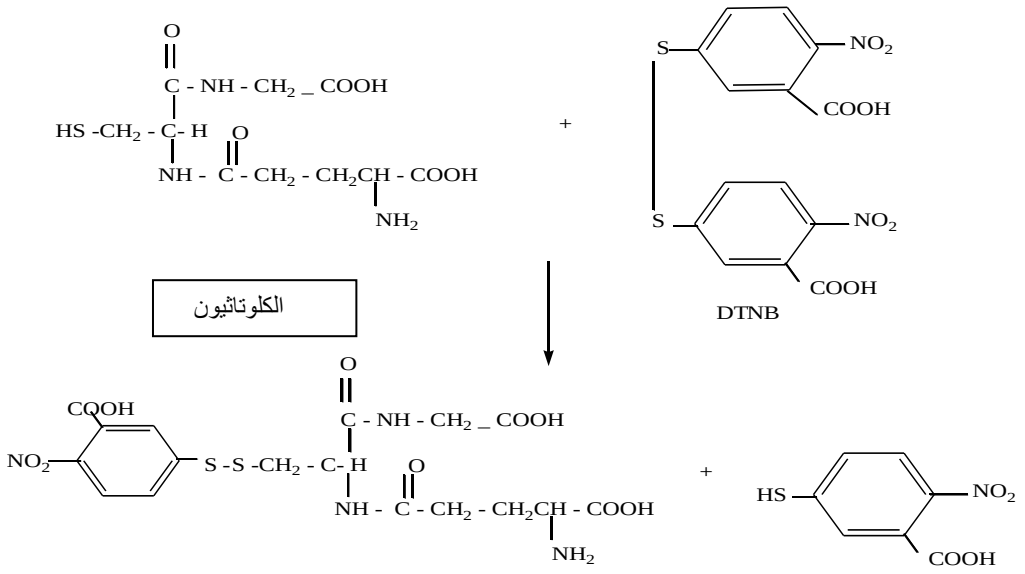
الحسابات Calculations :

تركيز اليوريا $(\boldsymbol{mg/dl}) = \boldsymbol{n} \times \frac{\text{امتصاصية النموذج}}{\text{امتصاصية القياسي}}$ حيث n = التركيز القيا سي

8.3.3. تحديد اختزال الجلوتاثيون (GSH) في المصل :

يعتمد أكثر من نوع واحد من الطرق التحليلية المستخدمة في تحديد الجلوتاثيون في المصل (GSH) على عمل مجموعات السلفيدريل. وبالتالي تشمل الأساليب الضوئية ، الأنزيمية ، الفلوريتيري flourometiric وHPLC

مبدأ عمل الكشف يعتمد على المركب- (Dithiobis (2-nitrob enzoic acid) (DTNB عبارة عن كروموجين adi يختزل بسهولة مجموعة sulfhydry من GSH لإنتاج مركب أصفر كثيف. اختزال الكروموجين لديه امتصاصية قصوى عند 412 نانومتر ويتناسب مباشرة مع تركيز GSH.



شكل (3-2) يوضح التفاعل بين الكلوتاثيون والـ DTNB (Eyer & Podhradský, 1986)

اعداد الكاشف Reagents Preparation

- محلول الترسيب . حامض التريكلوروسيتيك (TCA 0 5٪) (50 غم من TCA يذاب في حجم نهائي قدره 100 مل من الماء المقطرDDW .
- يتم إذابة - Ethylene di amine tetra acetic acid- di sodium) EDTA-Na2) 0.4) مليون) 148.9 غم من EDTA في حجم نهائي قدره من الماء المقطرDDW .
- تحضير بفر.(0.4) Tris-EDTA buffer (pH = 8)

يذوب 48.458 غم من تريس في 800 مل من الماء المقطر. DDW. تتم إضافة 100 مل من محلول 0.4M) EDTA) ويصل حجمه النهائي إلى 1 لتر مع D الماء المقطر.. ضبط الرقم الهيدروجيني إلى 8.9 بإضافة 1 M من حمض الهيدروكلوريك.

- DTNB reagent (0.01M)

كاشف 0.01M (DTNB) يتم إذابة 0.099 غم من DTNB في الميثانول المطلق. ويصل حجمه النهائي إلى 25 مل (هذا الكاشف مستقر لمدة 13 أسبوعًا على الأقل عند 4 درجات مئوية).

- GSH القياسي Standard GSH

محلول قياسي ستوك (M 0.001) تم تحضيره عن طريق إذابة 0.0307 غم من GSH بحجم نهائي 100 مل من محلول (EDTA0.4M). التخفيف في محلول EDTA إلى , 40 2 ,5 ,10 , 20 , 30 µM (يجب إعداد محلول العمل القياسي هذا يوميًا).

طريقة العمل Procedure :

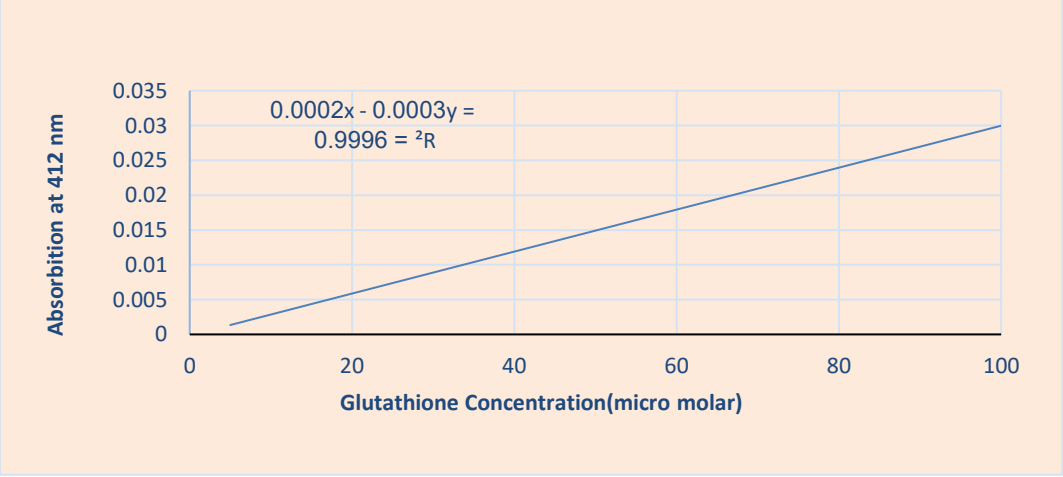
تم تحديد عينة GSH باستخدام طريق عمل معدلة باستخدام كاشف(Ellman DTNB) ، والذي تم تلخيصه على النحو التالي. يتم إعداد التكرارات من كل أنابيب اختبار القياسية والعينة ثم تحقن في أنابيب الاختبار.

Reagents	Sample µL	Reagent black µL	Standard µL
Sample	100	-----	-----
Standard	-----	----	100
DDW	800	900	100
TCA	100	100	100

يتم خلط الأنابيب في خليط دوامة. بشكل متقطع لمدة 10- 15 دقيقة ، و في

جهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة في ٣٠٠٠ دورة ، ثم يجمع الطافي Supernatant في أنابيب الاختبار(Owens & Belcher, 1965)

حساب كلوتاثيون المصل:

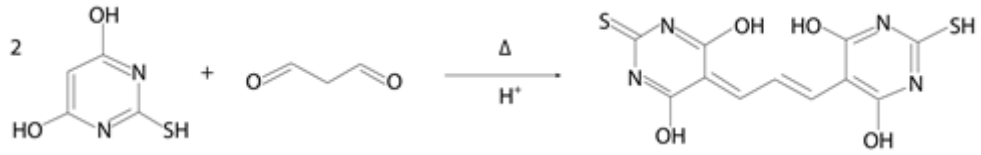


شكل (3-3) المنحنى القياسي لحساب تركيز الكلوتاثيون

9.3.3. قياس تركيز المالون ثنائي الديهايد malondialdehyde في مصل الدم

مبدأ عمل الكشف :

يتفاعل المالونداياالديهايد MDA مع حامض الثايو باربيتيوريك TBA بظروف حامضية وتسخين لينتج مركب ملون يمتص الضوء بالطول الموجي 530-540 nm . شدة اللون بالطول الموجي 532 nm تقابل مستوى بيركسدة الدهون في النموذج والنماذج غير المعروفة تقابل بالمنحنى القياسي



شكل (3-4) تفاعل محلول الثايوباربيتيوريك مع المالونداياالديهايد

الكواشف

1- (0.6) TBA (0.6 غم من حمض الثيوباربيتوريك في 100 مل ماء مقطر). $\%(\frac{w}{v})$

2- (17.5) TCA (17.5 غم من حمض التريكلوروسيتيك في100 مل ماء مقطر) $\%(\frac{w}{v})$

3- (70) TCA (70غم من حمض التريكلوروسيتيك ف في100 مل ماء مقطر). $\%(\frac{w}{v})$

طريقة العمل PROCEDURE

- تم إضافة 250 ميكرولتر من المصل إلى أنبوب الاختبار.
- تمت إضافة 1 مل من 17.5% TCA إلى أنبوب العينة.
- وضع الأنبوب في الثلج ثم أضف 1 مل من 0.6 % TBA
- و ضع في حمام مائي يغلي لمدة 15 دقيقة ثم يُسمح ليبرد.

- يضاف 1 مل 70 % من TCA ثم يسمح للمزيج باحتضانه لمدة 20 دقيقة.
- تم الطرد المركزي للعينة لمدة 15 دقيقة عند 2000 دورة في الدقيقة ثم قم بقياس الامتصاص الطيفي للطاف عند طول الموجة 532 نانومتر مقابل كاشف فارغ blanck.

وكان إعداد الكاشف الفارغ نفس الإجراء أعلاه باستثناء تغيير العينة بماء مقطر

$$serumMDA = \frac{Absorbance}{d \; X \in} X \; D.F$$

d = عرض الخلية (1 cm وهو ثابت)

ε = معامل الممتصية (1.56×10^5 M^{-1} cm^{-1})

D.F= معامل التخفيف (dilution factor) ويساوي 5.15 (Lefevre *et al*., 1998) .

4.3. التحضيرات النسجية Histological preprations

حضرت المقاطع النسجية تبعا لطريقة (Bancroft & Stevens, 2010) .

1.4.3. تثبيت العينات Sample Fixation

تم تثبيت العينات المراد دراستها نسجيا والمتمثلة (بالكلية والكبد) بعد استئصالها باستخدام محلول الفورمالين بتركيز 10 % وبعد 48 ساعة استخرجت العينة من الفورمالين وغسلت عدة مرات بالماء

2.4.3. الانكاز Dehydration

مررت العينات بسلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي بدءاً بتركيز (70% و 80% و 90% و 100% و 100%) ولمدة ساعتين لكل تركيزلغرض سحب الماء الموجود داخل النسيج بصورة تدريجية .

3.4.3.الترويق Clearing

روقت العينات بمحلول الزايلين Xylene مرتين لمدة ساعة بكل مرة لجعل العينات أكثر شفافية وإزالة محلول الانكاز .

4.4.3.التشريب Infiltration

بعد الانتهاء من الترويق تم نقل العينات الى قناني زجاجية حاوية على شمع البرافين paraffin wax المنصهر والزايلين بنسبة 1:1 في فرن كهربائي درجة حرارته 59- 60 ^{o}c ثم نقلها ال قناني اخرى تحوي شمع البرافين المنصهر ويبدل الشمع مرتين ولمدة (1 – 1.5) ساعة لكل مرة لضمان تشرب العينات.

5.4.3. الطمر Embedding

تم طمر العينات في قوالب حديدية خاصة بواسطة شمع البرافين واستخدمت ابرة ساخنة على لهب لإزالة الفقاعات حول العينة وتركت بدرجة حرارة المختبر لتتصلب ثم فصلت عن القالب وحفظت حتى وقت تقطيعها .

6.4.3. التشذيب والتقطيع Trimming and Sectioning

شذبت قوالب الشمع الحاوية على النماذج بمشرط حاد, بعدها ثبت القالب الشمعي لغرض التقطيع في جهاز المشراح الدوار Rotary Microtome وقطعت بسمك 5 مايكرومتر ثم نقلت الأشرطة المقطعة إلى حمام مائي درجة حرارته (45) درجة سيليزية لضمان فرش النسيج جيدا بعدها حملت المقاطع النسجية على شرائح زجاجية نظيفة بعدها تركت الشرائح لتجف على صفيحة ساخنة بدرجة حرارة 37 م° لمدة ساعة ثم تركت بدرجة حرارة المختبر لليوم التالي .

7.4.3. التصبيغ Staining

صبغة هيماتوكسلين هارس Harris, Hematoxylin Stain

ان صبغة الهيماتوكسلين هارس من الصبغات القاعدية التي تستعمل بصورة عامه لتلوين النواة بلون ازرق غامق dark blue , مكونات الصبغة حسب الجدول التالي:

ت	المادة	الكمية
1	**مسحوق الهيماتوكسلين**	**2.5 غم**
2	**كحول اثيلي مطلق**	**25 مل**
3	**شب البوتاسيوم $AIK(SO_4)_2.12H_2O$ او شب الامونيا $NH_4AI(SO_4)_2.12H_2O$**	**50 غم**
4	**ماء مقطر دافئ**	**500 مل**

5	اوكسيد الزئبقيك الاحمر Red mercuric oxide	1.25 غم
6	حامض الخليك الثلجيGlacial acetic acid	20 مل

حضر الملون حسب الخطوات التالية اعتمادا على Suvarna وجماعته,(2013)

اذيب الهيماتوكسلين في الكحول المطلق بعدها اضيف الى الشب المذاب بالماء المقطر الدافئ ووضع المزيج على النار حتى درجة الغليان ثم اضيف الية اوكسيد الزئبقيك الاحمر , ثم برّدَ المزيج مباشرة بوضع الدورق الذي يحوي المزيج بالماء البارد واضيف اليه حامض الخليك الثلجي ورشح الخليط قبل الاستعمال لتصبح الصبغة جاهزة للاستخدام .

صبغة الأيوسين الكحولي Eosin stain

حضرت الملون حسب الطريقة التالية واعتمادا على Suvarna وجماعته,(2013)

ت	المادة	الكمية
1	مسحوق الأيوسين	1 غم
2	الكحول الاثيلي بتركيز 70 %	99 مل
3	حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid	1 مل

أذيب الايوسين في الكحول بشكل جيد ثم اضيف اليه حامض الخليك الثلجي ورشح بورق الترشيح قبل الاستعمال في اليوم التالي. لونت الشرائح باستعمال ملون الهيماتوكسلين – ايوسين واعتمادا على Suvarna وجماعته,(2013) وكما يلي :

1 – ازيل الشمع من الشرائح الزجاجية باستعمال الزايلين وعلى مرحلتين ولمدة 5 دقائق لكل مرحلة ثم مررت بسلسلة تنازلية من الكحول الاثيلي ابتداءً من (100 % , 100 % ,90 % , 80 % ,70 %) ولمدة ثلاث دقائق لكل تركيز .

2 - وضعت الشرائح بصبغة الهيماتوكسلين هارس لمدة 4-5 دقائق .

3 – غسلت الشرائح الزجاجية بالماء الجاري لمدة خمس دقائق .

4 – لونت الشرائح بصبغة الايوسين الكحولي لمدة 30 ثانية .

5 – ثم غسلت الشرائح بالماء المقطر لمدة دقيقتين .

6 – بعدها نقلت الشرائح الزجاجية الى سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70 % , 80 % , 90 % ,100 % , 100 %) لمدة دقيقتين لكل تركيز ماعدا التركيز الاخير وضعت فيه لمدة 5 دقائق , ثم روقت بالزايلين وعلى مرحلتين في كل مرحلة لمدة 5 دقائق .

8.4.3. التحميل Mounting

استخدمت للتحميل مادة D.P.X Distrine Plasticizer Xylene لتثبيت أغطية الشرائح الزجاجية ،ثم تركت الشرائح الزجاجية بدرجة حرارة المختبر لمدة 24 ساعة للتجفيف بعدها تم فحصها بالمجهر الضوئي .

5.3.الفحص والتصوير المجهري Microscopic examination and Photomicrography

تم فحص الشرائح الزجاجية لتحديد التغيرات في مقاطع الأنسجة المدروسة باستعمال المجهر الضوئي Light microscope بقوى تكبير مختلفة ، وتم تصوير الشرائح الزجاجية باستخدام المجهر الضوئي والمزود بكاميرا رقمية نوع Canon عالية الدقة موصلة الى جهاز حاسوب وتحت القوة 40X و 20X .

6.3. القياسات النسجية Histological morphomtry

سجلت القياسات النسجية للشرائح المحضرة من نسيج الكبد والكلى بواسطة المقياس العيني المتري الدقيق (Ocular micrometer, OM)تحت قوة20X (Galigher & Kozloff, 1964) المثبت في المجهر الضوئي . بعد معايرة الـ Ocular على Micrometer stage لكل قوة تكبير تم قياس معدل اقطار الخلايا الكبدية والوريد المركزي والجيبانيات والكبيبة الكلوية والنبيب الملتوي الداني(القريب) والنبيب الملتوي القاصي(البعيد).

7.3.التحليل الاحصائي Statistical Analysis:

تم إجراء التحليل الإحصائي باستعمال برنامج (Statistical Package for the Social Science) (SPSS) إصدار25 وبرامج Excel 2019. تم التعبير عن النتائج بدلالة المتوسط والانحراف المعياري(mean ± SD) ، تم إجراء تحليل البيانات للجداول باستعمال اختبار t، وتحليل التباين (ANOVA) وكذلك اختبار أقل فرق معنوي Least Significant Difference (L.S.D.) على مستوي احتمالية($P < 0.05$) (Moder, 2010).

الفصل الرابع
النتائج والمناقشة
Results & Discussion

النتائج والمناقشة Results and Discussion

1.4. الدراسة الكيموحيوية

اشتملت الدراسة الحالية على قياس بعض المعاييرالكيموحيوية المتمثلة يوظائف الكبد والكلية ومؤشرات الاجهاد التأكسدي في ذكور الجرذان المعاملة ، حيث شملت أنزيمات الكبد (ALT,AST,ALP) ومستوى البروتين الكلي ، الكلوبيولين ، الالبومين والمعايير المتعلقة ببعض وظائف الكلية وتشمل يوريا الدم (urea) وكرياتنين الـــدم (creatinine) ، في حين شملت معايير الاجهاد التأكسدي كل من الكلوتاثيون(GSH) والمالون ثنائي الديهايد (MDA) وكما يلي :

1.1.4.تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد في فعالية انزيمات الكبد (ALT,AST,ALP) لمصل ذكور الجرذان البيض السليمة و المعاملة بنتريت الصوديوم:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية من الجدول (4-1) وجود ارتفاع معنوي($P<0.05$) في مستويات إنزيمات الكبد (ALT،AST،ALP) في المجموعة المجرعة بنتريت الصوديوم $NaNO_2$ وبتركيز 30ملغم/كغم ولمدة 30يوم وكما يلي: ALP (395.10±0.77) ،AST (150.33±0.55)، ALT (58.33±0.06) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) (352.43±0.19) ، (112.33±0.61)، (47.10±0.89) على التوالي.

كما سجلت الدراسة الحالية جدول (4-1) عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستويات إنزيمات الكبد (ALT،AST،ALP) للمجموعة الثالثة(G3)(351.71±0.72)،(111.16±0.33)، (46.00±0.27) وفي مستوى انزيم الـ(ALP)،(AST) للمجموعة الرابعة (G4) (351.26±0.55)،(109.66±0.52) مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1)، وانخفاض معنوي ($P<0.05$) بمستوى انزيم ALT في G4 (44.81±0.39) مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1).

واظهرت نتائج الدراسة جدول (4-1) عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستويات إنزيمات الكبد (ALT،AST،ALP) في المجموعة الثالثة (G3)(351.71±0.72)،(111.16±0.33)،

(46.00±0.27) مقارنة بالمجموعة الرابعة (G4) (351.26±0.55)،(109.66±0.52)، (44.81±0.39) وعلى التوالي.

كما وسجلت الدراسة الحالية جدول (4-1) انخفاض معنوي (P<0.05)بمستوى إنزيمات الكبد (ALT،AST،ALP) في المجموعتين الوقائيتين (G5)،(G6)وكما يلي:
ALP(378.01±0.11)،(361.13±0.95) وAST (143.14±0.79)،(140.18±0.67) و ALT (56.35±0.28)،(52.91±0.14) مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة (G2) على التوالي .

جدول رقم (4-1) تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد في فعالية انزيمات الكبد (ALT,AST,ALP) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة و المعاملة بنتريت الصوديوم .

	المعايير المدروسة Mean ± S.D / المعاملات	ALP (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)
G1	السيطرة (السالبة)ماء مقطر	352.43±0.19 A	112.33±0.61 A	47.10±0.89 A
G2	السيطرة (الموجبة)نتريت الصوديوم30ملغم/كغم	395.10±0.77 B	150.33±0.55 B	58.33±0.06 B
G3	المستخلص المائي لبذور الرشاد350ملغم/كغم	351.71±0.72 A	111.16±0.33 A	46.00±0.27 AC
G4	المستخلص المائي لبذور الرشاد550ملغم/كغم	351.26±0.55 A	109.66±0.52 A	44.81±0.39 C
G5	المستخلص المائي لبذور الرشاد350ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	378.01±0.11 C	143.14±0.79 C	56.35±0.28 D
G6	المستخلص المائي لبذور الرشاد550ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	361.13±0.95 D	140.18±0.67 C	52.91±0.14 E
	L.S.D	1.93	5.838	1.24

N=6 المعدل ± الخطأ القياسي
الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية (P<0.05).

