جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

دراسة الدور الوقائي للمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات *Hibisus sabdariffa L.* على بعض المعايير الوظيفية والنسجية في ذكور الجرذان البيض المعاملة بكلوتاميت احادي الصوديوم

رسالة مقدمة

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

من قبل

سارة فاروق مجيد الطويل

بكالوريوس تربية علوم حياة ـ جامعة كربلاء / 2005

بإشراف

أ.م.د نصير مرزا حمزة

1443 هـ **2021م**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

سورة لقمان آية / 10

الإهداء

اهداء إلى منجي البشرية بالهدى والفرقان

الى حامل لوائه والعروة الوثقى

إلى أهل البيت الذين أذهب الله عنهم الرجس وطهّرهم تطهيرا

إلى عزي وفخري ... والدي الحبيب

إلى من أغرقتني بحنانها والدتي الحبيبة.....

إلى رمز الأمان وكنز الزمان...أخوتي علي.... مرتضى .... احمد

إلى كل من يحبني ويسعده نجاحي .....

زوجي العزيز اسامه

واطفالي احبائي زهراء ..... زيد

الى الأخت التي رزقتني بها الأيام .... فاطمة

الى كل من له حق عليَّ .....

اهدي هذا الجهد المتواضع .....

ساره

الشكر وتقدير

الحمد لله الذي دلني على ما يقربني اليه ووفقني لما يزلفني لديه واوزع لي ان اشكر نعمته وزاد لي حين شكرته والصلاة والسلام على حبيبه الامين وآله وصحبه الطاهرين , اكمالا لأنعم الباري علي واحسانه الي ووصولا الى نهاية دراستي هذه , اتقدم بوافر الشكر وجزيل الامتنان الى رئيس القسم المحترم الاستاذ المساعد **الدكتور نصير ميرزا** حمزة لاقتراحه موضوع البحث والذي لم يتوانى ولو للحظة في تقديم النصيحة والمشورة العلمية المبذولة و توجيهاته السديدة التي اثرتني وساهمت في انجاز هذا البحث .

كما اتقدم بجزيل الشكر وعظيم الامتنان لرئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة وقسم علوم الحياة لاتاحتهم الفرصة لي لاكمال دراستي الأستاذة **الدكتورة اشواق كاظم عبيد** التي لم تتوانى ولو للحظة في تقديم النصيحة والمشورة العلمية لي ولزملائي الباحثين فلم نجد منها سوى الصدر الرحب والخلق الطيب والعلم الغزير فجزاها الله خير الجزاء والاستاذ المرحوم **حسين علي عبد اللطيف** لجهده في اكمال هذا العمل قبل رحيله فأدعو ان يتغمده الله برحمته الواسعة و يجازيه اجرا واحسانا وغفرانا ((وَمَا تُقَدِّمُوا لِأَنفُسِكُم مِّنْ خَيْرٍ تَجِدُوهُ عِندَ اللَّهِ هُوَ خَيْرًا وَأَعْظَمَ أَجْرًا)) المزمل / آية 20.

ويسرني ان اتقدم بوافر الشكر وعظيم التقدير **للدكتور علاء حسين الصافي** و **الدكتورةهبة علوان عبدالسلام و الدكتور قيصر عبد السجاد محمد** لمساعدتي في اتقان الجانب العملي بجهد حثيث ومد العون لي ولجميع الباحثين والأستاذ المساعد الدكتورة نيبال امطيرا طراد لتفضلها بالتعرف على مستخلص النبات وتصنيفه لما قدموه لي من العون والجهد لتذليل الصعاب التي واجهتني اثناء الدراسة والى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة واخص بالذكر العاملين في قسم الدراسات الدكتور حازم غضيب كالط مدير قسم الدراسات والسيد نبراس عبد الأمير عيسى لما بذلوه معي من جهود حثيثة داعية الله ان يحفظهم ويوفقهم لما يحب ويرضى انه مجيب الدعاء.

كما اود ان اعبر عن امتناني وشكري للاخ الدكتور احمد نعمه الموسوي والاخ الدكتور علاء ماصخ زباله اللذين طالما تفانيا في تقديم النصيحة والدعم والإرشاد جزاهما عني خير الجزاء

كما اتقدم بجزيل الشكر للست فضاء عبد السادة الغزالي و الأخت رواء عبدالحميد عبد الشهيد والى جميع اساتذتي وزملائي وزميلاتي في قسم علوم الحياة والى جميع من اسدى لي عونا او معروفا او املا وتشجيعا ولم يرد ذكره وحضر فضله وعمله.

ساره

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية لمعرفة التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات الكجرات *Hibiscus sabdariffa* للحد من تأثير الاضرار الكبدية والكلوية التي تسببها المادة الحافظة كلوتاميت احادي الصوديوم Monosdium glutamate (MSG) في ذكور الجرذان البيض عن طريق دراسة بعض التغييرات الوظيفية والنسجية.

اجريت الدراسة في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة –جامعة كربلاء للمدة من شهر ايلول لسنة 2020 لغاية شهر شباط لسنة 2021 ، تم استخدام 40 من ذكور الجرذان البيض البالغة تراوح وزنها بين (280-400) غم قسمت عشوائيا الى ثمان مجاميع تضم (5 حيوانات لكل مجموعة) جرعت فمويا ولمدة شهر واحد ، عدت المجموعة الاولى G1 مجموعة السيطرة وجرعت فمويا وبشكل يومي بماء الحنفية والمجموعة الثانيةG2 جرعت فمويا بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز (mg/kg) 12 مذاب بالماء المقطر , والمجاميع الثالثة G3 والرابعةG4 والخامسة G5 جرعت فمويا بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز (mg/kg) 250 , 500 , 750على التوالي , اما المجاميع السادسة G6 والسابعة G7 والثامنة G8 فجرعت بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز (mg/kg) (250 , 500 , 750)على التوالي بعدها جرعت بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز (mg/kg) 12 بعد مرور (3-4) ساعات.

جمعت عينات الدم في المجاميع الثمانية بعد مرور شهر من التجريع وتم الحصول على مصل الدم لغرض قياس مستوى المعايير الوظيفية الاتية: مستويات انزيمات الكبد Aspartate transaminase (AST) و Alanine transaminase (ALT) و(Alkalinephosphatase ALP)) واليوريا (Urea) والكرياتنين (Creatinine)والكتروليتات الدم التي اشتملت على (ايون(Na) Sodium,ايونCalisum (Ca), ايون(K)Potassium ومؤشرات الاكسدة الانزيمية الاكسدة التي اشتملت على Maloaldialdehyde (MDA))ومضادات الاكسدة الانزيمية Catalase (CAT))وانزيم Superoxide dismutuse SOD والكلوتاثيون GSH .وقياس معايير الدهون Total cholestrol (TC))وTotal Triglyceride (TG))و البروتين الدهني العالي الكثافة HDL والبروتين الدهني الواطئ الكثافة LDL والتغيرات الوزنية فضلاً عن اخذ مقاطع نسجية للكبد والكلية لغرض دراسة التغييرات النسجية عليها، وقد حصلنا على النتائج التالية:

- ادى التجريع الفموي لحيوانات التجربة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم يوميا ولمدة 30 يوم ووظيفيا ونسجيا الى:

ووجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في كل من ALP,AST,ALT, ,واليوريا والكرياتنين وايون البوتاسيوم K وMDA وTC وTG وLDL وحصول انخفاض معنوي ($P<0.05$)في كل من ايون الصوديوم Na وايون الكاليسيوم Ca و HDL مضادات الاكسدة (GSH,CATSOD) مقارنة مع مجموعة السيطرة.

تغييرات نسجية في نسيج الكبد تمثلت باحتقان وتوسع شديد في الوريد المركزي مع عدم انتظام في الحبال الكبدية كذلك وجود احتقان وتوسع في الجيبانيات وارتشاح الخلايا التهابية مقارنة مع مجموعة السيطرة وتغيرات نسجية في نسيج الكلية تمثلت التغيرات بانكماش الكبيبات الكلوية و تحطم في الخلايا المبطنة لبعض النبيبات البولية وانسلاخ بطانتها مع ملاحظة وجود احتقان دموي وارتشاح للخلايا الالتهابية مقارنة مع مجموعة السيطرة..

- اما التجريع الفموي لحيوانات التجربة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات يوميا ولمدة 30 يوما لكن سجل تغيير في بعض المعايير الوظيفية أبرزها حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز كل من MDA وارتفاع معنوي($P<0.05$) في معدل تركيز GSH وCAT و SOD مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما لم تسبب تغييرات نسجية في نسيجي الكبد والكلى للجرذان المجرعة بالمستخلص بتراكيزه الثلاث مقارنة مع مجموعة السيطرة.

أظهرت نتائج المعايير الوظيفية للمجاميع الوقائية وحصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معايير الدهون التي اشتملت على TC و TGو LDL وانزيمات الكبد ALT وALP و AST واليوريا والكرياتنين وايون K وMDA مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة. وحصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في كل من ايون الصوديوم والكاليسيوم ومضادات الاكسدة HDL وSOD وCAT وGSH مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة.

- وبينت نتائج الفحص النسجي لانسجة الكبد والكلية في المجاميع الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات ساهم في تقليل التأثيرات السمية لكلوتاميت احادي الصوديوم ويظهر ان تركيز 750 ملغم \كغم من وزن الجسم هو افضل التراكيز المعتمدة في التراكيز الوقائية اذ ساهم في تقليل التأثيرات بشكل واضح مما جعل النسيج قيد الدراسة اقرب ما يمكن الى الحالة الطبيعية الا انه لم يمنع حدوث بعض التأثيرات السمية لكلوتاميت احادي الصوديوم في الجسم .ان دراستنا للنتائج الحالية الخاصة بالوزن تشير الى عدم استقرار الوزن اثناء التجربة مما يشير الى عدم ارتباط الوزن بالمجاميع المدروسة بالتقييم التي عانت منها الحيوانات على المستوى الوظيفي

والنسجي وقد يكون ذلك متعلق بطبيعة الغذاء المستخدم ومكونات العليقة المستخدمة وطول الفترة الزمنية للتجربة

نستنتج من الدراسة الحالية مدى فعالية المستخلص المائي لنبات الكجرات في كبح نشاط الجذور الحرة ومعادلة الاجهاد التاكسدي المستحث بالمادة الحافظة كلوتاميت احادي الصوديوم في نسيجي الكبد والكلية وبعض المعاييرالوظيفية في ذكور الجرذان البيض.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
	الخلاصة	I
	قائمة المحتويات	IV
	قائمة الصور	VI
	قائمة الاشكال	VII
	قائمة الجداول	VIII
	قائمة الملاحق	VIII
الفصل الأول: المقدمة		
1	المقدمة	1
الفصل الثاني: استعراض المراجع		
1-2	العائلة الخبازية او عائلة الخباز	4
1-1-2	نبات الكجرات: التصنيف العام	4
2-1-2	الأهمية الغذائية والصناعية لنبات الكجرات	5
3-1-2	الموطن الأصلي للنبات ومناطق زراعته وانتشاره	7
4-1-2	انواع النبات	8
5-1-2	الوصف العام للنبات	9
6-1-2	المركبات الكيميائية للنبات	10
8-1-2	المركبات الفعالة	11
2-2	المضافات الغذائية	12
1-2-2	تصنيف المضافات الغذائية	13
2-2-2	منكهات الطعا	13
3-2-2	كلوتاميت احادي الصوديوم	13
1-3-2-2	التركيب الكيميائي والخواص الفيزيائية للMSG	15
2-3-2-2	الاثار الجانبية لاستخدام MSG	16
3-3-2-2	تأثير الـ MSG على الكبد	17
4-3-2-2	تأثير ال MSG على الاجهاد التأكسدي	18
5-3-2-2	تأثير الـ MSG على نسيج الكلية	19
6-3-2-2	تاثير ال MSGعلى وزن الجسم	19
الفصل الثالث: طرائق ومواد العمل		
1-3	طرائق العمل	22
1-1-3	الأجهزة والمواد الكيميائية المستخدمة	22
2-1-3	حيوانات التجربة	24
3-1-3	جمع النبات المستخدم وتحضير المستخلص	25
4-1-3	تجريع حيوانات التجربة بكلوتاميت احادي الصوديوم	25
5-1-3	تصميم التجربة	25
2-3	الدراسة الوظيفية	28

1-2-3	جمع عينات الدم	28
2-2-3	تقدير تركيز المعايير الوظيفية والكيموحيوية في مصل الدم	28
1-2-2-3	تقدير تركيز انزيمات الكبد	28
2-2-2-3	قياس مستوى اليوريا Urea في مصل الدم	32
3-2-2-3	تقدير تركيز الكرياتنين	33
4-2-2-3	تقدير تركيز الكترولتيات الدم	34
5-2-2-3	تقدير تركيز انزيمات الاكسدة	38
6-2-2-3	تقدير تركيز الدهون	43
3-3	الدراسة النسجية	50
1-3-3	تحضر العينات للدراسة النسجية	50
2-3-3	تحضير الشرائح المجهرية	50
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة		
1-4	الدراسة الوظيفية	55
1-1-4	تاثير مجموعة مادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم \كغم في معدل بعض انزيمات الكبد لذكور الجرذان لمدة شهر واحد	55
2-1-4	تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض انزيمات الكبد في مجاميع المستخلص مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة	56
3-1-4	تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض انزيمات الكبد في المجاميع الوقائية مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة	56
4-1-4	تاثير المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم 12 ملغم / كغم في معدل مستوى بعض المعايير الكلوية لذكور الجرذان لمدة شهر واحد	58
5-1-4	تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض المعايير الكلوية في مجاميع المستخلص الثلاث مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة	59
6-1-4	تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض المعايير الكلوية في المجاميع الوقائية مقارنة مع مجاميع السيطرة الموجبة	60
7-1-4	تاثير المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم/كغم في تركيز مضادات الاكسدة لذكور الجرذان لمدة شهر واحد	61
8-1-4	تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على معايير الاكسدة في مجاميع المستخلص الثلاث مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة	63
9-1-4	تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على انزيمات الاكسدة في المجاميع الوقائية مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة	63
10-1-4	تاثر المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم / كغم من وزن الجسم في تركيز بعض معايير الدهون	65
11-1-4	تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض معايير الدهون في المجاميع المستخلص الثلاث مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة	66
12-1-4	تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض معايير	67

	الدهون في المجاميع الوقائية مقارنة مع مجاميع السيطرة الموجبة	
13-1-4	التغيرات الوزنية	68
2-4	الدراسة النسجية	71
1-2-4	نسيج الكبد	71
1-1-2-4	تأثير المعاملة بمادة احادي كلوتاميت الصوديوم	71
2-1-2-4	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق نبات الكجرات	75
3-1-2-4	الفعالية الوقائية للمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات	78
2-2-4	نسيج الكلية	81
1-2-2-4	تاثير المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم	81
2-2-2-4	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات	85
3-2-2-4	الفعالية الوقائية للمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات	87
الاستنتاجات والتوصيات		
	الاستنتاجات	91
	التوصيات	92
المصادر		
	المصادر العربية	93
	المصادر الاجنبية	95
الملاحق		112

قائمة الصور

التسلسل	الصورة	رقم الصفحة
2-1	نبات الكجرات	9
1-3	جهاز المايكروتوم وعملية التقطيع النسيجي	51
1-4	مقطع عرضي للكبد (نسيج الكبد) لمجموعة السيطرة السالبة	72
2-4	مقطع عرضي لنسيج الكبد في المجموعة المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم / كغم من وزن الجسم	73
3-4	مقطع عرضي لنسيج الكبد في المجموعة المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم / كغم من وزن الجسم	73
4-4	لمقطع عرضي لنسيج الكبد في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 250 ملغم/كغم من وزن الجسم	75
5-4	مقطع عرضي لنسيج الكبد في ا لمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 500 ملغم/كغم من وزن الجسم	76
6-4	مقطع عرضي لنسيج الكبد في لمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 750 ملغم/كغم من وزن الجسم	76
7-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات بتركيز 250 ملغم / كغم مع مادة كلوتاميت احادي الصوديوم MSG بتركيز 12	78

	ملغم /كغم من وزن الجسم	
8-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات بتركيز 500 ملغم / كغم مع مادة MSG بتركيز 12 ملغم/كغم من وزن الجسم	79
9-4	مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي بتركيز 750ملغم / كغم من وزن الجسم مع مادة بتركيز)12ملغم / كغم من وزن الجسم	80
10-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية لمجموعة السيطرة السالبة	82
11-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم 12 ملغم / كغم من وزن الجسم	83
12-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم 12ملغم / كغم من وزن الجسم	83
13-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي 250 ملغم / كغم من وزن الجسم	85
14-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي 500 ملغم / كغم من وزن الجسم	86
15-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات 750 ملغم / كغم من وزن الجسم	87
16-4	رقم مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي للكجرات 250 بتركيز ملغم / كغم من وزن الجسم مع مادة MSG بتركيز 12ملغم / كغم	88
17-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي للكجرات 500 ملغم / كغم من وزن الجسم كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم / كغم	88
18-4	مقطع من نسيج الكلية للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي للكجرات 750 ملغم / كغم مع كلوتاميت احادي الصوديوم 12 ملغم / كغم	89

قائمة الاشكال

التسلسل	الشكل	رقم الصفحة
1-2	الصيغة الكيميائية لمركب كلوتاميت احادي الصوديوم	16
1-3	تصميم التجربة	27

قائمة الجداول

التسلسل	الجدول	رقم الصفحة
1-2	المركبات الكيميائية لنبات الكجرات	11
2-2	الأسماء المختلفة للـ MSG	14
3-2	تراكيز الـ MSG	15
1-3	العدد والمواد الكيميائية المستخدمة في القياسات الخاصة بالدراسة الحالية	22
2-3	الأجهزة والادوات المختبرية المستخدمة في الدراسة الحالية حسب المنشأ	23
3-3	مكونات العليقة المعطاة أثناء مدة الدراسة	24
1-4	معدل مستويات بعض الانزيمات الكبدية لمجموعة مادة MSG ومجموعة المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بمادة MSG لذكور الجرذان بعد تجريعها فموياً ولمدة شهر واحد	57
2-4	معدل مستويات بعض الانزيمات الكلوية لمجموعة مادة MSG ومجموعة المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بمادة MSG لذكور الجرذان بعد تجريعها فموياً ولمدة شهر واحد	61
3-4	معدل مستويات مؤشرات مضادات الاكسدة لمجموعة مادة MSG ومجموعة المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بمادة MSG لذكور الجرذان بعد تجريعها فموياً ولمدة شهر واحد	64
4-4	معدل مستويات بعض Lipid profile لمجموعة مادة MSG ومجموعة المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بمادة MSG لذكور الجرذان بعد تجريعها فموياً ولمدة شهر واحد	67
5-4	الاوزان لمجموعة مادة MSG ومجموعة المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بمادة MSG لذكور الجرذان بعد تجريعها فموياً ولمدة شهر واحد	69

قائمة الملاحق

التسلسل	الملحق
1	تركيز انزيم (AST) في مجاميع التجربة
2	يبين تركيز انزيم (ALP) في مجاميع التجربة
3	تركيز (ALT) في مجاميع التجربة
4	تركيز اليوريا في مجاميع التجربة
5	تركيز الكرياتنين في مجاميع التجربة
6	تركيز ايون الصوديوم في مجاميع التجربة
7	تركيز ايون البوتاسيوم في مجاميع التجربة
8	تركيز ايون الكالسيوم في مجاميع التجربة
9	تركيز انزيم GSH في مجاميع التجربة
10	تركيز SOD في مجاميع التجربة
11	تركيز CAT في مجاميع التجربة
12	تركيز MDA في مجاميع التجربة
13	تركيز LDL في مجاميع التجربة
14	تركيز HDL في مجاميع التجربة
15	تركيز TC في مجاميع التجربة
16	تركيز TG في مجاميع التجربة
17	مجاميع الوزن في مجموعة السيطرة السالبة G1 ومجاميع المستخلص (G3, G4, G5) قبل وبعد انتهاء التجربة
18	مجاميع الوزن في مجموعة السيطرة الموجبة G2 والمجاميع الوقائية (G6, G7, G8) قبل وبعد انتهاء التجربة

الفصل الأول

المقدمـة

Introduction

1. المقدمة Introduction

النباتات الطبية

تضم المملكة النباتية العديد من الأصناف النباتية التي تعد مصدرا لا ينضب للكثير من النواتج الطبيعية. ذات التأثير التثبيطي لأنواع مختلفة من الامراض فهي بالإضافة الى كونها مصدرا غذائيا للإنسان والحيوان فان منقوعها ومستخلصاتها وتستخدم في معالجة العديد من الامراض التي تصيب الانسان والحيوان وبذلك تعد من النعم التي انعم الله بها على الإنسان اذ تعد غذاء ودواء في الوقت نفسه ومن هذا المنطلق بدا الكثير من العلماء والباحثين بالعديد من المحاولات للحصول على المنفعة الكاملة من هذه النباتات فقد استخدمت جذور واوراق وبذور وازهار هذه النباتات بالإضافة الى منتجاتها النباتية الأخرى كدواء للعديد من الامرا ض منذ اقدم العصور وحتى الان اذ استخدمت هذه النباتات في علاج حالات المغص الكلوي ونزلات البرد وارتفاع درجة حرارة الجسم والعديد من الامراض الاخرى المختلفة (Akeil,2006) .(Al-Shamma & Mitscher,1975),

نتيجة لذلك احتلت النباتات الطبية مكانة مميزة وكبيرة في الإنتاج العالمي لما تحتويه من مركبات كيميائية ذات اهمية كبيرة في أثرها الوظيفي ونشاطها العلاجي للإنسان والحيوان فأصبح من الضروري تحقيق نتائج إيجابية في أبحاث النباتات الطبية لضمان الحصول على معلومات دقيقة حول فعاليتها الطبية (Saad *et al* ,2017).

اشتملت التأثيرات المفيدة للأعشاب الطبية على دورها الوقائي من الاضرار التأكسدية ومنع حدوث الامراض المختلفة التي يمكن ان تحدث بسبب الاجهاد التأكسدي oxidative stress مثل السرطان والسكري والزهايمر اذ يؤدي هذا الضرر سواء كان في الخلايا او الانسجة الى نشوء بعض الامراض المختلفة عند الانسان، نتيجة لحدوث اضرار كبيره في مكونات الخلية الحيه كالدهون lipid والبروتينات protein والكربوهيدرات carbohydrates والاحماض النووية RNA,DNA مسببة بيروكسيد الدهون lipid peroxidationوتحطيم الحامض النووي فضلا عن دورها في تلف البروتينات النووية .(Tsao *et al*,2004)

تشير العديد من المصادر امتلاك العراق ثروة نباتيه هائلة وإذ ان الموسوعة النباتية العراقية غنيه بالنباتات والأعشاب الطبية المتنوعة. اذ يعد الكجرات الذي يسمى بالإنكليزية

(rosella) ويسمى علميا (*Hibiscus sabdariffa* L.) من النباتات الطبية الحولية والعشبية ويعود الى العائلة الخبازية (Mavaceae) ويستخدم في صناعة الجلي والصلصات والحساء وغالبا ما يتم تناوله بهيئة مشروبا ساخن او بارد .(الصراف ,1991), Al-Rawi & chakaravarty,1964).

اكدت العديد من الدراسات على ان قابلية شراب نبات الكجرات او الشاي الأحمر كما هو متعارف عليه بالعراق بساهم في علاج العديد من الامراض، التي ازداد انتشارها في وقتنا الحالي والتي منها حصى الكلى بسبب تأثيره على حامض البوليك كذلك على تقليل مستوى الدهون الكلي total lipids والكوليسترول cholesterol والدهون الثلاثية الى جانب قدرته على خفض ضغط الدم وحماية الكبد من العوامل المؤكسدة ; prasongwatana *et al*,2008) Hirunpanich *etal*, 2006).

من جانب اخر اشارت العديد من الدراسات الى التأثير لشاي الكجرات (المستخلص المائي) الكابح للأمراض السرطانية والتي منها سرطان المعدة والمثانة والقولون والكبد والفم (Tsai *et al*, 2002 ; Ali *et al*,2005)

كما يساهم في زيادة فعالية الكلى ومسكن لالام التهاب المجاري البولية ويعد من المدررات الجيدة الى جانب فعاليته في تقليل مستوى السكر في الدم ويمنع حدوث السمنة. (Alarcon Aguilar *et al*,2007 ; Rosemary *et al* ,2014).

تاتي الأهمية الطبية للمستخلص المائي لنبات الكجرات من احتواء هذا النبات على العديد من المواد الفعالة والتي تم الكشف عنها من خلال الدراسات السابقة، اذ يحتوي على مركبات الرايبوفلافين وحامض الاسكوربيك فيتامين C والنياسين والكاروتين والكاليسيوم Ca والمعادن وبعض المعادن المهمة للجسم مثل البوتاسيوم كما يحتوي على حبيبات الانثوسيانين التي تمنح النبات لونه الأحمر والتي تساهم في حماية الجسم من امراض والامراض المزمنة. (Morazzoni&Bombardelli,1996 ; Qi *et al* ,2005).

انتشر في وقتنا الحالي تناول العديد من المواد الغذائية خصوصا المعلبة منها بعد ان كان الفرد يحصل عليها بشكلها الطبيعي والطازج، وان تلك المواد المعلبة مخزونة لفترات زمنية طويلة الأمر الذي تطلب معاملتها بالعديد من المواد للحفاظ على جودتها وعدم تعرضها للتلف.

ويعد (MSG) واحد من أكثر المواد الحافظة حول العالم استخداما فهو يحسن الطعم الى جانب قدرته على الحفاظ على تلك المواد لمدةٍ طويلة من خلال منع نمو العفن والبكتريا فيها . (Husarova& Ostatnikova,2013).

من جانب اخر تشير الدراسات المتعلقة بالمضافات الغذائية الى ان الكثير من المضافات الغذائية تكون سامة للجسم ومحدثة للأمراض السرطانية الامر الذي يدعو الى الرجوع الى منظمة الصحة العالمية للتأكد من سلامة استخدامها. (Flumer, 2008).

ان استخدام ال MSG في حفظ الأغذية وتحسين الطعم يرافقه العديد من المخاطر الصحية خصوصا ان تلك المواد تستخدم في الأغذية تحت مسميات مختلفة منها الجلوتومات (Ajinomoto) وغيرها. اذ يوضع في القائمة الغذائية كمنكه (Flavoring) في العديد من الأطعمة مثل الاكلات السريعة والأغذية المجمدة والشوربات والبطاطا المقلية والشيبسي وغيرها من الأطعمة. (مجيد واخرون ,2016).

الهدف من الدراسة:

ان الدراسات التي تناولت البحث في التأثيرات الجانبية والسمية لاستخدام ال MSGبتراكيز مختلفة كمواد منكهة للطعام اثبتت تأثيراته السمية على نسيجي الكبد والكلي الامر الذي شجع على اجراء هذه الدراسة التي تهدف الى بيان الدور الوقائي للمستخلص المائي لاوراق لنبات الكجرات بجرع مختلفة لغرض في التقليل او كبح التأثيرات السمية لاحادي غلوتومات الصوديوم في الجرذان البيضاء من خلال دراسة:

1. دراسة تراكيز انزيمات الكبد ALP وAST وALT
2. دراسة معايير الكلية ايون الصوديوم وايون البوتاسيوم ووايون الكالسيوم واليوريا والكرياتنين.
3. دراسة مؤشرات الاكسدة MDA ومضادات الاكسدة SOD وCAT وGSH.
4. دراسة معايير الدهون TC،TG ،LDL، HDL.
5. دراسة التغيرات النسجية في الكبد والكلى.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

1-2 العائلة الخبازية او عائلة الخباز

نباتاتها اعشاب وشجيرات او أشجار ذات عصير غروي او لزج وهي مكسوة بشعيرات نجمية الشكل. الأوراق متبادله وبسيطه وكفيه التعرق وذات اذينات حرشفيه او مفقوده. الازهار شعاعيه التناظر، ثنائية الجنس ومرتبة في نورات زهرية ابطية مفردة او محدودة النمو وهي ذات أجزاء خماسية عادة. الكاس مؤلف من (5) أجزاء متحده قاعديا عاده وله ماتسمى بفوق الكاس epicalyx التي تعتبر قنابات او قنابات واذينات. (Forno, 1992)

التويج مؤلف من (5) أجزاء منفصلة او متحدة جزئيا عند القاعدة وتتحد مع قاعده العمود السدري وتكون أوراق التويج ملفوفة داخل البرعم الزهري. الأسدية عديدة ومتحدة عن طريق الخويطات في مجموعة سدوية واحدة مكونة أنبوب يحيط بالمدقة , اما المتوك فكلوية الشكل وكل منها وحيد الفص والغرفة. جهاز التانيث مكونه من مدقة واحدة ذات (5-عديدة) الكربلات المتحدة والمبيض مرتفع وذو غرف بعدد الكربلات عادة , القلم مفرد ويخترق العمود السدري متفرعا بفروع تنتهي بمياسيم بعدد الكربلات المكونة للمدقة . الثمره منشقه اوعلبه ونادرا طريه. البذرة محاطة بشعيرات كليا اوجزئيا او عديمة الشعيرات وهي ذات جنين مستقيم او منحني وسويدات زيتية او معدومة. (الموسوي، 1987; الموسوي ،2000)

1-1-2 نبات الكجرات: التصنيف العام

النبات المستعمل بالدراسة:

الاسم العربي الكجرات , الكركديه , الشاي الاحمر

الاسم العلمي Scientific Name: *Hibiscus Sabdariffal*

االاسم الإنكليزي English Name: Rosella

المملكة:النباتات البذرية Kingdom: Spermatophta (seed plants)

الشعبة: النباتات الزهرية Phylum: Angiosperms (flowering plant

الصنف: ذوات الفلقتين Class: Dicotyledons

الرتبة: الخبازيات Order: Malvales

العائلة: الخبازية Family: Malvaceae (Mallow Family)

الجنس والنوع: Genus*: Hibiscus Sabdariffal*

(الكاتب , 2000)

2-1-2 الأهمية الغذائية والصناعية و الطبية لنبات الكجرات :

يعد نبات الكجرات من النباتات المهمة من الناحية الغذائية والصناعية , فيستخدم هذا النبات في تحضير شراب احمر منعش ذو طعم حامضي مميز فه مشروب شعبي في العديد من دول لعالم مثل الهند وأستراليا والعراق وافريقيا (Azooz ,2009) .

اما من الناحية الصناعية فيدخل في صناعة مجالات عده منها: مادة غذائية طبيعية ملونة كما يستخدم كذلك في حفظ اللحوم (Onibi and Osho ,2007) بالإضافة الى صناعة منتجات الالبان (Iwalokun and Shittu ,2007) كما يدخل في صناعة مستحضرات التجميل بسبب احتوائه على العديد من الموا د الفعالة بايلوجيا مثل البولي فينول الذي يعمل على معالجة التصبغات والبقع التي تظهر على الجلد نتيجة التعرض لاشعة الشمس (Shavandi *etal* ,2018)وشامبو الشعر اذ يعزز من نموه وفي صناعة الصابون (Kilic and Aslan ,2011). يعد نبات الكجرات او الشاي الأحمر من النباتات الطبية التي لها أهمية منذ القدم لعلاج الامراض والمشاكل الصحية التي يواجهها الانسان اذ كان يستخدم من قبل الفراعنة منذ الاف السنين قبل الميلاد فزرعوه هذا النبات واستعملوا ازهاره كشراب مسكن لعلاج الام الراس وطارد للديدان (حسين وجماعته ,1994) اذ أشار الطب الشعبي الى دوره لفعال في تحسين ووقاية من مرض ضغط الدم المزمن اذ يعمل على تقوية عضلة القلب والشرايين القريبة منه فيستخدم في تقليل اثر مرض تصلب الشرايين (Odigi *etal* ,2003) كما يعمل على خفض نسبة لزوجة الدم وذلك من خلال عمله في تقليل ضغط الدم الانقباضي والانبساطي (Kuriyan *etal* ,2010) .كما يستعمل لعلاج اضطرابات الجهاز الهضمي والاضطرابات المعدية المعوية (Geat,1999) كما انه مضاد اكسدة فعال بفضل احتواء النبات على الصبغة الحمراء الانثوسيانين اذ يحسن من العديد من الوظائف الاستقلابية للكبد اذ تبين ان صبغة الانثوسيانين الموجودة في المستخلص المائي لها أثر وقائي ضد تسمم الكبد Hepatotoxicity يتمثل في مقاومة اكسدة الجذور الحرة في انسجة الكبد(Akindahunsi&Olaleye,2003) كما انه يؤدي دورا وقائيا ضد مرض ارتفاع الدهون في الكبد (Lin *etal* ,2007)ومن ضمن المركبات الفينولية المهمة هوالمركب الفينولي protocatehenic acid (PCA) وجد ان لهذا المستخلص تاثيرا هاما ضد نمو الأورام

السرطانية بمكافحة الجذور الحرة كما يعمل أيضا ضد تليف الكبد من خلال إزالة التاثير الضار لمركب رابع كلوريد الكاربون CCL_4 (Dahirue *etal* ,2003). ان لخلاصة الأوراق الكاسية تاثيرات علاجية للبكتريا مثل بكتيريا السل ولديها القدرة عل قتل السلالات البكتيرية المتمثلة بجنس Bacillusو E.coli فضلا على انه مضاد للمايكروبات و الفطريات antifungal إضافة لدوره في علاج الحمى والكوليرا. (Cho *etal* ,2009)

كما يحسن مشروب نبات الكجرات من وظائف الكلية اذ يؤدي دورا هاما في تنظيم سوائل الجسم كحجم السائل داخل وخارج الخلية وافراز فيتامين D في الجرذان البيض (Odigie *etal*,2003)كما انه يحسن الفعالية الحيوية للكلى ومدر للبول (Morton ,1998) وهو يفيد في الوقاية من مرض النقرس.

كما يعمل على خفض مستوى الكوليسترول في الدم اذ يستطيع لعب دور كبح زيادة نسبة الدهون ويثبط اكسدة الدهون في ذكور الجرذان البيض.(Biswas *etal* ,2014)كما يقلل المستخلص المائي امتصاص الدهون ووزن الجسم ويمنع حدوث السمنة وتجمع الدهون ويقلل من مرض تشمع الكبد في الفئران المسمنة (Chang *etal* ,2006)ويحسن العديد من الوظائف الايضية والاستتباب الحيوي Biostatsisويحسن من وظائف الكبد في الجرذان البيض(Emelike *etal* ,2014)كما يستعمل كمضاد اكسدة فعال بفضل احتواء ازهاره على الصبغة الحمراء حبيبات الانثوسيانين (Chang *etal* , 2006) كما يساعد على امتصاص الحديد ومعالجة مرض الدم الناتج عنه (Naidu , 2003)

كما يستعمل مستخلص نبات الكجرات كمضادات اكسدة طبيعية بسبب احتواءها على العديد من المركبات المهمة في هذا المجال مثل الانثوسيانين التي تملك تاثيرا وقائيا ضد تسمم الكبد كما يقي من البكتيريا الضارة بالحيوانات المنوية في الجرذ السكري (Idris *etal* ,2012) والحامض الفينولي protocatechuic acid ا لذي اكدت دراسة سابقة دوره الفعال كمضاد على تثبيط عوامل الاكسده المختلفة فضلا عن كونه مضاد لنشاط الطفرات (Liu *etal* ,2002) كما ان اشارت دراسة أخرى لدوره الوقائي لناجم عن السمية الخلوية والجنينية بميكانيكيات مختلفة (Tesng *etal* ,1997) كما يؤدي حامض الاسكوربيك فيتامين C دورا مهما في هذا المجال اذ يساهم في علاج الزكام ونزلات البرد بالإضافة الى علاج تقلصات كل من الرحم والامعاء .(Burger &Sherwood ,1998)

كما انه يستخدم كصبغة طبيعية لتصبيغ blood film والفطريات والانسجة النباتية المختلفة. (AL-Sarraj *etal* ,1997) كما انه يعد مسكن للآلام ومساعد للهضم (Osuntogun&Aboaba,2004)

ومن الأسماء الشائعة:

العراق / كجرات

المملكه المتحدة / rosila

فرنسا / Iosille

اسبانيا / Jamaica

إيران / sour tea

السعوديه / الغجر

مصر / كركديه

نايجيريا / zoba

الصين / rose tea

(Akinadahunsi & Olaleye, 2003)

3-1-2 الموطن الأصلي للنبات ومناطق زراعته وانتشاره

يعد الموطن الأصلي لنبات الكجرات هو المنطقة الاستوائية وغرب افريقيا وقد انتشر هذا النبات على نحو في كافة انحاء العالم والعديد من المناطق الاستوائية من الكرة الأرضية (Tindall,1983). ونظرا لاهميته الغذائية والطبية والاقتصادية فقد انتشرت زراعتة في معظم مناطق العالم في افريقيا وجنوب اسيا وبعض المناطق الاستوائية لامريكا ومن اكثر البلدان العربية المنتجة له مصر والصومال والسودان (عمران ,1988) وتنتشر زراعته في العراق في المنطقة الوسطى وخاصة محافظة القادسية وقد زرعت لأول مرة في العراق قبل اكثر من سبعين عاما في قرية الشافعية الواقعة في قضاء السنية بمحافظة القادسية بعد ان قام احد الحجاج بجلبها معه من السعودية (الفهداوي ,2014) وظلت زراعته محصوره في هذه المحافظة على الرغم من محدودية الأراضي في الوقت الحالي كما اصبح مقبولا لدى المستهلك في المحافظات العراقية فضلا عن ذلك فهو يشكل دخلا إضافيا لدى المزارعين وتقدر انتاجيتة في العراق (400-

800)كغم هكتارا (الصراف ,1991) وهو من نباتات النهار الطويل اذ يحتاج الى حوالي 13 ساعة اضاءة يوميا ليدفع النبات للتزهير (صبحي ,2005)

يعد نبات الكجرات من المحاصيل الصيفية تجود زراعته في المناطق التي تتراوح درجه الحرارة فيها بين (28-35) درجة مئوية والرطوبة النسبية 65% على مدار السنة جيث يحتاج بين (7-8) شهر من الزراعة الى الحصاد وتجنى ثماره بين شهري تشرين الثاني وكانون الأول ويعد نبات الكجرات من النباتات المتأقلمة مع درجات الحرارة الا ان الجفاف يؤدي الى حصول قلة في الحاصل وانخفاض جودة الأوراق الكاسية اذ يحتاج النبات الى حوالي 130-200 ملم من معدل الامطار الشهرية الساقطة خلال الأشهر الأولى من النمو , بصورة عامة تعتمد نوعية الإنتاج لنبات الكجرات على نوعية البذور والظروف البيئية السائدة . (Plotto , 2004) وهو يتاقلم مع أنواع الترب المختلفة فهو يزرع في الترب الثقيلة نسبيا وللحصول على مردود اقتصادي افضل يفضل الترب الخفيفة المزيجية الخالية من الاملاح والمجهزة بالمواد المعدنية والعضوية الغذائية المختلفة والضرورية للنبات كما انه من النباتات المتاقلمة مع درجات الحرارة المرتفعة في مراحل النمو المختلفة (Tomes,1990)

4-1-2 أنواع النبات

يوجد من نبات الكجرات عدد كبير من السلالات التي يمكن تقسمها اما تبعا لطبيعة نموها او استخدامها النهائي فيصنف النبات الى 3 أصناف رئيسية هي:

1. الصنف القزمي *Hibiscus sabdarifavar.sabdariffa*

وهو النوع الأكثر انتشارا يشمل كل السلالات التي تكون متفرعة بصفة عامة ذات لون احمر وتزرع بغرض الحصول على الكؤوس الملونة وتندرج تحت هذا الصنف الأحمر الداكن كما يمكن الحصول منه على الالياف كناتج ثانوي يتميز بقصر سيقانه وغزارة تفرعاته وازهاره الكبيرة ذات كؤوس سميكة لونه احمر

2. الصنف الطويل *Hibiscus sabdariffavar. altissima*

ويشمل هذا الصنف على سلالات أطول من الأولى غير متفرعة ولا تؤكل كؤوسها، وتزرع أساسا لغرض الحصول على الالياف من سيقان النبات

3. النوع الثالث هو الأقل انتشارا يمتاز لون نبات الكجرات باللون الأخضر (Barhe&Tchouya,2015)

5-1-2 الوصف العام للنبات

يعد نبات الكجرات من الشجيرات الحولية الصيفية يعود الى العائلة الخبازية Malvaceae يتميز بقلة تفرعه ونموه الراسي اذ يصل ارتفاعه الى مترين تقريبا اعتمادا على الصنف ساق وأفرع النبات ذات لون اخصر مائل للحمره غزيرة التفرعات (فهد,2009)

أوراقه بسيطة متبادلة كفية مفصصة الشكل بحافة مسننة ذات لون اخضر محمر وعروق طويلة وعنق طويل يبلغ طولها 15 سم وعرضها 7سم الازهار مفردة سميكة تقع داخل ابط الأوراق بلون ابيض او احمر وهناك أنواع بلون احمر مخطط تتكون الزهرة من أوراق كاسية كبيرة سميكة متشحمة عصيرية حاوية على ثمار بهيأة كبسولات تحوي بداخلها على على بذور بنية اللون كلوية الشكل مجعدة الملمس بلون بني غامق (السعدي ,2006)

يتكون الكاس من 5 سبلات يبلغ طولها 12 سم تكبر السبلات وتتضخم عقب تفتح الزهرة، ويتكون التويج من 5 بتلات يبلغ طول كل منها (3-5) سم تتحد الاسدية معا لتكون انبوبة يبلغ طولها (1-5) سم , يتكون الميسم من 5 فصوص والتلقيح الذاتي هو السائد (Schippers,2000)

صورة (2-1) توضح نبات الكجرات ا.(albayan.2020) .

6-1-2 المركبات الكيميائية للنبات

يحتوي ا جزاء نبات الكجرات على مكونات غذائية رئيسة ذات أهمية صحية وعلاجية هائلة وغذائية وصناعية اذ يوضح التحليل الغذائي لنبات الكجرات Roselleعلى الكاربوهيدرات carbohydratesبنسبة 68%المتكونة من الياف خام بنسبة 14.8%كما يحتوي على العديد من المعادن المهمة مثل الحديد والمغنسيوم والفسفور والكاليسيوم والصوديوم كما يحتوي على بعض الفيتامينات مثل فيتامين ج (حامض الاسكوربيك) والنياسين والـ pyridoxine (Luvonga *etal* ,2012) .الأوراق الكاسية لنبات الكجرات غنية ب مركبات الفينول التي تتضمن المركبات الاتية gossypectin, glucoside, bibiscin, hibiscus anthocyann (and protocatechuic acid, ومركبات البولي فينول مثل الفلافونويد(Rosendiz-Lopez *etal* ,1998). وتحتوي بذوره على نسبة من الزيت مشابه للزيت المستخرج من بذور القطن بحدود 20-25% الذي يمكن استخدامه غذاء للانسان (Louis *etal*,2013). يحتوي 100غم من شراب نبات الكجرات على 49 سعرة حرارية مع كمية كبيرة من الالياف تبلغ تقريبا 2.3 غم (العواجي ,2006) كما يحتوي على حبيبات الانثوسيانين المسؤولة عن اللون الأحمرفي النبات بالإضافة الى (yaniding-3-Sambubioside,Delphinidine-3-Sambubiosid,delphinidin-3-glucose) (Hong&Wrostlad,1990) .إضافة الى احتواءه على بعض الاحماض العضوية مثل حامض الماليك Malic acidوحامض الترتاريك Tartaric acidوحامض الستريك بالإضافة الى احماض اروماتية Aromatic acidكما ان الأوراق الكاسية عالية المحتوى بحامض الرايبو فلافين riboflavin،Niacin هذه الحوامض من الحوامض التي تعطي النبات طعمه الحامضي المميز بنسبة3.3-4% (شمخي وجماعته,2012) إضافة الى البروتينات proteins المتكون من احماض امينية أهمها اللايسين والكلوماتيك واللوسين (Hainida *etal* ,2008) .

جدول (2-1) يوضح المركبات الكيميائية لنبات الكجرات: (Ali,2000) .

المكونات	النسبة المئوية
بروتين	%1099
كاربوهيدرات	%71.93
رطوبة	%5.65
رماد	%7.38
الياف	%9.25
دهون	%3.80
المعادن	بوحدات mg/g
كالسيوم	100
حديد	9.55
بوتاسيوم	120
صوديوم	40
مغنيسيوم	80
النحاس	0.90
منغنيز	0.60
نيكل	0.56

2-1-7 المركبات الفعالة

تتباين أصناف نبات الكجرات. في نسبة محتواها من المركبات الكيميائية الفعالة بسبب الاختلاف في الأنواع والتركيب الوراثي والظروف البيئية وظروف الحصاد (Atta,2003) اذ تتواجد المواد الكميائية الفعالة في جميع أجزاء النبات وهذا يوفر للنبات أهمية صيدلانية وعلاجية قيمة اذ يحتوي المستخلص المائي للأوراق الكاسية على العديد من المركبات الفعالة المهمة مثل الفينولات التي تعمل على حماية مكونات الخلية من اضرار الاكسدة المختلفة (Ali *etal* 2003,) اذ يعمل على التقليل من عملية بيروكسيد الدهون lipid perodxidation(LOP) وزيادة فعالية انزيمي CAT و SO D (كما تساهم في تجديد مضادات اكسدة الغير انزيمية antioxidants مثل فيتامين C وفيتامين E كما تعمل على زيادة تركيز GSH وإذ تمتلك

الفينولات تاثير مضاد للالتهابات ويمنع الموت المبرمج لخلايا الكبدية Pereze-Torres (,20O4). اوجد تشخيص المكونات الفعاله لنبات الكجرات الأداء العالي لسائل الكروماتو كرافي ان النبات يتالف من 1.39 % من الفلافونويدات و 2.48 % من الانثوسيانين و 1.67 % من مركبات الفيونولات التي تتضمن كل من مركب 9.86% catechin حامض ال protocatechuic acid(8.62%) ومركب epigallocatechin بنسبة 10.11% و epigallocatechin gallate بنسبة 20.34% كما ان الصبغة الحمراء الانثوسيانين تتضمن المركبين الكيميائين delphinidin بنسبة 79 % و cyaniding بنسبة 18 %(Lin *etal*, 2005) .

تبلغ الجرعة الفموية النصف قاتلة LD50 Acute toxicityللاوراق الكاسية لنبات الكجرات للجرذان المختبرية 5000 mg /kgبحسب ما اشارت (Onyenekwe *etal* ,1999)

2-2 المضافات الغذائية

تعرف المضافات الغذائية بانها المواد التي تضاف الى الطعام اثناء عمليات التصنيع او الخزن وتكون ذا قيمة غذائية قليلة او خالية منها في اغلب الأحيان (WHO ,2012) وهناك أكثر من 2800 نوع من هذه المواد تعرف ب E Numberوهي اما مصنعة او طبيعية (William &Carl ,2000) فهي لا تستهلك كغذاء بحد ذاتها او كمكون غذائي الانها تؤثر على خواص الطعام وتضاف الى الغذاء المصنع اما بقصد التخزين او او التغليف او للتعبئة او تحسين الطعم (حلابو & بخيت ,2010) .تؤدي المضافات الغذائية دورا واضحا وحيويا عند تجهيز الغذاء اليومي عند مستوى معين ولكن الزيادة منها يودي الى دور سلبي وخطير في صحة المستهلكين ولذلك اتجهت منظمات دولية عدة في التقصي عن اثار استخدام هذه المواد وبانها امنة على الصحة عند تناولها (Abuelgasim& Elmahdi ,2008) .تستخدم هذه المواد لأغراض متعددة منها الحفاظ على جودة المنتج ,الحفاظ على نوعية الغذاء ,وجعل الغذاء اكثر جذبا للمستهلك بطريقة غير مضللة مع توفر العناصر الأساسية المساعدة في الأغذية المضافة و تكمن خطورة هذه المواد بان تاثيرها على جسم الانسان لا يظهر سريعا وانما بشكل تراكمي لفترة زمنية طويله كما ان خطورتها تكون اكثر ضراوة على الأطفال الذين يتناولون الحلويات (الشيبس والجيلاتين) التي تضاف لها هذه المواد (جون ولويس ,1985)وبالأخص الأطفال الرضع وحديثي الولادة اكثر الفئات حساسية للغذاء المعالج بسبب نمو الانسجة السريع وعدم نضوج الجهازالعصبي والجهازالمناعي لديهم بشكل كامل لذلك يفضل عدم تناول الأمهات

الحوامل والمرضعات لهذه الأطعمة food additives لانها قد تنتقل عبر المشيمة الى الجنين او عبر حليب الام للطفل الرضيع (الجساس & الأمين ,2008)

2-2-1 تصنيف المضافات الغذائية

تصنف المضافات الغذائية الى ست مجاميع رئيسية:

1-المواد الحافظة Preservativesوتشمل:

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

2-مضافات تغذوية Nutritional additives.

3-المواد الملونة Coloring agents.

4-المواد المنكهة Flavoring agentsوتشمل:

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

5-المطريات Texturizing agent's 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)

2-2-2 منكهات الطعام

وهي المواد التي تضاف الى الغذاء لغرض تحسين النكهة لمنتوج الغذائي سواء اكانت مغذية ام غير مغذية اذ تعطي طعماً مستساغاً ومرغوباً (,سعيد واخرون ,2013) وتضاف الى الغذاء لاعطاء طعم لذيذ مميز ومقارب لجميع الأطعمة التي نتناولها في نظامنا الغذائي في عصرنا الحالي (Taylor &Linforth ,2010) ,تمتاز محسنات النكهة بإن لها طعم ونكهة مميزة خاصة بها بل انها تبرز وتحسن النكهة عند اضافتها مثل مادة monosodium (MSG glutamate) اذ تستخدم هذه المواد في الغالب لاعطاء الغذاء صفات مميزة مثل الرائحة والمذاق وهي تستخدم لكي تغطي النقص في المكونات او خواص المنتج الغذائي، (2012 (Baines&KSeal,

2-2-3 كلوتاميت احادي الصوديوم

تعرف مادة (MSG) باسم AJI-NO-MOTO (Husarova & Ostatnikova, 2013) ويطلق عليه في اليابان Savory وفي العديد من البلدان في العالم بالملح الصيني ورمزه التجاري

E 621 (Kamal *etal* ,2018). وقد اكتشف من قبل العالم الياباني Ikeda عام 1908فقد درس نشاط حامض الكلوتاميك كما ان استخدام الMSG كمنكه للطعام لأول مرة تم في اليابان (Ikeda,1909) ان نوع L-Glutamat له ميزة إعطاء نكهة للطعام (Vinodini *etal* 2010,) وهو من املاح الصوديوم وهو يتالف من حامض دهني غير أساسي من 78% حامض الكلوتاميك و22%من الصوديوم والماء (NHIC ,2008)ا لكلوتامات (حامض الجلوتاميك)واحدة من الاحماض الامينية الموجودة في الطبيعة ويعد مكون للعديد من البروتينات والببتيدات المكونة للانسجة (Freeman,2006) اذ يكون الجسم حامض الكلوتاميك كانتج لعمليات الايض المختلفه لجسم الانسان كما يتم تصنيعه من عمليات التخمر للنشا وبنجر السكر والدبس (Walker &Lupein ,2000) كما انه يوجد في العديد من الأطعمة مثل اللحوم والاسماك والحليب والمشروم وبعض الخضروات مثل الطماطم اذ يكون بشكل حر(Jinap and Hajeb,2010) . توجد جزيئه الكلوتاميت بشكل طبيعي بتراكيز مختلفة في العديد من الأطعمة بنوعين من الكلوتاميت النوع الأول الكلوتاميت الحر الذي يعد الأكثر سمية والنوع الثاني الكلوتاميت المركب وهو الأقل خطورة بسبب كونه يستغرق وقتا أطول في تكسيره في القناة الهضمية فتتمكن الانسجة من الانتفاع به خاصة العضلات قبل ان يتشكل التركيز السمي لهذه الجزيئة(Blaylock ,1994)

يعد التركيز الأمثل لتنكه الطعام MSG هو بين 0.2-0.8% والتركيز الأقصى لاضافة الطعم والنكهة في الانسان 60 mg\kg من وزن الجسم (Yang,1997) .ان استخدام MSG بتراكيز قليلة لا يؤدي الى ظهور تاثيرات سلبية على الانسان لكن المشكلة تكمن عند استهلاكه في الأطعمة بشكل مستمر في العديد من الأطعمة الشائعه المصنعة مثل الشبيس والجلي والمعجنات والحلويات والبسكويت الخبز الشوكولاتة والمربيات والعصائر والسيريلاك والهمبركر والبيتزا والبطاطا المقلية ومكعبات المرق والاندومي وغيرها بالا ضافة الى الأطعمة التي تقدمها المطاعم الاكلات السريعة وكما موضح بالجدول التالي (Anon ,2008) :

جدول (2-2) يوضح الأسماء المختلفة للـ MSG	
كازينات الكاليسيوم	حامض الكلوتاميك(E 620)
كازينات الصوديوم	الكلوتاميت (E 6200)
خميرة الطعام	كلوتاميت احادي الصوديوم (E 621)

الخميرة الغذائية	احادي كلوتاميت المغنيسيوم (E 622)
الخميرة المتحللة تلقائيا	كلوتاميت الصوديوم (E 23)
الجلاتين	احادس كلوتاميت الامونيوم (E 624)
بروتين الصويا	خلاصة الخميرة
بروتين الصويا المركز	مصطلح (متحلل)

أفادت منظمة الغذاء والدواء بـ (FDA(food and Drug Administration ان مادة كلوتاميت احادي الصوديوم MSG بانها امنة للاستخدام ويمكن وضعها في قائمة الأطعمة المعترف بها Generally Recognized as Safe (GRAS) كما انها من المضافات الغذائية الامنة عند تناولها بشكل يومي بتراكيز محددة (E lyazji *et al* , 2015 .)