تعمل الأنشطة الانزيمية الكبدية كمؤشرات حيوية مهمة من الناحية السريرية للكشف عن سمية الكبد. يعتبر الكبد من أكثر الأعضاء حساسية تجاه المواد المؤكسدة عن طريق استخدامه كموقع لإزالة السموم من الأدوية والمواد السامة وبالتالي زيادة مستواها عن الحد الطبيعي عند الضرر الخلوي ومن ثم تنقل الى الدم ، يتواجد انزيم الـ ALP وبنسبة عالية في القنوات الصفراوية للكبد ، العظم ، المشيمة وبطانة الخلايا المخاطية للامعاء والنبيب الملتوي القريب في الكلية اما انزيم الـAST فيوجد في مايتوكوندريا وسايتوبلازم الخلايا الكبدية وأعضاء أخرى مثل الدماغ ، الكلية والعضلات الهيكلية في حين ينتج أنزيم الـALT بشكل رئيسي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية وأعضاء أخرى مثل الرئة ،القلب ، الطحال لكن بكميات قليلة (Mazahreh *et al*., 2020) .

حيث توافقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة كل من الباحثين Khalil وجماعته،(2014) والتي جرعت فيها ذكور الجرذان فموياً بمادة نتريت الصوديوم وبتركيز 100ملغم/كغم ولمدة 30 يوم ، Abed-Al-Azeez وجماعته ،(2015) في دراستهم لتأثير التجريع الفموي لذكور الارانب لنتريت الصوديوم وبتركيز (20 ملغم/كغم) ولمدة 30يوم ، Akhzari وجماعته ،(2019) في دراستهم لتأثير التجريع الفموي لنتريت الصوديوم بتركيـز (80ملغم/كغم) لمدة 60 يوم لذكور الجرذان البيضاء، Eissa وجماعته (2020) والتي جرعت فيها ذكورالجرذان فموياً وبتركيـز (80ملغم/كغم) ولمدة 90 يوم اذا اشاروا جميعهم الى حدوث خلل وظيفي في الكبد تسبب بارتفاع معنوي بمستوى انزيمات الكبد (ALT,AST,ALP) في مصل الدم .

أن نتائج هذه الدراسة تفسر أن الأنزيمات قد تسربت بكميات عالية من أنسجة الكبد إلى سوائل الجسم وخاصةً للمصل وبالتالي يعكس هذا التسرب العالي الضرر الحاصل في أنسجة الجسم وتحديداً الكبد باعتباره العضو الرئيسي في الجسم الذي يكون مسؤول عن معالجة السموم التي يتعرض لها الجسم .(Balta *et al*., 2019)

ان ارتفاع مستوى إنزيمات الكبد ناتجة عن الانحلال وتلف خلايا الكبد وان هذه الإنزيمات الموجودة داخل الخلايا الكبدية يتم إطلاقها في مجرى الدم عندما يتضرر غشاء الخلية وبالتالي يرتفع مستوى هذه الانزيمات في البلازما وقد يكون ذلك بسبب زيادة نفاذية الغشاء البلازمي أو التنخر الخلوي، ويزداد تحرر هذه الانزيمات بحسب شدة امراض الكبد والسمية المحتملة مع زيادة في اضطرابات وامراض الكبد المختلفة وارتشاح هذه الانزيمات الى الدورة الدموية (Etim *et al*., 2006) ،

وقد يرجع سبب ارتفاع مستويات انزيمات الكبد في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم الى الاجهاد التأكسدي الناجم عن توليد الجذور الحرة المسببه لبيروكسيد الدهون وهو أحد الأسباب المهمة لتسمم الخلايا بواسطة نتريت الصوديوم، اذ يتفاعل النتريت مع الأمينات الموجودة في المعدة لتوليد النتروزامين والجذور الحرة، و يمكن أن تعزز النيتروزامينات بيروكسيد الدهون خاصة في غشاء الخلية ونظرًا لأن وظيفة خلايا الكبد الطبيعية تعتمد على سلامة غشاءها ، فإن بيروكسيد الدهون يؤدي إلى تفكك الغشاء وإصابة الخلايا الكبدية (Akhzari *et al*., 2019) .

ان الانخفاض في مستويات انزيمات الكبد (ALT,AST,ALP) المجموعتين (G4،G3) مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1) ، وفي المجموعتين (G6،G5) مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة (G2) ، يعود لبذور الرشاد الذي يحتوي على المكونات الفعالة ومنها alkaloid , coumarin ,flavonoids, triterpenes, glycoside, sterols, وtannin والاحماض الدهنية مثل α-Linolenic Acid وLinoleic Acid والتي تعمل كمنظفات للتخلص من الجذور الحرة المتولدة من ايض النتريت وبالتالي حماية اغشية الخلايا الكبدية وخفض انزيمات الكبد (Al-Sheddi *et al*., 2016; Balgoon, 2019).

نتائج الدراسة الحالية تتفق مع نتائج الباحث Balgoon ، (2019)الذي بين ان التجريع الفموي للمستخلص المائي لبذور الرشاد في ذكور الجرذان وبتركيز 20ملغم/كغم ولمدة 8 اسابيع خفض مستويات انزيمات الكبد ، واتفقت ايضاً مع نتائج دراسة Zamzami وجماعته ،(2019) في دراستهم لتأثير تناول بذور نبات الرشاد وبتركيز (400و300)ملغم/كغم لذكور الارانب لمدة 10 أسابيع ، اذ اظهر حماية كبيرة ضد الضرر الناجم عن مادة رابع كلوريد الكاربون CCl_4 لنسيج الكبد وبالتالي حصول انخفاض معنوي لإنزيمات الكبد ، ونعتقد ان دور المستخلص المائي لبذور نبات الرشاد في المساهمة في اصلاح اغشية الخلايا وبالتالي يعمل على جعل تراكيز انزيمات الكبد (AST، ALT، ALP) ضمن المستوى الطبيعي داخل الخلايا الكبدية او عن طريق رفع مستوى مضادات الاكسدة .

2.1.4. تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى البروتين الكلي والكلوبيولين والالبومين في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم

اظهرت نتائج الدراسة الحالية من الجدول (4-2) حدوث انخفاض معنوي ($p<0.05$) للمجموعة G2المعاملة بنتريت الصوديوم تركيز 30ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوم في مستويات البروتين الكلي (4.43±0.10) والكلوبيولين (0.71±0.46) والالبومين (3.63±0.31) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1 (5.32±0.08)،(1.30±0.10)،(4.01±0.03) على التوالي.

كما أوضحت نتائج الدراسة الحالية من الجدول (4-2) للمجموعتين (G4,G3)المجرعة بالمستخلص المائي لنبات بذور الرشاد بتركيز(350 و550) ملغم/كغم ارتفاعاً معنوياً ($p<0.05$) في مستوى البروتين الكلي (5.58±0.26)،(5.80±0.15) والكلوبيولين (1.69±0.42)، (1.88±0.05) بينما لم يسجل مستوى الالبومين أي ارتفاع معنوي (4.05±0.04)، (4.14±0.03) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة(G1) وعلى التوالي .

واظهرت نتائج الدراسة جدول (4-2) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستوى البروتين وعدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستوى الكلوبيولين والالبومين في المجموعة الثالثة(G3) (5.58±0.26)، (1.69±0.42)، (4.05±0.04) مقارنة مع المجموعة الرابعة(G4) (5.80±0.15)، (1.88±0.05)، (4.14±0.03) وعلى التوالي.

وأشار الجدول(4-2) بالنسبة للمجموعتين (G5) (G6) و المجرعة بالمستخلص المائي لنبات بذور الرشاد بتركيز(350) ملغم/كغم وبتركيز (550) ملغم/كغم قبل التجريع بنتريت الصوديوم 30ملغم/كغم ارتفاع معنوي في مستوى البروتين الكلي (4.66±0.15) ،(4.98±0.27) و الكلوبيولين (0.98±0.13)،(1.10±0.14) والالبومين (3.82±0.17)،(3.98±0.04)مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) وعلى التوالي.

جدول رقم(4-2) تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى البروتين الكلي والكلوبيولين والالبومين في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم .

	المعايير المدروسة Mean ±S.D / المعاملات	البروتين الكلي g/dl	الكلوبيولين g/dl	الالبومين g/dl
G1	السيطرة (السالبة)ماء مقطر	5.32±0.08 A	1.30±0.10 A	4.01±0.03 A
G2	السيطرة (الموجبة)نتريت الصوديوم30ملغم/كغم	4.43±0.10 B	0.71±0.46 B	3.63±0.31 B
G3	المستخلص المائي البذورالرشاد350ملغم/كغم	5.58±0.26 C	1.69±0.42 C	4.05±0.04 A
G4	المستخلص المائي لبذورالرشاد550ملغم/كغم	5.80±0.15 D	1.88±0.05 C	4.14±0.03 A
G5	المستخلص المائي البذورالرشاد350ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	4.66±0.15 E	0.98±0.13 D	3.82±0.17 C
G6	المستخلص المائي لبذورالرشاد550ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	4.98±0.27 F	1.10±0.14 D	3.98±0.04 AC
	L.S.D	0.123	0.221	0.177

N=6 المعدل ± الخطأ القياسي

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية (P<0.05).

وجاءت نتيجة انخفاض في مستويات البروتين الكلي والكلوبيولين والالبومين في مجموعة النتريت في دراستنا متفقه مع دراسات (Helal *et al*., 2017; Adewale *et al*., 2019) وان سبب الانخفاض هذا قد يرجع الى سمية NaNO2 مما يؤدي إلى خلل في ايض البروتينات وبالتالي يحصل هدم سريع للبروتينات ، زيادة معدل الأحماض الأمينية الحرة وانخفاض معدل دوران البروتينات (Abdeen *et al*., 2008) ، وقد تلجأ الحيوانات المعرضة للإجهاد التأكسدي الى استخدام مصادر بديلة للطاقة مخزونة في الجسم مثل البروتينات وبالتالي تزيد من تقويض الاحماض الامينية لإنتاج

الطاقة وكذلك بناء الكلوكوز من الاحماض الامينية (Loru *et al*., 2009) ، وقد يكون الانخفاض نتيجة إصابة الكلية بالاجهاد التأكسدي والذي يتميز بفقدان بروتينات الكلية (Protein urea) عن طريق البول (Bartošíková *et al*., 2003; Zabulyte *et al*., 2007). وبما ان البروتينات مهمة جداً في العمليات الايضية الداخلية والخارجية فضلاً عن وجودها ضمن تركيب الغشاء الخلوي للخلية وتدخل في تركيب الانزيمات الضرورية لإزالة سموم المواد الداخلة للجسم ، وقد يستخدم الالبومين كمضاد للأكسدة وبالتالي يحصل انخفاض في مستوياته (محمد وآخرون ،2013) ان من اهم العلامات السريرية لأمراض خلايا الكبد الشديدة هو انخفاض مستوى الالبومين ، وان هذا الانخفاض قد يعود الى الاعتلال في الكبيبات الكلوية (اعتلال كلوي يؤدي الى فقدان البروتين Protein losing (nephropathy (Guyton & Hall, 2006) .

وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Balgoon ،(2019) والتي أعطيت فيها الجرذان البيضاء 20ملغم/ كغم من بذور الرشاد قبل ان تستحث بـثلاثي كلوريد الألمنيوم (ALCL3) ، واتفقت ايضاً مع دراسة El-Hashash وجماعته،(2020) التي سجل فيها تحسن في مستويات البروتينات الكلية والكلوبيولين والالبومين في الجرذان البيض التي تناولت 5% يومياً من مسحوق بذور الرشاد في العليقة والمستحث فيها الاجهاد التأكسدي بواسطة رابع كلوريد الكاربون (CCL4) حيث أشار ان التحسن في علامات وظائف الكبد نتيجة انخفاض التلف التأكسدي للخلايا الكلوية والكبيبات في المجموعات التي تتغذى بالبذور قد يعزى إلى وجود ليس فقط مركبات الفينول ولكن أيضًا الألياف الغذائية والأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة وبالتالي زيادة في مستوى البروتين الكلي والألبومين والكلوبيولين في مصل دم الجرذان .

3.1.4.تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى اليوريا والكرياتنين في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية من الجدول (4-3) حدوث ارتفاع معنوي ($p<0.05$) للمجموعة G2المعاملة بنتريت الصوديوم تركيز 30ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوم (السيطرة الموجبة) في معدل مستوى اليوريا (77.33±0.99) والكرياتنين (0.99±0.05) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1 (30.66±0.81)، (0.81±0.11) وعلى التوالي .

وسجلت نتائج الدراسة الحالية من الجدول (4-3) للمجموعتين (G4,G3)المجرعة بالمستخلص المائي لنبات بذور الرشاد بتركيز(350 ،550) ملغم/كغم عدم وجود فروق معنوية في معدل مستويات اليوريا (29.83±0.45) ، (28.50±0.04) والكرياتنين (0.80±0.03) ، (0.79±0.04) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1 .

واظهرت نتائج الدراسة جدول (4-3) عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستويات اليوريا والكرياتنين في المجموعة الثالثة(G3) (29.83±0.45)، (0.80±0.03) مقارنة مع المجموعة الرابعة(G4) (28.50±0.04)، (0.79±0.04) وعلى التوالي .

كما بينت نتائج الدراسة الحالية من الجدول (4-3) حدوث انخفاض معنوي ($p<0.05$) للمجموعتين (G6,G5) في معدل مستوى اليوريا (61.00±0.89) ، (45.16±0.65) والكرياتنين (0.87±0.03) ، (0.85±0.09) مقارنة مع مجموعة نتريت الصوديوم (السيطرة الموجبة) G2.

جدول رقم (4-3)تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى اليوريا والكرياتنين في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم .

المعايير المدروسة Mean±S.D / المعاملات		اليوريا mg/dl	الكرياتنين mg/dl
G1	السيطرة (السالبة)ماء مقطر	30.66±0.81 A	0.81±0.11 A
G2	السيطرة (الموجبة)نتريت الصوديوم30ملغم/كغم	77.33±0.99 B	0.99±0.05 B
G3	المستخلص المائي لبذورالرشاد350ملغم/كغم	29.83±0.45 A	0.80±0.03 A
G4	المستخلص المائي لبذورالرشاد550ملغم/كغم	28.50±0.14 A	0.79±0.04 A
G5	المستخلص المائي البذورالرشاد350ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	61.00±0.89 C	0.87±0.03 A
G6	المستخلص المائي لبذورالرشاد550ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	45.16±0.65 D	0.85±0.09 A
L.S.D		4.17	0.08

N=6 المعدل ± الخطأ القياسي

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية (P<0.05).

لقد جاءت نتيجة الارتفاع في معدل مستويات اليوريا والكرياتنين في مجموعة نتريت الصوديوم (السيطرة الموجبة) G2 في دراستنا متفقه مع دراسة Hassan وجماعته ،(2009) في دراستهم لتأثير التجريع الفموي لنتريت الصوديوم بتركيــز (80ملغم/كغم) لمدة 3 اشهر لذكور الجرذان البيضاء ومع دراسة Adewale وجماعته،(2020) عند دراستهم لتأثير التجريع الفموي لنتريت الصوديوم بتركيــز (60ملغم/كغم) لمدة 28 يوم لذكور الجرذان البيضاء، اشارت بعض الدراسات ان نتريت الصوديوم يؤثر على وظائف الكلى ويسبب زيادة في مستويات اليوريا و الكرياتنين بسبب التغيرات في معدل الترشيح الكبيبي ، تدفق الدم الكلوي وعملية إعادة الامتصاص الأنبوبي (Suparmi *et al*., 2016)، ونتيجة تكوين الجذور الحرة التي تعمل على اكسدة البروتينات والاحماض الامينية وبالتالي يرتفع مستوى اليوريا في مصل الدم (Ronis *et al*., 1998)

وتتفق نتيجة الدراسة الحالية مع دراسة Abdel-Baky ،(2019) والتي سجلت فيها انخفاضاً في مستوى اليوريا والكرياتنين في الجرذان البيض التي جرعت 300 ملغم/كغم يومياً من مستخلص بذور الرشاد ولمدة 4 أسابيع قبل ان تستحث بنتريت الصوديوم بتركيز 50 ملغم /كغم . وكذلك مع

دراسة Yadavوجماعته،(2010a) التي سجل فيها انخفاضاً في مستويات اليوريا والكرياتنين في الجرذان التي جرعت (400,200) ملغم/كغم من المستخلص الكحولي لبذور الرشاد قبل ان تستحث بمادة السبلايتين cisplatin بتركيز 5 ملغم/كغم .

كما كانت نتائج دراستنا متفقة مع دراسة El-Hashash وجماعته , (2020) التي سجلت انخفاضاً في مستويات اليوريا والكرياتنين في الجرذان البيض التي تناولت 5% يومياً من مسحوق بذور الرشاد في العليقة والمستحث فيها الاجهاد التأكسدي بواسطة رابع كلوريد الكاربون (CCL4) ، أن بذور حب الرشاد تحتوي على مركبات فعالة مثل الفلافونات والفينولات ومضادات الاكسدة التي لها القدرة على إزالة الجذورالحرة من الجسم وخصوصاً مركبات glycoside ، alkaloids، tannin ، Flavonoids، amino وحوامض امينية مثل (glutamine ,cysteine, glycine) والتي لها القدرة على اختزال التلف التأكسدي للخلايا الكلوية والكبيبات الكلوية وزيادة معدل الترشيح الكبيبي وتقليل الاذى الناتج عن الجذور الحرة(Yadav & Vipin, 2010b; Halaby *et al*., 2015) ، ان التأثير المدر للبول لمستخلص بذور الرشاد الذي قد يكون احد أسباب انخفاض اليوريا والكرياتنين بسبب وجود الفلافونويدات , الصابونين و الأحماض العضوية في بذور الرشاد (Abdel-Baky, 2019) .

ان مستخلص بذور الرشاد له القدرة على تحسين وظائف الكلية وإعادة الاضطرابات الايضية الى مسارها الطبيعي لاحتوائه على مكونات فعاله حيث يعمل على خفض مستوى الكلوكوز من خلال استهلاكه كمصدر للطاقة في جسم الحيوان بدلاً من استخدام البروتينات في ذلك وبالتالي ينخفض مستوى اليوريا والكرياتنين (Al Hamedan, 2010) .

4.1.4. تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى المالونداياالديهايد (MDA) والكلوتاثيون (GSH) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم .

بينت نتائج الدراسة الحالية في الجدول (4-4) حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستويات الكلوتاثيون GSH (6.01±0.63) وارتفاع معنوي في المالون ثنائي الديهايد MDA (16.62±0.55) في المجموعة G2 المعاملة بنتريت الصوديوم تركيز 30ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوم (السيطرة الموجبة) مقارنة مع مجموعة G1 (السيطرة السالبة) (11.79±1.15)،(12.64±1.13) وعلى التوالي.

وأشار الجدول (4-4) الى وجود ارتفاع غير معنوي ومعنوي ($P<0.05$) في مستوى الكلوتاثيون GSH (12.21±0.85) ،(14.80±0.23) ، وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى المالون ثنائي الديهايد MDA (11.45±0.82)،(10.22±0.60) للمجموعتين (G4،G3) وعلى التوالي مقارنة مع مجموعة G1 (السيطرة السالبة).

واظهرت نتائج الدراسة جدول (4-4) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مستويات الكلوتاثيون GSH والمالون ثنائي الديهايدMDA في المجموعة الثالثة (G3) (12.21±0.85)، (11.45±0.82) مقارنة مع المجموعة الرابعة(G4) (14.80±0.23) ،(10.22±0.60) وعلى التوالي .

كما بينت نتائج دراستنا الحالية في الجدول (4-4) ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى الكلوتاثيون GSH (7.90±0.03)،(8.45±0.09) ، وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى المالون ثنائي الديهايد MDA (14.42±1.11)،(13.86±1.04) للمجموعتين (G6،G5) وعلى التوالي مقارنة مع مجموعة G2 (السيطرة الموجبة) .

جدول رقم (4-4) تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على مستوى المالونداياليديهايد (MDA) والكلوتاثيون (GSH) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم .

الكلوتاثيون GSH µmol/L	المالون ثنائي الديهايد MDA µmol/L	المعايير المدروسة Mean±S.D / المعاملات	
11.79±1.15 A	12.64±1.13 A	السيطرة (السالبة)ماء مقطر	G1
6.01±0.63 B	16.62±0.55 B	السيطرة (الموجبة)نتريت الصوديوم30ملغم/كغم	G2
12.21±0.85 A	11.45±0.82 C	المستخلص المائي لبذورالرشاد350ملغم/كغم	G3
14.80±0.23 C	10.22±0.60 D	المستخلص المائي لبذورالرشاد550ملغم/كغم	G4
7.90±0.03 D	14.42±1.11 E	المستخلص المائي البذورالرشاد350ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	G5
8.45±0.09 D	13.86±1.04 E	المستخلص المائي لبذورالرشاد550ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	G6
0.76	0.98	L.S.D	

N=6 المعدل ± الخطأ القياسي

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية ($P<0.05$).

وان هذا الانخفاض في مستوى الكلوتاثيون GSH والارتفاع بمستوى المالون ثنائي الديهايد MDA في دراستنا الحالية جاء مطابقاً مع دراسة Abed-Alazeez وجماعته،(2016) والتي جرعت فيها الارانب فموياً مادة نتريت الصوديوم بتركيز20ملغم/كغم ولمدة 4 أسابيع ، وايضاً اتفقت مع دراسة Eissa وجماعته،(2020) والتي جرعت فيها الجرذان فموياً مادة نتريت الصوديوم بتركيز80ملغم/كغم لمدة 3 اشهر.

ان تفاعل نتريت الصوديوم يحفز تفاعلات الأكسدة مع أمينات الأطعمة الموجودة في المعدة لانتاج النيتروزامين والجذور الحرة ، هذه الجذور الحرة بدورها تحفز بيروكسيد الدهون مع آثار ضارة على أعضاء الجسم المختلفة وبالتالي يسبب انخفاض في مستوى الكلوتاثيون GSH وارتفاع في مستوى المالون ثنائي الديهايد MDA (Hassan *et al*., 2009) .