جدول (2-3)تراكيز الـ MSG

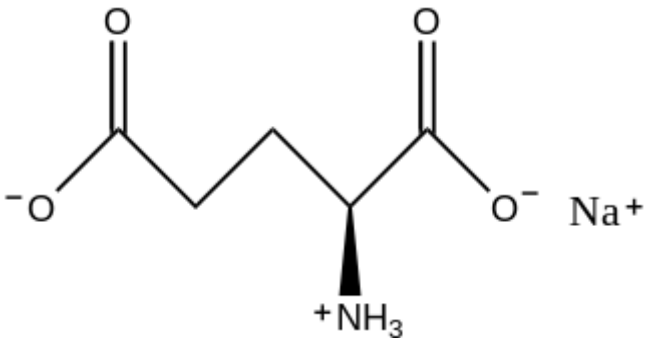
التركيز بـg/kg	القائمة الغذائية
2.27	الطماطم المعلبة
6.6-6.24	معجون الطماطم
0.50-0.24	الذرة المعلبة
3.64-12.70	جبنة البارميزان
0.49-10.00	صلصة الصويا

(Steve and Susan,2003)

2-2-3-1 التركيب الكيميائي والخواص الفيزيائية للMSG

وهو احد املاح حامض الكلوتاميك الصيغه الكيميائية لاحادي جلوتامات الصوديوم Monosodium Glutamateهو (C5H8NO4N9) ويوجد بالطبيعة على شكل مسحوق صلب ويوجد على هيأة بلورات بيضاء (وكثافته تبلغ 1.62 غم /مل ونقطة الانصهار 232 م

وكتلته المولية 169.111غم /مول وذوبانيته بالماء 74 غم / 100 مل كما يذوب في كحول الايثانول و زنه الجزيئي 187.13وال PHيتراوح بين 6.7 -7.2الطعم بين المالح والحامض والحلو والمر .(Walker and Lupien, 2000) يمتاز بانه مركب مستقر بشكل عام لا يتغير في المظهر والجودة اثناء الخزن لفترات في درجة حرارة الغرفة ,بوجود درجات الحرارة العالية وتوفر الظروف الحامضية (2.2-2.4)فانه يجف نوعا ما اذ يصبح -2- Pyrrolidone -5 (carboxylate .(Ninomiya , 1998)



شكل (2-1) الصيغة الكيميائية لمركب كلوتاميت احادي الصوديوم(Zealand,2003)

2-3-2-2 الاثار الجانبية لاستخدام كلوتاميت احادي الصوديوم

ان التناول اليومي المتكرر للـ MSG يمكن ان يؤدي الى تراكم لكلوتاميت في الدم وظهور اعراض مضرة مختلفة في اغلب أعضاء الجسم (Sharma& Deshmukh ,2015) اذ اكدت دراسة ان مادة MSG سامة لكل من الانسان والحيوانات المختبرية خصوصا في التراكيز العالية (Belluardo *etal* ,1990) تتمثل بظهور تاثيرات جانبية لوحظت بانهاتظهر بشكل عيوب في عمليات الايض والهضم والتنفس إضافة الى جهاز الدوران والجهاز العصبي في الوقت نفسه(Geha *etal*,2000) بما انها من محسنات النكهة فهي تعمل على تحفيز المستقبلات الحسية وتحسين استساغة لطعم عند تناول الغذاء وبهذا تؤثر على الشهية بشكل إيجابي وبالتالي زيادة الوزن (Biodun ,1993) تكمن سمية الـ MSG في انفصال جزيئة الكلوتاميت الحرة التي تمتلك مستقبلات حسية في الجهاز العصبي المركزي والمحيطي مما يؤدي الى التغيرات في انسجة الجسم (Iamsaard etal ,2014) اذ ان الجرع العالية تسبب امراضاً في الجهاز العصبي مثل مرض باركنسون والالزهايمروحدوث خلل وظيفي في الغدد الصماء وتلف خلايا الدماغ (Arruda *etal* ,2003) وعدد من الامراض مثل الدوار,فرط النشاط ,الارق ,الصداع نصفي ,القلق ,فقدان التوازن ,الم المفاصل ,الخمول , التشوش ذهني ,الاكتئاب والتوتر (singh & Ahluwalia ,2003)كما توجد هذه المستقبلات في الرئة والكبد والكلى

والطحال والخصية وبهذا عند وجود الكلوتاميت قد ينتقل الى هذه المستقبلات وينتج رد فعل ضار لهذه الانسجة التي تم ذكرها انفا (Soliman,2010) كما انه يؤثر بشكل ضار على عمل العضيات في داخل الخلية الحية وبالتالي تقل نسبة البروتين الكلي والالبومين والكلولوبيولين الذ ي يسبب ثاثيرا عكسيا على الأعضاء في الجسم وبالأخص خلايا الكبد (Anthony etal ,1994) إضافة الى دوره المثبط لمعدل الترشيح الكبيبي في الكلية (Lieske *etal* ,2005) MSG يمتلك تاثير سام على الكبد والكلى (Nwaopara *etal* ,2008)

تعد مادة MSG سم صامت في نظامنا الغذائي وخاصة في تغذية أطفالنا يمكن ان يسبب انخفاض في وظائف المخ من خلال تغيير مستوى السيروتونين في الدم والمصل (El-kholy *etal* ,2018) يمتلك ال MSG تاثيرا سميا للخصى فهو يسبب انتاج نطف صغيرة الحجم فضلا عن زيادة تشكل غير الطبيعي للحيوانات المنوية حسب الجرعة في ذكور الفئران (Onakewhor *etal* ,2017) كما اثبتت الدراسات اثره في احداث العقم عن طريق احداث نزيف في الخصية وتغير وتنكس في تكوين الخلايا الحيوانات المنوية وتشكلها (Oforofuo *etal* ,1997) يحث الـ MSG التغيرات التي تحدث في التمثيل الغذائي للكلوكوز الذي يسبب في نقص الدفاعات المضادة للاكسدة وبالتالي تلف الDNAوالدهون والبروتين والاحماض الدهنية غير المشبعة الموجودة في غشاء الخلية الحية وبالتالي موت لخلايا المبرمج (Diniz *etal* ,2004)كما انه يسبب نشاط الجذور الحرة التغير نشاط المايتوكوندريا والمعلومات الجينية (Singh &Aluwalia ,2003)

2-2-3-3 تأثير كلوتاميت احادي الصوديوم على الكبد

يعد الكبد اكبر عضو في جسم الثدييات يقع تحت الحجاب الحاجز مباشرة في الجهة اليمنى من الجزء العلوي للجوف البطني ويبلغ وزنه بين (1-2) كغم من وزن الجسم (Scanlon &Sanders ,2018) يتكون الكبد من فصين ويمتاز الفص الأيمن بكونة اكبر من الفص الايسر (الزيادي و2009)يتالف من وحدات وظيفية صغيرة تدعى الفصيصات lobules تترتب على شكل أعمدة تسمى المنطقة المحصوره بين الاعمدة بالجيوب sinusesتحتوي على الدم من فروع صغيرة للوريد البابي الكبدي والشريان الكبدي وبهذا يتم التلامس بين الدم والخلايا الكبدية (Waugh &Grant ,2010) يحتوي الكبد على نوع من الخلايا تسمى خلايا كوبفر kupffer cells تعمل على ابتلاع المواد الغريبة التي تصل الى الكبد عبر الدم (Young *etal* ,2013) تمتاز خلايا الكبد بان لها القابلية على تجديد نفسها فقد اثبتت الدراسة تمكن الكبد من تجديد انسجته بعد إزالة ثلثيه في المختبر واسترجاع عددها الأصلي

(Bouras-Vallianatos ,2014) وخلايا الدم المضمحلة اذ يتم استقلاب الادوية والمواد الغريبة والتخلص منها وطردها خارج الجسم .(Emelike*et al*,2014،) ويمتلك الكبد عدة وظائف منها التمثيل الغذائي التي تتعامل مع وظائف أساسية تتمثل في إزالة السموم ونزع الأمين وإزالة الامونيا في شكل اليوريا التخلق الحيوي واطلاق الاحماض الامينية غير الأساسية وبروتينات البلازما واستحداث السكر وتخزين الكلايكوجين تحويل الكاربوهيدرات والبوتينات الى دهون انتاج البوتينات الدهنية والكوليسترول واكسدة الاحماض الدهنية إضافة الى تخزين الحديداضافه الى العديد من الفيتامينات مثل A وB12 وd (Nelson &Cox ,2000) يمتلك الكبد العديد من الانزيمات التي تكشف عن حالة الوظيفية وهي AST, ALP, ALT إضافة الى قياس GGT, LDH, LDL .ففي دراسة أجريت لمعرفة تاثير تجريع الجرذان ب ال MSGلوحظ زيادة في مستوى الـ ALT,AST,GGTعلى التوالي وهذة الزيادة الملوحوظة تشير الى حدوث ضرر للكبد بسبب التوتر التاكسدي الحاصل بفعل كلوتاميت احادي الصوديوم (Farombi&Onyema ,2006) . كما بينت دراسة أخرى ارتفاع معدل مستويات الانزيمات الكبدية (ALT, AST, ALP) عند تجريع الجرذان المختبرية فمويا بمادة MSG 13 ملغم\ كغم من وزن الجسم ولمدة شهر (Akanya,2015)

2-2-3-4 تاثير كلوتاميت احادي الصوديوم على الاجهاد التاكسدي

تحفز MSG الاجهاد التاكسدي (Ahluwalia *etal* ,1996) وهذا الارتفاع في الاجهاد التاكسدي يؤدي الى تغيرات في دهون اغشية الخلايا والبروتينات التي تنتج العديد من الامراض مثل امراض القلب التاجية والسكري والسرطان (Dhalla *etal* ,2000) يمكن ان يكون الاستهلاك المزمن مصدرا لانواع الاوكسجين التفاعلية ROS التي تؤدي الى زيادة التمثيل الغذائي الكلوي لكلوتاميت وانخفاض مستويات الانزيمات الرئيسة المضادة للاكسدة وظهور بيروكسيد الدهون في كلى الفئران التي تعرضت للـ MSG المزمن (Paul *etal* ,2012) كما تحفز الجرعات الكلوية العالية السمية الكلوية (Thomas *etal* ,2009) بالاخص في بنية الدهون الكلوية مما يؤدي الى كمية كبيرة من الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة وبالتالي تلف الكلى باليات متنوعة هي ارتفاع بيروكسيد الدهون وتغير البروتين وتلف الحامض النووي مما يؤدي الى موت الخلايا الحية في الجسم(Leung *etal* ,2008) .أظهرت دراسة سابقة ان تناول ال MSGبجرعة 4و8 ملغم \كغم من وزن الجسم أدى الى ارتفاع كبير في بيروكسيد الدهون في الانسجة الكبدية الى جانب زيادة كبيرة في مستوى الكلوتاميت في الدم وبما ان الكبد يشارك في إزالة السموم من الجسم قد يتاثر بشكل مباشر بالمواد الكيميائية السامة عن تعامل

الفئران بال MSGبـ0.6 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 10 أيام سوف يتطور الى التليف مما يؤدي الى زيادة في بيروكسيد الدهون وانشطة انزيمات الكبد مثل ALT ,AST ,ALP ,GGT (Tawfik and Al-Bader ,2012) .

2-2-3-5 تأثير كلوتاميت احادي الصوديوم على نسيج الكلية

يمتلك جسم الثدييات زوج من الكلى يقع على الجدار الخلفي من البطن الخلفي وهي تتألف من طبقتين الطبقة الخارجية تدعى بالقشرة cortexحاوية على النفرون وهو الوحدة الوظيفية للكلية ومكونه من التراكيب الاتية (الكبيبة) glomeruli والنبيب الملتوي القريب proximalconvoluted tubule وعروة هنلي والنبيب الملتوي البعيد distal convoluted tubule والقناة الجامعة collecting duct (Lynelle and carima ,2011) والطبقة الداخلية التي تسمى اللب medulla تحتوي تراكيب تدعى الاهرامات الكلوية renal pyramids والتي بدورها مكونه من كؤوس صغيرة تلتحم لتكون الحوض الكلوي renal pelvisالذي يقوم بدوره بدفع البول الى الحالب ureter (Clapp ,2009) تقوم الكلية بعدة وظائف رئيسية منها تنظيم السوائل في الجسم و المحافظة على توازن الالكتروليتات وعمليات الغدد الصماء مثل تخليق كريات الدم الحمراء وافراز فيتامين D والمحافظة على ضغط الدم وفي التخلص من الفضلات وبهذا فان التوازن العام للجسم يعتمد على الكلى (Kamal,2010) لاختبار وظائف الكلى يتم عمل تحليل لقياس اليوريا والكريتيانين ووالشوارد المعدنية Na K والبيكربونات وغيرها حيث اثبتت دراسة أجريت على الجرذان البيضاء ان التجريع بمادة MSG يؤثر سلبا على الوظيفة الحيوية للكلى يعمل على زيادة الكريتيانين بشكل ملحوظ وضعف الانسجة الكلوية بسبب الاجهاد التأكسدي الناتج عن التجريع بال MSG (Vinodini *etal* ,2010) .وبينت دراسة أخرى التاثير السلبي MSG المعطى فمويا للجلرذان المختبرية بتركيز 10 ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوم اذ أدى الى ارتفاع مستويات كل من اليوريا والكرياتنين (Kanter *etal,2005*)

2-2-3-6 تاثير كلوتاميت احادي الصوديوم على وزن الجسم

بينت دراسة سابقة أجريت على الفئران ان لمادة كلوتاميت احادي الصوديوم MSG دوراً تحفيزيا لزيادة الوزن في البشر وذلك مرتبط بتحسن مؤشر كتلة الجسم

BMI (.(Morris *et al*., 1998) اذ يلاحظ ازدياد اوزان الاشخاص المستخدمين لمادة احادي كلوتاميتت الصوديوم بغض النظر عن عن النشاط البدني ومقدار الطاقة الداخلة للجسم (He *etal* 2008,) بينما اوجدت دراسة أخرى ان تناول كلوتاميت احادي الصوديوم لمدة خمس سنوات لم يظهر زيادة في الوزن عبر نسبة لم تتجاوز ال5% دون تغيير للمواد المتناولة والعادات الغذائية (He *etal* ,2010) .بينما بينت دراسة أخرى أجريت في تايلاند على 394 شخص ان استخدام التراكيز العالية من MSG أدى الى زيادة الوزن الى حد كبير ويعزى السبب تاثيره على معدل عمليات الايض واستهلاك كمية الطاقة ا الداخلة للجسم (Insawang *et al*., 2012) ان الارتباط بين مادة كلوتاميت احادي الصوديوم والسمنة على عمليات الايض من خلال تغزيز النكهة من خلال التاثير على توازن الطاقة المستمر عبر تغيير سلسلة اللبتين في الغدة النخامية الذي يلعب دورا مهما في اظهار الطعم واعطاء إشارة للدماغ بان الجسم بحاجة الى المزيد من الطعام وبالتالي عدم الشبع (Hermanussen andTresguerres, 2003) .أظهرت النتائج في الجرذان والفئران المعاملة بمادة MSG في وقت مبكر منذ الولادة الى تقدم السمنة ومقاومة لانسولين في الحيوانات البالغة .(Macho *et al*., 2000; De Carvalho *et al*., 2002) فتظهر الجرذان زيادة في وزن الجسم مصاحبة لفرط البوتاسيوم والانسولين وارتفاع نسبة الدهون الثلاثية والكوليسترول وتناقص الجلوكوز المحفز بالانسولين الذي ينتقل الى الخلايا الدهنية (Pinterova *et al*., 2001; Zorad *et al*., 2003) اضافة الى زيادة لدهون في الانسجة اذ ان MSGيحفز السمنة عن طريق تعطيل مستقبلات الانسولين (Mori *et al*., 2008)

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1-3 طرائق العمل Methods

3. 1. 1. الأجهزة والمواد الكيميائية المستخدمة:

في الدراسة الحالية استخدمت العديد من االادوات المختبرية والمواد الكيمياوية المختلفة تم الحصول على بعضها جاهزة بشكل عدة قياس (Standard Kits) وكما موضحة في جدول (3-2) و (3-1).

جدول (3-1) العدد والمواد الكيميائية المستخدمة في القياسات الخاصة بالدراسة الحالية

ت	أسم العدة	الشركة	المنشأ
1	عدة قياس اليوريا Urea	Randox	البريطانية
2	عدة قياس الكرياتنين Creatinine	Linear chemicals	الأسبانية
3	عدة قياس الكالسيوم Calcium	Randox	البريطانية
4	عدة قياس البوتاسيوم Potassium	Spinreact	الأسبانية
5	عدة قياس الصوديوم Sodium	Spinreact	الأسبانية
6	عدة قياس الكوليستيرول Cholesterol kit	Bio Merieux AS,	فرنسية
7	عدة قياس الكلسيريدات الثلاثية Triglyceride kit	Bio Merieux AS,	فرنسية
8	عدة قياس البروتين الدهني عالي الكثافة HDL-cholesterol kit وعدة قياس البروتين الدهني واطئ الكثافة	Bio Merieux AS,	فرنسية
9	عدة قياس الانزيمات الناقلة للامين AST, ALT kit	Giesse	ايطالية
10	عدة قياس الفوسفاتيز القاعدي ALP kit	Giesse	ايطالية
11	عدة قياس معايير الاكسدةCAT, GSH، SOD،MDA	Giesse	ايطالية
12	صبغة الأيوسين (Eosin) $C_{20}H_6Br_4Na_2O_6$	BDH	الانكليزية
13	صبغة الهيماتوكسلين (Hematoxylin)	BDH	الانكليزية
14	كحول أيثانول مطلق	Scharlau	الالمانية
15	كحول ايثانول صناعي	محلي الصنع	
16	فورمالين مختبري (Formalin)	BDH	الانكليزية
17	زايليين (Xylene)	Scharlau	الالمانية
18	شمع البرافين (Paraffen wax)	Histo – line	الايطالية
19	محلول التحميل (D.P.X)	Thomas Baker	الهندية
20	كلوتاميت احادي الصوديوم	AV0NCHEA	الانكليزية

جدول (3-2) الأجهزة والادوات المختبرية المستخدمة في الدراسة الحالية حسب المنشأ

ت	أسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
1	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	Lab - Tech	كوري
2	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer	Apple 303	ياباني
3	جهاز الحمام المائي Water Path	Lab - Tech	كوري
4	المشراح الدوار Microtome	Histo - line	ايطالي
5	ميزان الكتروني حساس Sensitive Balance	Sartorius	ألماني
6	صفيحة ساخنة Hot Plate	Lab - Tech	كوري
7	مجهر ضوئي مركب Compound Light Microscope	Human	ألماني
8	مجهر ضوئي مع كاميرا Light Microscope with Camera	Meiji	ياباني
9	فرن كهربائي Electric Oven	Lab - Tech	كوري
10	ماصة دقيقة متغيرة Micropipette	Human	ألماني
11	جار تصبيغ زجاجي Staining Gar	محلي	محلي
12	سلة جار تصبيغ Basket Staining Gar	Harshman	الماني
13	شرائح زجاجية Slides	Standard	الماني
14	أغطية شرائح زجاجية covers Slides	Standard	الماني
15	انابيب EDTA-tubes	Harshman	ألماني
16	أنابيب لدائنية Gel-Tubes	Lab - Tech	كوري
17	محاقن طبية Syringes	شركة المحاقن الطبية	سوريا
18	محرار رقمي	Gallenkamp	انكليزي

19	دوارق زجاجية حجميه ومخروطية Volumetric &Conical flasks	Standard	الماني
20	حامل الأنابيب Racks	Standard	الماني

2.1.3 حيوانات التجربة Experimental Animals

استخدمت في هذه الدراسة 40 من ذكور الجرذان البيض البالغة نوع (*Ratuss norvegicus*) التي تراوحت اوزانها (280- 400) غرام وأعمارها بين (12- 14) أسبوع تقريبا ، تم تربيتها في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء للمدة من ايلول سنة 2020 لغاية شباط سنة 2021 ، وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية خاصة مغطاة بأغطية معدنية ، فرشت أرضيتها بنشارة الخشب الناعمة وتمت العناية بنظافة الأقفاص وتبديل الأرضية باستمرار وتعقيمها بالمطهرات وكذلك العناية المستمرة بنظافة قناني الإرواء وغرفة الإيواء ، كما خضعت جميع حيوانات التجربة إلى ظروف مختبريه ملائمة من اذ درجة حرارة 25 درجة مئوية ومدة الإضاءة (12 ضوء -12 ساعة ظلام) والتهوية ، زودت الحيوانات بالماء والعليقة القياسية بصورة حرة *Ad libitum* طيلة مدة البحث ، وتركت الحيوانات لمدة اسبوعين للتكيف مع الظروف قبل اجراء التجربة وللتأكد من خلوها من الامراض. وتكونت العليقة من المكونات الموضحة بالجدول (3-1). (Clarke *et al*, 1977).

جدول (3-3) مكونات العليقة المعطاة أثناء مدة الدراسة

التسلسل	المادة العليقة	النسبة %	لكل(10) كغم
1	حليب مجفف كامل الدسم	20.0	2.00 كغم
2	جريش الحنطة	17.0	1.70 كغم
3	دقيق الحنطة	17.0	1.70 كغم
4	جريش الشعير	20.0	2.00 كغم
5	جريش الذرة	25.5	2.50 كغم
6	ملح الطعام	1.0	0.10 كغم

3. 1. 3 جمع النبات المستخدم وتحضير المستخلص

تم شراء أزهار الكجرات المجففة من السوق المحلي في مدينة كربلاء المقدسة بالعراق، اذ تم غسلها بماء الصنبور لإزالة الغبار والاوساخ تركت لتجف لمدة سبعة أيام في درجة حرارة الغرفة، وبعد التجفيف تم طحنها بالهاون والمطحنة الكهربائية للحصول على مسحوق خشن يستخدم في الاستخلاص. تم تحضير المستخلص المائي للنبات بنقع 100 غم من مسحوق الكركديه المطحونة في 2500 مل من الماء المقطر لمدة 24 ساعة بعدها تم تبخير المادة المرشحة ثم جففت في فرن عند 40 درجة مئوية لإنتاج بقايا حمراء داكنة. بعدها اعطي المستخلص عن طريق الفم باستخدام محقنة طبية سعة 5 مل مزودة بانبوبة إعطاء معدة لهذا الغرض. (Bako ,2010)

4-1-3 تجريع حيوانات التجربة بكلوتاميت احادي الصوديوم

استخدم في هذه الدراسة مادة احادي كلوتوميت الصوديوم MSG في تجريع الفموي للحيوانات باعتبارها مادة سمية اذ أعطيت بتركيز مقداره 12 ملغم/كغم من وزن الجسم ويتم اعتماد هذه الجرعة بالاعتماد على دراسات سابقة اذ اشارت تلك المصادر الى ان الجرعة نصف القاتلة من هذه المادة مساوية 15 غم/كغم من وزن الجسم، أعطيت هذه المادة عن طريق التجريع الفموي بواسطة سرنج حجم 5 مل مزودة في نهايتها بانبوب تجريع (Gavage) يتم ادخال الى داخل منطقة البلعوم ومن ثم حقن المادة لضمان وصولها كاملة الى معدة الحيوان مع مراعاة ان يتم اعطاء تلك المادة مع الغذاء لمدة ثلاث ساعات لضمان عدم تقيأ الحيوان اثناء الاعطاء واستمرت عملية الاعطاء لمدة 30 يوماً وتم وزن الحيوان بالميزان ذو القبان أسبوعيا وتسجيل النتائج .

.(Walker and lupien, 2000 ; Ahmed *et al*, 2019)

5-1-3 تصميم التجربة Design Experience

استخدمت في التجربة 40 من ذكور الجرذ البيض قسمت عشوائيا الى ثمان مجاميع وتضم كل مجموعة 5 حيوانات مع مراعاة الاوزان وعلى النحو التالي:

1- المجموعة الأولى (G1): ضمت 5 حيوانات جرعت فموياً بماء مقطر واعطيت بشكل حر.
2- المجموعة الثانية (G2): ضمت 5 حيوانات جرعت فموياً بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بجرعة مقدارها 12 ملغم/كغم من وزن الجسم يوميا ولمدة 30 يوم وعدت مجموعة سيطرة موجبة.

3- المجموعة الثالثة (G3): ضمت 5 حيوانات جرعت بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 250 ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوم.

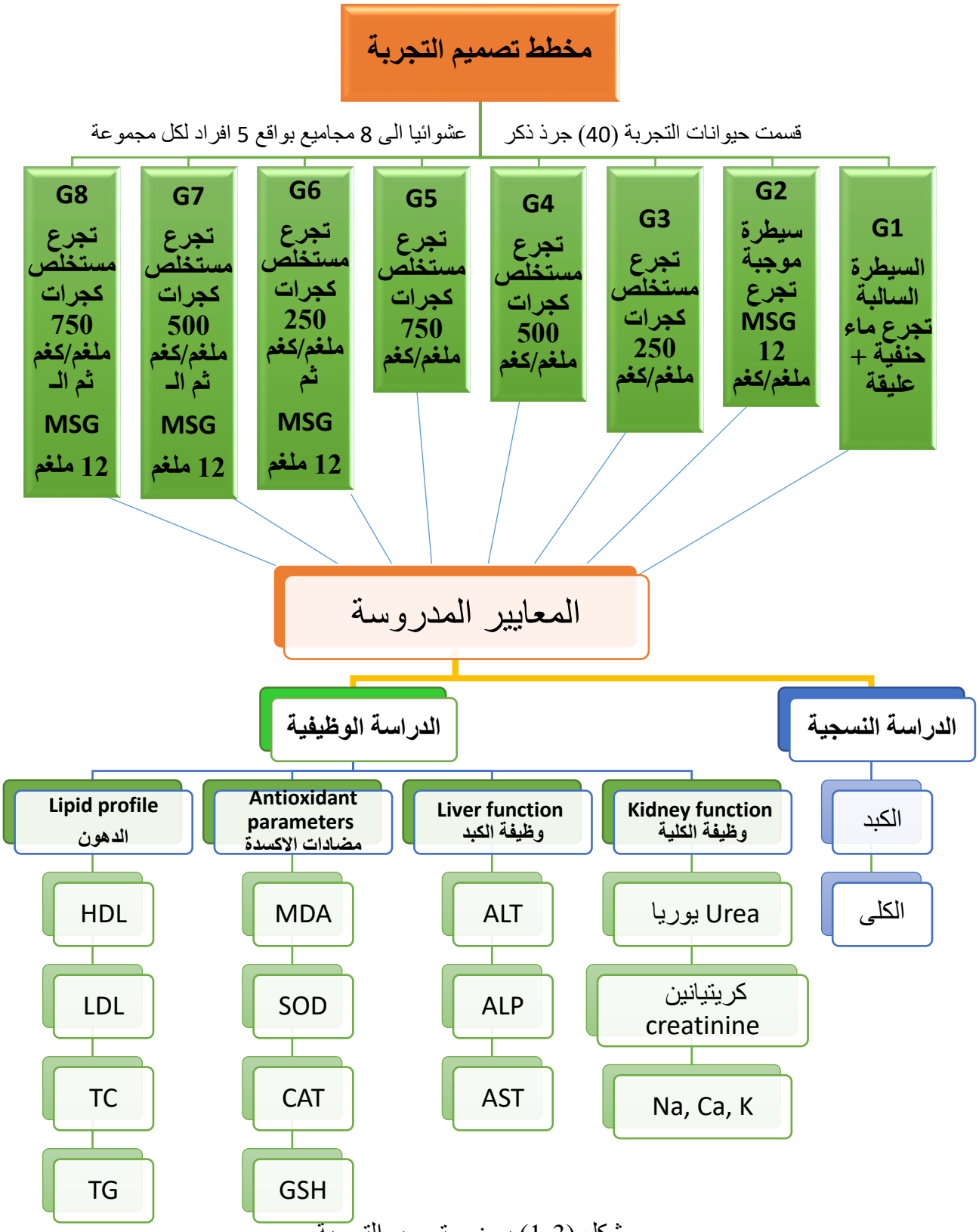
4- المجموعة الرابعة (G4): ضمت 5 حيوانات جرعت بالمستخلص المائي للكجرات بتركيز 500 ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوم.

5- المجموعة الخامسة (G5): ضمت 5 حيوانات جرعت بالمستخلص المائي للكجرات وبتركيز 750 ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوم.

6- المجموعة السادسة (G6): ضمت 5 حيوانات جرعت بالمستخلص المائي للكجرات وبتركيز 250 ملغم/كغم من وزن الجسم قبل 4 ساعات من تجريعها كلوتاميت احادي الصوديوم وبتركيز 12 ملغم/كغم ولمدة 30 يوم. وعدت مجموعة وقائية اولى

7- المجموعة السابعة (G7): ضمت 5 حيوانات جرعت بالمستخلص المائي للكجرات وبتركيز 500 ملغم/كغم من وزن الجسم قبل 4 ساعات من تجريعها كلوتاميت احادي الصوديوم وبتركيز 12 ملغم/كغم ولمدة 30 يوم وعدت مجموعة وقائية ثانية.

8- المجموعة الثامنة (G8): ضمت 5 حيوانات جرعت بالمستخلص المائي للكجرات وبتركيز 750 ملغم/كغم من وزن الجسم قبل 4 ساعات من تجريعها كلوتاميت احادي الصوديوم وبتركيز 12 ملغم/كغم ولمدة 30 يوم وعدت مجموعة وقائية ثالثة.



شكل (3-1) يوضح تصميم التجربة

2-3 الدراسة الوظيفية

1-2-3 جمع عينات الدم

بعد انتهاء فترة التجربة البالغة 30 يوماً تم جلب الحيوانات الى المختبر ومن ثم خدرت باستعمال الطريقة المغلقة (Closed-method) التي تتضمن وضع الحيوان في علبة شفافة ذا غطاء محكم توجد بداخله قطنة مبللة بمادة الكلوروفورم داخل العلبة وبعد مرور (1-2) دقائق خدرت الحيوانات وتم استخراجه ووضعه داخل طبق التشريح وسحب منه الدم من القلب بشكل مباشر بواسطة طعنة القلب (Heart puncture) باستخدام سرنجة حجم 5 مل بعدها وضع الدم في انابيب اختبار زجاجية Gel-tubes ومن ثم دورت الانابيب بجهاز الطرد المركزي بواقع 3000 دورة/دقيقة ولمدة 5 1 دقيقة بعدها تم سحب مصل الدم Serum بواسطة ماصة دقيقة ومتغيرة ووضع المصل في انابيب بلاستك صغيرة الحجم (Ebendrore tube) 2 مل ومن ثم تم حفظها في التجميد عند درجة حرارة منخفضة -25 درجة مئوية لحين قياس المعايير الوظيفية.

2-2-3 تقدير تركيز المعايير الوظيفية في مصل الدم

ضمت الدراسة الوظيفية حساب تراكيز المعايير في المصل وكما يلي:

1. قياس مستوى انزيمات الكبد (ALT, AST, ALP)
2. قياس مستوى اليوريا في الدم Determination of serum urea level
3. قياس مستوى الكرياتنين في الدم Level determination of serum creatinine
4. قياس الكتروليتات الدم (Na, K, Ca)
5. قياس تركيز انزيمات ومضادات الاكسدة (CAT, GSH, MDA, SOD)
6. قياس مستوى الكليسيريدات الثلاثية في الدم TG ومستوى الكولسترول الكلي TC
7. قياس مستوى البروتين الدهني عالي الكثافة HDL والبروتين الدهني واطئ الكثافة LDL

1-2-2-3 تقدير تركيز انزيمات الكبد Liver function test

أولاً: تقدير فعالية الأنزيمات الناقلة للأمين Aspartate transaminase (AST) & Alanine transaminase (ALT)

اتبعت الطريقة اللونية للعالمين Bergmeyer and Bernt, (1974) لتقدير فعالية الإنزيمات الناقلة للأمين AST و ALT واستخدمت عدة التحاليل المجهزة من شركة Giesse الإيطالية.

الكواشف المستخدمة:

1- المحلول الدارئ او المنظم Buffer Solution

يتكون هذا المحلول من منظم الفوسفات Phosphate Buffer بتركيز 100 ملي مول/لتر واس هيدروجيني مقداره 7.4 و الاسبارتيت L-aspartate بتركيز 100 ملي مول/لتر و α-ketoglutarate بتركيز 2 ملي مول/لتر والمحلول جاهز للاستخدام ويبقى مستقراً عند حفظه بدرجة 2- 8 مئوية.

2- محلول ثنائي فنيل هايدرازين DNPH 2, 4 Dinitrophenyl hydrazine

بتركيز 2 ملي مول/لتر، يخفف محتوى علبة واحدة من الكاشف بلتر من الماء المقطر ويبقى المحلول مستقراً عند حفظه بدرجة 2- 8 مئوية.

3- المحلول القياسي Standard Solution

أُخذ 1 مل من محلول البايروفيت وأضيف له 4 مل من محلول منظم الفوسفات Phosphate Buffer بأس هيدروجيني 7.4.

محاليل العمل : تم عمل مجموعة من التيوبات وكما يلي :-

1- محلول البلانك Blank Solution

وضع 0.5 مل من المحلول الدارئ في أنبوبة اختبار وأضيف إليه 100 مايكروليتر من الماء المقطر مع الرج الجيد.

2- محلول الاختبار Test Solution

وضع 0.5 مل من المحلول الدارئ في أنبوبة اختبار ثانية وأضيف إليه 100 مايكروليتر من مصل الدم مع الرج بشكل جيد.

3- محلول السيطرة Control Solution

وضع 0.5 مل من المحلول الدارئ في أنبوبة اختبار ثالثة.

4- المحلول القياسي

وضع 0.5 مل من المحلول الدارئ في أنبوبة اختبار رابعة وأضيف إليه 100 مايكروليتر من المحلول القياسي مع الرج بشكل جيد.

طريقة العمل :-

وضعت الأنابيب الأربعة داخل حمام مائي بدرجة حرارة 37 سيليزية لمدة 60 دقيقة عند قياس إنزيم AST و 30 دقيقة عند قياس إنزيم ALT ، بعدها تمت إضافة 0.5 مل من 4.2 مولاري ثنائي فنيل هايدرازين DNPH إلى الأنابيب الأربعة ورُجت المحاليل جيدا ثم أضيف 0.1 مل من مصل الدم إلى محلول السيطرة وبعد مرور 20 دقيقة أُضيف 5 مل من 0.4 مولاري هيدروكسيد الصوديوم إلى الأنابيب الأربعة وتركت في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق. تمت معايرة جهاز المطياف الضوئي بالماء المقطر أولاً ثم بالكاشف ثانيا وبطول موجي 516 نانومتر.

الحسابات : تمت قراءة امتصاصية جميع الأنابيب واستخدمت المعادلة آلاتية لحساب فعالية الإنزيمين :

$$\text{AST في المصل (وحدة دولية/لتر)} = \frac{\text{الأختبار} - \text{السيطرة}}{\text{القياسي} - \text{البلانك}} \times 133$$

$$\text{ALT في المصل (وحدة دولية/لتر)} = \frac{\text{الأختبار} - \text{السيطرة}}{\text{القياسي} - \text{البلانك}} \times 67$$

ثانياً: تقدير فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل الدم Determination of Alkaline Phosphatase (ALP) Activity in Blood Serum

المبدأ الأساس Basic Principle

تم تقدير فعالية أنزيم ALP باستخدام طريقة أنزيمية وذلك بأستخدام عدة جاهزة (Kit) استناداً الى طريقة (Engvall and Perlmann, 1971) وهي طريقة لونية تستند على استخدام المادة الأساس (Substrate) التي يعمل عليها أنزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline Phosphatase).

المحاليل المستخدمة Reagents Used

1. محلول المادة المنظمة Substrate Buffer Solution

يحتوي على المركب (Disodium Phenyl Phosphate) بتركيز (5) ملي مول/ لتر مع محلول (Carbonate-Bio Carbonate) بتركيز (50) ملي مول/ لتر وفي دالة قاعدية (PH = 10).

2. المحلول القياسي Standard Solution

يحتوي على مركب الفينول بتركيز (20) ملي مول/ لتر.

3. المحلول المثبط Inhibitor Solution

يحتوي على المركب (Potassium Ferricyanide) بتركيز (60) ملي مول/ لتر مع المركب (Sodium Arsenate) بتركيز (75) غرام/ لتر.

4. المحلول الملون Color Solution

يحتوي على المركب (4-Amino-Antipyrine) بتركيز (60) ملي مول/ لتر.

طريقة العمل Procedure

1. محلول الاختبار Test Solution

يوضع في أنبوبة اختبار (2) مليليتر من المادة الأساس ثم توضع في حمام مائي بدرجة (37 °C) لمدة (5) دقائق ثم يضاف (50) مايكروليتر من مصل الدم وتعاد الأنبوبة إلى الحمام المائي بدرجة الحرارة نفسها لمدة (15) دقيقة، ثم يضاف إليها (0.5) مليليتر من المحلول المثبط وتمزج جيدا ويضاف بعدها (0.5) مليليتر من المحلول الملون.

2. محلول السيطرة Control Solution

يوضع في أنبوبة اختبار (2) مليليتر من المادة الأساس ثم توضع في حمام مائي بدرجة (37 °C) لمدة (5) دقائق، بعدها يضاف (0.5) مليليتر من المحلول المثبط وبعد مزجها جيدا يضاف (0.5) مليليتر من المحلول الملون ثم تمزج بشكل جيد ويضاف لها (50) مايكروليتر من مصل الدم.

3. المحلول القياسي Standard Solution

يوضع في أنبوبة اختبار (2) مليليتر من المادة الأساس ثم توضع في حمام مائي بدرجة (37 °C) لمدة (5) دقائق ، ثم يضاف لها (50) مايكروليتر من المحلول القياسي وتعاد الأنبوبة إلى الحمام المائي بدرجة الحرارة نفسها لمدة (15) دقيقة، ثم يضاف أليها (0.5) مليليتر من المحلول المثبط وتمزج جيدا ويضاف بعدها (0.5) مليليتر من المحلول الملون .

4. المحلول الثابت Blank Solution

يوضع (2) مليليتر من المادة الأساس في أنبوبة اختبار ثم توضع في حمام مائي بدرجة (37 °C) لمدة (5) دقائق، بعدها يضاف (0.5) مليليتر من المحلول المثبط وترج جيدا ثم يضاف (0.5) مليليتر من المحلول الملون وبعد مزجها جيدا يضاف (50) مايكروليتر من الماء المقطر .

ثم توضع جميع الأنابيب في مكان مظلم لمدة (10) دقائق بعدها تقرأ الامتصاصية عند طول موجي قدره (510) نانوميتر مقابل محلول الكفء .

الحسابات Calculation

تم حساب فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي في العينة وفق القانون الاتي :

شدة امتصاصية محلول الاختبار – امتصاصية محلول السيطرة

———————————— X تركيز المحلول القياسي بوحدة(U/L)

شدة امتصاصية المحلول القياسي

2-2-2-3 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

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

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:

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

3-2-2-3 تقدير تركيز الكرياتنين

تم قياس مستوى الكرياتنين في المصل بإستخدام طريقة (Wu, 2006) .

المبدأ الأساسي:

يعتمد على تفاعل الكرياتنين في وسط قاعدي مع حامض البكريك (Picric acid) ليكون معقداً لونياً أحمر.

$$\text{Creatinine} + \text{Picric acid} \xrightarrow{PH>12} \text{Red complex}$$

Reagent type	Material	Concentration
Reagent (1)	Picric acid	25 mmol/L
Reagent (2)	Alkaline buffer (phosphate buffer) SDS	300 mmol/L 2.0 g/L
CAL	Standard	

طريقة العمل:

محلول العمل: Working Reagent

ويتم تحضيره بمزج نسب متساوية من (R1) و(R2) في أنبوبة زجاجية ويحفظ بعيداً عن الضوء.

Reagent	Blank	Standard	Sample
Standard	////	0.1 ml	////
Sample	////	////	0.1ml
Working Reagent	1ml	1ml	1ml

يمزج ويترك لمدة (25 min) في (25 C^o). بعدها يتم قراءة الامتصاصية على الطول الموجي (510 nm) بعد (30 sec) (A1) بعدها تأخذ الامتصاصية الثانية بعد مرور (60 sec) (A2).

الحسابات:

$$n \times \frac{(A_1 - A_2)}{(B_1 - B_2)} = (mg/dl)$$ تركيز الكرياتنينين

A_1= الامتصاصية الأولى للنموذج. A_2= الامتصاصية الثانية للنموذج.

B_1= الامتصاصية الأولى للقياسي. B_2= الامتصاصية الثانية للقياسي.

n = تركيز القياسي.

4-2-2-3 تقدير تركيز الكتروليتيات الدم

اولاً: قياس مستوى الصوديوم في مصل الدم Determination of serum sodium level

تم قياس مستوى ايونات الصوديوم في المصل باستخدام طريقة (Loeb and Quimby, 1999) .

المبدأ الأساسي:

يترسب الصوديوم مع خلات يورانيل المغنسيوم (Mg- uranyl acetate). إذ يكون ايون اليورانيل مع حامض ثايوكلايكولك (Thioglycolic acid) معقداً أصفر – بني اللون.

Reagent type	Material	Concentration
PREC	Uranyl acetate	**19 mmol/L**
(Precipitant solution)	Magnesium acetate	**140 mmol/L**

R1	Ammonium thioglycolate Ammonia	**550 mmol/L** **550 mmol/L**
STD.	Standard sodium (Na^+)	**150 mmol/L**

طريقة العمل:

Reagent	blank	Standard	Sample
Standard	////	20 µl	////
Serum	////	////	**20 µl**
PREC	////	1000 µl	**1000 µl**

تغلق الأنابيب وتمزج وتترك لمدة 5 دقائق في ($25\ C^o$). بعدها ترج الأنابيب لمدة (30 sec) وتترك لمدة (30 min)، تدور الأنابيب في جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بسرعة (6000 RPM) لمدة (5-10 min).

Reagent	blank	Standard	Sample
PREC	20 µl	////	////
Clear Supernatant	////	20 µl	**20 µl**
Reagent 1	1000 µl	1000 µl	**1000 µl**

تخلط جيداً لمدة (5 min) بدرجة حرارة الغرفة، ويتم قراءة الامتصاصية على الطول الموجي (410 nm).

الحسابات :

$$\text{تركيز الصوديوم } (mmol/l) = \frac{\text{امتصاصية النموذج}}{\text{امتصاصية القياسي}} \times n$$

n = تركيز القياسي

ثانياً: قياس مستوى الكالسيوم في مصل الدم Determination of serum calcium level

تم قياس مستوى ايونات الكالسيوم في المصل باستخدام طريقة (Wu, 2006) .

المبدأ الأساسي:

يعتمد قياس ايونات الكالسيوم في المصل على أساس تكوين المعقد اللوني بين ايونات الكالسيوم و (O – Cresolphtalein) في وسط قاعدي وفق المعادلة التالية:

$$Ca^{+2} + O - \text{Cresolphthalein} \xrightarrow{OH^+} red\ complex$$

Reagent type	Material	Concentration
Reagent (1) Buffer solution	(2 amino-2methyl-1-propanol)	500 mmol/L, PH 7.
Reagent(2) Chromogen solution	Cresolphthalein complex 8-hydroxyquinoline	0.62 mmol/L 69 mmol/L
Reagent (3) standard	Calcium standard	2.5 mmol/L

طريقة العمل:

محلول العمل: Working Reagent

تخلط حجوم متساوية من (R1) مع (R2).

Reagents	Blank	Standard	Sample
Working Reagent	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Standard	////	20 µl	////
Sample	////	////	20 µl

تمزج الأنابيب جيداً وتترك لمدة (5 min) بعدها يتم قياسها طيفياً على طول موجي (570 nm) بعد تصفير الجهاز بواسطة البلانك.

الحسابات: تركيز الكالسيوم $(mg/dl) = \frac{\text{امتصاصية النموذج}}{\text{امتصاصية القياسي}} \times n$

n = تركيز القياسي.

ثالثاً: قياس مستوى البوتاسيوم في مصل الدم Determination of serum potassium level

تم قياس مستوى ايونات البوتاسيوم في المصل باستخدام طريقة (Wu, 2006) .

المبدأ الأساسي :

يتفاعل ايون البوتاسيوم الحر في الوسط القاعدي مع رباعي فينايل بورون الصوديوم (Sodium tetraphenylboron) لينتج معلق عكر من رباعي فنايل بورون البوتاسيوم (Potassium tetraphenylboron)، تعتمد هذه العكورة الناتجة كقياس لتركيز البوتاسيوم عند القياس الضوئي.

Reagent type	Material	Concentration
PREC (Precipitant)	Trichloroacetic acid (TCA)	0.3 mol/L
Reagent 1(TPB)	Sodium tetraphenylboron (TPB – NA)	0.2 mol/L
Reagent 2(NAOH)	Sodium hydroxide (NaOH)	2.0 mol/L
STD.	Standard potassium (K^+)	5.0 mmol/L

طريقة العمل:

تحضير الراشح Supernatant

يتم مزج (50 µl) من مصل النموذج مع (500 µl) من (PREC) في أنبوبة زجاجية ويخلط بعناية, ويدور باستخدام جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بسرعة (6000 RPM) لمدة (5-10 min).

محلول العمل Working reagent

ويتم تحضيره بمزج نسب متساوية من (R1) و(R2) في أنبوبة زجاجية ويترك لمدة (15-30 min) قبل الاستعمال.

Reagents	Blank	Standard	Sample
Working reagent	1ml	1ml	1ml
Standard	////	0.1ml	////
Supernatant	////	////	0.1ml

يمزج ويترك لمدة (5 min). بعدها يتم قراءة الامتصاصية على الطول الموجي (578 nm).

الحسابات:

$$\text{تركيز البوتاسيوم } (mmol/l) = \frac{\text{امتصاصية النموذج}}{\text{امتصاصية القياسي}} \times n$$

n = تركيز القياسي.

5-2-2-3 تقدير تركيز انزيمات الاكسدة

اولاً: تقدير مستوى بيروكسدة الدهون في مصل الدم (المالونداليديهايد) (MDA)

المبدأ الأساس:

تم تقدير مستوى MDA في المصل باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل الباحثين (Lovrić *et al*., 2008) واعتمادا على هذه الطريقة تم تقدير مستوى بيروكسيد الدهن في المصل من خلال

قياس كمية MDA وهو يمثل احد النواتج الرئيسة لبيروكسدة الدهن وتعتمد الطريقة على التفاعل بين بيروكسيدات الدهن وبشكل رئيس المالونداياالديهايد وبين حامض ثايوباربيوتريك Thiobarbituric (TBA) acid وهذا التفاعل يتم في وسط حامضي ويكون ناتجاً ملوناً يتم قياس شدة الامتصاص له عند 532 نانوميتر.

تحضير الكواشف :

1. محلول ثلاثي كلورو حامض الخليك 17.5% Trichloro acetic acid (TCA) .
2. محلول حامض ثايوباربيوتريك 0.6% (TBA)
3. محلول ثلاثي كلور وحامض الخليك 70% (TCA)

طريقة العمل :

تم وضع طريقة العمل لتقدير المالونداياالديهايد بحسب الجدول الآتي :

	Test	Blank
Serum	150 µl	-
Distill water	-	150 µl
TCA (17.5%)	1 ml	1 ml
TBA (0.6%)	1 ml	1 ml
يمزج جيدا ثم يوضع في حمام مائي لمدة 15 دقيقة ثم يترك ليبرد		
TCA (70%)	1 ml	1 ml

ثم تترك الانابيب بدرجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة ثم تجري عملية الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة لمدة 15 دقيقة ثم تتم قراءة شدة الامتصاص للراشح المتكون عند 532 نانوميتر .

الحسابات : يتم تقدير مستوى MDA اعتمادا على المعادلة الآتية :

$$\text{The concentration of Malondialdehyde (µmol/l)} = \frac{A_{test} - A_{blank}}{E_o \times L} D * 10^6$$

E_o =Extinction coefficient 1.56 x 10^5 M^{-1} cm^{-1}

L = light bath 1

D = dilution factor 6.7

ثانياً: تقدير مستوى نشاط الكاتاليز في المصل Catalase activity

تقدير مستوى انزيم الكاتاليز بأستخدام طريقة (Hadwan and Abed, 2018)

المبدأ الاساس :

Catalase catalyzes the following reaction:

$$2H_2O_2 \xrightarrow{Catalase} 2H_2O + O_2$$

تم تقييم نشاط انزيم الـــ Catalase عن طريق تحضير الانزيمات فـــــي 1.0 مل من المادة المتفاعلة مـادة (65 mmol/ml hydrogen peroxide in 60 mmol/l sodium–potassium phosphatebuffer,pH7.4) عند درجة حرارة 37 °C خلال ثلاث دقائق , ثم اوقف التفاعل بواسطة مولبيدات الامونيوم ammonium molybdate , بعد ذلك قيست امتصاصية المعقد الاصفر من المولبيدات وبيروكسيد الهيدروجين خلال 374nm مقابل الفراغ.

تحضير الكواشف

1- محلول الفوسفات المنظم (phosphate buffer) بتركيز (50mM,pH7.4) :

ويحضر محلول الفوسفات المنظم وذلك بمزج 390 ml من محلول A مع 630 ml من المحلول B ثم يضبط عند PH=7.0 التي يتم تحضيرها من :

محلول A يتكون من 50 µm KH2PO4 اذ وزن 6.81 من المحلول ويذاب في لتر ماء مقطر

محلول B يتكون من Na2HPO4.2H2O اذ وزن 6.90 من المحلول ويذاب في لتر ماء مقطر 2 - بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 30%

يحضر انيا بتخفيف 20.34 بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 30% من الفوسفيت المنظم الى حجم 100ml

طريقة العمل (Procedure) :

خفف المصل بنسبة 1:10 من المحلول المنظم وبحسب الخطوات الاتية :

الكواشف	العينة	الكفء
محلول الفوسفيت المنظم	----	1ml
مخفف المصل	2.0ml	2.0ml
بيروكسيد الهيدروجين	1ml	-----

يبدأ التفاعل بأضافة بيروكسيد الهيدروجين الى الانابيب ثم يقاس بأستعمال جهاز المطياف الغير مرئي (القارئ للأشعة غير المرئي) UV- Spectrophotometer وبطول موجي 240.

تسجل القراءة الاولى بعد تصفير الجهاز عند نقطة الصفر , والقراءة الثانية تأخذ بعد 15 ثانية , للتعبير عن قياس فعالية انزيم الكاتليز بوحدة (U) يستخدم الرمز K الذي يمثل معدل سرعة التفاعل من المرتبة الاولى وبحسب المعادلة التالية :

$$K = \frac{2.3}{\text{معدل الزمن}} \text{ لوغارتم } \frac{\text{بعدصفرثانيةكثافةضوئية}}{\text{بعد15 ثانيةكثافةضوئية}} = 9.2 \times \text{ لوغارتم القرائتين}$$

ثالثاً: تقدير فعالية إنزيم سوبر أوكسيد دسميوتيز (SOD)

Determination of Superoxide Dismutase Activity in Blood (SOD)

المبدأ الأساس: Basin Principle

تم تقدير فعالية إنزيم سوبر أوكسيد دسميوتيز باستخدام طريقة التفاعل الضوئي - الكيميائـــــــــــي : (Modified photochemical method) بأستخدام صبغة Nitroblue Tetrazolum (NBT)

وتضمنت هذ الطريقة استخدام سيانيد الصوديوم كمثبط لانزيم البيروكسيديز وتعتمد هذ الطريقة عمى تقدير فعالية الإنزيم SOD بطريقة غير مباشرة من خلال ظهور تغير في الكثافة الضوئية للفورمازين المتكون من اختزال O.2 لصبغـــــة نايتروبلوتترازوليوم(NBT) الذي بدوره يتولد من تشعيع مصـــل الـــــدم Chandrakar *et al*., (2016) إذ أن الانخفاض في الكثافة الضوئية للفورمازين دلالة على زيادة فعالية إنزيم(SOD) .

تحضير الكواشف: Preparation of Reagent

1. محلول الفوسفات المنظم بتركيز (50 mmol) و pH7.8 ويحتوي على EDTA 0.1 mmol و Triton X-100 (0.025%) .

2. محلول ميثونين L – Methionine Solution 0.2M

3 . محلول 1.75mM نايتروبلوتتر ازوليوم ثنائي الهيدروكلوريك

4 . ترايتون 1% Triton (X-100)

5 . رايبوفلافين Riboflavin solution (117mmol)

6 . محلول سيانيد الصوديوم Sodium cyanide solution 2 mmol

7. محلول التفاعل Reaction mixture solution يحضر بمزج117 مل من المحلول (1) و1.25 مل من محلول (2) و 1.0 مل من المحلول (3) و 0.75 مل من المحلول (4)

طريقة العمل: Procedure

تم وضع طريقة العمل لتقدير فعالية انزيم سوبر اوكسيد دسميوتيز حسب الجدول الاتي :

	Test	Blank	Control
Reaction Mixture	3 ml	3 µl	3 µl
Sodium Cyanide	40 µl	40 µl	40 µl
Serum	150 µl	_	_
Working Buffer S.	0.523 ml	0.15+0.523 ml	0.15+0.523 ml
Riboflavin (B2)	40 µl	40 µl	40 µl

تحضن الأنابيب بدرجة 37 م لمدة 6 دقائق ثم تشعع جميع الانابيب عدا الكفى باستخدام مصباح فلورسنت 20 واط مثبت بصندوق مغلق لمدة 10 دقائق وبدرجة 25 درجة مئوية ثم تقاس شدة الامتصاص عند 560 نانوميتر بعد التصفير على الكفى .