في العديد من الحالات المرضية المحفزة للإجهاد التأكسدي فأن نشاط الجذور الحرة يزداد بزيادة تفوقها على مضادات الأكسدة فيتسبب بزيادة في بيروكسيد الدهون ثم رفع المالون ثنائي الديهايد وفقدان التوازن بين فعالية الجذور الحرة ونشاط مضادات الأكسدة اذ تسبب سرعة استهلاك الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة Antioxidative systems مما يؤدي الى تلف الانسجة وزيادة عملية اكسدة الدهون وفقدان مرونة الاغشية الخلوية (Rahal *et al*., 2014) ، وقد يكون السبب حالة الاجهاد التأكسدي التي تؤثر على خلايا β-Cells البنكرياسية وإفراز الأنسولين وبالتالي تؤدي إلى انخفاض تركيز الأنسولين في الدم وهذا يعمل على تحفيز وزيادة نشاط إنزيم Fatty acetyl CoA oxidase الذي يحفز عملية β-Oxidation للأحماض الدهنية وزيادة تكّون H_2O_2 وفي النهاية زيادة معدلات بيروكسيد الدهون وإنتاج الـ المالون ثنائي الديهايد MDA (Aju *et al*., 2019) .

ان معدل استهلاك الكلوتاثيون الذي يكون من أهم مضادات الأكسدة غير الإنزيمية في ازالة الجذور الحرة ونواتجها ثم يتحول من الشكل الفعال الى الشكل غير الفعال ثنائي الكبريت Glutathione disulfide اذ تعد مجموعة الكبريت في تركيب الكلوتاثيون عاملا مختزلا جيداً يهب ذرة هيدروجين بسهولة وذلك لضعف الآصرة بين الكبريت والهيدروجين S-H وقوة الآصرة بين الكاربون والهيدروجين C-H في الجذور الحرة لذلك فهي تقوم بحماية الأغشية الخلوية من اضرار الجذور الحرة ، او قد يعزى سبب انخفاض مستوى الكلوتاثيون الى حدوث نقص في المواد الأولية لبنائه (Kövesi *et al*., 2018) .

يعتبر هذا الارتفاع في مستوى الكلوتاثيون GSH والانخفاض في مستوى المالون ثنائي الديهايد MDA في دراستنا الحالية كانت مطابقة مع دراسة Nilesh وجماعته،(2010) التي جرع فيها الجرذان بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيزين 200،400ملغم/كغم ضد مادة doxorubicin. واتفقت كذلك مع دراسة Raish وجماعته،(2016) والتي جرع فيها الجرذان بالمستخلص الكحولي لبذور الرشاد وبتركيزين 150،300ملغم/كغم بعد ان استحث بمادة D-galactosamine-induced lipopolysaccharide ، ان ارتفاع مستوى الكلوتاثيون في المجموعات المجرعة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد قد يعود لاحتواء بذور الرشاد على حوامض امينية ومنها(السستين ,الكلايسين والكلوتاميت) والتي تدخل في بناء الكلوتاثيون (Nelson *et al*., 2008) .

وقد يرجع انخفاض المالون ثنائي الديهايدMDA في المجموعات المجرعة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد لاحتواء المستخلص على مضادات اكسدة طبيعية مثل الكاروتينات carotenoids ، القلويدات alkaloids، الفيتامينات ومنها (tocopherols،B، C، D، E) إضافة الى المركبات الفينولية (Ahmad *et al*., 2015) ، والتي تعمل جميعها على إزالة الجذور الحرة مباشرة عن طريق منح الالكترون او بطريقة غير مباشرة من خلال زيادة نشاط مضادات الاكسدة ومنها الكلوتاثيون والذي يعمل على تثبيط الجهد التأكسدي وبيروكسيد الدهون وبالتالي يمنع انتاج المالون ثنائي الديهايد(MDA) (Raish *et al*., 2016) .

2.4. الدراسة النسجية Histological Study

1.2.4. الفحص والقياسات النسجية للكبد

الكبد هو العضو الرئيسي المسؤول عن العمليات الايضية المتعلقة بأزالة السموم Detoxification من الجسم بواسطة هدم المواد الغير مرغوبة فيها (Guyton& Hall, 2016) .

1.1.2.4. تأثير المعاملة بنتريت الصوديوم بتركيز30ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1):

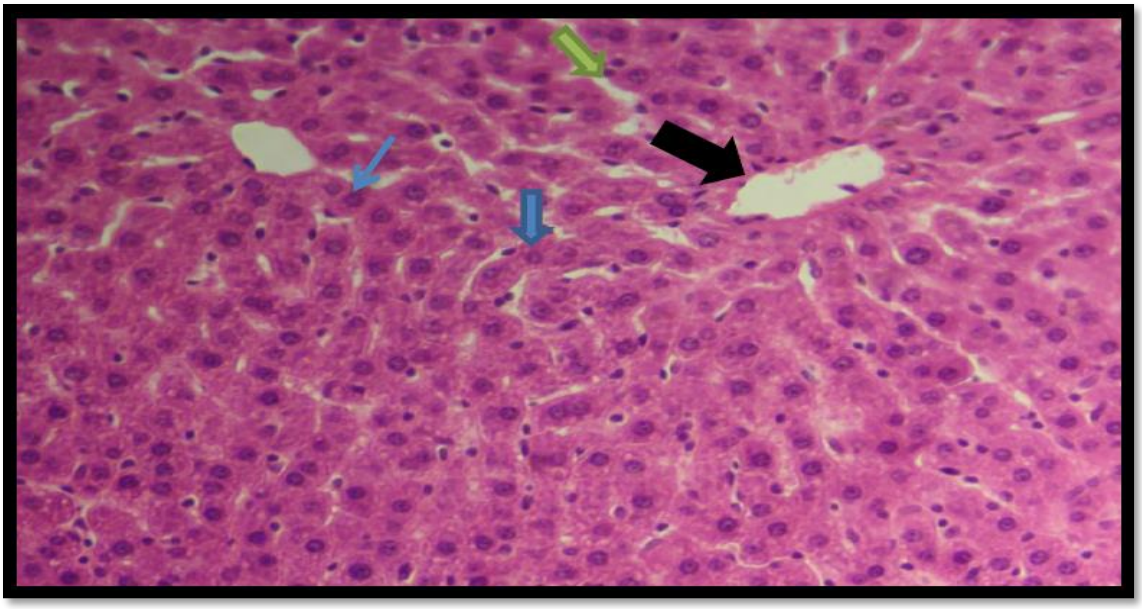
اظهرالفحص النسجي للكبد في مجموعة السيطرة وكما في الصورة رقم (4-1) تركيبه النسجي الطبيعي المتكون من عدة فصيصات و كل فصيص يحتوي على وريد مركزي (Central vein) وتنتظم حوله خلايا مكعبة الشكل هي الخلايا الكبدية (Hepatocytes) والتي تكون بشكل اشرطة وما بين هذه الاشرطة تقع فسح دموية تسمى الجيبانيات (Sinusoids) ويمكن تمييز الخلايا الكبدية ذات انوية واضحة الى جانب الوريد المركزي والجيبانيات .

في حين اظهرت نتائج الفحص النسجي للكبد في الجرذان المعاملة بنتريت الصوديوم بتركيز (30 ملغم/كغم) من وزن الجسم كما في الصورة رقم (4-2) احتقان Congestion وتوسع في الوريد المركزي مع عدم انتظام للحبال الكبدية مع توسع الجيبانيات ، وتنكس وتنخر شديد (Necrosis) للخلايا الكبدية واحتقان الوريد المركزي صورة رقم(4-3) ، كما تبين الصورة رقم (4-4) ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية Inflammatory cells وهذا يدل عن وجود ضرر لغشاء الخلايا الكبدية مع عدم انتظام شديد للحبال الكبدية و توسع الجيبانيات وتوسع شديد للوريد المركزي ، حيث اظهرت القياسات النسجية لمجموعة نتريت الصوديوم (السيطرة الموجبة) (G2) حسب جدول رقم (4-5) وجود ارتفاع معنوية ($p<0.05$) لمعدل قطركل من الخلايا الكبدية (0.49±28.26) مايكرون والجيبانيات (1.02±77.33) مايكرون والوريد المركزي (0.65±124.16) مايكرون مقارنةً بمعدل قطر كل من الخلايا الكبدية (0.28±18.31) مايكرون و الجيبانيات (1.03±34.83) مايكرون و الوريد المركزي (0.75±74.66) مايكرون لمجموعة السيطرة السالبة (G1) .

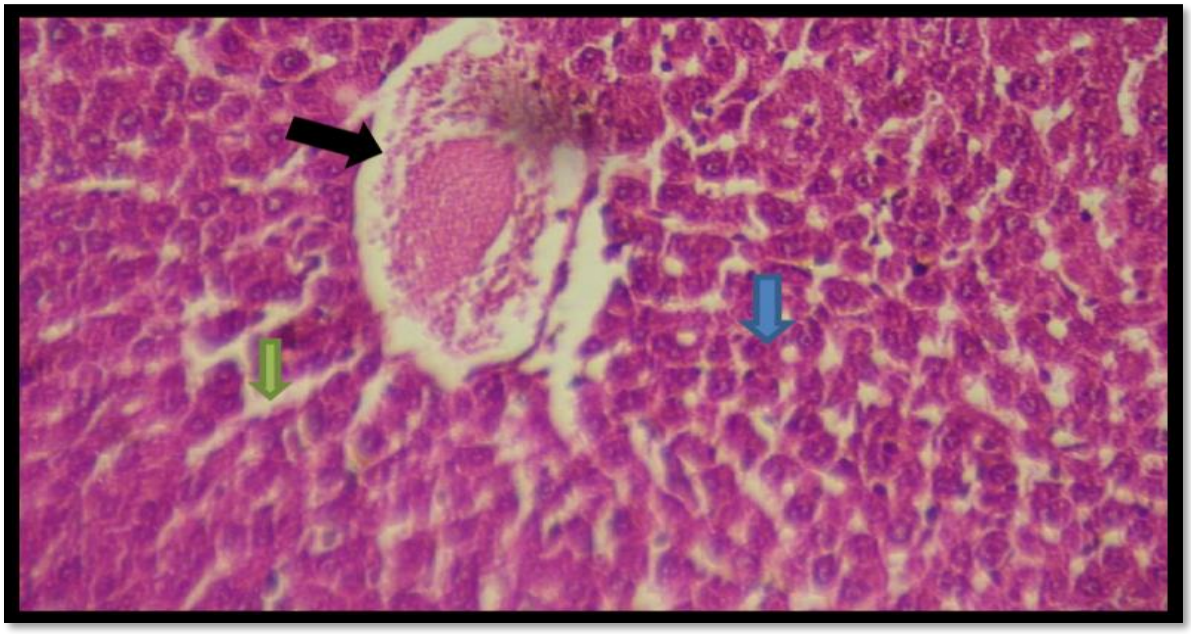
ان الزيادة في اقطار الخلايا الكبدية والجيبانيات والوريد المركزي في الجرذان المختبرية يفسر التأثير السام لنتريت الصوديوم على الخلايا الكبدية عند إعطائها بشكل مستمر الامر الذي أدى الى التهاب خلايا الكبد حيث أن النتريت يحفز بيروكسيد الدهون ويضعف غشاء خلايا الكبد (Zavodnik *et al*., 1999) . أحد أهم أسباب سمية الخلايا الناتجة من مادة نتريت الصوديوم هو بيروكسيد الدهون حيث يتفاعل النتريت مع الأمينات في الوسط الحمضي الذي يولد النتروزامين والجذور الحرة ، يمكن أن تعزز هذه النتروزامينات بيروكسيد الدهون في غشاء الخلية مما يؤدي إلى تفكك الغشاء وإصابة الخلايا (Mittal *et al*., 2006) . يحدث الإجهاد التأكسدي عندما يتجاوز معدل إنتاج الجذور الحرة معدل تنظيمها بواسطة نظام الدفاع المضاد للأكسدة للخلية مما يؤدي إلى إتلاف الجزيئات الخلوية الأساسية بما في ذلك الدهون والبروتينات والأحماض النووية مع الموت الخلوي اللاحق (Kalantar *et al*., 2018; Pham *et al*., 2008) . يمكن أن يُعزى ذلك إلى زيادة نفاذية المايتوكوندريا نتيجة لزيادة الإجهاد التأكسدي الذي يؤدي إلى إطلاق العوامل محفزة للموت من خلال غشاء المايتوكوندريا وتفعيل كاسباس caspase-3 (Rahman *et al*., 2012) ، وان ارتفاع مستوى انزيمات الكبد (ALT,AST,ALP) والتي تم عرضها ضمن الجانب الفسلجي وارتفاع مستوى البروتينات والمواد المؤكسدة MDA نتيجة زيادة الجهد التأكسدي الحاصل بسبب سمية نتريت الصوديوم والذي أدى الى تسرب الانزيمات الى الدم (Abushofa *et al*., 2019).

وكانت نتيجة دراستنا مطابقة مع دراسة Akhzari وجماعته،(2019) حيث جرع فيها الجرذان فموياً مادة نتريت الصوديوم وبتركيز 80ملغم/كغم من وزن الجسم حيث أدى إلى ارتفاع (MDA) وانخفاض بشكل ملحوظ بمستويات الجلوتاثيون المختزل (GSH) حيث يحدث الإجهاد التأكسدي في نسيج الكبد وانتاج بيروكسيد الدهون الناجم عن نتريت الصوديوم واختلال غشاء خلايا الكبد وهذا يؤكد ان التأثيرات التنكسية لنسيج الكبد ناجمة عن ظهور الجذور الحرة وارتفاع (MDA) وانخفاض بمستوى الـ (GSH) .

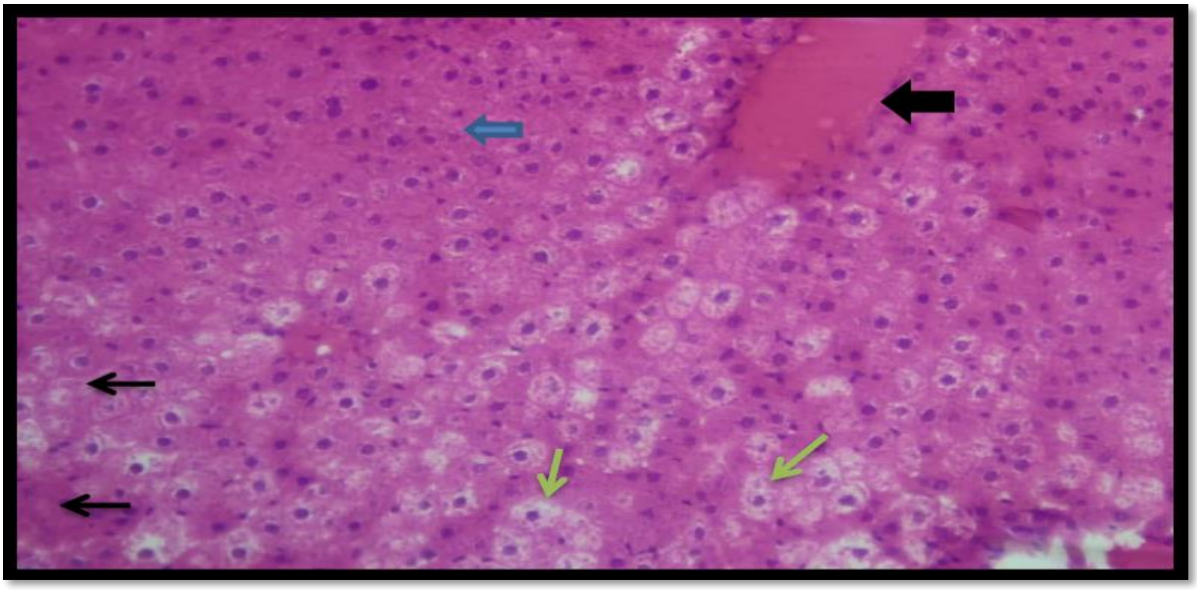
كما تطابقت مع دراسة El-Nabarawy وجماعته ،(2020) والتي جرع فيها الجرذان البالغة فموياً مادة نتريت الصوديوم وبتراكيز تصاعدية (75،60،40،20) ملغم/كغم من وزن الجسم حيث كشفت عن تغيرات مورفولوجية غير طبيعية تمثلت بتنكس وتنخر في بعض خلايا نسج الكبد تتناسب مع جرعات النتريت المعطاة .



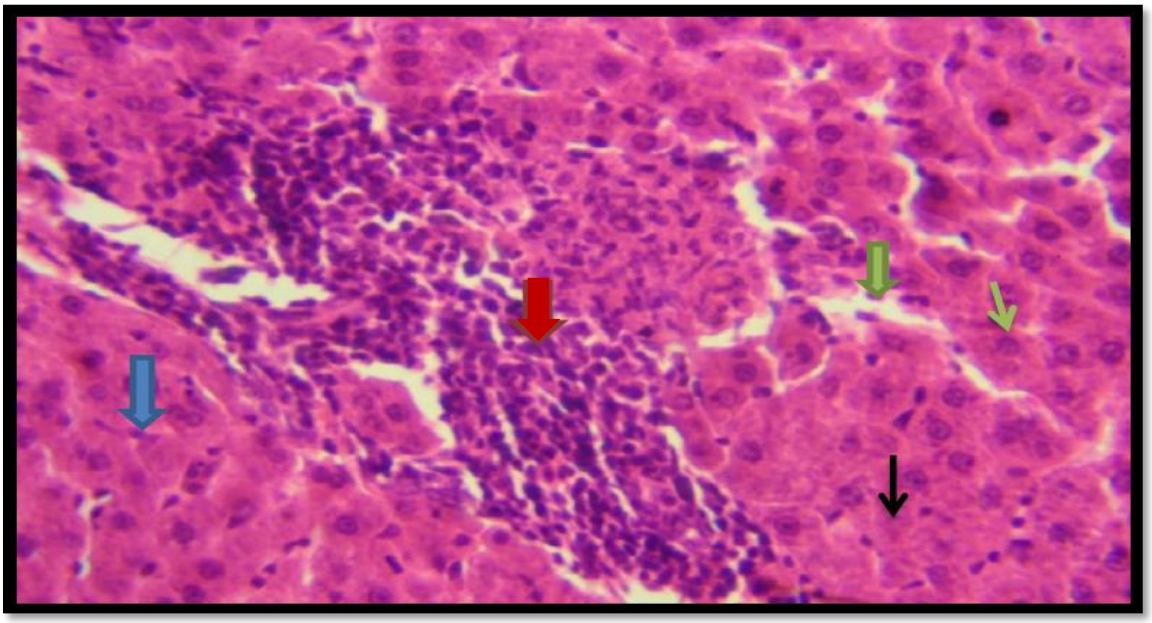
صورة رقم (4-1) مقطع عرضي من نسيج الكبد لمجموعة السيطرة السالبة يظهر فيها الوريد المركزي الطبيعي (⬅) وانتظام الحبال الكبدية (⬅) وخلايا الكبد وانويتها (←) مع وجود الجيبانيات (⬅) (H & E stain 200X) .



صورة رقم (4 - 2) مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم ($NaNO_2$) بتركيز 30ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها احتقان وتوسع في الوريد المركزي (⬅) وعدم انتظام شديد للحبال الكبدية (⬅) مع توسع الجيبانيات (⬅) (H & E stain 200 X) .



صورة رقم (4 - 3)مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم ($NaNO_2$) بتركيز 30 ملغم / كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها تنكس شديد للخلايا (⇦) وعدم انتظام الحبال الكبدية (⇦) مع تنخر شديد للخلايا (⇦) و احتقان الوريد المركزي (⇦) (H & E stain 200 X) .



صورة رقم (4 - 4) مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم ($NaNO_2$) بتركيز 30 ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية (⇦) وعدم انتظام شديد للحبال الكبدية (⇦) مع توسع الجيبانيات (⇦) وتنكس الخلايا (⇦) مع تنخر شديد للخلايا (⇦) (H & E stain 400 X) .

2.1.2.4. تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيزين(550,350) ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1):

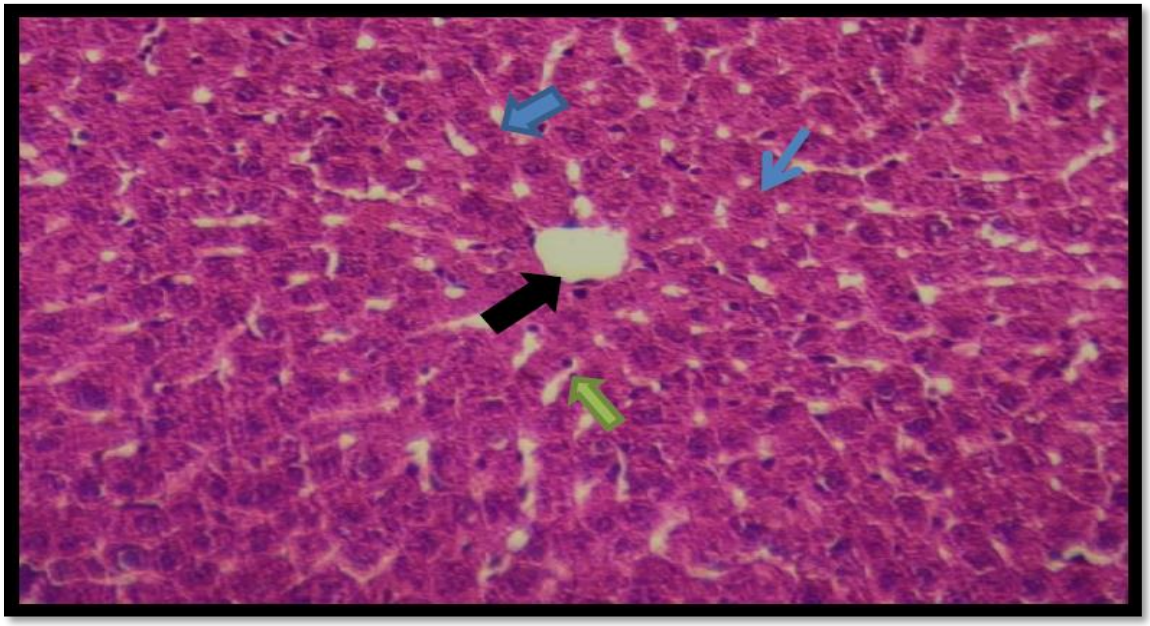
لم يظهر الفحص النسجي للكبد في المجموعتين المعاملتين بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 350ملغم/كغم و550ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوم صورة رقم(4-5) و(4-6) أي تغير في التركيب النسجي مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة صورة رقم (4-1) حيث ظهر الوريد المركزي والجيبانيات بشكل طبيعي وانتظام الحبال الكبدية Regularity of the hepatic cords التي تتكون من خلايا كبدية وانويتها .

حيث أظهرت نتائج دراستنا للقياسات النسجية للمجاميع المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيز (350،550) ملغم /كغم من وزن الجسم (G4،G3) جدول رقم (4-5) عدم وجود فروق معنوية في معدل اقطار الخلايا الكبدية و الوريد المركزي(18.25±0.50) ، (18.60±0.40) مايكرون والجيبانيات (34.33±0.40)،(33.33±0.75) مايكرون والوريد المركزي (76.00±0.54)،(75.66±0.75) مايكرون بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) وعلى التوالي.

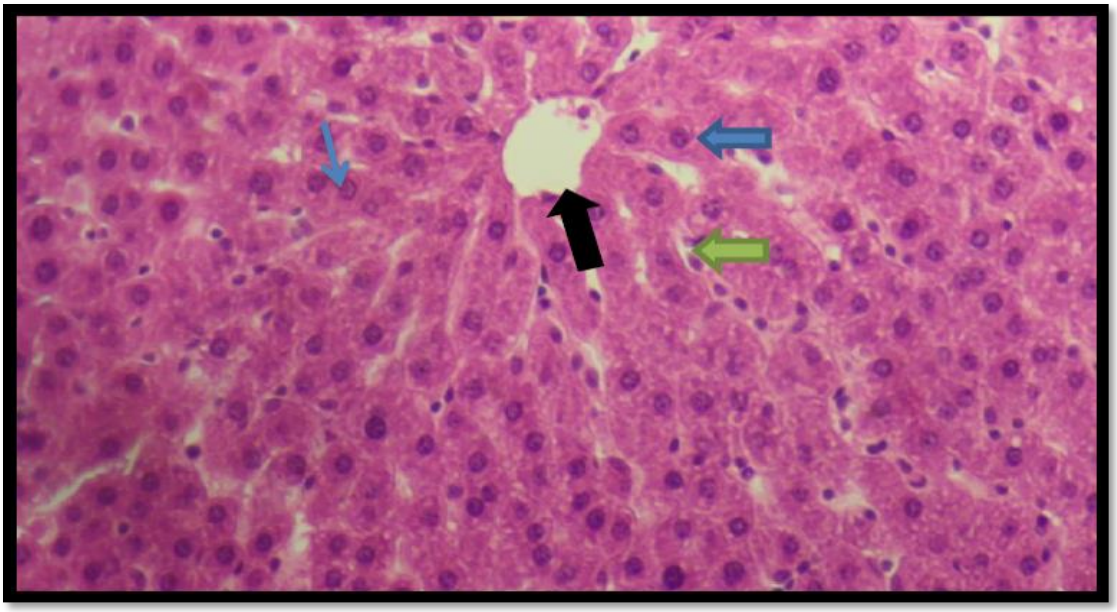
وكانت نتيجة دراستنا متطابقة مع دراسة Raish وجماعته،(2016) حيث أعطيت فيها الجرذان المستخلص الكحولي لبذور نبات الرشاد وبتركيزين 150و300 ملغم/كغم من وزن الجسم ولم تظهر اي تأثيرات جانبية للمستخلص على التركيب النسجي للكبد نظرا لما تحتويه من مواد لا تشكل اي تأثير سمي للأنسجة ولا تحفز على حدوث الاجهاد التأكسدي او توليد جذور حرة .

ومع دراسة Ibrahim وجماعته،(2020) والتي جرعت فيها الجرذان المستخلص الكحولي لبذور نبات الرشاد وبتركيز 400 ملغم/كغم ولمدة 6 أسابيع ، وخلاصة الدراسة إلى أن الإعطاء اليومي للمستخلص و لمدة ستة أسابيع آمن وله تأثيرات مضادة للأكسدة ولتكوين الأوعية الدموية ومضادة للتنكس الدهني ، قد يعود ذلك الى مكونات بذور الرشاد المختلفة مثل الفينولات ، الفلافونويدات ، التوكوترينولات ، التوكوفيرولات والفيتامينات(A, B6,C) والتي لها خصائص مضادة للأكسدة .

ويدل هذا ان المستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 350ملغم/كغم و550ملغم/كغم من وزن الجسم امن وليس له أي تأثيرات جانبية على نسيج الكبد وقد يكون بسبب قدرة هذا المستخلص على زيادة العمليات الايضية الوظيفة للكبد وبالتالي تحسن البنية الخلوية والوظيفية لنسيج الكبد.



صورة رقم (4 - 5) مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 350 ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها الوريد المركزي الطبيعي (⬅) والجيبانيات (⇦) مع انتظام الحبال الكبدية (⇦) وخلايا الكبد وانويتها (←) (H & E stain 200X) .



صورة رقم (4 - 6) مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز550ملغم / كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها الوريد المركزي الطبيعي (⬅) و انتظام الحبال الكبدية (⬅) وخلايا الكبد وانويتها (⬅) مع وجود الجيبانيات (⬅) (H & E stain 200X)

3.1.2.4. تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيزين(550,350)ملغم/كغم ضد نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكبد مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة (G2):

لوحظ في دراستنا الحالية ان التركيب النسجي للكبد في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد بتركيز 350ملغم/كغم من وزن الجسم مع مادة نتريت الصوديوم بتركيز ضد نتريت الصوديوم بتركيز30ملغم/كغم من وزن الجسم (G5) وجود احتقان في الوريد المركزي مع توسع واحتقان الجيبانيات مع انتظام جزء من الحبال والخلايا الكبدية ويظهر الارتشاح اقل في الخلايا الالتهابية وهناك تنكس في بعض الخلايا الكبدية صورة (4-7) ، كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية للقياسات النسجية في المجموعة الوقائية (G5) حسب جدول رقم (4-5) وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) لمعدل اقطار كل من الخلايا الكبدية (22.06±0.62) مايكرون والجيبانيات (41.33±1.16) مايكرون والوريد المركزي (78.66±0.98) مايكرون مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) وعلى التوالي .

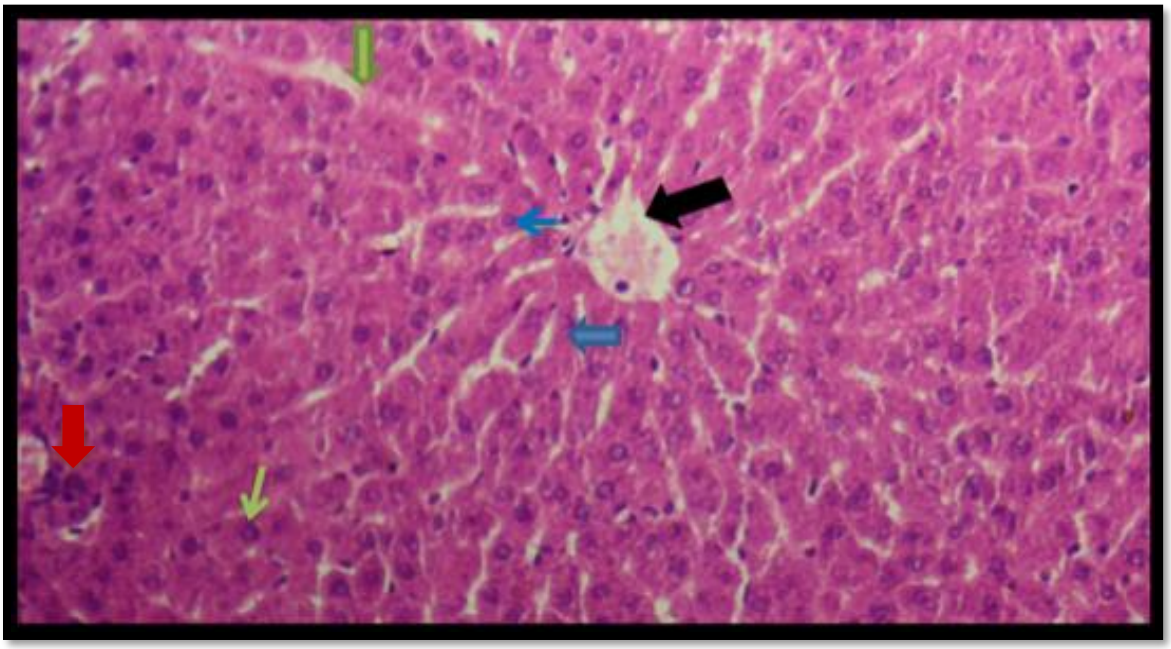
كما اظهر الفحص النسجي لكبد الجرذان في المجموعة الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد بتركيز 550ملغم/كغم مع نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم/كغم من وزن الجسم (G6) صورة رقم (4-8) اختفاء احتقان الوريد المركزيCentral vein مع توسع بسيط للجيبانيات وانتظام الحبال الكبدية وخلايا الكبد وانويتها مع تنكس بعض خلاياها حيث يظهر النسيج اقرب لمجموعة السيطرة السالبة(G1).

وبينت نتائج دراستنا للقياسات النسجية في المجموعة الوقائية (G6) جدول رقم (4-5) عن وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$) لمعدل اقطار كل من الخلايا الكبدية (22.00±0.83) مايكرون والجيبانيات (40.83±0.81) مايكرون والوريد المركزي (78.40±0.46) مايكرون مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) وعلى التوالي .

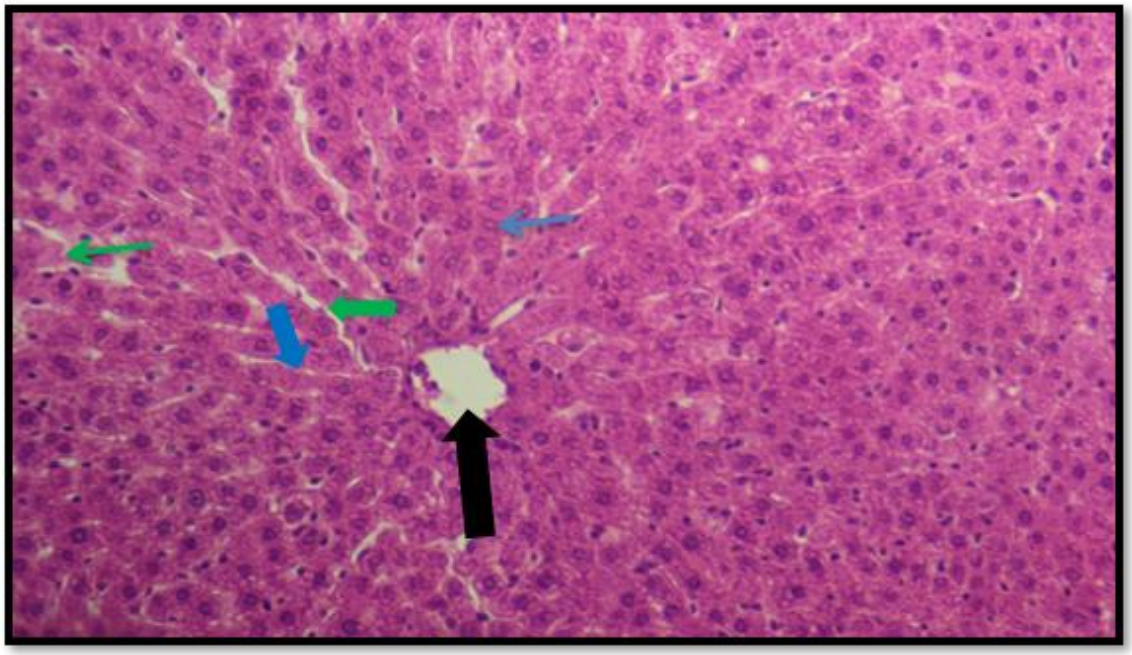
ويرجع السبب في هذه النتائج الى دورمستخلص بذور الرشاد كونه يحتوي على العديد من المركبات الفعاله مثل الفينولات والفلافونيدات التي تعد مضادات أكسدة تعمل على كبح الضرر التأكسدي بواسطة اقتناص الجذور الحرة وتمنع بيروكسدة الدهون (Sakran *et al*., 2014) ، إضافةً الى الكالسيوم والفوسفات والاحماض الدهنية المتعددة اذ يعد من المواد الغذائية ذات قيمة صحية للأعضاء ومنها الكبد (Bafeel & Ali, 2009) ، اذ ان هذه المكونات لها دور في حماية أغشية الخلايا من خلال تحفيز نشاط الـ(Glutathione-S-Transferase (G-S-T الذي يعد اول مضادات الأكسدة التي لها القدرة على إزالة التأثير السمي لنتريت الصوديوم بواسطة قدرته على الارتباط معه عن طريق مجاميع الكبريت (-SH) الموجودة في الكلوتاثيون ومن ثم طرحه خارج جسم مع البول كما تمتلك قدرة على استعادة انزيمات الكبد لنشاطها الطبيعي ، اذ بينت الفحوصات النسجية الكبدية الدور الوقائي للمستخلص الكحولي لبذور نبات الرشاد عن طريق اكتساح الجذور الفعالة وزيادة نشاط مضادات الأكسدة وتثبيطها لبيروكسيد الدهون اذ تعد أنواع الأوكسجين الفعالة من الأسباب الرئيسية للسمية الكبدية الحادة لنتريت الصوديوم (Shukla *et al*., 2015).

وكانت نتيجة دراستنا مطابقة مع دراسة Abdulmalek وجماعته،(2021) التي جرعت فيها الجرذان المستخلص الكحولي لبذور نبات الرشاد وبتركيزين 200 و400 ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 8 أسابيع ضد الالتهاب الكبدي في الفئران التي تتغذى على النظام الغذائي عالي الدهون .حيث أظهرت نتائج الدراسة ان بذور الرشاد تحتوي مكونات مهمة مثل الفينولات والفلافونويدات التي

أظهرت نشاط مضاد للأكسدة،او قد يعود السبب في ذلك الى ان بذور نبات الرشاد خففت وبشكل كبير من بيروكسيد الدهون من خلال عودة مضادات الأكسدة الى مستواها الطبيعي وبالتالي اصبح نسيج الكبد اقرب للتركيب الطبيعي (Zamzami *et al*., 2019).



صورة رقم (4 - 7) مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 350 ملغم / كغم من وزن الجسم مع مادة نتريت الصوديوم بتركيز (30 ملغم / كغم) من وزن الجسم يظهر فيها احتقان الوريد المركزي (⬅) مع توسع واحتقان الجيبانيات (⬅) مع انتظام جزء من الحبال الكبدية (⬅) وخلايا الكبد وانويتها (⬅) وارتشاح اقل للخلايا الالتهابية (⬅) وتنكس لبعض الخلايا (⬅) (H & E stain 200X).



صورة رقم (4 - 8) مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 550 ملغم / كغم من وزن الجسم مع مادة نتريت الصوديوم بتركيز (30 ملغم / كغم) من وزن الجسم يظهر فيها ان النسيج اقرب للطبيعي مع اختفاء احتقان الوريد المركزي (⬅) و توسع بسيط للجيبانيات (⬅) مع انتظام الحبال الكبدية (⬅) وخلايا الكبد وانويتها (⬅) مع تنكس بعض خلاياها (⬅) (H & E stain 200X)

جدول رقم (4-5) تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على بعض القياسات النسجية لنسيج الكبد لذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم .

	المعايير المدروسة / Mean ±S.D / المعاملات	اقطار الخلايا الكبدية (مايكرون)	اقطار الجيبانيات (مايكرون)	قطر الوريد المركزي (مايكرون)
G1	السيطرة (السالبة)ماء مقطر	18.31±0.28 A	34.83±1.03 A	74.66±0.75 A
G2	السيطرة (الموجبة)نتريت الصوديوم30ملغم/كغم	28.26±0.49 B	77.33±1.02 B	124.16±0.65 B
G3	المستخلص المائي البذورالرشاد350ملغم/كغم	18.25±0.50 A	34.32±0.40 A	76.00±0.54 A
G4	المستخلص المائي لبذورالرشاد550ملغم/كغم	18.60±0.40 A	33.33±0.75 A	75.66±0.75 A
G5	المستخلص المائي البذورالرشاد350ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	22.06±0.62 C	41.33±1.16 C	78.66±0.98 C
G6	المستخلص المائي لبذورالرشاد550ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	22.00±0.83 C	40.83±0.81 C	78.40±0.46 C
	L.S.D	0.65	2.15	1.49

N=6المعدل ± الخطأ القياسي

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية (P<0.05).

2.2.4. نسيج الكلية

تعتبر الكلى حساسة جداً للتأثيرات الضارة الناتجة عن المواد الكيميائية ، حيث تقوم بترشيح وتركيز المواد الكيميائية المختلفة وهناك مواد قد تصبح سامة عند التراكيز العالية (Loh & Cohen, 2009) .

1.2.2.4.تأثير المعاملة بنتريت الصوديوم بتركيز30ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكلية مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1):

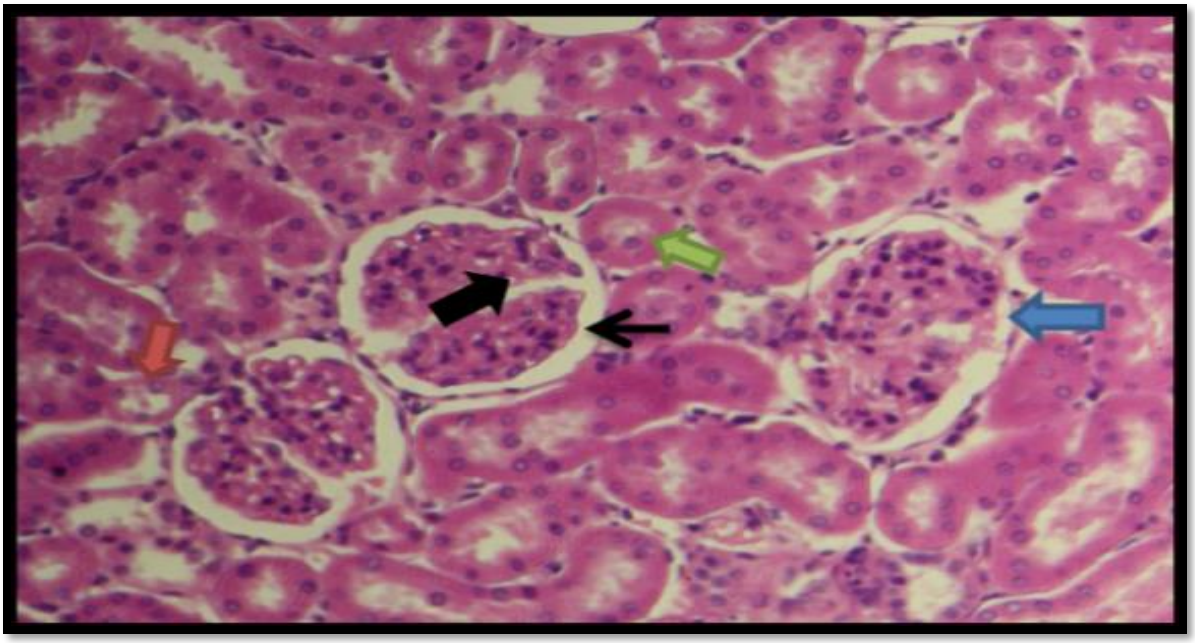
أظهرت النتائج النسجية لمقطع نسيج الكلية لمجموعة السيطرة السالبة (G1) صورة رقم (4-9) الشكل الطبيعي للكبيبة Glomerulus ومحفظة بومان Bowman capsule مع وجود فسحة بومان Bowman space والنبيبات البولية القريبة (الدانية) Proximal renal tubules والنبيبات البولية البعيدة (القاصية) Distal renal tubules.

اما نتائج الفحص النسجي للكلية في الصور (4-10) ، (4-11) لمجموعة السيطرة الموجبة (G2)المعاملة بمادة نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم/كغم من وزن الجسم فكانت هناك تغيرات نسجية كبيرة مقارنةً مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) تمثلت بضمور Atrophy شديد في حجم الكبيبة وزيادة فسحة بومان مع وجود احتقان دموي وتغلظ نواة النبيبات وارتشاح للخلايا الالتهابية Inflammatory infiltration cells وتحطم في النبيبات البولية وانسلاخ في ظهارتها المبطنة وتنخر الخلايا Necrosis.