50% inhibition =1 Unit of SOD

$$SOD\ activity = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \div 50\% \times \frac{System\ Volume}{Samble\ Volume}$$

A0= Control OD

A1= Test OD

1 Unit of SOD =150 µl of serum (sample volume)

Total volume of serum=1ml=1000ul (system volume)

(unit/150 *1000)= units of SOD per ml

(Zhang *et al*., 2016)

رابعاً: تقدير فعالية الكلوتاثيون (GSH) في مصل الدم Determination of Glutathione Activity in Blood Serum (GSH)

المبدأ الأساس:

تم تقدير الكلوتاثيون في المصل باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل الباحثين (Seadlak and Lindsay, 1968) وتعتمد الطريقة على استخدام محلـــول إلمـــان DTNB Ellman's reagent [5,5- dithio bis (2-Nitrobenzoic acid)] ، إذ يتفاعل بسرعة مع الكلوتاثايون ويختزل بواسطة مجموعة السلفاهيـــدرال (SH group) للكلوتاثايون مكوناً ناتجاً ملوناً يتم قراءة الامتصاص له عند 412 نانوميتر. وان تركيز الناتج المتكون يعتمد على تركيز الكلوتاثايون الموجود في المصل.

تحضير الكواشف Preparation of Reagent

1. حامض السلفوسالسيليك 4 % Sulfosalicylic acid (S.S.A) .

محلول إيلمان : يحضر بأخذ 0.00396 غم من DTNB ويذوب في 100 مل من المحلول المنظم (8 pH) الذي يحضر بمزج KH2PO4 (0.6M) و Na2HPO4 (0.08M)

3-2-2-6 تقدير تركيز الدهون

اولاً: تقدير مستوى الكوليستيرول الكلي في المصل Determining of Cholesterol in Blood

المبدأ الأساس Basic Principle:

تم تقدير مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم باستخدام عدة التحليل Kit من نوع Kit Biomerieuxsa 69280 IE toile-France وهي طريقة أنزيمية تعتمد على أساس تحويل الكوليستيرول واسترات الكوليستيرول إلى صبغة الـ Quinoneimine، إذ تحتوي عدة التحليل على أنزيم الكوليستيرول استريز Cholesterol esterase الذي يعمل على تحليل الكوليستيرول المؤستر الموجود في مصل الدم الى الكوليستيرول وأحماض دهنية وبوجود الأوكسجين وأنزيم الكوليستيرول اوكسديز Cholesterol oxidase اللذين يعملان على أكسدة الكوليستيرول الحر نتيجة التفاعل الأول الى (Cholest-4-en-3-ono) وبيروكسيد الهيدروجين، إذ أن البيروكسيد المتكون يتفاعل مع الفينول و4 أمينو انتي بايرين بوجود أنزيم البيروكسديز (Peroxidase) يتكون لون وردي ناتج عن مركب (Quinoneimine) وتتناسب شدة اللون طردياً مع تركيز الكوليستيرول في مصل الدم . (Burtis *et al*., 2012)

$$\text{Cholesterol ester} \xrightarrow{\text{Cholesterol esterase}} \text{Cholesterol + Fatty acid}$$

$$\text{Cholesterol} \xrightarrow{\text{Cholesterol Oxidase}} \text{Cholesterol} - 4 - \text{en} - 3 - \text{one} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{phenol} + 4 - \text{aminoantipyrine} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Quinoneimine} + 4H_2O$$

المحاليل المستخدمة Reagents used

1. المحلول الأنزيمي المنظم Buffered Enzyme Reagent (Working solution)

ويتكون من محلول الفوسفات المنظم (90 ملي مول/لتر، pH 6.9)، فينول 26 ملي مول/لتر، أنزيم كوليستيرول 200 وحدة/لتر، أنزيم الكوليستيرول استريز 300 وحدة/لتر، أنزيم البيروك سيديز1250 وحدة/لتر، 4 أمينو انتي بابرين 0.4 ملي مول/لتر.

2. المحلول القياسي Standard Solution

يتكون من 200 ملغرام كوليستيرول/100 مليلتر

طريقة العمل Procedure

تم وضع طريقة العمل لتقدير الكوليستيرول حسب الجدول الآتي:

	Blank	Standard	Test
Standard	-	10 µl	-
Sample	-	-	10µl
Working Reagent	1 ml	1 ml	1 ml

تمزج وتوضع في حمام مائي (37) م° لمدة 5 دقائق بعدها يتم قياس شدة الامتصاص عند طول موجي 546 نانوميتر.

الحسابات Calculate

تحسب كمية الكوليستيرول في الدم اعتماداً على المعادلة الآتية:

$$\text{Total Cholesterol Conc. (mg/dl)} = \frac{A_{test} - A_{blank}}{A_{standard} - A_{blank}} * \text{Standard Conc. (200 mg/dl)}$$

إذ إن A: Absorbance (شدة الامتصاص)

Total Cholesterol Conc. (mmol/l) = Total Cholesterol Conc. (mg/dl) * 0.025

ثانياً: تقدير مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم Determination of Triglyceride Level in Blood Serum

المبدأ الأساس Basic Principle

تم قياس الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم باستخدام عدة التحليل Kit من نوع Kit Biomerieuxsa 69280 IE toile-France وهي طريقة أنزيمية تتضمن سلسلة من التفاعلات وتنتهي بإنتاج صبغة Quinoneimine، إذ تحتوي عدة التحليل على أنزيم اللاييبيز (Lipase) الذي يعمل على تحليل الكليسيريدات الثلاثية الموجودة في مصل الدم إلى كليسيرول وأحماض دهنية، إن الكليسيرول الناتج يتفسفر بواسطة ادينوسين ثلاثي الفوسفات ATP وأنزيم كليسيروكاينيز (Glycero Kinase) إلى كليسيرول-3 – فوسفيت الذي يتأكسد بواسطة إنزيم كليسيرول - 3 - فوسفيت اوكسديز (Glycerol–3 Phosphate Oxidase) إلى ثنائي يدروكسي أسيتون فوسفيت وبيروكسيد الهيدروجين وعن طريق أنزيم البيروكسديز (Peroxidase) و 4 – امينو انتي بايرين (4-aminoantipyrine) يتكون لون وردي ناتج عن مركب كينون ايمين (Quinoneimine) الذي تتناسب شدة لونه مع تركيز الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم (Fassati and Principe, 1982).

$$\text{Triglycerides} \xrightarrow{\text{Lipase}} \text{Free Fatty acid} + \text{Glycerol}$$

$$\text{Glycerol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Glycerokinase}} \text{Glycerol} - 3 - \text{Phosphate} + \text{ADP}$$

$$\text{Glycerol} - 3\text{- Phosphate} \xrightarrow[\text{Oxidase}]{\text{Glycerol-3-Phosphate}} \text{Dihydroxyacetone-Phosphate} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{Para} - \text{Chlorophenol} + \text{4-aminoantipyrine} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Quinoneimine} + 4H_2O$$

المحاليل المستخدمة Reagent Used

1. المحلول المنظم Buffered Solution

ويتكون من ترس المنظم (pH=7) (ثلاثي أمينو الميثان مركب عضوي صيغته $C_4H_{11}NO_3$؛ ويعرف اختصاراً باسم تريس TRIS) و 5.4 ملي مول/لتر من باراكلوروفينول و 4 ملي مول/ لتر من المغنيسيوم.

2- المحلول الأنزيمي Enzymatic Solution :

يتكون من 0.4 ملي ممول/لتر امينو انتي بايرين، لايبيز $\leq$ 1 وحدة / لتر، كليسيروكاينيز 200 وحدة / لتر، كليسيرو – 3 – فوسفيت اوكسديز $\leq$ 2 وحدة / لتر، بيروكسيديز $\leq$ 200 وحدة / لتر، 0.8 ملي مول/لتر من ادينوسين ثلاثي الفوسفات.

يحضر محلول العمل (Working Solution) من إضافة 25 مليليتر من المحلول المنظم الى المحلول الأنزيمي مع المزج يبقى المحلول مستقر لمدة شهر واحد.

3- المحلول القياسي Standard Solution :

ويتكون من كليسيرول 2.25 مول/لتر ويكافئ 200 ملغم/100 مليليتر من الكليسيريدات الثلاثية .

طريقة العمل : Procedure

تم وضع طريقة العمل لتقدير الكليسيريدات الثلاثية حسب الجدول الآتي :

	Blank	Standard	Test
Standard	-	10 µl	-
Sample	-	-	10 µl
Working Reagent	1 ml	1 ml	1 ml

تمزج وتوضع في حمام مائي (37Co) لمدة 5 دقائق بعدها يتم قياس شدة الامتصاص عند طول موجي 505 نانوميتر.

الحسابات Calculate : يتم تقدير الكليسيريدات الثلاثية triglycerides اعتمادا على المعادلة الآتية

اذ إن A : (Absorbance) شدة الامتصاص

$$\text{Triglycerides Conc. (mg/dl)} = \frac{A_{test} - A_{blank}}{A_{standard} - A_{blank}} * \text{Standard Conc. (200 mg/dl)}$$

Triglycerides Conc. (mmol/l) = Triglycerides Conc. (mg/dl) * 0.0133

ثالثاً: تقدير مستوى الكوليستيرول للبروتين الدهني العالي الكثافة في مصل الدم Determination Cholesterol of High Density Lipoprotein (HDL-C) Level in Blood

المبدأ الأساس Basic Principle

تم تقدير (HDL-C) في مصل الدم باستخدام عدة التحليل Kit من نوع Kit Biomerieuxsa 69280 IE toile-France وهي طريقة أنزيمية، إذ تم فصل كل من الكايلومايكرونات والبروتين الدهني واطئ الكثافة LDL والبروتين الدهني واطئ الكثافة جدا VLDL بإضافة حامض الفوسفوتنكستنك وبوجود ايون المغنيسيوم، إذ يحتوي الراشح الذي يتم الحصول عليه بعد عملية الطرد المركزي على البروتين الدهني ذي الكثافة العالية الذي به يتم تقدير الكوليستيرول المرتبط بهذه الأجزاء، إذ يقدر باستخدام كاشف المحلول الأنزيمي للكوليستيرول (Warnick *et al*., 1979) .

المحاليل المستخدمة :

وتتكون عدة التحليل من الكواشف الآتية

1. محلول الترسيب Precipitation Solution

يتكون من : حامض الفوسفوتنكستك 0.55 ملي مول/ لتر وكلوريد المغنيسيوم المائي 25 ملي مول/ لتر

طريقة العمل Procedure

تم وضع طريقة العمل لتقدير الكوليستيرول للبروتين الدهني العالي الكثافة بحسب الجدول الآتي :

	Test
Serum	0.5 ml
HDL – Reagent	1 ml

يترك لمدة عشر دقائق بعد ذلك يوضع في جهاز الطرد المركزي مدة 15 دقيقة عند سرعة 400 g .

	Test	Blank
HDL-Supernatant	100 □l	-
D.W H2O	-	100 □l
Cholesterol Reagent	1 ml	1 ml

يمزج ثم يوضع في حمام مائي 37 Co لمدة 5 دقائق بعدها يتم قياس شدة الامتصاص عند طول موجي 546 nm.

الحسابات Calculate

يتم حساب HDL اعتمادا على المعادلة الآتية

Concentration HDL-C (mg/dl) = (A test – A blank) * 280

Concentration HDL-C (mmol/l) = Concentration HDL-C (mg/dl) / 38.7

رابعاً: تقدير مستوى الكوليستيرول للبروتين الدهني واطئ الكثافة في مصل الدم Determination of Cholesterol of Low Density Lipoprotein – (LDL-C) Level

يتم تقدير LDL-C في مصل الدم اعتماداً على المعادلة الآتية:

LDL-C (mg/dl) = Total Cholesterol – (HDL - C) – VLDL

((Friedewald *et al*., 1972)

5: تقدير مستوى الكوليستيرول للبروتين الدهني وطئ الكثافة جدا في مصل الدم

Determination of Cholesterol Very Low Density Lipoprotein (VLDL-C)

يتم تقدير تركيز (VLDL - C) اعتمادا على العلاقة الآتية :

VLDL – C(mg/dl) = (Triglycerides/5) (Burtis and Bruns, 2014)

3-3 الدراسة النسجية

1-3-3 تحضر العينات للدراسة النسجية

بعد تخدير الحيوانات بالطريقة السابقة الذكر، تم تشريح الحيوانات بعد وضعها في طبق التشريح على الجهة الظهرية وعمل شق طولي في المنطقة البطنية ابتداءً من نقطة ما بين الفخذين وبأتجاه الامام وصولا الى النهاية لعظم القص واتبع الشق شقين طوليين باتجاه الطرفين الامامين بعدها ازيلت كافة الاحشاء الداخلية وتم عزل الكبد والكليتين اذ غسلت بالماء الجاري لإزالة الدم العالق بها ومن ثم تم حفظها في محلول الفورمالين بتركيز 10% لحين تحضير المقاطع النسجية.

2-3-3 تحضير الشرائح المجهرية

حضرت شرائح البرافين تبعاً للطريقة التي وصفها بانكروفت وستيفن (Bancroft and Stevens, 1982) وكالاتي :

1. تثبيت العينات (Sample Fixation)

تم تثبيت العينات بحفظها بمحلول الفورمالين بتركيز 10% والذي حضر بإضافة 10 مل من الفورمالين وبتركيز 37% واضيف له 90 مل من ماء الحنفية.

2. الغسل (Washing)

بعد انتهاء فترة التثبيت البالغة 48 ساعة بالماء الجاري لمدة 5 دقائق.

3. الإنكاز (Dehydration)

مـــررت النمـــاذج بعـــد الغســـل بسلســـلة تصاعديـــة مـــــن الكحـــــول الأثيلـــــي بـــدءاً بتركيـــــز (70% ,80% ,90% ,100% ,100%) ولمدة ساعة ونصف لكل تركيز .

4. الترويق (Clearing)

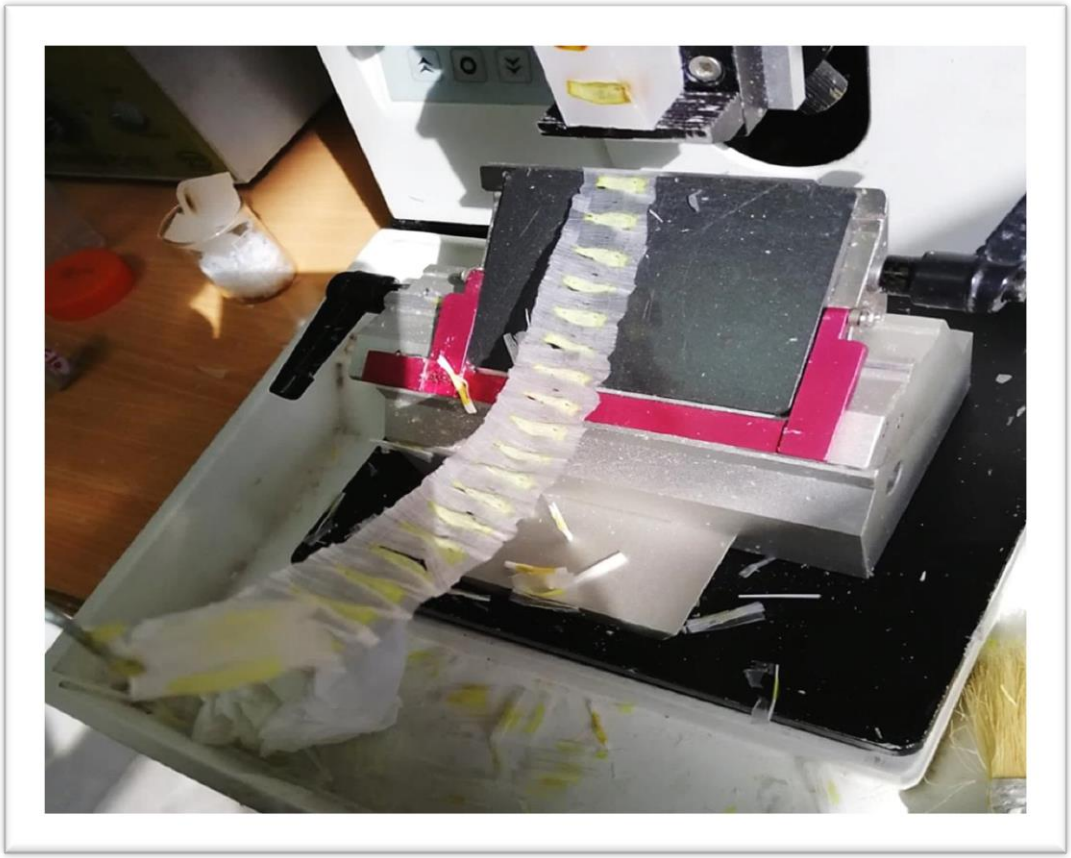
روقت العينات بالزايلين ولمدة (5) دقائق.

5. التشريب والطمر (Infiltration and Embedding)

وضعت العينات بمزيج من شمع البرافين شركة (Histo line) درجة انصهاره (60) درجة مئوية مخلوط مع الزايلين بنسبة (1:1 ml) ولمدة ساعة ونصف داخل فرن درجة حرارته [58])، بواقع تبديلين بعد ذلك تم طمر العينات بالشمع نفسه اذ وضع في قوالب مصنوعة من الحديد وبشكل حرف (L) يتم وضعها بشكل متقابل للحصول على شكل مربع مع مراعاة أسلوب وضع العينة دخل المقطع من اجل الحصول على مقطع عمودي (طولي) او عرضي.

6. التشذيب والتقطيع (Trimming and cutting)

شذبت قوالب الشمع الحاوية على النماذج بعد ان ثبتت على حامل خشبي وقطعت النماذج باستخدام المشراح الدوار (Micro tome) بسمك (5 µ) ، ثم نقلت المقاطع إلى حمام مائي بدرجة (38 درجة مئوية) لغرض تسطيح النسيج ، ووضعت الأشرطة على شرائح زجاجيـة. صورة رقم (3-2)



صورة (3-2) جهاز المايكروتوم وعملية التقطيع النسيجي

7. التلوين (Staining)

استخدمت الملونات الآتية للدراسة النسجية :-

أولاً: ملون هارس هيماتوكسلين (Harri's Hematoxylin Stain)

لإظهار البنيان النسجي للمقاطع بشكل عام والمحضرة على وفق طريقة بانكروفت وستيفن (Bancroft and Stevens, 1982) وكالاتي:

ت	المادة	الكمية
1	مسحوق الهيماتوكسلين	2.5 غم
2	كحول اثيلي مطلق	25 مل
3	شب البوتاسيوم $AIK(SO_4)_2.12H_2O$ أو شب الأمونيا	50 غم

	$NH_4AI(SO_4)_2.12H_2O$	
4	ماء مقطر دافئ	500 مل
5	أوكسيد الزئبقيك الأحمر(Red Mercuric oxide))	1.25 غم
6	حامض الخليك الثلجي(Glacial Acetic acid)	20 مل

أذيب الهيماتوكسلين بالكحول المطلق ثم أضيف إلى الشب المذاب بالماء المقطر الدافئ ووُضِعَ المزيج على النار حتى الغليان ثم أضيف إليه أوكسيد الزئبقيك الأحمر، برد مباشرةً بوضع الدورق الذي يحوي المزيج في الماء البارد وأضيف إليه حامض الخليك الثلجي ورشح الخليط قبل الاستعمال.

ثانياً : ملون الأيوسين (Eosin Stain)

حضرت وفقاً لطريقة بانكروفت وستيفن (Bancroft and Stevens, 1982) وكالاتي :-

ت	المادة	الكمية
1	مسحوق الأيوسين	1غم
2	الكحول الأثيلي تركيز 70%	99 مل
3	حامض الخليك الثلجي (Glacial Acetic acid)	1 مل

أذيب الأيوسين في الكحول بشكل جيد ثم أضيف إليه حامض الخليك الثلجي ورشح قبل الاستخدام في اليوم التالي.

لونت الشرائح بإتباع طريقة هيوماسون (Humason, 1962) مع بعض التعديلات وكمايلي:

الصبغ باستخدام الهيماتوكسلين والأيوسين :

1. أزيل الشمع من الشرائح باستخدام الزايلين وعلى مرحلتين ولمدة (5 min) لكل مرحلة بعد وضع الشرائح داخل فرن بدرجة ($60C^o$) لمدة (5min) ثم مررت بسلسلة تنازلية من الكحول الاثيلي من اجل ارجاع الماء Rehydration ابتداءً من تركيز (100% , 100% , 90 %, 80% , 70%) ولمدة (5) دقائق لكل تركيز .

2. وضعت الشرائح الزجاجية في ملون الهيماتوكسلين هارس (Harri's Hematoxylin) ولمدة (4-6). دقائق

3. غسلت الشرائح بالماء الجاري لمدة (10min) للحصول على أفضل زرقة.
4. لونت الشرائح بملون الأيوسين لمدة دقيقتين
5. غسلت الشرائح بالماء المقطر .
6. ثم مررت الشرائح بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%,80% ,90% ,100%.100%) لمدة دقيقتين وروقت بالزايلين وعلى مرحلتين لمدة 5 دقائق).

8. التحميل (Mounting)

حملت الشرائح باستخدام (Destrine plastisizer xylene) (D.P.X) وغطيت بغطاء سلايد زجاجي, ثم تركت لتجف على صفيحة ساخنة (Hot plate) بدرجة حرارة (38)درجة مئوية .

9. التصوير (Photography)

صورت الشرائح المجهرية تحت القوى (200)بأستخدام المجهر الضوئي نوع (Meiji) مزود بكاميرا تصوير نوع (Canon) لتصوير التراكيب النسجية الخاصة بالكبد والكلية في الحيوانات قيد الدراسة.

التحليل الاحصائي

حللت البيانات باستخدام برنامج SASوقورنت النتائج باستخدام قيمة اقل فرق معنوي (LSD)عند مستوى احتمالية (0.05 >P)(SAS ,2012)عند متوسط S.E

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

4-1 الدراسة الوظيفية

4-1-1 تاثير مجموعة مادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم \كغم في معدل بعض انزيمات الكبد لذكور الجرذان لمدة شهر واحد :

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية المبينة في جدول (4-1)، ان هناك اختلافات معنوية واضحة في تركيز انزيمات الكبد عند المقارنة بين مجاميع التجربة، اذ لوحظ وجود ارتفاع معنوي واضح ($P < 0.05$) في تراكيز انزيمات الكبد التي اشتملت (ALP ,ALT ,AST) لمجموعة السيطرة الموجبة (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G 1) فقد اتفقت مع العديد من الدراسات السابقة ومنها الدراسة التي اجراها الباحثان (Anwar & Mohamed.2010) اذ ذكرا حدوث ارتفاع معنوي في تركيز انزيمات الكبد ALT ALP ,AST,مقارنة مع مجموعة السيطرة عند إضافة مادة كلوتاميت احادي الصوديوم MSGبتركيز 2.4 غم \كغم من وزن الجرذان المجرعة فمويا . كما اشار الباحث Atiوجماعته (2009) ان إضافة مادة كلوتاميت احادي الصوديوم تسبب احداث اضطراب في وظائف الكبد والذي يظهر عند ارتفاع تركيز انزيمات ASTوALP وALT في بلازما الدم وان تضرر الغشاء الكبدي يسبب وصول الأنزيمات الى الدورة الدموية وارتفاع تركيز هذه الانزيمات في البلازما دليل تلف العضو الكبدي في حين بينت الدراسة التي اجراها اباحث Masreوجماعته (2019) على الجرذان المعاملة بكلوتاميت احادي الصوديوم بواقع جرعتين (60,120) ملغم\كغم من وزن الجسم لمدة 28 يوماً فاظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي واضح في تركيز انزيمات الكبد التي اشتملت على (ALP، AST،ALT) فكانت النتائج تشير الى التاثير السمي الذي سببته مادة كلوتاميت احادي الصوديوم على البنية النسجية والمعايير الكيمياوية الحيوية للكبد.

ان سبب ارتفاع مستوى انزيمات الكبد في مصل الدم في هذه المجموعة يمكن ان يعزى الى تاثير مادة احادي كلتاميت الصوديوم على الكبد عن طريق تحطم الخلايا الكبدية ازدادت الخلايا الكبدية ازدادت كمية افراز انزيمات الكبد الى الدم (Al-Mamary *etal*,2002)وذلك نتيجة للاجهاد التاكسدي والذي يمكن ان يؤدي الى التشمع cirrhosis وتليف الكبد او يرجع سبب ارتفاع الانزيمات الكبدية الى تاثير مادة MSG على العضلة القلبية واصابتها بالتنخر (Huang *etal*,2006)

4-1-2 تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض انزيمات الكبد في مجاميع المستخلص مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة :

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية المبينة في جدول (4-1)، عدم وجود أي تغيير معنوي عند ($P<0.05$) في تركيز انزيمات الكبد (ALP، AST، ALT) عند المقارنة بين مجموعة السيطرة السالبة (G1) ومجاميع لمستخلص المائي النبات الكجرات (G3,G4,G5) والتي جرعت فمويا بالمستخلص المائي بتركيز (250,500,750) ملغم \كغم لمدة 30 يوم على التوالي جدول (4-1) من جانب اخر بينت نتائج الدراسة الحالية الخاصة باعطاء المستخلص المائي لنبات الكجرات Hibiscus sabdariffa ان إعطاء الحيوانات المستخلص لم يرافقه تغير معنوي واضح نحو الزيادة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة ورافقها حدوث انخفاض طفيف في تركيز تلك الانزيمات . نتائج الدراسة الحالية تتفق مع نتائج دراسة الباحث Alzubade (2014) الذي أشار الى عدم حدوث تغير معنوي واضح في تركيز انزيمات الكبد في دم الجرذان المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات وان ذلك يشير الى عدم وجود تاثيرات جانبية تذكر للمستخلص على وظائف الكبد . كما أشار الباحث Linوجماعته (2003) في دراستهم الى ان استخدام المستخلص المائي لنبات الكجرات رافقه تحسن واضح في الأداء الوظيفي للكبد في الجرذان المعاملة بها وياتي ذلك من خلال حدوث انخفاض واضح في تركيز انزيمات الكبد في دم تلك الجرذان بعد ان كانت مرتفعة نتيجة التعرض للتسمم الغذائي. في حين بينت الدراسة التي اجراها الباحث Ezzatوجماعته (2016) ان الجرذان المجرعة بتركيز 100 ملغم \كغم من وزن الجسم بالمستخلص المائي لنبات الكجرات لمدة 30 يوماً وجود انخفاض معنوي واضح في تركيز انزيمات الكبد واستعادة البنية الكبدية المتغيرة نتيجة التعرض للالتهابات

4-1-3 تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض انزيمات الكبد في المجاميع الوقائية مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة :

أوضحت نتائج الدراسة الحالية المبينة في جدول (4-1)، ان هناك انخفاض معنوي واضح في تركيز الانزيمات (ALT، AST،ALP) عند مستوى المعنوية ($P<0.05$) عند المقارنة بين مجموعة السيطرة الموجبة (G2) والمجاميع الوقائية (G6,G6,G7) والتي جرعت بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم MSG بتركيز 12 ملغم \كغم من وزن الجسم والمستخلص بالتراكيز (250,500,750) ملغم \كغم على التوالي لان الكبد هو العضو الرئيسي لإزالة السموم الناتجةعن تفاعل العقاقير في الجسم والتي تكون ينتج عنها التلف الخلوي من خلال اثرها على الجزيئات الحيوية الموجودة في داخل الخلية الحية اذ لوحظ انخفاض تدريجي لمستويات هذه الانزيمات الثلاث بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) ويعزى هذا الدور الوقائي

لنبات الكجرات نظرا لاحتوائه على مواد مضادا للأكسدة (Antioxidant) وجاء هذا متفق مع الدراسة التي اجراها الباحثان Akindahunsi and Olaleye (2003) ان تجريع الحيوانات بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بواقع (250,500) ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوم ساهم في تعزيز تركيز الانزيمات المضادة للاكسدة داخل الجسم ضد رباعي كلوريد الكاربون CCL_4 وبالتالي تقليل التاثيرات السمية لمادة التي يتعرض لها الجسم والتي تساهم في تحطيم جدران الخلايا وبالتالي ساهم هذا المستخلص في خفض تركيز انزيمات الكبد من خلال الحفاظ على البنيان النسيجي للكبد وبالتالي تادية وظيفته بشكل منتظم . وبنفس الاتجاة بينت الدراسة التي اجراها الباحث Essa وجماعته (2006) الى الدور الوقائي الذي اظهره المستخلص المائي للكجرات ضد كلوريد الامونيوم في الكبد اذ جرعت الجرذان المستخلص المائي لنبات الكجرات بواقع 250 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 8 أسابيع اذ أظهرت االنتائج قابلية المستخلص المائي توفير حماية وقائية للنسيج الكبدي لخصائصة في إزالة الجذور الحرة ووجود مضادات الاكسدة الطبيعية. كما اشارت الدراسة التي اجراها الباحث Hashemi (2014) الى ان الدور الوقائي الذي يؤديه المستخلص المائي لنبات الكجرات يعود الى احتواء هذا النبات على العديد من المركبات الفعالة والتي تشتمل على مركبات الفلافو نويدات وحامض الفينول والانثوسيانين.