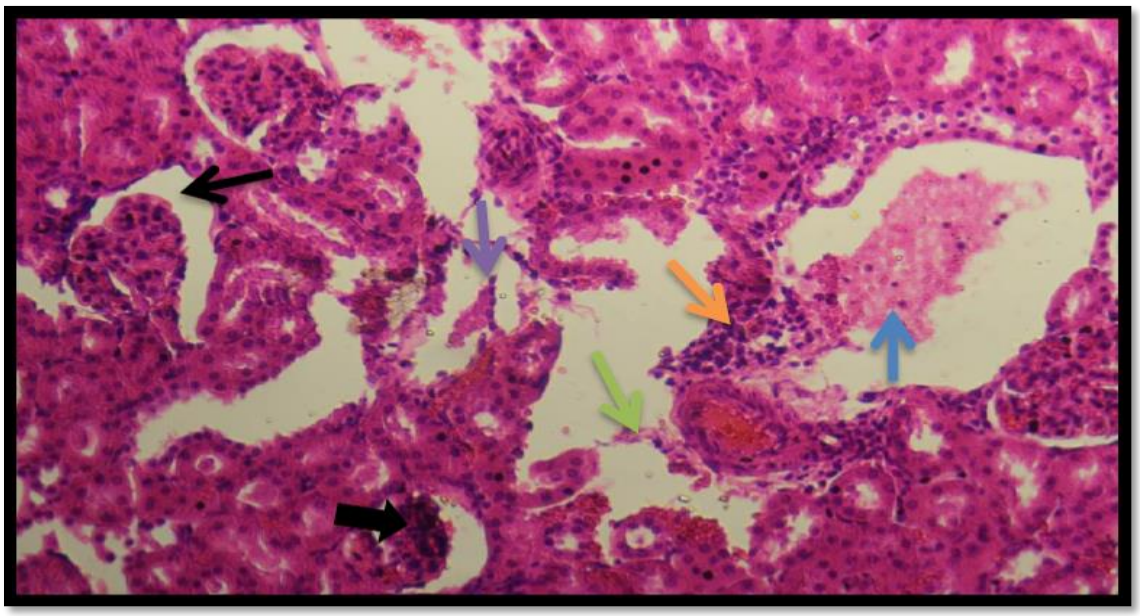
كما بينت نتائج دراستنا للقياسات النسجية لمجموعة نتريت الصوديوم (السيطرة الموجبة) (G2) جدول رقم(4-6) الى وجود انخفاض معنوية ($p<0.05$) لمعدل اقطار كل من الكبيبة (60.38±0.44) مايكرون والنبيب الملتوي الداني (36.10±0.81) مايكرون والنبيب الملتوي القاصي (24.11±0.57) مايكرون ، مقارنة بمعدل اقطار كل من الكبيبة (86.05±0.45) ، النبيب الملتوي الداني (46.90±0.50) ، والنبيب الملتوي القاصي (33.78±0.07) لمجموعة السيطرة السالبة (G1).

وان هذه التغيرات حصلت بسبب التأثيرات الناتجة من سمية النتريت والذي يقوم بخفض أنشطة إنزيمات اغشية حافة الفرشاة Brush border membrane، زيادة في أكسدة الدهون ، أكسدة البروتين ، وزيادة مستويات بيروكسيد الهيدروجين وبالتالي تحطم الاغشية الخلوية للنبيبات البولية والكبيبات (Ansari & Mahmood, 2016).

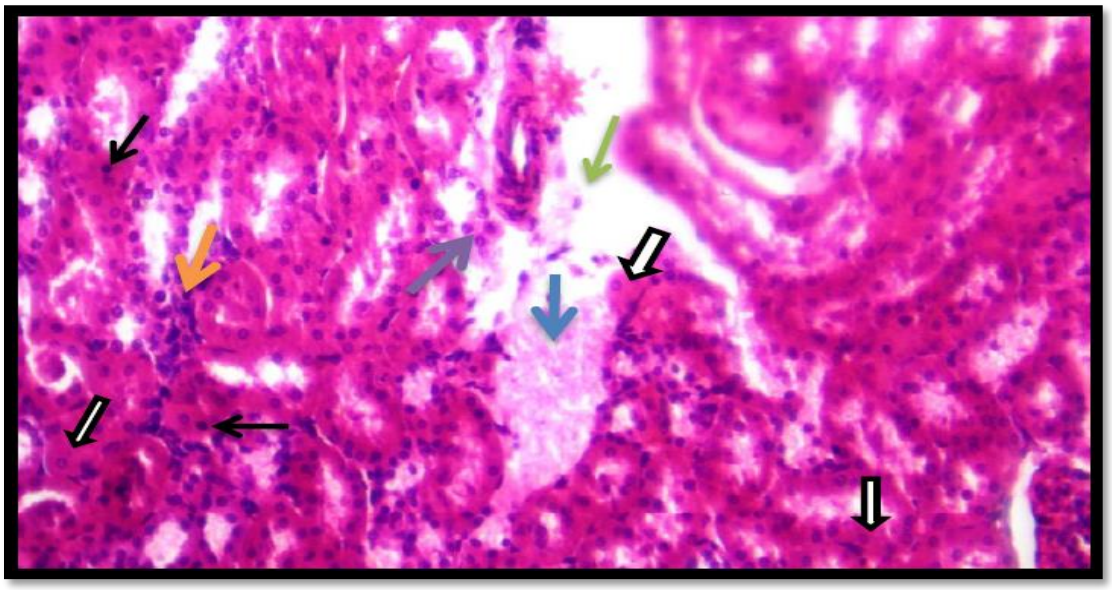
وكانت نتيجة دراستنا مطابقة مع دراسة (Wahyuningsih) وجماعته،(2020) اذ جرعت فيها الفئران فموياً مادة نتريت الصوديوم وبتركيز 50ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة 19 يوم حيث أظهرت النتائج أن سمية نتريت الصوديوم تسببت زيادة معنوية في مستويات اليوريا والكرياتنين إضافة إلى انخفاض معنوي في نشاط مضادات الاكسدة كما ادى نتريت الصوديوم إلى تغييرات نسجية في الكلية ونخر النبيبات الكلوية Necrosis of renal tubules مع ضمور الكبيبة ، تحطم بعض النبيبات البولية والخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات مع ارتشاح بعض الخلايا الالتهابية ، وكذلك اتفقت مع دراسة Adewale وجماعته،(2020) والتي جرعت فيها الجرذان فموياً مادة نتريت الصوديوم وبتركيز60 ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 28يوم وكانت هناك تغيرات سلبية كبيره بالمؤشرات الحيوية الوظيفة والنسجية للكلية تمثلت بضمور حزمة الاوعية الدموية الشعرية في الكبيبة ، تنكس الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات البولية واحتقان الاوعية الدموية .



صورة رقم (4-9) مقطع عرضي من نسيج الكلية لمجموعة السيطرة السالبة يلاحظ وجود الكبيبة الطبيعية (⬅) و محفظة بومان (⬅) مع النبيب الملتوي الداني (⬅) و النبيب القاصي (⬅) و فسحة بومان (⬅) (H & E 200 X) .



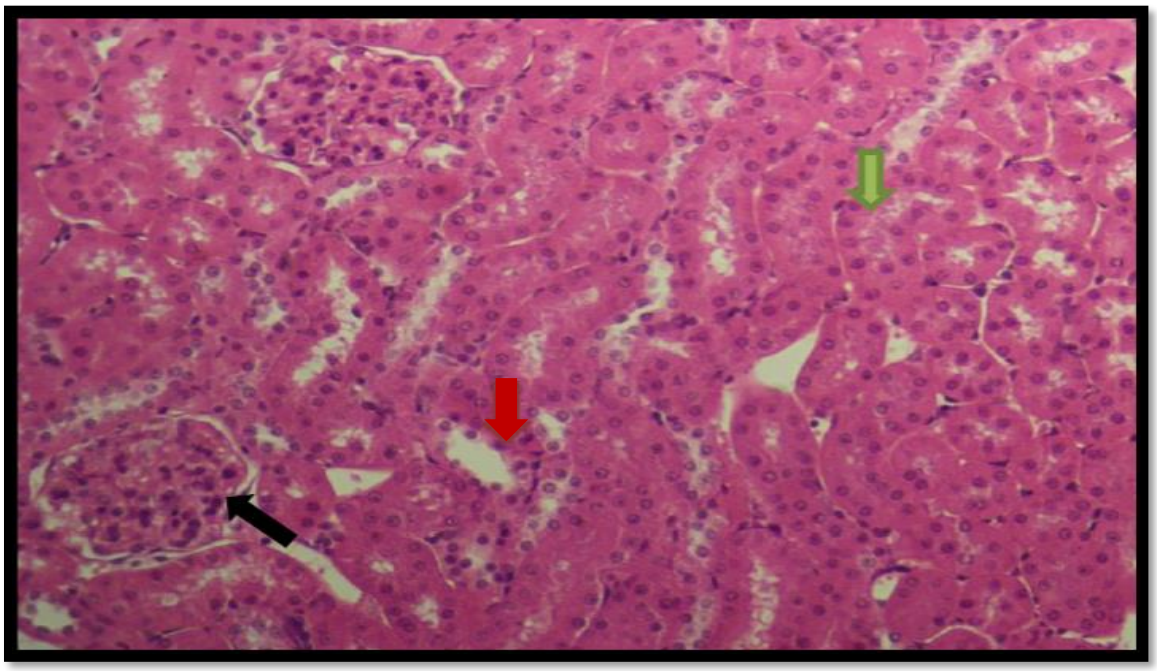
صورة رقم (4-10) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم بتركيز 30 ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها ضمور شديد في الكبيبة (⬅) وزيادة فسحة بومان (⬅) مع وجود احتقان دموي (⬅) و ارتشاح الخلايا الالتهابية (⬅) وتحطم في النبيبات البولية (⬅) وانسلاخ في ظهارتها المبطنة (⬅) (H & E 200 X) .



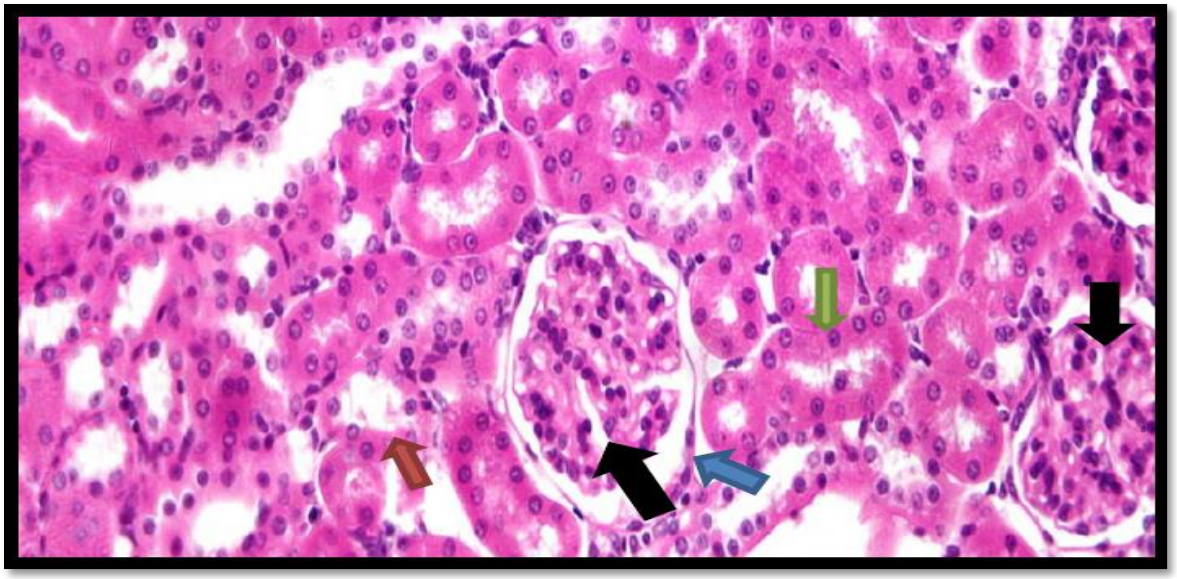
صورة رقم (4-11) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بمادة نتريت الصوديوم ($NaNO_2$) بتركيز 30 ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها تحطم في جدران النبيبات الكلوية (←) وارتشاح الخلايا الالتهابية (←) مع وجود احتقان دموي (←) و تغلظ نواة النبيبات (←) مع تنكس الخلايا (⇦) و انسلاخ في ظهارتها المبطنة(←) (H & E 200X)

2.2.2.4. تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيزين(550,350)ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكلية مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1):

أظهرت نتائج الفحص النسجي للكلية في دراستنا الحالية صورة رقم (4-12) و(4-13) في المجموعتين المعاملتين بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيزين (550,350)ملغم/كغم من وزن الجسم (G4،G3) النسيج الطبيعي للكبيبات والنبيبات البولية الدانية والقاصية ومحفظة بومان ولم نلاحظ أي تغيرات نسجية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1).



صورة رقم (4-12) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 350 ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها حجم الكبيبة الطبيعية (⬅) والنبيب الداني (⬅) و النبيب القاصي (⬅) (H & E 200 X) .



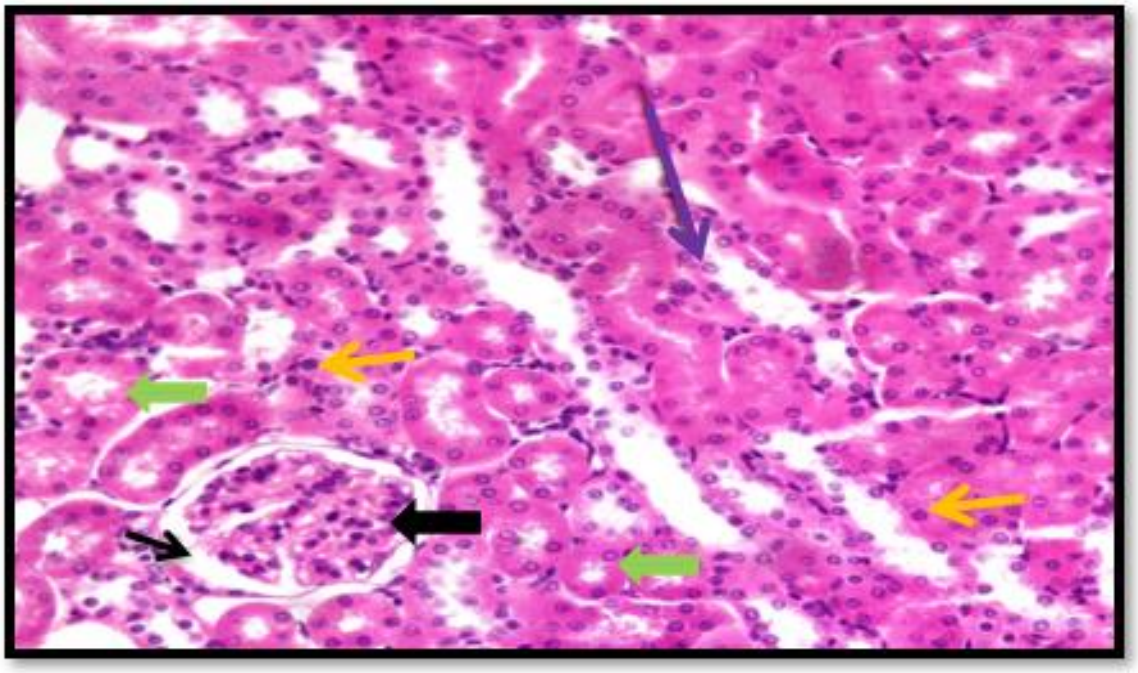
صورة رقم (4-13) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز550 ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها التركيب الطبيعي للكبيبة (⬅) والنبيب الداني (⬅) و النبيب القاصي (⬅) مع محفظة بومان (⬅) (H & E 200 X) .

وأظهرت نتائج دراسة القياسات النسجية في المجموعتين المعاملتين بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيز (550,350)ملغم /كغم من وزن الجسم (G3،G4) جدول رقم (4-6) عدم وجود فروق معنوية في معدل اقطارالكبيبة (85.53 ±0.90) ،(85. 55±0.72) مايكرون و معدل اقطار النبيب الملتوي القريب (45.53±0.50) ، (46.00 ±0.63) مايكرون ومعدل اقطار النبيب الملتوي البعيد (34.66 ±0.68) ،(34.75±0.48) مايكرون وعلى التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1).

وجاءت نتيجة دراستنا مطابقة مع دراسة Halaby وجاعته،(2015) والتي تم إعطاء الجرذان مسحوق بذور الرشاد بنسبة(5-10)% من نسبة النظام الغذائي اليومي ولمدة 1 أسبوع لمعالجة الفشل الكلوي الحاد (Acute renal failure) ، ان بذور نبات الرشاد تحتوي على مركبات فعالة قيمة مثل الفلافونويد ومتعدد الفينولات والكاوتينات وفيتامين (C,E) والتي تكون مسؤولة عن قدرتها القوية المضادة للأكسدة مع خفض مستوى حمض اليوريك ،اليوريا والكرياتينين في الدم مما يدل على انهُ خفف خطر الفشل الكلوي الحاد وبالتالي قلل الضرر النسجي في كلية (Sharma & Agarwal, 2011).

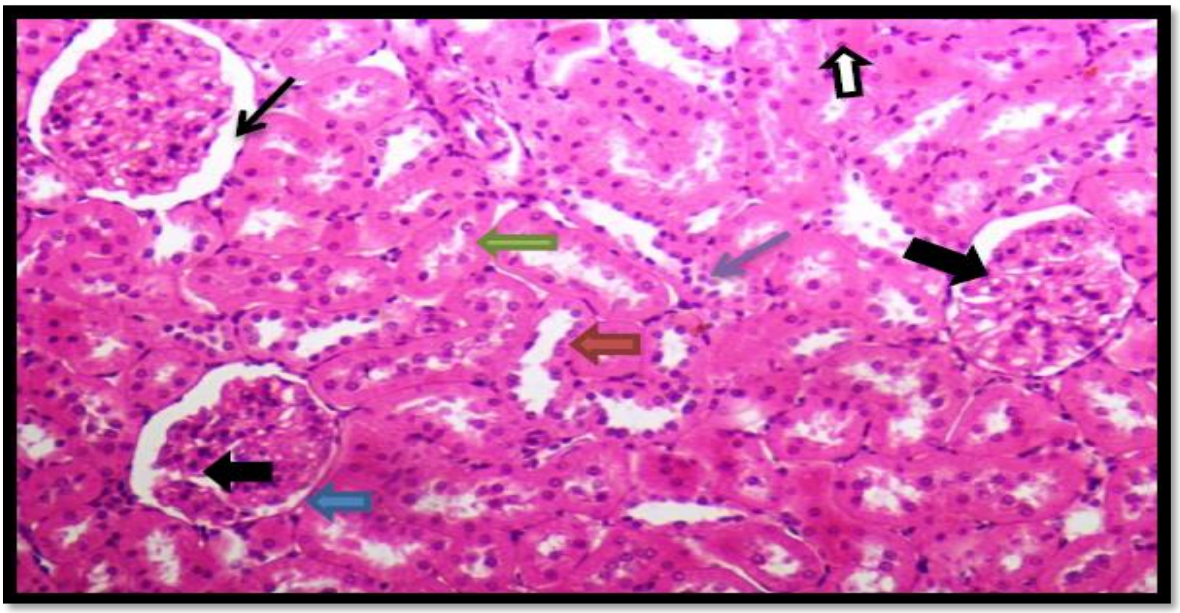
3.2.2.4. تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيزين(550,350)ملغم/كغم ضد نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسجية للكلية مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة (G2):

اظهرنتائج الفحص النسجي للكلية في دراستنا الحالية صورة رقم(4-14) في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد بتركيز 350ملغم/كغم مع نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم من وزن الجسم وجود تغيرات نسجية بسيطة ممثلة بزيادة في فسحة بومان بينما كانت الكبيبة طبيعية مع ملاحظة البنية الطبيعية لاغلب النبيبات البولية الدانية والقاصية ولكن ظهرت بعض الانسلاخات القليلة في بطانتها مع تنكس Degeneration بعض الخلايا الظهارية للنبيبات مقارنة مجموعة السيطرة الموجبة (G2) والسالبة (G1).



صورة رقم (4 - 14) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 350 ملغم / كغم من وزن الجسم مع نتريت الصوديوم بتركيز 30 ملغم / كغم يلاحظ الكبيبة (⬅) و زيادة فسحة بومان (⬅) مع البنية الطبيعية لبعض النبيبات (⬅) وانسلاخ في بطانة بعض النبيبات (⬅) مع تنكس بسيط لبعض الخلايا (⬅) . (H & E 200 X)

في حين يلاحظ في صورة رقم(4-15) لمقطع نسجي للكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الرشاد بتركيز 550ملغم/كغم مع نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها الكبيبة والنسيج اقرب للطبيعي وزيادة فسحة بومان مع البنية الطبيعية لبعض النبيبات البولية الدانية والقاصية وظهور انسلاخات قد يصل الى تنكس بسيط في بعض خلاياها ووجود محفظة بومان بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) والسالبة (G1).



صورة رقم (4 - 15) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات الرشاد بتركيز 550 ملغم / كغم من وزن الجسم مع نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم / كغم يلاحظ الكبيبة والنسيج اقرب للطبيعي (⬅) مع توسع طفيف في فسحة بومان (⬅) والبنيه الطبيعية للنبيبات البولية الداني (⬅) والقاصي (⬅) مع انسلاخ طفيف للبعض منها (⬅) مع تنكس بسيط لبعض الخلايا (⇦) و وجود محفظة بومان (⬅) (H & E 200 X) .

وبينت نتائج دراستنا للقياسات النسجية للكلية في ذكور الجرذان في المجاميع الوقائية بتركيز(350،550)ملغم/كغم ضد نتريت الصوديوم بتركيز 30ملغم/كغم من وزن الجسم(G5،G6) جدول رقم (4-6) وجود ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في معدل اقطار كل من الكبيبة (62.8±1.90)، (84.38±0.46) مايكرون والنبيب الملتوي القريب (39.25±0.39)،(45.03±0.48) مايكرون النبيب الملتوي البعيد(29.98±0.65)،(33.40±0.73) مايكرون وعلى التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2).

جدول رقم (4-6) تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على بعض القياسات النسجية لنسيج الكلية لذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بنتريت الصوديوم .

	المعايير المدروسة Mean ±S.D المعاملات	قطر الكبيبة (مايكرون)	قطر النبيب الملتوي الداني (مايكرون)	قطر النبيب الملتوي القاصي (مايكرون)
G1	السيطرة (السالبة)ماء مقطر	86.05±0.45 A	46.90±0.50 A	33.78±0.07 A
G2	السيطرة (الموجبة)نتريت الصوديوم30ملغم/كغم	60.38±0.44 B	36.10±0.81 B	24.11±0.57 B
G3	المستخلص المائي البذورالرشاد350ملغم/كغم	85.53 ±0.90 A	45.53±0.50 AD	34.66 ±0.68 A
G4	المستخلص المائي لبذورالرشاد550ملغم/كغم	85. 55±0.72 A	46.00 ±0.63 AD	34.75±0.48 A
G5	المستخلص المائي البذورالرشاد350ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	62.8±1.90 C	39.25±0.39 C	29.98±0.65 C
G6	المستخلص المائي لبذورالرشاد550ملغم/كغم +نتريت الصوديوم 30ملغم/كغم	84.38±0.46 D	45.03±0.48 D	33.40±0.73 A
	L.S.D	1.14	1.67	1.68

N=6 المعدل ± الخطأ القياسي

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية (P<0.05).

وكانت نتيجة دراستنا مطابقة مع دراسة Nilesh وجماعته،(2010)التي جرعت فيها الجرذان فموياً المستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيز (200،400)ملغم/كغم من وزن الجسم قبل ان تستحث بمادة doxorubicin تركيز 15ملغم/كغم من وزن الجسم وبين ان للمستخلص المائي لبذور الرشاد دور كبير في تقليل او منع التنخر الحاصل للنبيبات الكلوية الناجم عن تأثير هذه المادة وبالتالي يمنع السمية وحماية نسيج الكلية .

واتفقت نتيجة دراستنا ايضاً مع دراسة Abdel-Baky ,(2019) اذ جرعت فيها الجرذان فموياً المستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيز 300ملغم/كغم من وزن الجسم قبل ان تستحث بمادة نتريت الصوديوم تركيز 50ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة اربع أسابيع ، وأظهرت النتائج إلى تقليل التأثيرات السمية الكلوية الضارة للنتريت حيث يعمل المستخلص كمادة طبيعية لتخفيف التغيرات في وظائف الكلية والأضرار التأكسدية التي يسببها نتريت الصوديوم في أنسجة الكلية.

ان دور بذور نبات الرشاد جاء نتيجة قدرته على خفض مستويات اليوريا والكرياتنين ومن ثم زيادة معدل الترشيح الكبيبي (Balgoon, 2019) ، ولقدرة بذور نبات الرشاد على اقتناص الجذور الحرة لوجود مضادات الاكسدة ضمن مكوناته مثل فيتامين E، C والكاروتينات والفينولات التي تقلل من بيروكسيد الدهون وبالتالي حماية الاغشية الخلوية من الضرر التأكسدي وان وجود الفلافونيدات تعمل على تحطم الجذور الحرة المتولدة وتجديد الخلايا وتسرع من نظام اصلاح التلف الخلوي (Youssef *et al*., 2014)

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommendations

الاستنتاجات والتوصيات Conclusions & Recommendations

الاستنتاجات Conclusions :

من خلال نتائج الدراسة الحالية تم استنتاج مايأتي :

1-ان الاجهاد التأكسدي احدث تغيرات في بعض المعايير الكيموحيوية تمثلت بارتفاع معنوي في معدل مستوى كل من انزيمات الكبد (ALT،AST،ALP) و اليوريا والكرياتنين والمالون ثنائي الالديهايد وانخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين والكلوتاثيون ومقارنتهم بمجوعة السيطرة السالبة (G1) والموجبة (G2) .

2-احدث التجريع الفموي بمادة نتريت الصوديوم اجهاداً تأكسدياً والذي أدى الى اضرار نسيجية في نسيج الكبد والكلى تمثلت بتغيرات في معدل اقطار كل من الوريد المركزي والجيبانيات والخلايا الكبدية واقطار النبيب الملتوي القاصي (البعيد) والداني (القريب) الكبيبة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) .

3-فعالية المستخلص المائي لبذور الرشاد أدى الى معادلة الاجهاد التأكسدي الناجم عن تأثير نتريت الصوديوم وبالتالي تحسين معظم التغيرات النسجية المرضية في الكبد والكلى وتقليل الاثار السمية على وظائف الكبد والكلى عن طريق حصول انخفاض معنوي في معدل تركيز المالون ثنائي الالديهايد و انزيمات الكبد (ALT،AST،ALP) و اليوريا والكرياتنين بينما سبب ارتفاع معنوي في معدل تركيز الكلوتاثيون والبروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) . وبالتالي يمكن استخدام المستخلص المائي لبذور الرشاد كمضاد وقائي للكبد والكلى.

4-أظهرت النتائج الفسيولوجية والنسجية المدروسة بأن تجريع المستخلص المائي لبذور الرشاد وبتركيز 550ملغم/كغم من وزن الجسم كانت له الفعالية الأقوى ضد تأثير مادة نتريت الصوديوم وبتركيز30ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع المستخلص المائي لبذور الرشاد بتركيز 350ملغم/كغم من وزن الجسم .

التوصيات Recommendations

1- اجراء دراسات لبيان تأثير المواد الحافظة وخاصة نتريت الصوديوم على الجهاز التناسلي الانثوي للجرذان ومدى تراكمها وتأثيرها في اجنتها .

2- بيان الاستفادة من المركبات الفعالة في مستخلص بذور الرشاد بعد عزلها للتقليل من التأثيرات الجانبية للمواد الحافظة في الجرذان .

3- دراسة الدور الوقائي للمستخلص الكحولي لبذور نبات الرشاد ضد بعض امراض الجهاز التنفسي وامراض الكبد والتليف الكبدي الناتج عن تعاطي المشروبات الكحولية .

4- اجراء دراسة نسجية لتحديد تأثير المستخلص الكحولي لبذور نبات الرشاد على بعض الاعضاء مثل الأمعاء والمعدة و الطحال والبنكرياس .

5- اجراء دراسات أخرى لمعرفة تأثير المواد الحافظة وخاصة سكرين الصوديوم على الجهاز التناسلي الذكري لذكور الجرذان .

6-اجراء دراسة على الحوامل لمعرفة مدى تأثير المستخلص المائي لبذور الرشاد على الأمهات والاجنة .

المصادر

References

المصادر العربية:

-**ابوالقاسم ، إيمان ؛ زهور البلبالي ؛ زهوة عثمان ؛ عمر محمد ابوخريص ؛ علي فرج هواد و إبراهيم السنوسي المختار.(2016).** دراسة التأثير الحيوي للمستخلص المائي والعضوي لنبات حبة البركة ونبات حب الرشاد على بعض أنواع البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام. مجلة جامعة سبها للعلوم البحثة والتطبيقية ، المجلد 15 العدد 1 ص 1-8 .

-**الزبيدي ، زهير نجيب ؛ هدى عبد الكريم بابان وفارس كاظم فليح . (1996)** . دليل العلاج بالأعشاب الطبية العراقية . وزارة الصحة . منظمة الصحة العالمية . شركة آب للطباعة الفنية المحدودة.

-**جعفر ،عبد الله محمد.(2009)**. المواد الحافظة والمضافة في الصناعات الغذائية. دار العربية للنشر والتوزيع – الطبعة الاولى – القاهرة.

-**محمد، دعاء جاسم ؛ صاحب جمعة عبد الرحمن و عارف سامي مالك. (2013)**. دراسة مقارنة لفعالية بعض أنزيمات الكبد عند مرضى الفشل الكلوي المزمن المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي (س) و (ب) .مجلة تكريت للعلوم الصرفة . المجلد 18 ، العدد 2، ص 48-54 .

-**موسى ، محمد عثمان ؛محمد عبدالمنعم العاني ؛ نوفل عدنان صبري وعبدالكريم احمد العلواني. (2015)**. توزيع بعض النباتات الطبية في ثلاث مناطق في الصحراء الغربية في العراق . مجلة الانبار للعلوم الزراعية. 13 (1): (288-304) .

المصادر الأجنبية:

Aati, H., El-Gamal, A., Shaheen, H., and Kayser, O. (2019). Traditional use of ethnomedicinal native plants in the Kingdom of Saudi Arabia. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 15(1), 2.

Abdeen, A. M., El-Shayeb, A. F., Othman, A. I., and El-Agamy, S. H. (2008). Histopathological and histochemical studies of the influence of garlic oil against sodium nitriteinduced toxicity in the liver and lungs of albino rat. Journal of Egypt Ger. Soc. Zool, 55, 261–287.

Abdel-Baky, E. S. (2019). Effects of Lipidium sativum seeds extract (Garden cress) on the kidney in sodium nitrite receiving rats. Scientific Journal of Agricultural Sciences, 1(1), 38–45.

Abdel-Reheim, E. S., Abdel-Hafeez, H. A., Mahmoud, B. M., and Abd-Allah, E. N. (2014). Effect of food additives (monosodium glutamate and sodium nitrite) on some biochemical parameters in albino rats. International Journal of Bioassays, 3(08), 3260–3273.

Abdel-Aty, A. M., Bassuiny, R. I., Barakat, A. Z., and Mohamed, S. A. (2019). Upgrading the phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of garden cress seeds using solid-state fermentation by Trichoderma reesei. Journal of Applied Microbiology, 127(5), 1454–1467.

Abdul-Ameer, H. A., and Abed, A. J. (2012). The Prophylactic Role of Garlic Oil against deleterious Effects of sodium nitrite (Na No2) in Male Mice. Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences, 5(1), 7–14.

Abdulmalek, S. A., Fessal, M., and El-Sayed, M. (2021). Effective amelioration of hepatic inflammation and insulin response in high fat diet-fed rats via regulating AKT/mTOR signaling: Role of Lepidium sativum seed extracts. Journal of Ethnopharmacology, 266, 113439.

Abdulmumeen, H. A., Risikat, A. N., and Sururah, A. R. (2012). Food: Its preservatives, additives and applications. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences, 1(2012), 36–47.

Abed-Al-Azeez, L. A., Ali, A. H., and Haba, M. K. (2015). Study the Protective Effect of Radish (Raphanus sativus) Seeds Extract against Harmful Effects of Sodium Nitrite on Some Physiological and Histological Parameters in Male Rabbits. IRAQI JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, 14(2), 59–78.

Abed-Alazeez, L. A., Ali, A. H., and Haba, M. K. (2016). The Protective Effect of Radish (Raphanus sativus) Seeds Against the Oxidative Stress Induced by Sodium Nitrite in Male Rabbits (Oryctolagus cuniculus). Baghdad Science Journal, 13, 1.

Aberoumand, A., and Deokule, S. S. (2008). Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. Pakistan Journal of Nutrition, 7(4), 582–585.

Aboulgasem, G. J. A., Azab, A. E., and Almaky, M. M. (2015). Sodium nitrite induced biochemical alterations in the blood serum and its amelioration by aqueous extract of Libyan propolis in Guinea pigs. International Journal of Science and Research, 4, 1040–1048.

Abuelgasim, A. I., Nuha, H. S., and Mohammed, A. H. (2008). Hepatoprotective effect of Lepidium sativum against carbon tetrachloride induced damage in rats. Research Journal of Animal and Veterinary Sciences, 3, 20–23.

Abuharfeil, N., Jaran, A., Shabsough, B., and Darmani, H. (2001). Effects of sodium nitrite on natural killer cells isolated from human peripheral blood. Archives of Toxicology, 75(5), 291–296.

Abushofa, F. A., Azab, A. E., and Alkadrawy, S. A. N. (2019). Hepatic Pathophysiological Changes Induced by Nicotine and/or Sodium Nitrite Injection in Male Albino Rats.

Acharya, D., and Shrivastava, A. (2008). Indigenous herbal medicines. Aavishkar Publishers, Distributors.

Adewale, O. O., Bakare, M. I., and Adetunji, J. B. (2020). Mechanism underlying nephroprotective property of curcumin against sodium nitrite-induced nephrotoxicity in male Wistar rat. Journal of Food Biochemistry, e13341.

Adewale, O. O., Samuel, E. S., Manubolu, M., and Pathakoti, K. (2019). Curcumin protects sodium nitrite-induced hepatotoxicity in Wistar rats. Toxicology Reports, 6, 1006–1011.

Agarwal, J., and Verma, D. L. (2011). Antioxidative activity and flavonoid composition from Lepidium sativum. Nat. Sci, 9, 21–25.

Ahmad, I., Aqil, F., and Owais, M. (2006). Mordern phytomedicine, turning plants into drugs. Willey. VCH Verlag GMbH and Co KGaA, Weinheim.

Ahmad, R., Mujeeb, M., Anwar, F., Husain, A., Ahmad, A., and Sharma, S. (2015). Pharmacognostical and phytochemical analysis of Lepidium sativum L. seeds. International Current Pharmaceutical Journal, 4(10), 442–446.

Ahmadvand, H., Babaeenezhad, E., Nasri, M., Jafaripour, L., and Khorramabadi, R. M. (2019). Glutathione ameliorates liver markers, oxidative stress and inflammatory indices in rats with renal ischemia reperfusion injury. Journal of Renal Injury Prevention, 8(2), 91–97.

Aju, B. Y., Rajalakshmi, R., and Mini, S. (2019). Protective role of Moringa oleifera leaf extract on cardiac antioxidant status and lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetic rats. Heliyon, 5(12), e02935.

Akhzari, M., Shafiee, S. M., Rashno, S., and Akmali, M. (2019). Berberine Attenuated Oxidative Stress Induced by Sodium Nitrite in Rat Liver. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, 14(1).

Al-awad, S. M., and Jaccob, A. A. (2020). Synthesis and Pharmacological Evaluation of Novel Coumarin Derivatives. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences, 11(1), 865–874.

Al-dhaher, Z. A. (2008). The antibacterial activity of aqueous extract of cinnamon and clove against Staphylococcus aureus. Al-Nahrain Journal of Science, 11(2), 131–135.

Al-Hiti, S. M. A., Hussain, A. H. M., and Al-Zabaidy, A. A. F. (2018). Al-Hiti. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH, 9(2), 483–489.

Al-Sheddi, E. S., Farshori, N. N., Al-Oqail, M. M., Musarrat, J., Al-Khedhairy, A. A., and Siddiqui, M. A. (2016). Protective effect of Lepidium sativum seed extract against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and oxidative stress in human liver cells (HepG2). Pharmaceutical Biology, 54(2), 314–321.

AL-Shinnawy, M. S. (2009). Physiological effect of a food additive on some haematological and biochemical parameters of male albino rats. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology, 2(1), 143–151.

AL-SNAFI, A. L. I. E. (2019). CHEMICAL CONSTITUENTS AND PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF LEPIDIUM SATIVUM-A. Int J Curr Pharm Res, 11(6), 1–10.

Al Hamedan, W. A. (2010). Protective effect of Lepidium sativum L. seeds powder and extract on hypercholesterolemic rats. Journal of American Science, 6(11), 873–879.

Alaribe, C. S., Shode, F., Coker, H. A. B., Ayoola, G., Sunday, A., Singh, N., and Iwuanyanwu, S. (2011). Antimicrobial activities of hexane extract and decussatin from stembark extract of Ficus congensis. International Journal of Molecular Sciences, 12(4), 2750–2756.

Ali, H., and Qaiser, M. (2009). The ethnobotany of Chitral valley, Pakistan with particular reference to medicinal plants. Pak. J. Bot, 41(4), 2009–2041.

Alqahtani, F. Y., Aleanizy, F. S., Mahmoud, A. Z., Farshori, N. N., Alfaraj, R., Al-sheddi, E. S., and Alsarra, I. A. (2019). Chemical composition and antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of Lepidium sativum seed oil. Saudi Journal of Biological Sciences, 26(5), 1089–1092.

Amani, H., Ajami, M., Maleki, S. N., Pazoki-Toroudi, H., Daglia, M., Sokeng, A. J. T., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., Devi, K. P., and Nabavi, S. M. (2017). Targeting signal transducers and activators of transcription (STAT) in human cancer by dietary polyphenolic antioxidants. Biochimie, 142, 63–79.

Anand, S. P., and Sati, N. (2013). Artificial preservatives and their harmful effects: looking toward nature for safer alternatives. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 4(7), 2496.

Andresen, B. D. (1986). Textbook of clinical chemistry. Saunders.

Anjaria, J., and Parabia, M. (1997). SRISTI Innovations PO Box: 15050, AHMEDABAD-380 015 INDIA email: sristi@ sristi. org, honeybee@ sristi. org Second Edition-February 2002 First Published by SRISTI Innovations.

Ansari, F. A., Ali, S. N., Arif, H., Khan, A. A., and Mahmood, R. (2017). Acute oral dose of sodium nitrite induces redox imbalance, DNA damage, metabolic and histological changes in rat intestine. PLoS One, 12(4), e0175196.

Ansari, F. A., and Mahmood, R. (2016). Sodium nitrite enhances generation of reactive oxygen species that decrease antioxidant power and inhibit plasma membrane redox system of human erythrocytes.

Cell Biology International, 40(8), 887–894.

Arnold, J. T., Lloyd, A. B., Bailey, S. J., Fujimoto, T., Matsukate, R., Takayanagi, M., Nishiyasu, T., and Fujii, N. (2020). The nitric oxide dependence of cutaneous microvascular function to independent and combined hypoxic cold exposure. Journal of Applied Physiology.

AYDEMIR, T., and Becerik, S. (2011). Phenolic content and antioxidant activity of different extracts from Ocimum basilicum, Apium graveolens and Lepidium sativum seeds. Journal of Food Biochemistry, 35(1), 62–79.

Azab, A. E., Lashkham, N. M., and Albasha, M. O. (2015). Haematoprotective and hypolipidemic effects of aqueous extract of Libyan propolis against sodium nitrite induced haematotoxicity and hyperlipidemia in Guinea pigs. American Journal of Bioscience and Bioengineering, 3(4), 22–32.

Bafeel, S. O., and Ali, S. S. (2009). The potential liver toxicity of Lepidium sativum seeds in albino rats. Research Journal of Biological Sciences, 4(12), 1250–1258.

Balgoon, M. J. (2019). Assessment of the protective effect of Lepidium sativum against aluminum-induced liver and kidney effects in albino rat. BioMed Research International, 2019.

Balsano, C., and Alisi, A. (2009). Antioxidant effects of natural bioactive compounds. Current Pharmaceutical Design, 15(26), 3063–3073.

Balta, I., Sevastre, B., Mireşan, V., Taulescu, M., Raducu, C., Longodor, A. L., Marchiş, Z., Mariş, C. S., and Coroian, A. (2019). Protective effect of blackthorn fruits (Prunus spinosa) against tartrazine toxicity development in albino Wistar rats. BMC Chemistry, 13(1), 104.

Bancroft, J. D., and andStevens, A. (2010). Theory and practice of histological techniques 2nded. churchill livingstone. XiV+ 647. Am. Fam. Physician, 54(3), 986–992.

Bartosikova, L., Necas, J., Suchy, V., Kubinova, R., Vesela, D., Benes, L., Bartosik, T., Illek, J., Salplachta, J., and Klusakova, J. (2003). Monitoring of antioxidative effect of morine in alloxan-induced diabetes mellitus in the laboratory rat. Acta Veterinaria Brno, 72(2), 191–200.

Basaiyye, S. S., Kashyap, S., Krishnamurthi, K., and Sivanesan, S. (2019). Induction of apoptosis in leukemic cells by the alkaloid extract

of garden cress (Lepidium sativum L.). Journal of Integrative Medicine, 17(3), 221–228.

Bekalo, T. H., Woodmatas, S. D., and Woldemariam, Z. A. (2009). An ethnobotanical study of medicinal plants used by local people in the lowlands of Konta Special Woreda, southern nations, nationalities and peoples regional state, Ethiopia. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 5(1), 26.

Belfield, A., and Golderg, G. M. (1971). Revised assay for serum phenyl phosphatase activity using 4-amino-antipyrine-Enzyme. 12, 561–573.

Bender, D. A. (2006). Benders' dictionary of nutrition and food technology. Woodhead Publishing.

Bergmeyer, H. U., and Rej, M. H. and R. (1985). INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY (IFCC) Scientific Committee, Analytical Section. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24, 481–495.

Bhandari, P. R. (2015). Crocus sativus L.(saffron) for cancer chemoprevention: a mini review. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 5(2), 81–87.

Bhushan, M. S., Rao, C. H. V, Ojha, S. K., Vijayakumar, M., and Verma, A. (2010). An analytical review of plants for anti diabetic activity with their phytoconstituent and mechanism of action. Int J Pharm Sci Res, 1(1), 29–46.

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., and Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organization Journal, 5(1), 9–19.

Branchaud, B. P. (1999). of Dioxygen Metabolism. Metal Ions in Biological Systems: Volume 36: Interrelations Between Free Radicals and Metal Ions in Life Processes, 36, 79.

Britton, G., Liaaen-Jensen, S., and Pfander, H. (2012). Carotenoids: handbook. Birkhäuser.

Bryan, N. S., Calvert, J. W., Elrod, J. W., Gundewar, S., Ji, S. Y., and Lefer, D. J. (2007). Dietary nitrite supplementation protects against myocardial ischemia-reperfusion injury. Proceedings of the National Academy of Sciences, 104(48), 19144–19149.

Campos, J. M., Montenegro Stamford, T. L., Sarubbo, L. A., de Luna, J. M., Rufino, R. D., and Banat, I. M. (2013). Microbial

biosurfactants as additives for food industries. Biotechnology Progress, 29(5), 1097–1108.