جدول (4-1) معدل مستويات بعض الانزيمات الكبدية لمجموعة مادة MSG ومجموعة المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بمادة MSG لذكور الجرذان بعد تجريعها فموياً ولمدة شهر واحد.

رمز المجموعة	اسم المجموعة	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)
G1	السيطرة السالبة	34.60 ± 0.24	95.20 ± 0.37	300.60 ± 0.24
G2	السيطرة الموجبة	64.00 ± 0.37	124.40 ± 0.40	540.80 ± 6.25
G3	مستخلص كجرات 250 ملغم/كغم	34.80 ± 0.20	95.60 ± 0.40	296.20 ± 0.73
G4	مستخلص كجرات 500 ملغم/كغم	35.60 ± 0.24	93.80 ± 0.37	300.20 ± 0.37
G5	مستخلص كجرات 750 ملغم/كغم	34.80 ± 0.37	94.60 ± 0.50	299.80 ± 0.37
G6	مستخلص كجرات 250 ملغم/كغم ثم MSG 12 ملغم	64.00 ± 0.31	123.00 ± 0.44	492.60 ± 2.24
G7	مستخلص كجرات 500 ملغم/كغم ثم الـ MSG12 ملغم	55.00 ± 0.44	107.4 ± 0.50	447.20 ± 0.66

G8	مستخلص كجرات 750 ملغم MSG 12ملغم/كغم ثم الـ	45.20 ± 0.37	101.20 ± 0.37	401.80 ± 0.58
LSD		0.9554	1.2306	6.8971
مستوى المعنوية		0.05	0.05	0.05

4-1-4 تاثير المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم 12 ملغم / كغم في معدل مستوى بعض المعايير الكلوية لذكور الجرذان لمدة شهر واحد:

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية الحالية في الجدول (4-2)، ان هنالك اختلافات معنوية ($P<0.05$) في تراكيز المعايير الوظيفية المتعلقة بوظيفة الكلى في بلازما الدم بين مجاميع التجربة. اذ لوحظ ان هنالك ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز المعايير الوظيفية الكلوية التي اشتملت على (اليوريا ,الكرياتنين , ايون الصوديوم Na, ايون البوتاسيوم K, الكاليسيوم Ca) في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) عند المقارنة بين مجموعة السيطرة السالبة (G1) جدول (4-2). نتائج الدراسة الحالية تتفق مع دراسة الباحثين El- sheikh &Kalil (2011) الذين أشارا فيها الى حدوث ارتفاع معنوي في تركيز الكرياتنين الدم في الجرذان المعاملة ب كلوتاميت احادي الصوديوم لمدة 6 أسابيع يزيد تركيز الكرياتينين في مصل الدم عندما تنخفض قدرة الكلى على ترشيح السوائل في الجسم. بشكل عام، قد يعد الارتفاع الكبير في مستوى الكرياتينين مؤشرًا على ضعف أداء الكلى. فذكرا ان هنالك علاقة محتملة بين MSG والفشل الكلوي، أو قد تكون ناجمة عن تغييرات في عتبة إعادة الامتصاص الأنبوبي وتدفق الدم الكلوي والترشيح الكبيبي. وبهذا الاتجاه اتفقت نتائج هذه الدراسة مع ما توصل الية الباحث AL-Mousawiوجماعته (2017)كما لوحظ ارتفاع كبير في مستوى اليوريا والكرياتنين في الجرذان المعاملة ب 5 غم\كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوم وقد يعود السبب الى الضرر الذي احدثته مادة MSG في عملية إعادة الامتصاص والترشيح الكبيبي في مجموعة السيطرة الموجبة.

وقد اتفقت نتائج هذه الدراسة مع الباحث Ateyaوجماعته (2016) ان ارتفاع مستوى الكريتنين واليوريا في مصل الدم يدل على انخفاض معدل الترشيح الكبيبي وبالتالي انخفاض مقدرة الكلى على افراز المخلفات في الحيوانات المعاملة ب MSG بمقدار 10 غم \كغم من وزن الجسم لمدة أسبوعين

في حين بينت الدراسة التي اجراها الباحث عبد الله (2018) ان الجرذان المعاملة ب MSG ب (1غم \كغم و3غم \كغم) لمدة 28 يوما أدى الى ارتفاع واضح في اليوريا والكرياتين دليل على تضرر وظائف

الكلى والتمثيل الغذائي في الجسم، وان ترا كم هذه المنتجات الأيضية في الدم دليل على وجود عيوب في الوظيفة الكلوية.وفي دراسة اخرى اجراها الباحث Sharmaوجماعته (2013) بأن الجرذان المعالجة بـ MSG بمقدار 2 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 9 أشهر سجلت النتائج مستويات عالية لكل من الكرياتنين والبوتاسيوم K في حين انخفض كل من ايون الصوديوم والكاليسيوم في الدم مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة. كما توافقت مع النتائج التي توصل اليها الباحث ILgbedion وجماعته (2013) المعاملة بمقدار (0.20 , 0.15 ,0.1)غرام \كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً اذ ارتفع تركيز كل من البوتاسيوم والصوديوم والكلوروانخفاض الكاليسيوم في الجرذان البيضاء المجرعة بمادة احادي كلوتوميت الصوديوم MSG . كما ان أوضحت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي في تركيز الكرياتنين الدم في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) عن حدوث خلل في وظيفة الكلى وعدم قدرتها على افراغ النواتج الايضية بشكل جيد مما يؤدي الى تراكمها في الدم.

4-1-5 تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض المعايير الكلوية في مجاميع المستخلص الثلاث مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة :

أظهرت الدراسة الحالية عدم وجود فروقات معنوية ($p > 0.05$) بين مجموعة السيطرة السالبة (G1) ومجاميع المستخلص (G3,G4,G5) في المعايير الوظيفية الكلوية (الكرياتنين ,اليوريا ,ايون الصوديوم , البوتاسيوم , الكاليسيوم). وحصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) لهذه المجاميع ولنفس التراكيز المذكورة مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة. اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج الدراسة التي اجراها الباحث Orisakwe وجماعته (2004) التي أجريت على الجرذان المجرعة بصورة متزايدة (1.15، 2.34.6) غم\كغم من وزن الجسم لمدة 12 أسبوعاً واظهرت النتائج حدوث انخفاض طفيف في تركيز البوتاسيوم والصوديوم والكلور وايون البيكاربونات وانقاص وزن الكلى ووزن الجسم في نفس الوقت . كما اتفقت مع نتائج الدراسة التي اجراها العالم Olusola(2016) اذ تم تجريع الجرذان بالمستخلص الكحولي للكجرات بتركيز 100 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 7 أيام وأظهرت النتائج انخفاض في تركيز كل من اليوريا والكرياتنين والصوديوم والبوتاسيوم والكلور وتقليل انزيم MDAالمرتفع بسبب سميةمادة 2,4-هيدرازين االمسببة للسمية الكلوية التي أعطيت للحيوانات وأدت الى حدوث خلل في عمل الكلية.

4-1-6 تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض المعايير الكلوية في المجاميع الوقائية مقارنة مع مجاميع السيطرة الموجبة :

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية الحالية في الجدول (4-2) للمجاميع الوقائية (G6,G7,G8) فقد أظهرت تغيير معنوي مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) التي جرعت بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم \كغم من وزن الجسم يسبقها تراكيز المستخلص بالتراكيز (250,500,750) ملغم \كغم من وزن الجسم على التوالي.

اذ اتفقت نتائج دراسة الحالية مع ما توصل الية الباحثان Tebekeme and Ibiba(2008) اذ أظهرت نتائج الدراسة انخفاض مستويات الكرياتنين واليوريا في بلازما الدم وارتفاع مستوى (GSH ,CAT) في الجرذان المعاملة بالعقار سيسبلاتين (cisplatin) اذ اظهر المستخلص المائي للكجرات قدرته على تقليل ضعف الكلى الناتج عن المادة كما اقترحت الدراسة ان المستخلص المائي يعمل بشكل متأزر لعزل السبلاتين الحر القابل للترشيح وبالتالي جعله اقل توفرا للتلف الخلوي .

وأشار الباحث Adedyo وجماعته (2013) قدرة المستخلص المائي الكجرات على تأدية دورا وقائيا ضد التلف الكلوي الذي تسببه العوامل المؤكسدة والحفاظ على اليوريا والكرياتنين والكتروليتات الدم بشكل أقرب للطبيعي في الجرذان المعاملة ب 100 ملغم \كغم من الانثوسيانين لمدة 20 يوم .

وايدت نتائج الدراسة الحالية الباحث Ologundudu وجماعته (2009) على ذكور الارانب المعاملة ب 100 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً قدرة المستخلص المائي الوقائية ضد التلف الكلوي والحفاظ على مستويات اليوريا والكريانين وعدم توليد الجذور الحرة وقد رجحت الدراسة السبب وجود مادة الانثوسيانين المضادة للاكسدة.

جدول (4-2) معدل مستويات بعض الانزيمات الكلوية لمجموعة مادة MSG ومجموعة المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بمادة MSG لذكور الجرذان بعد تجريعها فموياً ولمدة شهر واحد.

رمز المجموعة	اسم المجموعة	UREA (mg/dl)	كرياتين (mg/dl)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Ca (mg/dl)
G1	السيطرة السالبة	23.80 ± 0.20	0.37 ± 0.002	140.60 ± 0.50	4.16± 0.05	15.02± 0.08
G2	السيطرة الموجبة	33.00 ±	0.62 ±	130.00± 1.14	7.86±	11.08± 0.03

	0.05		0.003	0.44		
14.62 ± 0.17	4.58± 0.11	141.00± 0.44	0.36 ± 0.002	23.60 ± 0.40	مستخلص كجرات 250 ملغم/كغم	**G3**
14.78± 0.03	4.42± 0.05	141.80± 0.58	0.37 ± 0.003	23.40 ± 0.24	مستخلص كجرات 500 ملغم/كغم	**G4**
14.96± 0.02	4.52± 0.12	142.60± 0.24	0.36 ± 0.002	24.20 ± 0.37	مستخلص كجرات 750 ملغم/كغم	**G5**
12.70± 0.12	7.42± 0.03	130.00± 0.31	0.60 ± 0.004	31.80 ± 0.37	مستخلص كجرات 250 ملغم/كغم ثم ملغم 12 MSG	**G6**
13.50±0.18	6.08 ±0.03	133.20± 0.73	0.57 ± 0.003	28.40 ± 0.24	مستخلص كجرات 500 ملغم/كغم ثم الـ ملغم 12MSG	**G7**
13.74±0.14	5.14 ±0.12	133.20±0.74	0.54 ± 0.006	26.00 ± 0.31	مستخلص كجرات 750 ملغم/كغم ثم ملغم 12 MSG الـ	**G8**
0.3375	0.2362	1.8669	0.011	0.9662		**LSD**
0.05	0.05	0.05	0.05	0.05		**مستوى المعنوية**

7-1-4 تاثير المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم/كغم في تركيز مضادات الاكسدة لذكور الجرذان لمدة شهر واحد:

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية الحالية في الجدول (4-3)، ان هنالك اختلافات معنوية واضحة ($p > 0.05$) في تركيز انزيمات الاكسدة (GSH,MDA,CAT,SOD) عند المقارنة بين مجاميع التجربة. اذ لوحظ انخفاض معنوي واضح ($P<0.05$) في تراكيز مضادات الاكسدة التي اشتملت على CAT,GSH,SOD, عند المقارنة بين مجموعة السيطرة السالبة (G1) ومجموعة السيطرة الموجبة (G2) جدول (4-3). اما بالنسبة لانزيم MDA الذي يشير الى مقدار اكسدة الدهون في الجسم فنلاحظ انه ارتفع معنويا ($P<0.05$) في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) مقارنه بمجاميع التجربة الأخرى نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع الدراسات السابقة التي اشارت للتأثيرات الايضية الضارة لمادة كلوتاميت احادي الصوديوم MSG. والتي تؤدي الى حدوث تحفيز للإجهاد التأكسدي في انسجة الجسم الحيوانات بعد تناولة بجرعات لفترة طويلة اذ أوضحت الدراسة التي اجراها الباحثان Singh and Pushpa(2005) على الجرذان المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بمقدار (4,8) ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً اوجدت نتائج الدراسة انخفاض انزيمي CAT,GSH مقابل ارتفاع انزيم MDA وبهذا اشارت النتائج الدراسة الى ارتفاع مقدار اكسدة الدهون والجذور الحرة في الجسم .

كما لاحظ الباحث Onyema وجماعته (2012)في الدراسة التي اجراها على ذكور الجرذان المعاملة بمقدار 0.6 ملغم \كغم لمدة أسبوعين انخفاض انزيمات الاكسدة التي اشتملت على (SOD,GSH) وارتفاع انزيم Lipid peroxidase (LPO) دلالة على ارتفاع وجود الجذور الحرة وبالتالي الاجهاد التاكسدي المؤدي الى ارتفاع انزيمات الكبد وتلف النسيج الكبدي اذ ان انخفاض ال GSH يشير الى الاجهاد التأكسدي والذي يؤثر بشكل كبير على الاكسدة والاختزال للخلية ونضوبا خلويا في نفس الوقت .

الى جانب ذلك أشار الباحثان Farombi and Onyema (2006) ان تجريع الحيوانات ب4 ملغم \كغم من وزن الجسم بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم يرفع من تركيز ال MDAفي كل من الكبد والدماغ وتخفيض العكس في الانزيمين ا SOD, CAT الذان يمثلان دفاعات للأعضاء في داخل الجسم اللذان ينخفضان بشكل ملحوظ وبالتالي ارتفاع الاجهاد التاكسدي اوجدت الدراسة التي اجراها الباحثان Manal and Nawal (2012) بان المعاملة بمادة MSG بجرعات 0.6 و 1.6 مجم / جرام من وزن الجسم قد تسبب تأثيراً عكسيًا على وظائف الكبد والكلى والذي قد يكون بسبب الإجهاد التأكسدي الناتج عن MSG على الكبد وأنسجة الكلى.

كما اشارت الدراسة التي اجراها الباحثان Egbuonu and Ejike (2017) على الجرذان المعاملة بكلوتاميت احادي الصوديوم لمدة أسبوعين وجود انخفاض في كل من انزيمي CAT و SOD الى جانب ارتفاع معنوي ($p > 0.05$) انزيم MAD). دلالة على ارتفاع عملية بيروكسدة الدهون والاختلالات الصحية التي يسببها الإجهاد التأكسدي في الحيوانات، وخاصةً التي يسببها كلوتاميت احادي الصوديوم

في حين اوجدت الدراسة التي اجراها الباحثان (Kushwaha and Bharti) (2015) على الفتران المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بمقدار (5,10) ملغم\غم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً فكانت نتائج الدراسة وجود ارتفاع واضح في انزيم MDA وانزيم Xanthine oxidase XO في حين انخفض كل من SOD وCAT مما يدل على ان مادة MSG تستحث بيروكسد الدهون وبالتالي ارتفاع MDA التي تتناسب طرديا مع للإجهاد التأكسدي وإنتاج الجذور الحرة

8-1-4 تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على معايير الاكسدة في مجاميع المستخلص الثلاث مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة :

أوضحت نائج الدراسة الوظيفية الحالية المبينة في الجدول (4-3) الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في MDA والى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في GSH و CAT و SoD عند المقارنة بين مجاميع المستخلص G3,G4, G5 ومجموعة السيطرة السالبة واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج

الباحث Arora وجماعته (2000) الذين أشاروا الى ان المادة الطبية الفعالة لهذا النبات تتمركز في الأوراق الكاسية للأزهار لاحتوائها على المركبات الفينولية التي تمتاز بانها مواد مضادة للأكسدة عن طريق تثبيط اكسدة الدهون وبالتالي عدم تولد الجذور الحرة واطالة المرحلة الاولى من عملية الاكسدة فيؤخر تكوين البيروكسيدات ثم الهيدروبيروكسيدات وبالتالي ينخفض تركيز انزيم ال MDA الذي يتناسب طرديا مع الجذور الحرة

كما اتفقت نتيجة الدراسة الحالية مع نتائج دراسة التي اجراها الباحث Tsaiوجماعته (2002) اذ أشار الى ان المادة الحمراء (الانثوسيانين) الناتج عنها اللون الاحمر للمستخلص هي المصدر الرئيسي لرفع تركيز الانزيمات المضادة للاكسدة بنسبة تتراوح بين (24-51) % من مضادات الاكسدة التي يمتلكها النبات

كما اوجدت الدراسة التي اجراها الباحث Adaramoye وجماعته (2008) ان تجريع الحيوانات بالمستخلص المائي لنبات الكجرات ب(200,400,800) ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة خمسة أسابيع ساهم في رفع تركيز الانزيمات المضادة للاكسدة التي اشتملت على SOD،CAT، GSH مما يدل الى قدرة مستخلص نبات الكجرات على رفع أنظمة دفاعات الجسم المحتملة لحماية الحيوانات من تلف الكبد المستحث بالاشعاع.

9-1-4 تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على انزيمات الاكسدة في المجاميع الوقائية مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة :

اوجدت نتائج المجاميع الوقائية المبينة في الجدول (4-3) الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$)مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة (G2) .

وحصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز MDA وعودته الى تركيز قريب من التركيز في مجموعة السيطرة السالبة (G1) في المجاميع الوقائية (G6,G7,G8) الى جانب ذلك لم تلاحظ أي فروق معنوية عند ($P<0.05$) في تركيزه عند المقارنة بين مجموعة السيطرة السالبة ومجاميع المستخلص (G3,G4,G5) جدول (4-3). كما أظهرت المجاميع الوقائية (G6,G7,G8) دورا رئيسيا في انخفاض في تركيز المواد المؤكسدة وكانت النتائج متوافقة مع ما توصل الية AL-Kubaisyوجماعته (2016) فقد أظهرت نتائج البحث قدرة المستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 250 ملغم \كغم من وزن الجسم ولمدة شهر على حماية نسيج الكبد ضد السمية التي يسببها كلوريد الكادميوم وبالتالي انخفاض تركيز انزيم ال MDAوارتفاع كل من GSH, CAT, SOD ويرجح هذا الدور الوقائي للكجرات بسبب تاثيرة على الغشاء الخلوي لنسيج الكبد وبالتالي توفير الحماية للكبد ضد السمية التي يسببها كلوريد الكادميوم واتفقت نتائج

الدراسة مع ما توصل اليه Perez- Torresوجماعته (2013) الى إمكانية المستخلص المائي حماية عضلة القلب من التلف الناتج عن قلة ضخ الدم بسبب مرض مرض التصلب العصبي ومتلازمة التمثيل الغذائي metabolic syndrome (MS). عن طريق رفع الانزيمات المضادة للاكسدة SOD، CAT، GSH وبالتالي رفع كفاءة القلب في ضخ الدم.

جدول (4-3) معدل مستويات مؤشرات مضادات الاكسدة لمجموعة مادة MSG ومجموعة المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بمادة MSG لذكور الجرذان بعد تجريعها فموياً ولمدة شهر واحد.

رمز المجموعة	اسم المجموعة	SOD (U/ml)	CAT (KU/L)	MDA (mol/L)	GSH (µg/mg)
G1	السيطرة السالبة	55.88 ± 0.12	2.34 ± 0.01	26.04± 0.22	33.20± 0.48
G2	السيطرة الموجبة	46.49 ± 0.32	1.07± 0.003	30.54± 0.30	28.00 ± 0.31
G3	مستخلص كجرات 250 ملغم/كغم	54.90 ± 0.32	2.24± 0.04	25.64± 0.26	34.40 ± 0.24
G4	مستخلص كجرات 500 ملغم/كغم	54.88 ± 0.30	2.30± 0.02	26.12± 0.15	34.60 ± 0.24
G5	مستخلص كجرات 750 ملغم/كغم	56.04 ± 0.16	2.33± 0.003	26.38± 0.05	34.80 ± 0.20
G6	مستخلص كجرات 250 ملغم/كغم ثم MSG 12 ملغم	46.24 ±0.36	1.07 ±0.002	28.74± 0.23	28.40 ±0.24
G7	مستخلص كجرات 500 ملغم/كغم ثم الـ MSG12 ملغم	48.49 ±0.62	1.84 ±0.18	27.40± 0.39	30.40 ±0.24
G8	مستخلص كجرات 750 ملغم/كغم ثم MSG 12 ملغم الـ	52.68 ±0.68	2.21±0.04	26.36± 0.17	31.80 ±0.37
LSD		1.1815	0.2032	0.7062	0.8879
مستوى المعنوية		0.05	0.05	0.05	0.05

4-1-10 تاثر المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم / كغم من وزن الجسم في تركيز بعض معايير الدهون :

اشارت نتائج الدراسة الوظيفية الحالية والمبينة في الجدول (4-4) الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل مستوى LDL,TC,TG وحصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل مستوى HDL عند المقارنة بين مجموعة السيطرة الموجبة G2 ومجموعة السيطرة السالبة G1 اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة التي اجراها Okediran وجماعته (2014) على الجرذان المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بمدار (0.5 , 1) غم \كغم من وزن الجسم لمدة 28 يوم اذ تعمل مادة كلوتاميت احادي الصوديوم على تخليق الاحماض الدهنية والدهون الثلاثية عن طريق زيادة نشاط انزيم (HMGCOA) 3-hydroxyl-3-thylglutaryl coenzyme وبالتالي زيادة في الكوليسترول الكلي في البلازما والبروتين الدهني منخفض الكثافة وارتفاع الدهون الثلاثية في البلازما . كما اوضحت دراسة الباحث Thomas وجماعته (2009) ان الجرذان المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بواقع 8 ملغم\كغم من وزن الجسم لمدة 20 يوم تعاني من فرط الدهون في الدم مع ارتفاع كبير في مستويات البلازما للـ TG,TC في الجرذان المعاملة ب MSG واقترح ان التغير في استقلاب الكلوكوز تكوين الدهون قد يكون سببا في ارتفاع الدهون في الدم وبالتالي يرتفع الكوليسترول و الدهون الثلاثية في الفئران المعالجة ب MSG . وأشارت الدراسة التي اجراها الباحث Ahmed(2016) عند تجريع الجرذان ب 15 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 60 يوماً قد أظهرت الى وجود ارتفاع ملحوظ في كل من الكوليستيرول والدهون الثلاثية والبروتين الدهني المنخفض الكثافة مع انخفاض في البروتين الدهني مرتفع الكثافة ودقد يعزى السبب الى إمكانية مادة احادي كلوتومايت الصوديوم الى تقليل سيولة غشاء الميتوكوندريا وتوليد الجذور الحرةواحداث امراض تنكسية في الكبد والكلى .في حين اشارت الدراسة التي اجراها Al-khatawi وجماعته (2019) على الجرذان المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بـ (100,200) ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً قد أدى الى ارتفاع واضح في مستوى الكوليسترول في الدم، الدهون الثلاثية ، والبروتينات الدهنية الكثافة المنخفضة الكثافة ، وارتفاع في إنزيمات الكبد (AST، ALT، ALP) ومستوى الكرياتينين ، ومستوى اليوريا في بلازما الدم تظهر هذه النتائج أن مادة MSG تؤثر بشكل سمي على أنسجة الكبد والكلى . اوجدت الدراسة التي اجراها EL-Ezabyوجماعته (2018) في الجرذان المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 13 ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوم ظهور ارتفاع في مرتسم الدهون الذي اشتمل على (TG، TC،

LDL، VLDL) وقد يعزى السبب اضطراب التمثيل الغذائي للكبد وبالتالي على استقلاب الدهون وخاصة الكوليسترول بسبب ارتفاع الاجهاد التاكسدي الذي قد مسببا حدوث تلف في النسيج الكبدي .

4-1-11 تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض معايير الدهون في المجاميع المستخلص الثلاث مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة :

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية المبينة في الجدول (4-4) الى عدم وجود فوارق ($P<0.05$) معنوية لمستوى TC, TG, LDL, HDL بين مجموعة المستخلص G3, G4, G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة وجاءت النتيجة مطابقة لما توصل اليه الباحث EL-Saadany وجماعته (1991) من خلال تغذية الجرذان المصابة بفرط الكوليسترول ب (5%-10%) من المستخلص لمدة 9 اسابيع لوحظ انخفاض نسبة الدهون المختلفة في بلازما الدم والقلب والدماغ والكلى كما حسن من التركيب النسيجي للأعضاء السابقة الذكر الا انه لم يكن له تأثير كعامل خافض للكوليسترول .

اما في الدراسات التجريبية البشرية لمعرفة تأثير المستخلص على معايير الدهون أجريت من قبل العالم Lin وجماعته (2006) انخفاض الكوليسترول بشكل كبير وبهذا اقترح ان المستخلص المائي قد يكون دور في معالجة ارتفاع الكوليسترول في المرضى.

كما أشار الباحث Chen وجماعته (2003) ان تجريع الجرذان بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 10 غم\كغم من وزن الجسم لمدة 12 أسبوع أدى الى زيادة المواد المضادة للاكسدة في المستخلص المائي في الكجرات كان تأثير خافض لكل من LDL والكوليسترول والدهون الثلاثية وارتفاع HDL.

كما اوجدت دراسة أجريت على الجرذان من قبل الباحث.Hirunpanich وجماعته (2006) المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز (500, 1000) ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 6-أسابيع أدى الى انخفاض الكوليستيرول والدهون الثلاثية بينما لم يكن هنالك فروق معنوية ($P<0.05$) في معدل مستوى كل من LDL و HDL.