Carocho, M., Barreiro, M. F., Morales, P., and Ferreira, I. C. F. R. (2014). Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13(4), 377–399.

Chazelas, E., Deschasaux, M., Srour, B., Kesse-Guyot, E., Julia, C., Allès, B., Druesne-Pecollo, N., Galan, P., Hercberg, S., and Latino-Martel, P. (2020). Food additives: distribution and co-occurrence in 126,000 food products of the French market. Scientific Reports, 10(1), 1–15.

Cho, M. J., Howard, L. R., Prior, R. L., and Clark, J. R. (2004). Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84(13), 1771–1782.

Christie, W. W. (2010). Tocopherols and tocotrienols-structure, composition, biology and analysis. AOCS Lipid Library, 1–8.

Cline, S. D., Riggins, J. N., Tornaletti, S., Marnett, L. J., and Hanawalt, P. C. (2004). Malondialdehyde adducts in DNA arrest transcription by T7 RNA polymerase and mammalian RNA polymerase II. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(19), 7275–7280.

Committee, E. S. (2011). Scientific opinion on genotoxicity testing strategies applicable to food and feed safety assessment. EFSA Journal, 9(9), 2379.

Crowe, W., Elliott, C. T., and Green, B. D. (2019). A review of the In Vivo evidence investigating the role of nitrite exposure from processed meat consumption in the development of colorectal cancer. Nutrients, 11(11), 2673.

Curtis, E., Hsu, L. L., Noguchi, A. C., Geary, L., and Shiva, S. (2012). Oxygen regulates tissue nitrite metabolism. Antioxidants and Redox Signaling, 17(7), 951–961. https://doi.org/10.1089/ars.2011.4242

Datta, P. K., Diwakar, B. T., Viswanatha, S., Murthy, K. N., and Naidu, K. A. (2011). Original Report Safety evaluation studies on Garden cress (Lepidium sativum L.) seeds in Wistar rats. International Journal of Applied Research in Natural Products, 4(1), 37.

De, A. K., and De, M. (2019). Functional and Therapeutic Applications of Some Important Spices. In The Role of Functional Food Security in Global Health (pp. 499–510). Elsevier.

Dejam, A., Hunter, C. J., and Gladwin, M. T. (2007). Effects of dietary nitrate on blood pressure. N Engl J Med, 356(15), 1590.

Dembinska-Kiec, A., Mykkänen, O., Kiec-Wilk, B., and Mykkänen, H. (2008). Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. British Journal of Nutrition, 99(E-S1), ES109–ES117.

Dilshad, S. M. R., Rehman, N. U., Ahmad, N., and Iqbal, A. (2010). Documentation of ethnoveterinary practices for mastitis in dairy animals in Pakistan. Pakistan Veterinary Journal, 30(3), 167–171.

Diwakar, B. T., Dutta, P. K., Lokesh, B. R., and Naidu, K. A. (2010). Physicochemical properties of garden cress (Lepidium sativum L.) seed oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 87(5), 539–548.

Doke, S., and Guha, M. (2014). Garden cress (Lepidium sativum L.) seed-an important medicinal source: A. Journal of Natural Products of Plant Resources, 4, 69–80.

Drewnowski, A., and Gomez-Carneros, C. (2000). Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. The American Journal of Clinical Nutrition, 72(6), 1424–1435.

Eddouks, M, Maghrani, M., Zeggwagh, N.-A., and Michel, J. B. (2005). Study of the hypoglycaemic activity of Lepidium sativum L. aqueous extract in normal and diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology, 97(2), 391–395.

Eddouks, Mohamed, and Maghrani, M. (2008). Effect of Lepidium sativum L. on renal glucose reabsorption and urinary TGF-β1 levels in diabetic rats. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 22(1), 1–5.

Edge, R., and Truscott, T. G. (2018). Singlet oxygen and free radical reactions of retinoids and carotenoids—a review. Antioxidants, 7(1), 5.

EFSA, E. F. S. A. (2008). Nitrate in vegetables-Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. EFSA Journal, 6(6), 689.

EFSA, C. E. F. (2009). Panel (EFSA Panel on Food Contact Material, Enzymes, Flavourings and Processing Aids), 2009. Guidance of the Scientific Panel of Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF) on the Submission of a Dossier on Food Enzymes for Safe.

Egbuonu, A. C. C., and Osakwe, O. N. (2011). Effects of high monosodium glutamate on some serum markers of lipid status in male Wistar rats. Journal of Medicine and Medical Sciences, 2(1), 653–656.

Eissa, M. M., Ahmed, M. M., Abd Eldaim, M. A., Mousa, A. A., Elkirdasy, A. F., Mohamed, M. A., and Orabi, S. H. (2020). Chlorella vulgaris ameliorates sodium nitrite-induced hepatotoxicity in rats. Environmental Science and Pollution Research, 1–11.

El-Bahr, S. M. (2013). Biochemistry of free radicals and oxidative stress. Biochemistry, 1(5567/5cjiŋt), 11.

El-Hashash, S. A., ElMoslemany, A. M., El-Mageed, A., and Amany, A. (2020). Effect of Some Medicinal Plant Seeds on CCl4-Induced Hepatotoxicity in Experimental Rats. Egyptian Journal of Nutrition and Health, 15(1), 101–120.

El-Nabarawy, N. A., Gouda, A. S., Khattab, M. A., and Rashed, L. A. (2020). Effects of nitrite graded doses on hepatotoxicity and nephrotoxicity, histopathological alterations, and activation of apoptosis in adult rats. Environmental Science and Pollution Research, 1–14.

Etim, O. E., Farombi, E. O., Usoh, I. F., and Akpan, E. J. (2006). The protective effect of aloe vera juice on lindane induced hepatotoxicity and genotoxicity. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 19(4), 337–340.

Eyer, P., and Podhradský, D. (1986). Evaluation of the micromethod for determination of glutathione using enzymatic cycling and Ellman's reagent. Analytical Biochemistry, 153(1), 57–66.

Farias, J. G., Bustos-Obregón, E., Orellana, R., Bucarey, J. L., Quiroz, E., and Reyes, J. G. (2005). Effects of chronic hypobaric hypoxia on testis histology and round spermatid oxidative metabolism. Andrologia, 37(1), 47–52.

Ferysiuk, K., and Wójciak, K. M. (2020). Reduction of Nitrite in Meat Products through the Application of Various Plant-Based Ingredients. Antioxidants, 9(8), 711.

Flohé, L. (2018). Glutathione (Vol. 1). CRC Press.

Gahlaut, A., Hooda, V., Gothwal, A., and Hooda, V. (2019). Enzyme-based ultrasensitive electrochemical biosensors for rapid assessment of nitrite toxicity: Recent advances and perspectives. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 49(1), 32–43.

Galigher, A. E., and Kozloff, E. N. (1964). Essentials of practical microtechnique.

Ghadir, M. R., Riahin, A. A., Havaspour, A., Nooranipour, M., and Habibinejad, A. A. (2010). The relationship between lipid profile and severity of liver damage in cirrhotic patients. Hepatitis Monthly, 10(4), 285.

Ghosh, J. S. (2012). Development of health drink enriched with processed garden-cress (Lepidium sativum L.) seeds. American Journal of Food Technology, 7(9), 571–573.

Gonchar, O., Mankovskaya, I., and Klyuchko, E. (2006). Role of complex nucleosides in the reversal of oxidative stress and metabolic disorders induced by acute nitrite poisoning. Indian Journal of Pharmacology, 38(6), 414.

Gupta, V. K., and Arya, V. (2011). A review on potential diuretics of Indian medicinal plants. J Chem Pharm Res, 3(1), 613–620.

Gupta, V. K., and Sharma, S. K. (2006). Plants as natural antioxidants.

Guyton, A. C. (2010). Guyton and Hall textbook of medical physiology. India, 27, 2191–2192.

Guyton, A., and Hall, J. (2006). Textbook of medical physiology, 11th. Elsevier Inc.

Halaby, M. S., Farag, M. H., and Mahmoud, S. A. A. (2015). Protective and curative effect of garden cress seeds on acute renal failure in male albino rats. Middle East Journal of Applied Sciences, 5(2), 573–586.

Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C. (2015). Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA.

Hassan, B. A. R. (2012). Medicinal Plants (Importance and Uses), Pharmaceut Anal. Acta, 3, e139.

Hassan, H A. (2007). The possible protective role of bees honey against hazard effects of some synthetic food additives on the kidney functions of male rats. Journal of the Egyptian Society of Toxicology, 36, 13–

21.

Hassan, Hanaa A, El-Agmy, S. M., Gaur, R. L., Fernando, A., Raj, M. H. G., and Ouhtit, A. (2009). In vivo evidence of hepato-and reno-protective effect of garlic oil against sodium nitrite-induced oxidative stress. International Journal of Biological Sciences, 5(3), 249.

Hassan, M. H., Edfawy, M., Mansour, A., and Hamed, A.-A. (2012). Antioxidant and antiapoptotic effects of capsaicin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. Toxicology and Industrial Health, 28(5), 428–438.

Hayes, J. W., and Britton, H. C. (1936). Process for the production of sodium nitrite. Google Patents.

Helal, E. G. E., Mustafa, R. A. A., Mohamed, A., and El-Gamal, M. S. (2017). Adverse effects of two kinds of food additive mixtures (flavor enhancer, food preservative or food coloring agent) on physiological parameters in young male albino rats. The Egyptian Journal of Hospital Medicine, 67(1), 344–351.

Helal, E., and Soliman, G. Z. A. (2008). Biochemical studies on the effect of sodium nitrite and/or glutathione treatment on male rats. The Egyptian Journal of Hospital Medicine, 30(1), 25–38.

Hord, N. G., Tang, Y., and Bryan, N. S. (2009). Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. The American Journal of Clinical Nutrition, 90(1), 1–10.

Hunter, C. J., Dejam, A., Blood, A. B., Shields, H., Kim-Shapiro, D. B., Machado, R. F., Tarekegn, S., Mulla, N., Hopper, A. O., and Schechter, A. N. (2004). Inhaled nebulized nitrite is a hypoxia-sensitive NO-dependent selective pulmonary vasodilator. Nature Medicine, 10(10), 1122–1127.

Hussain, M., and Ghani, A. (2008). Herbal remidies used for gastrointestinal disorders in Kaghan valley, NWFP, Pakistan. Pak. J. Weed Sci. Res, 14(3–4), 169–200.

Ibrahim, I. A., Shalaby, A. A., Abdallah, H. M. L., El-Zohairy, N. F., and Bahr, H. I. (2020). Ameliorative effect of garden cress (Lepidium sativum L.) seeds ethanolic extract on high fat diet-prompted non-alcoholic fatty liver disease in the rat model: Impact on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase and vascular endothelial growth facto. Adv. Anim. Vet. Sci, 8(s1), 1–10.

Ighodaro, O. M., and Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Journal of Medicine, 54(4), 287–293.

Jain, T., and Grover, K. (2018). A comprehensive review on the nutritional and nutraceutical aspects of garden cress (lepidium sativum Linn.). Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 88(3), 829–836.

Jan, R., Roy, R., Bhor, R., Pai, K., and Satsangi, P. G. (2020). Toxicological screening of airborne particulate matter in atmosphere of Pune: Reactive oxygen species and cellular toxicity. Environmental Pollution, 261, 113724.

Jensen, F. B. (2003). Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology, 135(1), 9–24.

Kabel, A. M. (2014). Free radicals and antioxidants: role of enzymes and nutrition. World Journal of Nutrition and Health, 2(3), 35–38.

Kalantar, H., Kalantar, M., Kalantari, H., Goudarzi, M., and Rashidi, M. (2018). Nephroprotective effect of Gallic acid against mercuric chloride (HgCl2) induced damage in rats. International Pharmacy Acta, 1(1), 49–50.

Kamani, M., Mhabadi, J. A., Atlasi, M. A., Seyedi, F., Kamani, E., and Nikzad, H. (2017). Protective Effect of Alcoholic Extract of Garden Cress Seeds on the Histopathological Changes of the Ventral Prostate in Streptozotocin Diabetic Rats. International Journal of Morphology, 35(3).

Kang, M.-G., Song, W.-J., Park, H.-K., Lim, K.-H., Kim, S.-J., Lee, S.-Y., Kim, S.-H., Cho, S.-H., Min, K.-U., and Chang, Y.-S. (2014). Basophil activation test with food additives in chronic urticaria patients. Clinical Nutrition Research, 3(1), 9–16.

Karazhiyan, H., Razavi, S. M. A., Phillips, G. O., Fang, Y., Al-Assaf, S., Nishinari, K., and Farhoosh, R. (2009). Rheological properties of Lepidium sativum seed extract as a function of concentration, temperature and time. Food Hydrocolloids, 23(8), 2062–2068.

Kaur, P., and Arora, S. (2010). Polyphenols of Caselpiniaceae. Journal of Chinese Clinical Medicine, 5(5).

Kefer, J. C., Agarwal, A., and Sabanegh, E. (2009). Role of antioxidants in the treatment of male infertility. International Journal of Urology, 16(5), 449–457.

Khalil, F. A., Mansour, O. A., Galal, S. M., and Abd Elrahem, M. E. H. (2014). Effect of Alpha-Lipoic Acid against Sodium Nitrite Toxicity in Rats. African Journal of Biological Sciences, 376(3360), 1–13.

Kiani, A., Yousefsani, B. S., Doroudian, P., Seydi, E., and Pourahmad, J. (2017). The mechanism of hepatotoxic effects of sodium nitrite on isolated rat hepatocytes. Toxicology and Environmental Health Sciences, 9(3), 244–250.

Kontoghiorghes, G. J., Kolnagou, A., Kontoghiorghe, C. N., Mourouzidis, L., Timoshnikov, V. A., and Polyakov, N. E. (2020). Trying to Solve the Puzzle of the Interaction of Ascorbic Acid and Iron: Redox, Chelation and Therapeutic Implications. Medicines, 7(8), 45.

Kovesi, B., Pelyhe, C., Zandoki, E., Mezes, M., and Balogh, K. (2018). Changes of lipid peroxidation and glutathione redox system, and expression of glutathione peroxidase regulatory genes as effect of short-term aflatoxin B1 exposure in common carp. Toxicon, 144, 103–108.

Kumar, B. N. S., Swamy, B. M. V., Archana, S., and Anitha, M. (2010). A review on natural diuretics. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 1(4), 615–634.

Kumar, D., Branch, B. G., Pattillo, C. B., Hood, J., Thoma, S., Simpson, S., Illum, S., Arora, N., Chidlow, J. H., and Langston, W. (2008). Chronic sodium nitrite therapy augments ischemia-induced angiogenesis and arteriogenesis. Proceedings of the National Academy of Sciences, 105(21), 7540–7545.

Kurutas, E. B. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. Nutrition Journal, 15(1), 1–22.

Lamas, A., Miranda, J. M., Vázquez, B., Cepeda, A., and Franco, C. M. (2016). An evaluation of alternatives to nitrites and sulfites to inhibit the growth of Salmonella enterica and Listeria monocytogenes in meat products. Foods, 5(4), 74.

Landrum, J. T. (2009). Carotenoids: physical, chemical, and biological

functions and properties. CRC Press.

Lefevre, G., Beljean-Leymarie, M., Beyerle, F., Bonnefont-Rousselot, D., Cristol, J.-P., Therond, P., and Torreilles, J. (1998). Evaluation of lipid peroxidation by assaying the thiobarbituric acid-reactive substances. Annales de Biologie Clinique, 56(3), 305–319.

Li, F. S., and Weng, J. K. (2017). Demystifying traditional herbal medicine with modern approaches. Nature Plants, 3(July), 1–7. https://doi.org/10.1038/nplants.2017.109

Lide, D. (2005). Handbook of Chemistry and Physics, 86th edn. CRC. Taylor and Francis.

Liu, Y., Croft, K. D., Hodgson, J. M., Mori, T., and Ward, N. C. (2020). Mechanisms of the protective effects of nitrate and nitrite in cardiovascular and metabolic diseases. Nitric Oxide, 96, 35–43.

Loh, A. H. L., and Cohen, A. H. (2009). Drug-induced kidney disease-pathology and current concepts. Ann Acad Med Singapore, 38(3), 240–250.

Loru, D., Incani, A., Deiana, M., Corona, G., Atzeri, A., Melis, M. P., Rosa, A., and Dessì, M. A. (2009). Protective effect of hydroxytyrosol and tyrosol against oxidative stress in kidney cells. Toxicology and Industrial Health, 25(4–5), 301–310.

Lundberg, J. O., Weitzberg, E., and Gladwin, M. T. (2008). The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. Nature Reviews Drug Discovery, 7(2), 156–167.

Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. Chemico-Biological Interactions, 224, 164–175.

Ma, L., Hu, L., Feng, X., and Wang, S. (2018). Nitrate and nitrite in health and disease. Aging and Disease, 9(5), 938.

Maghrani, M., Zeggwagh, N. A., Michel, J. B., and Eddouks, M. (2005). Antihypertensive effect of Lepidium sativum L. in spontaneously hypertensive rats. Journal of Ethnopharmacology, 100(1–2), 193–197. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.024

Mahassni, S. H., and Al-Reemi, R. M. (2013a). Apoptosis and necrosis of human breast cancer cells by an aqueous extract of garden cress

(Lepidium sativum) seeds. Saudi Journal of Biological Sciences, 20(2), 131–139.

Mahassni, S. H., and Al-Reemi, R. M. (2013b). Cytotoxic effect of an aqueous extract of Lepidium sativum L. seeds on human breast cancer cells.

Mamedov, N. (2012). Medicinal plants studies: history, challenges and prospective. Med Aromat Plants, 1(8), e133.

Manohar, D., Viswanatha, G. L., Nagesh, S., Jain, V., and Shivaprasad, H. N. (2012). Ethnopharmacology of Lepidium sativum Linn (Brassicaceae): a review. Int. J. Phyto. Res, 2, 1–7.

Martínez-Valverde, I., Periago, M. J., and Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 50(1), 5–18.

MASRE, S. F., RAZALI, N. U. R. A., NAIMAH, N. U. R. N. N. U. R., and TAIB, I. S. (2019). Biochemical and Histological Effects of Low Dose of Monosodium Glutamate on the Liver of Adult Male Sprague-Dawley Rats. Jurnal Sains Kesihatan Malaysia (Malaysian Journal of Health Sciences), 17(2).

Maynard, R. L., and Downes, N. (2019). Anatomy and Histology of the Laboratory rat in Toxicology and Biomedical Research. Academic Press.

Mazahreh, T. S., Aleshawi, A. J., Al-Zoubi, N. A., Altabari, M., and Aljarrah, Q. (2020). Comparison of postoperative liver function between different dissection techniques during laparoscopic cholecystectomy. Future Science OA, 6(4), FSO462.

McNally, B., Griffin, J. L., and Roberts, L. D. (2016). Dietary inorganic nitrate: from villain to hero in metabolic disease? Molecular Nutrition and Food Research, 60(1), 67–78.

Meeting, J. F. E. C. on F. A., and Organization, W. H. (2014). Safety evaluation of certain food additives and contaminants (Vol. 68). World Health Organization.

Melo, D., Rocha, S., Coimbra, S., and Silva, A. S. (2019). Interplay between Erythrocyte Peroxidases and Membrane. In Erythrocyte. IntechOpen.

Mittal, G., Brar, A. P. S., and Soni, G. (2006). Impact of hypercholesterolemia on toxicity of N-nitrosodiethylamine: biochemical and histopathological effects. Pharmacological Reports, 58(3), 413.

Moder, K. (2010). Alternatives to F-test in one way ANOVA in case of heterogeneity of variances (a simulation study). Psychological Test and Assessment Modeling, 52(4), 343–353.

Montenegro, M. F., Amaral, J. H., Pinheiro, L. C., Sakamoto, E. K., Ferreira, G. C., Reis, R. I., Marçal, D. M. O., Pereira, R. P., and Tanus-Santos, J. E. (2011). Sodium nitrite downregulates vascular NADPH oxidase and exerts antihypertensive effects in hypertension. Free Radical Biology and Medicine, 51(1), 144–152. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.005

Moser, B. R., Shah, S. N., Winkler-Moser, J. K., Vaughn, S. F., and Evangelista, R. L. (2009). Composition and physical properties of cress (Lepidium sativum L.) and field pennycress (Thlaspi arvense L.) oils. Industrial Crops and Products, 30(2), 199–205.

Munday, R., and Munday, C. M. (2004). Induction of phase II detoxification enzymes in rats by plant-derived isothiocyanates: comparison of allyl isothiocyanate with sulforaphane and related compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(7), 1867–1871.

Musara, C., Maroyi, A., Cheikhyoussef, N., and Cheikhyoussef, A. (2020). Cold pressed garden cress (Lepidium sativum L.) seed oil. Cold Pressed Oils, 477–489.

Naidu, K. A. (2016). Erratum to: Extensive next-generation sequencing analysis in chronic lymphocytic leukemia at diagnosis: clinical and biological correlations (J Hematol Oncol. (2016) 9 (88) DOI:10.1186/s13045-016-0320-z). Journal of Hematology and Oncology, 9(1), 1–3. https://doi.org/10.1186/s13045-016-0331-9

Naik, S. R., Pilgaonkar, V. W., and Panda, V. S. (2006). Evaluation of antioxidant activity of Ginkgo biloba phytosomes in rat brain. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 20(11), 1013–1016.

Naithani, V., Singhal, A. K., and Chaudhary, M. (2011). Comparative evaluation of Metal Chelating, Antioxidant and Free Radical Scavenging activity of TROIS and six products commonly used to

control pain and inflammation associated with Arthritis. Int Drug Dev Res, 3, 208–216.

Naveed, M., Majeed, F., Taleb, A., Zubair, H. M., Shumzaid, M., Farooq, M. A., Baig, M. M. F. A., Abbas, M., Saeed, M., and Changxing, L. (2020). A Review of Medicinal Plants in Cardiovascular Disorders: Benefits and Risks. The American Journal of Chinese Medicine, 48(02), 259–286.

Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., and Yar, M. S. (2019b). Medicinal prospects of antioxidants: A review. European Journal of Medicinal Chemistry, 178, 687–704.

Nelson, D. L., Lehninger, A. L., and Cox, M. M. (2008). Lehninger principles of biochemistry. Macmillan.

Nem Rajesh, K., Satish, Y., and Mundal, S. (2009). Antioxidant-A review. J. Chemical and Pharmaceutical Research, 1, 102–104.

Newton, D. E. (2007). Forensic chemistry. Infobase Publishing.

Nigam, S., and Schewe, T. (2000). Phospholipase A2s and lipid peroxidation. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1488(1–2), 167–181.

Nilesh, S., Amit, J., Vaishali, U., Sujit, K., Sachin, K., and Ravindra, P. (2010). Protective effect of Lepidium sativum against doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences, 1(3), 42–49.

Nimse, S. B., and Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. Rsc Advances, 5(35), 27986–28006.

Oroian, M., and Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. Food Research International, 74, 10–36.

Owens, C. W. I., and Belcher, R. V. (1965). A colorimetric micro-method for the determination of glutathione. Biochemical Journal, 94(3), 705–711.

Pan, B., Li, H., Lang, D., and Xing, B. (2019). Environmentally persistent free radicals: occurrence, formation mechanisms and implications. Environmental Pollution, 248, 320–331.

Paran, E., Novack, V., Engelhard, Y. N., and Hazan-Halevy, I. (2009).

The effects of natural antioxidants from tomato extract in treated but uncontrolled hypertensive patients. Cardiovascular Drugs and Therapy, 23(2), 145–151.

Paranjape, A. N., and Mehta, A. A. (2006). A study on clinical efficacy of Lepidium sativum seeds in treatment of bronchial asthma.

Patel, U., Kulkarni, M., Undale, V., and Bhosale, A. (2009). Evaluation of diuretic activity of aqueous and methanol extracts of Lepidium sativum garden cress (Cruciferae) in rats. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 8(3).

Patton, C. J., and Crouch, S. R. (1977). Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Analytical Chemistry, 49(3), 464–469.

Pavlova, E, Dimova, D., Petrova, E., Gluhcheva, Y., and Atanassova, N. (2013). Changes in rat testis and sperm count after acute treatment with sodium nitrite. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 19(2), 186–189.

Pavlova, Ekaterina, Dimova, D., Petrova, E., Gluhcheva, Y., and Atanassova, N. (2017). Comparative Evaluation of the Effect of Sodium Nitrite on Reproductive Organ Weights and Sperm Count in Rats and Mice. 24, 10–14.

Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. International Journal of Biomedical Science: IJBS, 4(2), 89.

Pisoschi, A. M., and Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. European Journal of Medicinal Chemistry, 97, 55–74.

Pradhan, H., Poudel, S., Bokkhim, H., Rai, K. P., and Karn, S. K. (2019). Status of Sodium Nitrite in Meat and Meat Products Available in the Market of Kathmandu, Nepal. Journal of Food Science and Technology Nepal, 11, 47–50.

Prajapati, M. R., and Dave, P. H. (2018). Therapeutic and nutritional importance of garden cress seed. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7(5), 140–143.

Prajapati, V. D., Maheriya, P. M., Jani, G. K., Patil, P. D., and Patel, B. N. (2014). Lepidium sativum Linn.: A current addition to the family of mucilage and its applications. International Journal of Biological Macromolecules, 65, 72–80.

Qian, J., Morley, S., Wilson, K., Nava, P., Atkinson, J., and Manor, D. (2005). Intracellular trafficking of vitamin E in hepatocytes: the role of tocopherol transfer protein. Journal of Lipid Research, 46(10), 2072–2082.

Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., and Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. BioMed Research International, 2014.

Rahimi, R., Shams-Ardekani, M. R., and Abdollahi, M. (2010). A review of the efficacy of traditional Iranian medicine for inflammatory bowel disease. World Journal of Gastroenterology: WJG, 16(36), 4504.

Rahman, T., Hosen, I., Islam, M. M. T., and Shekhar, H. U. (2012). Oxidative stress and human health.

Raish, M., Ahmad, A., Alkharfy, K. M., Ahamad, S. R., Mohsin, K., Al-Jenoobi, F. I., Al-Mohizea, A. M., and Ansari, M. A. (2016). Hepatoprotective activity of Lepidium sativum seeds against D-galactosamine/lipopolysaccharide induced hepatotoxicity in animal model. BMC Complementary and Alternative Medicine, 16(1), 501.

Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasaiah, U., Gopas, J., and Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. Clinica Chimica Acta, 436, 332–347.

Rajendran, R., and Krishnakumar, E. (2010). Anti-arthritic activity of Premna serratifolia Linn., wood against adjuvant induced arthritis. Avicenna Journal of Medical Biotechnology, 2(2), 101.

Rathod, K. S., Velmurugan, S., and Ahluwalia, A. (2016). A 'green'diet-based approach to cardiovascular health? Is inorganic nitrate the answer? Molecular Nutrition and Food Research, 60(1), 185–202.

Raval, N. D., and Pandya, T. N. (2009). Clinical trial of Lepidium sativum Linn (Chandrashura) in the management of Sandhivata (osteoarthritis). AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda), 30(2), 153.

Reddy, D. M., Reddy, G. V. B., and Mandal, P. K. (2018). Application of Natural Antioxidants in Meat and Meat Products-A Review. Food Nutr J, 3, 173.

Ribas, V., García-Ruiz, C., and Fernández-Checa, J. C. (2014). Glutathione and mitochondria. Frontiers in Pharmacology, 5, 151.

Rochon, E. R., Missinato, M. A., Xue, J., Tejero, J., Tsang, M., Gladwin, M. T., and Corti, P. (2020). Nitrite improves heart regeneration in zebrafish. Antioxidants and Redox Signaling, 32(6), 363–377.

Ronis, M. J. J., Huang, J., Longo, V., Tindberg, N., Ingelman-Sundberg, M., and Badger, T. M. (1998). Expression and distribution of cytochrome P450 enzymes in male rat kidney: effects of ethanol, acetone and dietary conditions. Biochemical Pharmacology, 55(2), 123–129.

Rose, P., Ong, C. N., and Whiteman, M. (2005). Protective effects of Asian green vegetables against oxidant induced cytotoxicity. World Journal of Gastroenterology, 11(48), 7607.

Roughani, A., and Miri, S. M. (2018). Lepidium species as antidiabetic herbal medicines. The First National Congress and International Fair of Medicinal Plants and Strategies for Persian Medicine That Affect Diabetes, 9–11.

Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H., and Kanazawa, K. (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(3), 571–581.

Sakran, M., Selim, Y., and Zidan, N. (2014). A new isoflavonoid from seeds of Lepidium sativum L. and its protective effect on hepatotoxicity induced by paracetamol in male rats. Molecules, 19(10), 15440–15451.

Salama, M. F., Abbas, A., Darweish, M. M., El-Hawwary, A. A., and Al-Gayyar, M. M. H. (2013). Hepatoprotective effects of cod liver oil against sodium nitrite toxicity in rats. Pharmaceutical Biology, 51(11), 1435–1443.

Schieber, M., and Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. Current Biology, 24(10), R453–R462.

Selek, S., Koyuncu, I., Caglar, H. G., Bektas, I., Yilmaz, M. A., Gonel, A., and Akyuz, E. (2018). The evaluation of antioxidant and anticancer effects of Lepidium Sativum Subsp Spinescens L. methanol extract on cancer cells. Cellular and Molecular Biology, 64(3), 72–80.

Sellimi, S., Ksouda, G., Benslima, A., Nasri, R., Rinaudo, M., Nasri, M., and Hajji, M. (2017). Enhancing colour and oxidative stabilities of reduced-nitrite turkey meat sausages during refrigerated storage

using fucoxanthin purified from the Tunisian seaweed Cystoseira barbata. Food and Chemical Toxicology, 107, 620–629.

Selvaraju, V., Joshi, M., Suresh, S., Sanchez, J. A., Maulik, N., and Maulik, G. (2012). Diabetes, oxidative stress, molecular mechanism, and cardiovascular disease–an overview. Toxicology Mechanisms and Methods, 22(5), 330–335.

Shapouri, H., Duffield, J., and Mcaloon, A. (2001). United States Department of Agriculture (USDA). The.

Sharma, A. (2020). A Comprehensive Review on Pharmacological Properties of Garden cress (Lepidium sativum) Seeds. Current Research in Pharmaceutical Sciences, 10(2), 13–18.

Sharma, S., and Agarwal, N. (2011). Nourishing and healing prowess of garden cress (Lepidium sativum Linn.)-A review.

Sherif, I. O., and Al-Gayyar, M. M. H. (2013). Antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of silymarin on hepatic dysfunction induced by sodium nitrite. European Cytokine Network, 24(3), 114–121.

Shukla, A. K., Bigoniya, P., and Soni, P. (2015). Hypolipidemic activity of Lepidium sativum Linn. seed in rats. IOSR J Pharm Biol Sci, 10(4), 13–22.

Shukla, A., Singh, C. S., and Bigoniya, P. (2011). Phytochemical and CNS activity of Lepidium sativum Linn seeds total alkaloid. Der Pharmacia Lett, 3(2), 226–237.

Sierra-Campos, E., Valdez-Solana, M. A., Campos-Almazán, M. I., Avitia-Domínguez, C., Hernández-Rivera, J. L., Garcia-Arena, G., and Téllez-Valencia, A. (2018). Nitrate and nitrite in drinking water affect antioxidant enzymes in erythrocytes of rats. The Ukrainian Biochemical Journal, 90,№ 4, 90–101.

Sies, H. (2020). Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. Antioxidants, 9(9), 852.

Silva, N. C. C., and Fernandes Júnior, A. (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases, 16(3), 402–413.

Sindelar, J. J., and Milkowski, A. L. (2011). Sodium nitrite in processed meat and poultry meats: a review of curing and examining the

risk/benefit of its use. American Meat Science Association White Paper Series, 3, 1–14.

Sindelar, J. J., and Milkowski, A. L. (2012). Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. Nitric Oxide, 26(4), 259–266.

Sisein, E. A. (2014). Biochemistry of free radicals and antioxidants. Scholars Academic Journal of Biosciences, 2(2), 110–118.

Souri, E., Amin, G., Farsam, H., and Barazandeh, T. M. (2008). Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts.

Suleman, M., Khan, A., Baqi, A., Kakar, M. S., and Ayub, M. (2019). 2. Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body. Pure and Applied Biology (PAB), 8(1), 380–388.

Suparmi, S., Fasitasari, M., Martosupono, M., and Mangimbulude, J. C. (2016). Comparisons of curative effects of chlorophyll from Sauropus androgynus (L) Merr leaf extract and Cu-chlorophyllin on sodium nitrate-induced oxidative stress in rats. Journal of Toxicology, 2016.

Suvarna, S. K., Layton, C., and Bancroft, J. D. (2013). The hematoxylins and eosin. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques, 7th Ed.; Churchill Livingstone: London, UK, 172–186.

Tietz, N. W. (1986). Textbook of clinical chemistry, Saunders, WB Co. London Philadelphia, 796.

Uslu, G. A., Uslu, H., and Adalı, Y. (2019). Hepatoprotective and nephroprotective effects of Trigonella foenum-graecum L.(Fenugreek) seed extract against sodium nitrite toxicity in rats. Biomed. Res. Ther, 6, 3142–3150.

Vafadar, A., Shabaninejad, Z., Movahedpour, A., Fallahi, F., Taghavipour, M., Ghasemi, Y., Akbari, M., Shafiee, A., Hajighadimi, S., and Moradizarmehri, S. (2020). Quercetin and cancer: new insights into its therapeutic effects on ovarian cancer cells. Cell and Bioscience, 10(1), 1–17.

Van den Brandt, P., Voorrips, L., Hertz-Picciotto, I., Shuker, D., Boeing, H., Speijers, G., Guittard, C., Kleiner, J., Knowles, M., and Wolk, A. (2002). The contribution of epidemiology. Food and

Chemical Toxicology, 40(2–3), 387–424.

Vickers, N. J. (2017). Animal communication: when i'm calling you, will you answer too? Current Biology, 27(14), R713–R715.

Wahyuningsih, S. P. A., Atika, B. N. D., Sajidah, E. S., and Winarni, D. (2020). Nephroprotective Activity of Okra Pods Extract (Abelmoschus esculentus L.) in Sodium Nitrite-Induced Mice. Research Journal of Pharmacy and Technology, 13(8), 3648–3652.

Warwick, S. I. (2011). Brassicaceae in agriculture. In Genetics and Genomics of the Brassicaceae (pp. 33–65). Springer.

WEISS, A., and HAMMES, W. P. (2003). Thermal seed treatment to improve the food safety status of sprouts. Journal of Applied Botany (1995), 77(5–6), 152–155.

Wójciak, K. M., Stasiak, D. M., and Kęska, P. (2019). The influence of different levels of sodium nitrite on the safety, oxidative stability, and color of minced roasted beef. Sustainability, 11(14), 3795.

Wright, C. I., Van-Buren, L., Kroner, C. I., and Koning, M. M. G. (2007). Herbal medicines as diuretics: a review of the scientific evidence. Journal of Ethnopharmacology, 114(1), 1–31.

Xu, D.-P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J.-J., and Li, H.-B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. International Journal of Molecular Sciences, 18(1), 96.

Yadav, Y. C., Jain, A., Srivastava, D. N., and Jain, A. (2011). Fracture healing activity of ethanolic extract of Lepidium sativum L. seeds in internally fixed rats' femoral osteotomy model. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3(2), 193–197.

Yadav, Y. C., Srivastav, D. N., Seth, A. K., Saini, V., Balaraman, R., and Ghelani, T. K. (2010a). In vivo antioxidant potential of Lepidium sativum L. seeds in albino rats using cisplatin induced nephrotoxicity. International Journal of Phytomedicine, 2(3).

Yadav, Y. C., Srivastav, D. N., Seth, A. K., and Vipin, S. (2010b). Nephroprotective and curative activity of Lepidium sativum L. seeds in albino rats using cisplatin induced acute renal failure. Der Pharma Chemica, 2(4), 57–64.

Yang, B., Xie, Y., Guo, M., Rosner, M. H., Yang, H., and Ronco, C. (2018). Nephrotoxicity and Chinese Herbal Medicine. 1605–1611.

https://doi.org/10.2215/CJN.11571017

Young, D. S., and Friedman, R. B. (2001). Effects of disease on clinical laboratory tests (Vol. 1). Amer Assn for Clinical Chemistry.

Youssef, G., El-Ghamery, H., and El-Sawy, H. (2014). Study the physico-chemical properties and antihyperlipidemic activities of garden cress seed oil. The Journal of American Science, 10(12), 324–330.

Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. International Journal of Health Sciences, 12(3), 88–93. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29896077%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5969776

Zabulyte, D., Uleckiene, S., Kalibatas, J., Paltanaviciene, A., Jascaniniene, N., and Stosik, M. (2007). Experimental studies on effect of sodium fluoride and nitrate on biochemical parameters in rats. BULLETIN-VETERINARY INSTITUTE IN PULAWY, 51(1), 79.

Zamzami, M. A., Baothman, O. A. S., Samy, F., and Abo-Golayel, M. K. (2019). Zamzami. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019.

Zand, J., Lanza, F., Garg, H. K., and Bryan, N. S. (2011). All-natural nitrite and nitrate containing dietary supplement promotes nitric oxide production and reduces triglycerides in humans. Nutrition Research, 31(4), 262–269.

Zavodnik, I. B., Lapshina, E. A., Rekawiecka, K., Zavodnik, L. B., Bartosz, G., and Bryszewska, M. (1999). Membrane effects of nitrite-induced oxidation of human red blood cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1421(2), 306–316.

Zhang, Y., Zhao, G., Cheng, P., Yan, X., Li, Y., Cheng, D., Wang, R., Chen, J., and Shen, W. (2019). Nitrite accumulation during storage of tomato fruit as prevented by hydrogen gas. International Journal of Food Properties, 22(1), 1425–1438.

Zheng, W., and Wang, S. Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(11), 5165–5170.

Abstract

The present study aims to know the effect of the cold aqueous extract of Cress seeds Lepidium sativum with two different concentrations against hepatic and renal damage induced by sodium nitrite (NaNO2) (E250) in male white rat by studying some physiological and biochemical parameters and histopathological changes.

The dosing process was carried out in the animal house of the College of Pharmacy / University of Karbala. As for the rest of the study steps, it was carried out in the laboratories of the College of Education for Pure Sciences - Department of Life Sciences / University of Karbala for the period from the beginning of September 2020 to the end of November 2020, 36 of the adult white rat were used. Randomly divided into six groups including (6 animals per group), their weights ranged from (200-220) gm and their ages ranged between (12-14) weeks and were dosed orally for 30 days. The first group (G1) dosed 1 ml of distilled water and counted a negative control group. The second (G2) dose of sodium nitrite at a concentration of 30 mg / kg of body weight after dissolving it with distilled water and returned a positive control group, As for the third groups (G3) and the fourth (G4), they were dosed with aqueous extract of cress seeds at a concentration of 350 and 550 mg / kg of body weight respectively. As for the two groups (G6 and G5), they were dosed with aqueous extract of Rashad seeds at a concentration of (550,350) mg / kg of body weight on Two hours before they were given sodium nitrite at a concentration of 30 mg / kg of body weight, respectively. Animals were sacrificed after completing the experiment period (30 days).

Oral dosing of male rats with sodium nitrite daily for 30 days resulted in a significant increase (P <0.05) in the mean level of liver enzymes (ALT, AST, ALP) and a significant decrease (P <0.05)) in the mean level of total protein, globulin and albumin, and a significant increase. (P <0.05)) in the mean level of urea, creatinine, malone dihyddehyde (MAD) and a significant decrease (P <0.05) in the mean level of glutathione (GSH) compared to the negative control group.

The histological changes in the liver were represented by central vein congestion, irregularities of the hepatic cords, enlargement of the sinuses, degeneration and necrosis of hepatocytes with severe infiltration of inflammatory cells, as it was found that there was a significant increase (P <0.05) in the average diameter of sinusoid, central vein and hepatocytes compared to the negative control group. As for the tissue changes of the kidneys, they were represented by severe atrophy in the size of the glomerulus and the increase of Bowman's space, with the presence of blood congestion and the breakdown of the urinary tubules with degeneration and thickening of the nucleus of the tubule cells and the shedding of their lining epithelium and infiltration of inflammatory cells, the occurrence of a significant decrease (P <0.05) in the average diameter of each of the tubule cells Proximal and distal twisted compared to the negative control group.

Oral dosing of rats with the cold aqueous extract of cress seed Lepidium sativum in the third and fourth groups (G4, G3) resulted in limited physiological changes to the functional criteria represented by a significant decrease (P <0.05) in the level of (P <0.05) in the level of the enzyme (ALT) for the fourth group and a significant increase (P <0.05). A slight decrease in the level of total protein and globulin for the third and fourth groups, and a

significant decrease (P <0.05) in the level of malone di aldehyde in the third and fourth groups, and a significant increase (P <0.05) in the level of glutathione in the fourth group compared to the negative control group. There were no histopathological changes to the liver and kidneys of both groups compared to the negative control group.

Oral dosing of rats with cold aqueous extract of cress seed Lepidium sativum in groups 5 and 6 (G6, G5) showed physiological changes to the functional criteria represented by a significant decrease (P <0.05) in the level of liver enzymes (ALT, AST, ALP) with a significant increase (P <0.05) in the level of total protein, globulin and albumin, and a significant decrease (P <0.05) in the level of urea and creatinine, also recorded a significant decrease (P <0.05) in the level of malone didehyde and a significant increase (P <0.05) in the level of glutathione compared to the control group. Cation. The histological changes of the liver tissue were in the fifth group, the central vein congestion with enlargement and congestion of the sinuses with regularity of part of the cords and hepatocytes and less infiltration in the inflammatory cells and there was degeneration in some hepatocytes. The liver and its nuclei with degeneration of some of its cells, where the tissue appears closer to the negative control group (G1) and the presence of a significant decrease (p <0.05) in the two groups of the average diameter of each of the hepatocytes, sinusoid and central vein compared with the positive control group (G2). As for the kidney tissue, it was represented by the presence of simple tissue changes represented by a slight expansion in the Bowman space and the glomerulus normal with a normal structure of some distal and proximal urinary tubules, shrinkage in the glomerulus and the appearance of a few alveoli with degeneration and necrosis of some urinary tubules compared with

the positive (G2) and negative control group (G1), and the presence of Significant increase ($p < 0.05$) in the mean diameter of the glomerulus, proximal convoluted tubule, and distal convoluted tubule compared with the positive control group (G2), respectively. We conclude from the current study that the cold aqueous extract of cress seeds at a concentration of 550 mg / kg has a higher significant effectiveness in reducing the toxic effects resulting from dosing of male white rat with sodium nitrite on the liver and kidney tissues and some functional parameters due to the presence of antioxidants in the cress seeds.

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
University of Karbala
College of Education for Pure Sciences
Department of biology

Effect of aqueous extract of cress seeds Lepidium sativum on some histological and functional parameters against toxic effects induced by sodium nitrite in male albino rats.

By

Maytham Ali Kareem AL-Hassnawi

B.Sc.Biology / 2005

A Thesis submitted to the College of Education Pure Science of Kerbala University as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Biology – Zoology

Supervised By

Assist. Professor. Dr.

Ashwaq Kadhem Obeid Altaie

Shaban 1442 A.H. March 2020 A.D.