4-1-12 تاثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات على بعض معايير الدهون في المجاميع الوقائية مقارنة مع مجاميع السيطرة الموجبة :

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية المبينة في الجدول (4-4) الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع الوقائية (G6,G7,G8) قياسا الى مجموعة السيطرة الموجبة .اذ انخفضت تلك المعايير لتكون

قريبة جدا من تركيزها في مجموعة السيطرة السالبة مما يشير الى الدور الوقائي الذي ساهمت به جرع المستخلص وغالبا ما نلاحظ ان التركيز الوقائي الأعلى هو الأفضل في الحصول على النتيجة في غالبية تلك المعايير

جدول (4-4) معدل مستويات بعض Lipid profile لمجموعة مادة MSG ومجموعة المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بمادة MSG لذكور الجرذان بعد تجريعها فموياً ولمدة شهر واحد.

رمز المجموعة	اسم المجموعة	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Tc (mg/dl)	Tg (mg/dl)
G1	السيطرة السالبة	22.32± 0.61	67.80± 0.58	77.00± 0.31	51.80 ± 0.73
G2	السيطرة الموجبة	38.88± 0.42	55.80 ± 0.37	118.60± 0.24	93.00± 1.51
G3	مستخلص كجرات 250 ملغم/كغم	21.82 ± 0.68	54.60 ± 0.40	78.40± 0.40	50.60± 0.40
G4	مستخلص كجرات 500 ملغم/كغم	22.28± 0.67	55.80 ± 0.37	80.40± 0.40	51.80± 0.37
G5	مستخلص كجرات 750 ملغم/كغم	23.16± 0.34	56.20 ± 0.37	78.60± 0.24	51.80± 0.48
G6	مستخلص كجرات 250 ملغم/كغم ثم MSG 12 ملغم	36.26± 0.31	67.40 ±0.50	117.60 ±0.24	86.60± 0.24
G7	مستخلص كجرات 500 ملغم/كغم ثم الـ MSG12 ملغم	33.02±0.59	63.40 ±0.81	112.80 ±0.86	76.80± 0.48
G8	مستخلص كجرات 750 ثم ملغم/كغم الـ MSG 12 ملغم	28.42±0.61	57.20 ±0.86	100.80 ±0.37	64.40±0.74
LSD		1.5855	1.6359	1.239	2.0972
مستوى المعنوية		0.05	0.05	0.05	0.05

واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة اتي أجريت من قبل الباحث الخطيب (2016) على ذكور الارانب البيض النيوزلندية المعرضة للإجهاد التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 جرعت بالمستخلص الكجرات ب125 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً اذ أظهرت النتائج الدور المهم للكجرات كمضاد للأكسدة وبالتالي التحسن معظم التغيرات الوظيفية فانخفضت تراكيز الدهون في كل من LDL , TC, TG بينما لوحظ حصول ارتفاع في مستوى HDL.وفي الدراسة التي اجراها الباحث.Gurrola-Diaz وجماعته

(2010)على 72 مريضاً مصاب بفرط الكوليسترول والدهون تم اعطائهم 6 غرامات من مسحوق الكجرات بأربع جرعات مقسمة لمدة 4 أسابيع أظهرت النتائج خفض الكوليسترول والدهون الثلاثية وLDL دون وجود انخفاض كبير في HDL فاقترحت الدراسة تأثيره على معايير الدهون للمرضى المصابين بفرط شحميات الدم ويعود هذا الدور للمستخلص المائي للكجرات الى احتوائه على فيتامين C الذي يمنع تكون اللويحات الدهنية (Flatty plaques) في الاوعية الدموية التي تسبب تصلب الشرايين من خلال تثبيطه لعملية الاجهاد التأكسدي للكوليسترول البروتين الدهني واطئ الكثافة اذ يمثل هذا البروتين الشكل الرئيسي للكوليسترول السيء وبذلك يقلل من احتمال الإصابة بمرض تصلب الشرايين . كما اوجدت دراسة أخرى للباحث Olatunjiوجماعته (2005) الى ان تجريع المستخلص المائي للكجرات بواقع (1.0،1.5) ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً قد أدت الى خفض تراكيز الدهون والكوليسترول الضار بينما لم تأثير معنوي على HDL ، والدهون الثلاثية في بلازما الدم في الجرذان مما يشير الى تأثيرات وقائية للقلب والاوعية الدموية وتصلب الشرايين

13.1.4 التغيرات الوزنية

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان هنالك تباين في وزن الحيوانات قيد الدراسة في مجاميع التجربة المختلفة , اذ اتضح ان وزن الجسم ازداد بشكل ملحوظ في مجموعة السيطرة السالبة (G1) عند المقارنة بين مقدار الوزن في بداية التجربة مع مقداره في نهاية التجربة وان تلك الزيادة انسحبت على مجاميع المستخلص مع تذبذب الوزن في باقي المجاميع ,اذ لوحظ تقارب الوزن في مجاميع المستخلص التركيز الأول (G3) وكذلك في مجموعة المستخلص التركيز الثالث (G5) ي حين ازداد الوزن في مجموعة المستخلص التركيز الثاني (G4) جدول (4-5)

اذ لوحظ وجود تباين واضح في مقدار الوزن في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) اذ ارتفع الوزن بشكل واضح في نهاية التجربة عنه في بداية التجربة وكذلك الشى بالنسبة للمجموعة الوقائية الأولى (G6) والثانية (G7) في حين انخفض الوزن بشكل واضح في نهاية التجربة عن بداية التجربة في المجموعة الوقائية الثالثة (G8) عند المقارنة للمعيار في بداية التجربة عنه في نهاية التجربة

ان دراستنا للنتائج الحالية الخاصة بالوزن تشير الى عدم استقرار الوزن اثناء التجربة مما يشير الى عدم ارتباط الوزن بالمجاميع المدروسة بالتقييم التي عانت منها الحيوانات على المستو ى النسيجي او الفسلجي وقد يكون ذلك متعلق بطبيعة الغذاء المستخدم ومكونات العليقة المستخدمة وطول الفترة الزمنية للتجربة.

جدول (4-5) الاوزان لمجموعة مادة MSG ومجموعة المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات ومجموعة المستخلص المائي المعاملة بمادة MSG لذكور الجرذان بعد تجريعها فموياً ولمدة شهر واحد.

رمز المجموعة	اسم المجموعة	الوزن قبل التجربة g	الاسبوع الأول g	الاسبوع الثاني g	الاسبوع الثالث g	الاسبوع الرابع g
1G	السيطرة السالبة	147.50± 5.95	141.25 ± 6.57	162.50 9.68	176.25± 13.44	183.75± 13.28
2G	السيطرة الموجبة	313.25± 13.12	281.25± 25.11	273.75± 24.78	256.25± 29.67	347.50 ± 30.92
3G	مستخلص كجرات 250 ملغم/كغم	260.00± 9.35	277.50± 18.87	276.25± 18.75	260.00 ± 23.71	241.25 ± 28.28
4G	مستخلص كجرات 500 ملغم/كغم	280.00± 25.41	298.75± 15.32	295.00± 15.81	299.50± 9.80	295.00 ± 9.35
5G	مستخلص كجرات 750 ملغم/كغم	310.50± 16.30	306.50± 17.83	295.00± 16.20	286.50± 15.85	280.00 ± 15.41
6G	مستخلص كجرات 250 ملغم/كغم ثم MSG 12 ملغم	317.50 ±11.27	330.00 ±19.68	330.00± 19.68	363.75± 15.46	371.25 ±15.32
7G	مستخلص كجرات 500 ملغم/كغم ثم الـ MSG12ملغم	362.50 ±15.47	362.50 ±15.47	357.50 ±14.93	366.25±11.43	367.50 ±9.24
8G	مستخلص كجرات 750 ملغم/كغم MSG 12 ملغم ثم الـ	423.75 ±15.46	423.75±15.46	422.50 ±15.87	402.50±13.61	392.50 ±15.34
LSD		43.947	51.072	50.916	51.872	54.793
مستوى المعنوية		0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل الية الباحث Haung وجماعته (2015) ان تجريع حيوان الهامستر المسمن بنظام غذائي غني بالدهون (25,50,100) ملغم \كغم من وزن الجسم لكل من المستخلص المائي للكجرات وحبيبات الانثوسيانين لوحدها لمدة 10 أسابيع قد ادى حدوث تغير في وزن الجسم ومستويات الدهون في البلازما في الوقت نفسة خفضت المجاميع المعالجة بالمستخلص المائي الدهون المتراكمة في كبد الحيوانات بطريقة تعتمد على التركيز كما أدى تناول المستخلص والانثوسيانين الى تقليل تركيز الكوليسترول والدهون الثلاثية في الكبد .

كما اتفقت الدراسة الحالية مع ما توصل الية الباحث Alarcon-Aguilar وجماعته (2007) اذ تم تجريع الفئران المختبرية المعرضة للسمنه بسبب التجريع ب MSG ب33.64 ملغم من حبيبات الانثوسيانين لكل 120 ملغم \كغم من المستخلص المائي للكجرات لمدة 60 يوما اذ رجحت الدراسة ان الانخفاض الحاصل

في وزن الجسم قد يكون بسبب قلة تناول الطعام بشكل غير ملحوظ في الحيوانات المجرعة كما اوجدت النتائج انخفاض غير كبير في كل من الكوليسترول والدهون الثلاثية .

كما أشار الباحث Kimوجماعته (2003) ان المستخلص المائي للكجرات يمتلك القابلية على تثبيط تمايز الخلايا الدهنية المصحوب بتغيرات للخصائص الكيموحيوية والاستجابة للهرمونات المختلفة.

بينت النتائج الدراسة الحالية وجود تباين في الوزن بين مجموعة السيطرة الموجبة (G2) والمجاميع الوقائية (G6,G7,G8) التي جرعت بكلوتاميت احادي الصوديوم 12 مغم \كغم من وزن الجسم ثم المستخلص المائي بالتراكيز الثلاثة (250,500,750) ملغم \كغم من وزن الجسم .

واتفقت مع هده الدراسة مع ما توصل اليه الباحث Pinterova وجماعته (2001) على الجرذان المعاملة بـ4 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 10 أيام فاوجد ت النتائج افعالية MSG كعامل محفز للسمنة متقدم في الجرذان المصابة بارتفاع ضغط الدم مقارنة بالأخرى غير المصابة.

كما اوجد الباحث He وجماعته (2008) ان هناك علاقة بين استهلاك MSG والسمنة في دراسة اجريت على 752 من الصينيين الاصحاء مرتبط بزيادة مؤشر كتلة الجسم اذ ان هناك علاقة بين استهلاك مادة MSG ان مستهلكي المادة زاد وزنهم مقارنة بغير المستهلكين وكان ذلك نتيجة تحررهم من النشاط البدني ومدخول الطاقة اليومي اذ تؤثر هذه المادة على توازن الطاقة عن طريق زيادة حلاوة الطعام بسلسلة من الإشارات العصبية لاعاقة عمل هرمون اللبتينLiptin(هرمون الشبع) الذي يعطي إشارة للدماغ بالشبع وعدم الحاجة الى المزيد من الطعام .

وبالاتجاه نفسه بينت الدراسة التي اجراها الباحث Insawangوجماعته (2012) التي على ثلاثمائة وتسع وأربعين شخص تتراوح أعمارهم بين 35-55 عاما تم تزويدهم بمادة MSG في نظامهم الغذائي بشكل يومي بدل الملح لمدة عشرة أيام فاظهرت النتائج ازدياد الوزن بشكل واضح لدى الأشخاص المشاركين بالتجربة.

إضافة الى الدراسة التي اجراها الباحث Abd Al Hassen (2019) اشارت الى ان مادة احادي كلوتوميت الصوديوم بتركيز 20 ملغم \كغم لمدة شهر لم يكن لها تاثير يذكر على الوزن العام لذكور الجرذان البيضاء وقد يكون ذلك متعلق بطبيعة الطعام المستخدم ومكونات العليقة المستخدمة والفترة الزمنية للتجربة.

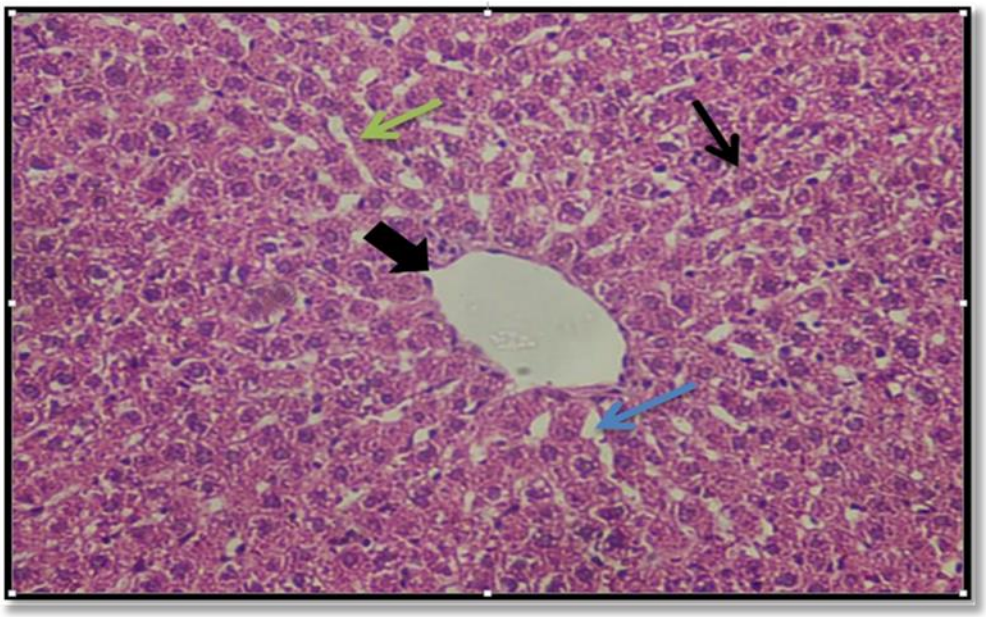
ولم تتفق الدراسة التي اجراها الباحثان Kondoh and Torii(2008) مع الدراسات السابقة على ذكور واناث ا الجرذان البالغه المزودة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم مع العليقة لمدة 8 أسابيع بواقع (1%,3%) من وزن الجسم لم يكن لمادة MSG أي تاثير يذكر على وزن الجسم.

2-4 الدراسة النسجية Histological study

1.2.4 نسيج الكبد

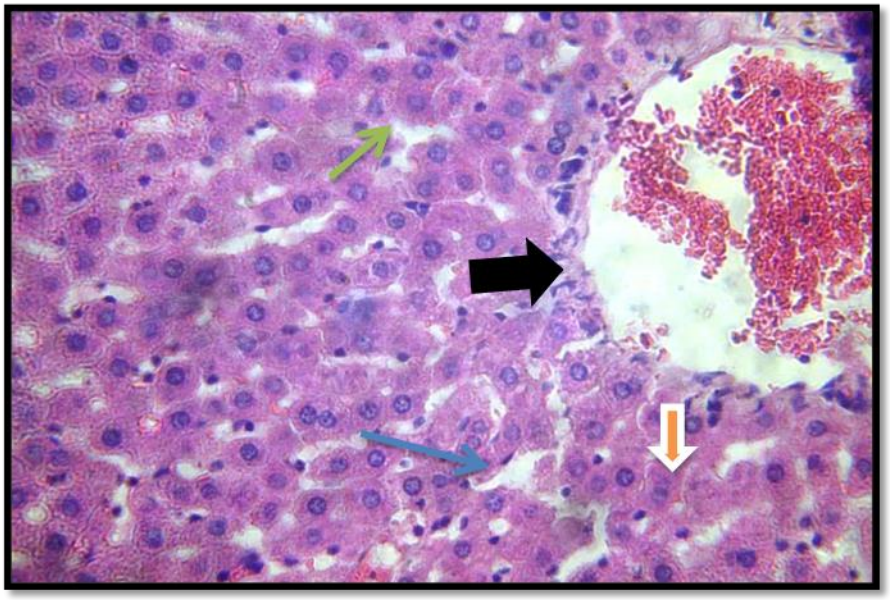
1-1-2-4 تأثير المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نسيج الكبد في المقاطع المدروسة لمجموعة السيطرة السالبة (G1) التركيب النسجي الطبيعي موضحا فيه خلايا الكبدية الطبيعية Hepatocytes وانتظام الحبال الكبدية باتجاه مركز الفصيص Lobule المحتوي على الوريد المركزي Central vein والخلايا ذات اشكال مضلعة Polyhedral لها سايتو بلازم حامضي الصبغة Esinophilicونوى كروية الشكل ويمكن تمييز اكثر من نواة في بعض الخلايا الكبدية يتخللها جيوب تسمى الجيبانيات الدموية Sinusoids منظمة باتجاه الوريد المركزي صورة (4-1)

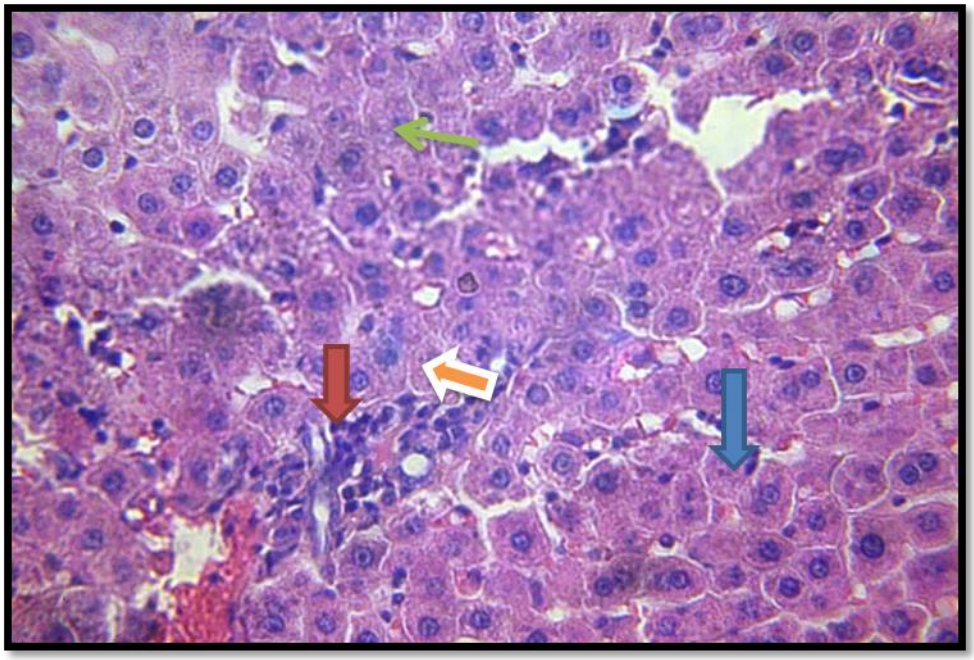


صورة رقم (4-1) تمثل مقطع عرضي للكبد (نسيج الكبد) لمجموعة السيطرة السالبة يتضح فيها الوريد المركزي ( ) و خلايا الكبد و أنويتها ( ) و انتظام الحبال الكبدية ( ) الجيانيات ( ). (H & E stain 200X)

في حين أظهرت المقاطع النسجية لكبد الحيوانات المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم \كغم لمدة 30 يوماً بانها تعاني من احتقان وتوسع شديد في الوريد المركزي مع عدم انتظام في الحبال الكبدية كذلك وجود احتقان وتوسع في الجيبانيات وارتشاح الخلايا التهابية كما لوحظ وجود قطع بيضاء على نسيج الكبد مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (4-1) بسبب التأثيرات السمية لمادة كلوتاميت احادي الصوديوم صورة رقم (4-2, 3).



صورة (4-2) مقطع عرضي لنسيج الكبد في المجموعة المعاملة بمادة احادي كلوتومات الصوديوم بتركيز 12 ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها ارتشاح شديد الخلايا الالتهابية يظهر فيها احتقان وتوسع في الوريد المركزي ( ) مع عدم انتظام شديد في الحبال الكبدية ( ) مع وتنخر ( ) وتوسع الجيبانيات ( ) (H& E (Stain200X



صورة (4-3) مقطع عرضي لنسيج الكبد في المجموعة المعاملة بمادة احادي كلوتومات الصوديوم بتركيز 12 ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية ( ) وعدم انتظام شديد للحبال الكبدية ( ) وتنخر شديد( ) وتنكس خلايا الكبد ( ) (H&Estain200x)

نتائج دراستنا الحالية الخاصة بالمقاطع النسجية للكبد في الحيوانات المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوما تتفق مع ما أشار الية الباحث Shrestha وجماعته ,(2018) في دراستهم للتأثيرات السمية لمادة كلوتاميت احادي الصوديوم الى ان تجريع الحيوانات بتلك المادة بواقع (1.6 كغم\غم و0.6 غم \كغم) من وزن الجسم لمدة 28 يوماً أدت الى حدوث تغيرات مرضية في نسيج الكبد تمثلت باحتقان الوريد المركزي وتوسع الجيبانيات وانخفاض قطر نوى خلايا الكبد .

كما اشارت نتائج دراسة الباحثين (Al-Sharkawy *etal*,2017) الى ان تجريع الحيوانات بمادة MSGبتركيز 30 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 4 أسابيع أدى الى ظهور تغيرات تنكسيه في نسيج الكبد تمثلت بحدوث تنخر في خلايا الكبدية الى جانب احتقان النسج الكبدي مع ملاحظة وجود بؤر بيضاء على السطح الخارجي تمثلت بتجمع الخلايا الالتهابية .

كما أشار الباحثين Eid وجماعته (2018) في دراستهم على التأثيرات السمية لمادة كلوتاميت احادي الصوديوم على الأمهات الحوامل في الحردان والتي جرعت 10 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة تسعة عشر

يوما من الحمل الى ان تلك المادة أدت الى حدوث تغيرات تنكسية شديدة في كبد الاجنة وكذلك كبد الام تمثلت باحتقان الوريد المركزي وضمور الخلايا الكبدية .

كما اشارت العديد من الدراسات الى ان معاملة الجرذان بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 3 ملغم\كغم وكذلك 6 ملغم \كغم لمدة 45 يوما أدى الى ظهور العديد من التغيرات النسجية فتمثلت بتجمع الخلايا الالتهابية حول الوريد المركزي مع تنخر خلايا الكبد وعدم انتظام الجيبانيات Bhattacharya *et al*,2011) ,(Kumbhare *et al,2015).*

في حين اشارت الدراسة التي اجراها الباحث مشتت (2020) ان تجريع الجرذان البيضاء ب 14 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً فأظهرت نتائج المقاطع النسجية وجود احتقان في الاوردة المركزية وتمزق في الخلايا والجيبانيات الكبدية وظهور الخلايا التهابية داخل وحول الوريد المركزي بأحجام غير متساوية من الانوية في خلايا الكبد.

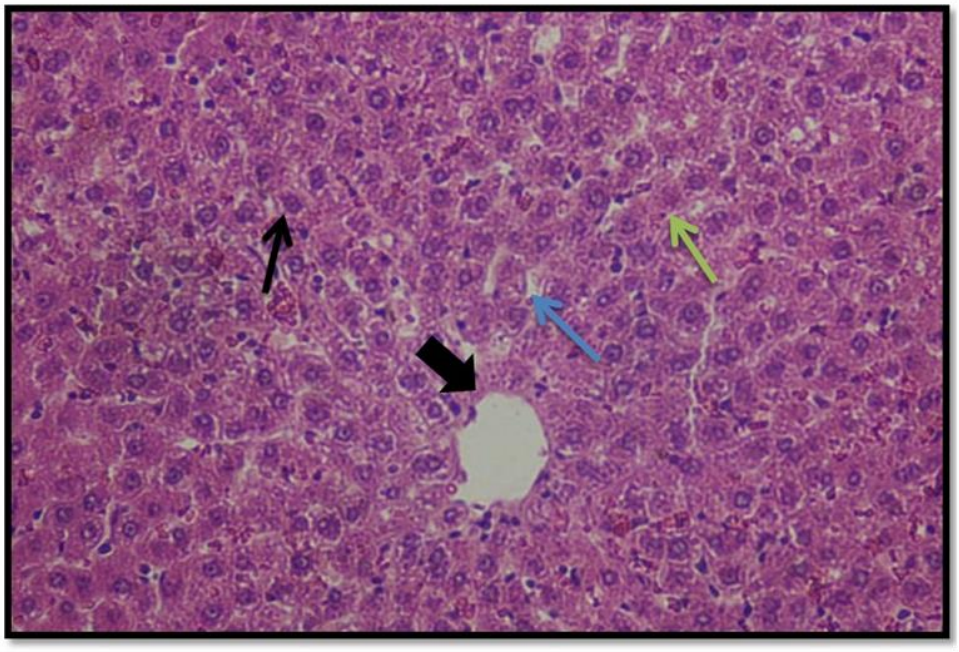
واظهرت الدراسة التي اجراها Eweka وجماعته (2011) ان تجريع الحيوانات فمويا بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم 0.04 ملغم \كغم و0.08 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة شهر أدى الى ظهور تغيرات تمثلت بتلف وتحطم للكبد وتوسع في الوريد المركزي الكبدي .

كما اشارت الدراسة التي اجراها الباحث Ibrahim وجماعته (2012) ان تجريع الفئران ب3 غم \كغم و6 غم \كغم من وزن الجسم من مادة MSG لمدة 14 يوماً أدى الى ازدياد اعداد الخلايا الكبدية مع وجود نوى بحجم كبير فضلا عن زيادة عدد النويات .

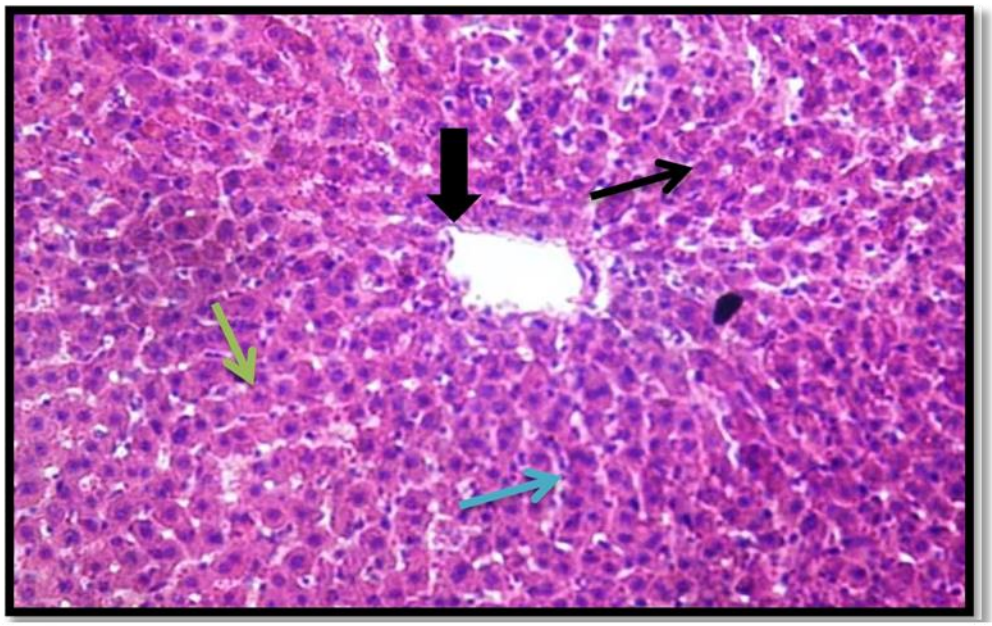
واوجدت الدراسة التي اجراها الباحث Elbassuoni وجماعته (2018) ان تجريع الجرذان ب 35 ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة أسبوعين عدم انتظام الخلايا وتنكسها واحتقان الوريد المركزي بشكل ملحوظ ووجود نوى تعاني من الانكماش وظهور بعض مناطق للنزف الدموي.

4-2-1-2 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق نبات الكجرات:

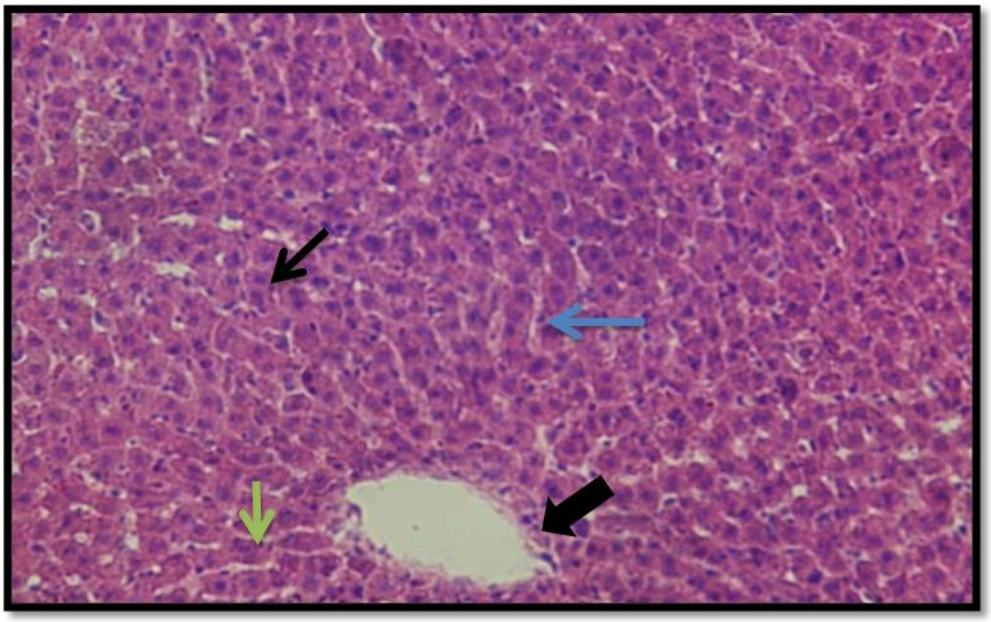
اظهر الفحص النسيجي لكبد الحيوانات المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات وبتركيز 250 ملغم\كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوما الى عدم حدوث أي تغير في بنية النسيج الكبدي عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) اذ لوحظ الوريد المركزي وانتظام الخلايا الكبدية مع وضوح الخلايا الكبدية وانويتها الى جانب وجود الجيبانيات وان تلك النتائج مماثلة لما تم الحصول عليه من نتائج فحص المجاميع المعاملة بتركيز 500 ملغم\كغم من وزن الجسم و750 ملغم \كغم من وزن الجسم صورة (,4-4).(4-5)(4-6)



صورة (4-4) لمقطع عرضي لنسيج الكبد في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 250 ملغم/كغم من وزن الجسم و التي يلاحظ فيها الوريد المركزي ( ) و خلايا الكبد و أنويتها ( ) و انتظام الحبال الكبدية ( ) و أيضا الجيبانيات ( ) (H & E stain 200X) .



صورة (4-5) تمثل مقطع عرضي لنسيج الكبد في ا لمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 500 ملغم/كغم من وزن الجسم و التي يلاحظ فيها الوريد المركزي ( ) و خلايا الكبد و أنويتها ( ) و انتظام الحبال الكبدية ( ) و أيضا الجيبانيات ( ) (H & E stain 200X) .



صورة (4-6) مقطع عرضي لنسيج الكبد في لمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 750 ملغم/كغم من وزن الجسم و التي يلاحظ فيها الوريد المركزي ( ) و خلايا الكبد و أنويتها ( ) و انتظام الحبال الكبدية ( ) و أيضا الجيبانيات ( ) (H & E stain 200X) .

وكانت نتيجة دراستنا متطابقة مع Liuوجماعته (2010) والتي أعطيت فيها المستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات وبالتراكيز (200,400,600) ملغم \كغم لمدة أسبوعين اذ وفر المستخلص حماية للنسيج الكبدي من التنكس الدهني عن طريق تقليل بيروكسيد الدهون والموت المبرمج للخلايا وزيادة نشاط ال CATالذي يلعب دورا رئيسيا في اليات الدفاع التأكسدي

كما وجد علي وجماعته (2003) ان تجريع الجرذان ب 100 و200 ملغم \كغم بالمستخلص المائي للأوراق الكاسيه لنبات الكجرات لمدة خمسة أيام يوميا خففت بشكل ملحوظ تلف الكبد التأكسدي في الجرذان المختبرية.

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة التي اجراها Liu وجماعته (2006) اذ أظهرت نتائج المقاطع النسجية لتجريع الجرذان بمقدار 200 \ملغم \كغم من وزن الجسم بالمستخلص المائي لأوراق النبات الكجرات لمدة تسع أسابيع ان الكجرات قد قلل بشكل كبير من تلف الكبد بما في ذلك التنكس الدهني والتليف الكبدي بشكل ملحوظ ويظهر هذا التأثير الوقائي بسبب الخصائص التي تمتلكها المركبات الكيميائية التي يحتويها النبات ومن ضمنها الخصائص المضادة للأكسدة التي تعمل ضد تلف النسيج الكبدي.

وتتفق مع هذه الدراسة دراسة أخرى اجرها الباحث Shewaitaوجماعته (2001) اذ ظهرت النتائج ان استخدام حبيبات الانثوسيانين بتراكيز (100,200) ملغم \كغم من وزن الجسم خفض انزيمات AL,T AST وبالتالي تقلل من الاجهاد التأكسدي وتقليل تحطم خلايا الكبد وحدوث التنخر داخل الخلايا وبدرجات مختلفة.

في حين اشارت الدراسة التي اجراها الباحث Mahmoud، وجماعته (2010) ان إعطاء الكجرات بتركيز (350,400) ملغم \كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي البارد والحار على التوالي بجرعتين مدة 30 يوما عدت جرع امنة مع وجود بعض التغيرات الطفيفة بالجرعة المرتفعة اذ لوحظ توسع طفيف في كل من الوريد المركزي والجيبانيات في حين لم يكن هناك اختلاف يذكر بين المستخلص المائي الحار والبارد.

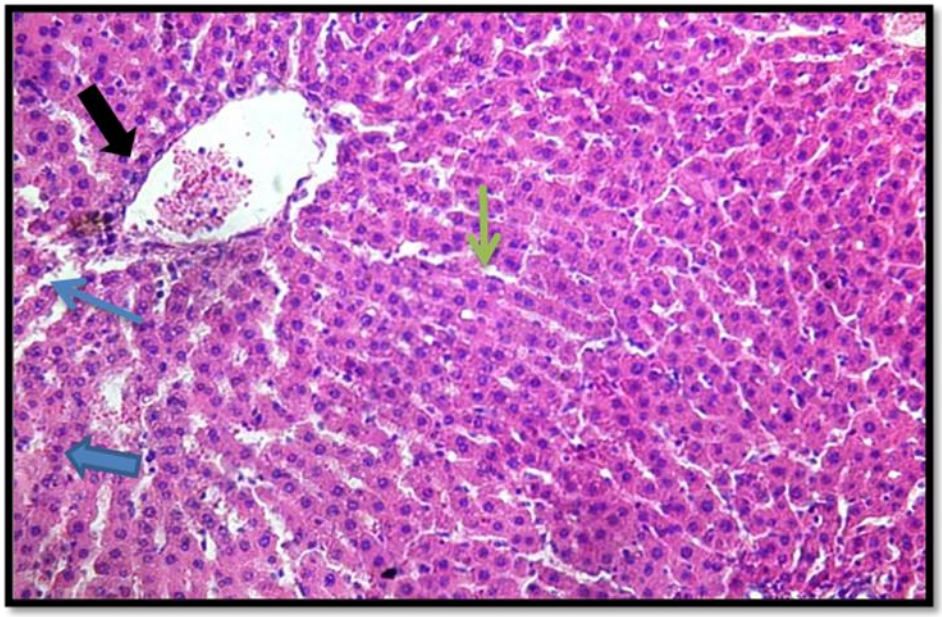
أظهرت الدراسة الحالية عدم وجود تأثير جانبي يذكر لمستخلص أوراق نبات الكجرات على التركيب النسيجي للكبد نظرا لما يحتويه نبات الكجرات من مواد ذات فعالية مهمه ولا تؤدي الى اثر سمي على الانسجة ولا تحفز على الاجهاد التأكسدي او توليد جذور حرة لاحتوائها على مواد فعالة ذات فعالية حيوية مثل المركبات الفينول التي تمتلك تأثيرات وقائية.

3-1-2-4 الفعالية الوقائية للمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات

أظهرت لنتائج الدراسة الحالية الخاصة بالمقاطع العرضية لنسيج الكبد في المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي لنبات شاي الكجرات بواقع (250,500,750) ملغم \كغم من وزن الجسم وجود تأثيرات واضحة للمستخلص تمثلت في تقليل التأثيرات السمية لكلوتاميت احادي الصوديوم على نسيج الكبد في المجاميع الدراسة اذ انخفض احتقان الوريد المركزي مع ملاحظة انتظام جزء من الحبال الكبدية وحدوث توسع في الجيبانيات مع بقاء التنكس في الخلايا الكبدية المعاملة بتركيز 250 ملغم \كغم من وزن الجسم اما عن المجموعة المعاملة بتركيز 500 ملغم \كغم من وزن الجسم قلة احتقان الوريد المركزي مقارنة بالمجموعة السابقة مع انخفاض مستوى التنكس من الخلايا الكبدية بدرجة كبيرة . اما في المجموعة المعاملة بتركيز 750 ملغم \كغم من وزن الجسم فنلاحظ كون النسيج أقرب للحالة الطبيعية اذ نلاحظ انتظام الخلايا الكبدية ووضوح الانوية الى جانب وضوح انويتها مع بقاء التنكس في بعض الخلايا الطبيعية واحتقان بسيط في الوريد المركزي .

نتائج الدراسة الحالية وضحت ان المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات ساهم في تقليل التأثيرات السمية لـ MSG ويظهر ان تركيز 750 ملغم \كغم من وزن الجسم هو افضل التراكيز المعتمدة في التراكيز الوقائية اذ ساهم في تقليل

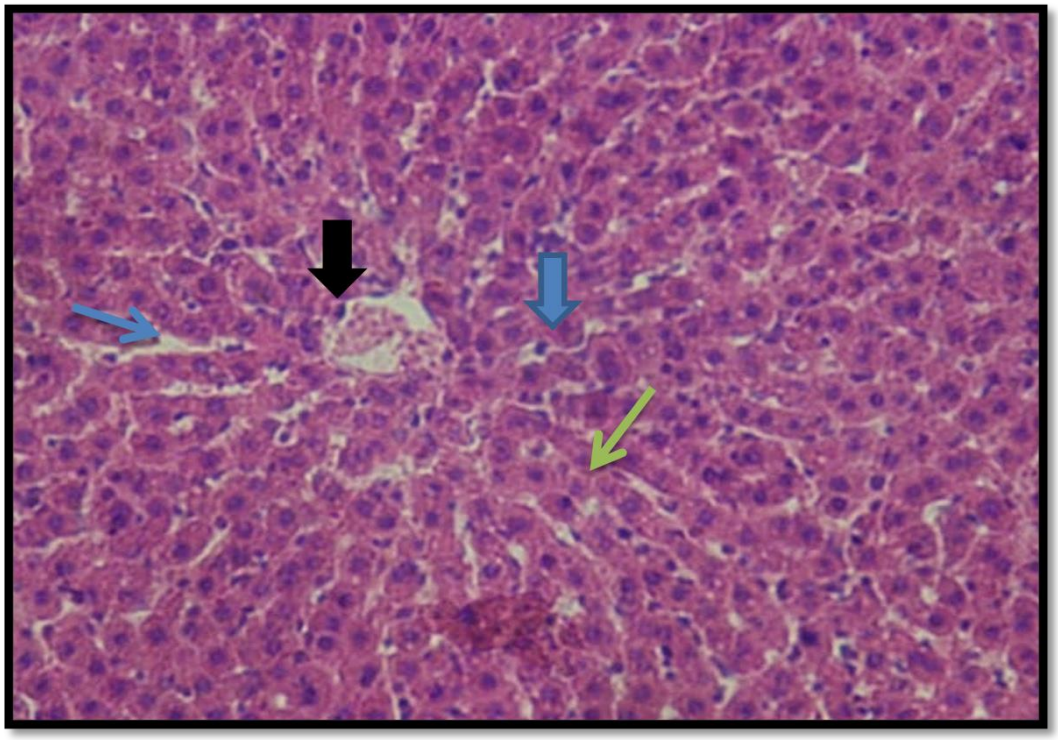
التأثيرات بشكل واضح مما جعل النسيج قيد الدراسة اقرب ما يمكن مشابهة الى الحالة الطبيعية الا انه لم يمنع حدوث بعض التأثيرات السمية للـ MSG في الجسم .



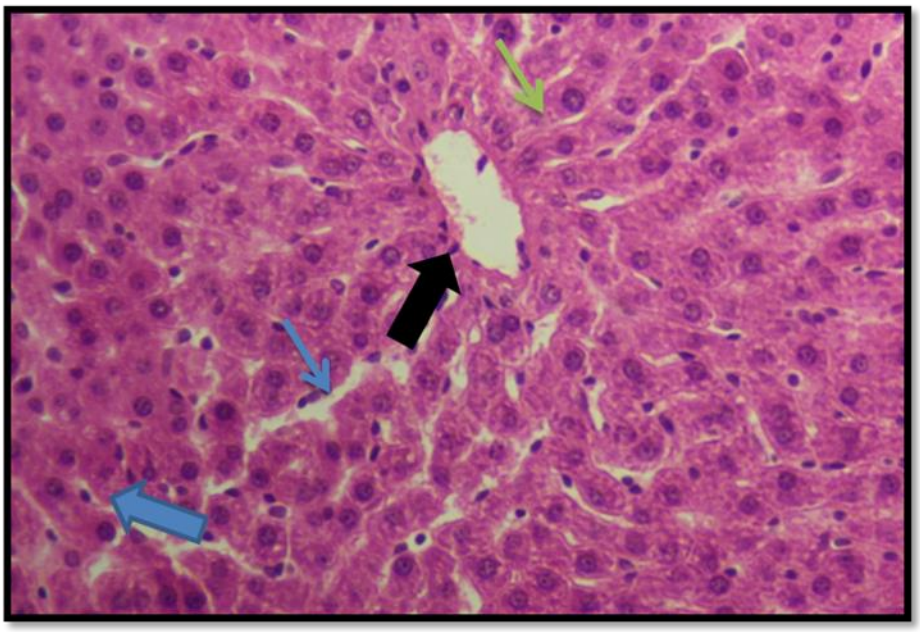
صورة رقم (4 -7) مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات بتركيز 250 ملغم / كغم مع مادة احادي كلوتومات الصوديوم MSG بتركيز 12 ملغم /كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها توسع واحتقان الوريد المركزي (⬅) وتوسع الجيبانيات (⬅) مع انتظام جزء من الحبال الكبدية (⬅) وتنكس خلايا الكبد (⬅) (H & EX 200)

ان الدور الوقائي الذي ساهم به المستخلص المائي لنبات الكجرات جاء من احتواء هذا النبات على العديد من المواد الفعالة التي تساهم في تحسين الأداء الوظيفي لخلايا الجسم الى جانب قدرته المتمثلة بإزالة الجذور الحرة ومنع تكونها من خلال التقليل مستوى الالتهاب والضرر الذي يلحق بالخلايا نتيجة تعرض الجسم للمواد السمية ويظهر ذلك واضحا من خلال مساهمته في رفع تركيز انزيمات المضادة للأكسدة في الجسم.

نتائج الدراسة الحالية تتفق مع ما أشار اليه Wangوجماعته عام (2000) اذ أشاروا الى الدور الفعال للمستخلص المائي لنبات الكجرات في تحسين الأداء الوظيفي للخلايا الكبدية الى جانب قدرته العالية في كبح تكون الجذور الحرة ويأتي ذلك من خلال احتوء هذا النبات على حبيبات الانثوسيانين التي تتؤدي دورا فعالا في كبح الجذور الحرة وتنظيم الفعالية الايضية لخلايا الجسم وخصوصا خلايا الكبد.



صورة رقم (4 -8) مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات بتركيز 500 ملغم / كغم مع مادة احادي كلوتومات الصوديوم MSG بتركيز 12 ملغم/كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها وجود الجيبانيات ( ) مع انتظام الحبال الكبدية ( ) مع قلة احتقان في الوريد المركزي مقارنة مع المعاملة السابقة ( ) وتنكس بسيط للخلايا الكبدية في بعض مناطق الكبد ( ) (H & E 200 X)



صورة رقم (4-9) مقطع عرضي من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي بتركيز 750ملغم / كغم من وزن الجسم مع مادة بتركيز)12ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها ان النسيج اقرب للطبيعي مع اختفاء احتقان الوريد المركزي ( ) و توسع بسيط للجيبانيات ( ) مع انتظام الحبال الكبدية و خلايا الكبد وانويتها ( ) مع تنكس بعض الخلايا ( ) ( ) (stain E & H . (200X)

وبالاتجاه نفسه أشار الباحث (Kao) وجماعته عام (2009) الى ان الكجرات يوفر حماية لخلايا الكبد ضد التأثيرات الالتهابية وبالتالي يمنع تحرر الجذور الحرة وبالتالي يقلل الخطر الناجم على الجسم من الاجهاد التأكسدي ويأتي ذلك من احتواء مستخلص هذا النبات على المركبات الفينولية التي تؤدي دورا فعالا في حماية خلايا الجسم والكبد على وجه الخصوص من الاجهاد التأكسدي وتحرر الجذور الحرة .

في حين أشارت الدراسة التي اجراها الباحث Adeymi وجماعته (2014) الى دور المستخلص المائي للكجرات له تأثيرات تحسن وظيفة الكبد من جريع الجرذان البيضاء المصابة بمرض السكري بجرعات متصاعدة من المستخلص تبلغ (200,400,800) ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً اذ أوضحت النتائج للمقاطع النسجية ان الانسجة ظهرت بشكل اقرب للطبيعي مقارنه مع المجموعة المصابة بمرض السكري فقط .

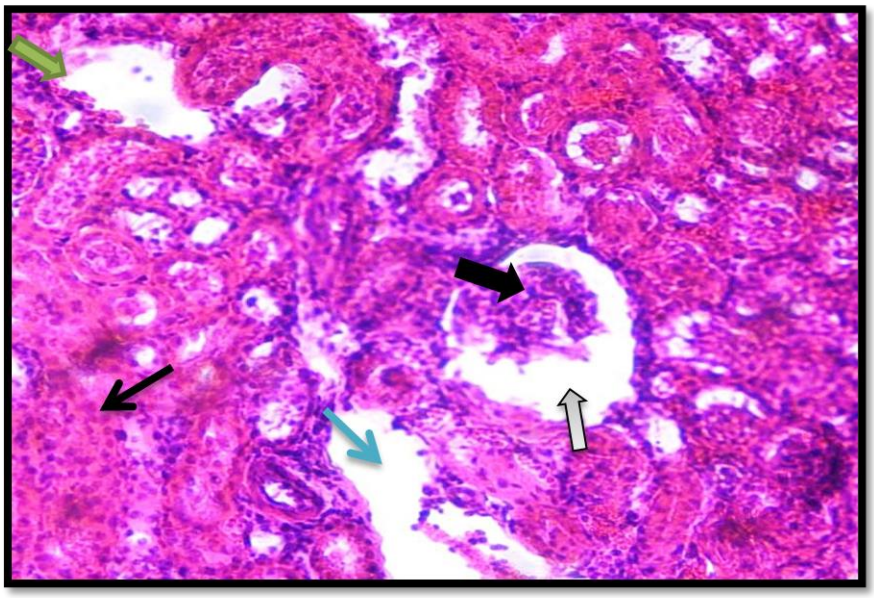
كما اتفقت مع دراستنا الدراسة التي اجراها ALqasoumi وجماعته (2008) اذ جرعت الجرذان بواقع (500, 250) ملغم \كغم من وزن الجسم اذ اظهر المستخلص الكحولي بمقدار (1:1) لنبات الكجرات دورا

وقائيا ضد التأثير السمي الذي يسببه CCL_4 اذ يلاحظ في التركيز الأقل 250 ملغم \كغم من وزن الجسم انخفاض ملحوظ في انزيم ALP مما قد يشير الى توفير حماية لنسيج لكبد .

4-2-2 نسيج الكلية

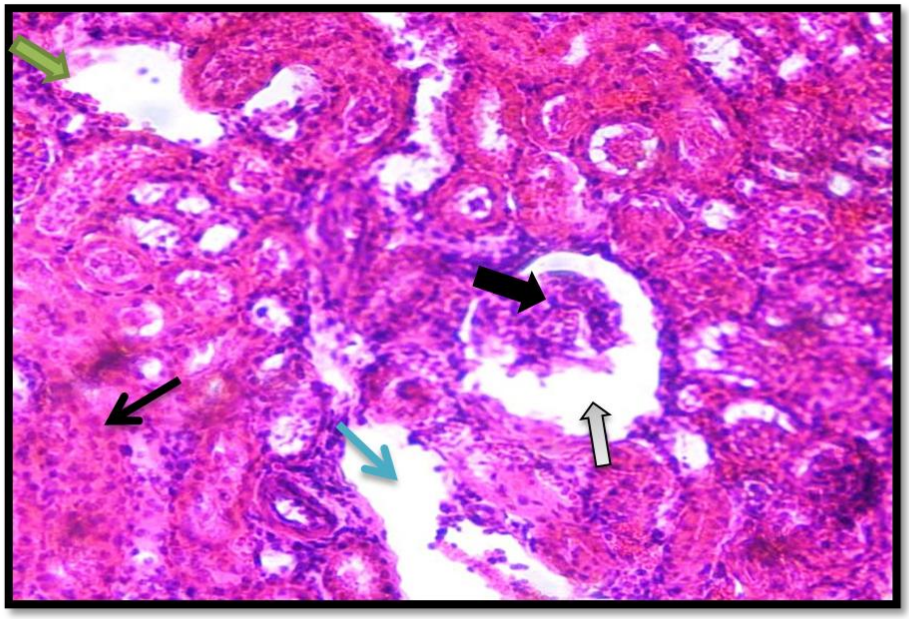
4-2-2-1 تاثير المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم

تتألف الكلية في اللبائن نسيجيا من منطقتين المنطقة الخارجية تدعى القشرة cortex والمنطقة الداخلية تدعى باللب medulla ومحاطة بمحفظة رقيقة من نسيج ضام تدعى بالمحفظة الكلوية Renal Capsule وتكون منطقة اللب مقسمة في اغلب القوارض الى لب خارجي محاذي للقشرة ولب داخلي محاذي للحوض الكلوي (Bacha and Bacha ,2000) اشارت دراسة التي تناولت التركيب النسيجي للكلية الى ان منطقة القشرة تحتوي على جسيمات كلوية والنبيبات الملتوية الدانية Proximal convoluted tubule والنبيبات الملتوية القاصية Distal convoluted tubule فضلا عن امتدادات الاشعة اللبية Medullary or cortical rays (الزبيدي ,2003) اما اللب فيحتوي على تراكيب مخروطية الشكل تدعى الاهرامات اللبية Medullary pyramids قاعدتها مجاورة للقشرة والقمم تبرز في حوض الكلية (البداية المتوسعة للحالب) الحليمات الكلوية Renal papillae(العلوجي ,2007), ويحتوي كلا من القشرة واللب على النبيبات البولية Uriniferous tubules(فريحات ,2009) صورة (4-10) .

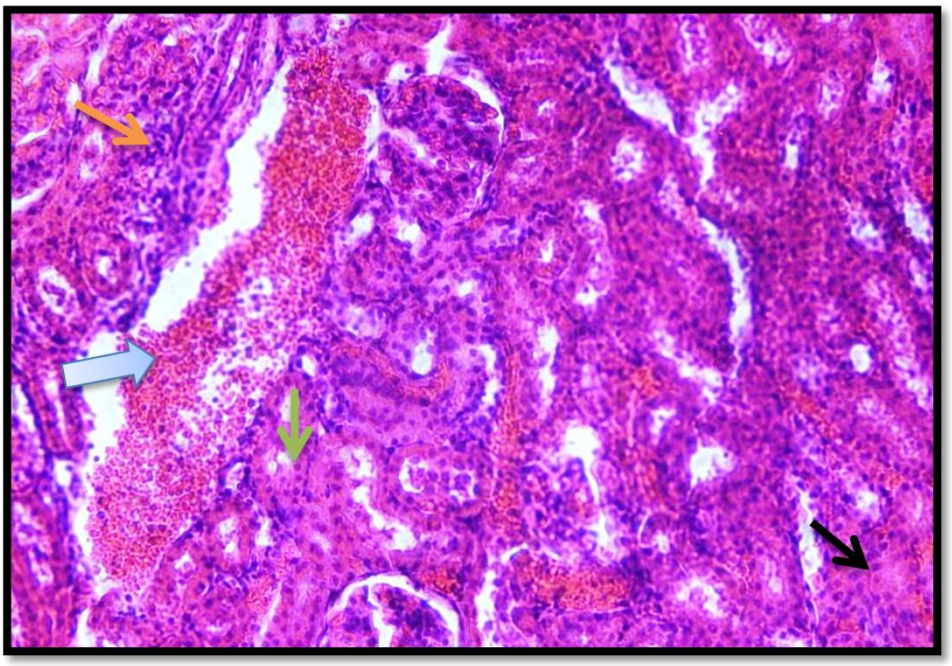


صورة رقم (4-10) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بمادة احادي كلوتومات الصوديوم 12 ملغم / كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها كبيبة منكمشة (⬅) وزيادة فسحة بومان (⇦) وتحطم في جدران النبيبات البولية (⬅) وانسلاخ في ظهارتها المبطنة وتنخر الخلايا (⬅) (H & E stain, 200x)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الخاصة بالمقاطع النسجية للكلى في المجموعة المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم (G2) تركيز 12 ملغم \كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوماً والتي عدت مجموعة سيطرة موجبة ان هنالك تغيرات نسجية واضحة عند المقارنة مع المقاطع النسجية لمجموعة السيطرة السالبة تمثلت تلك التغيرات بانكماش الكبيبات الكلوية رافقها زيادة في فسحة بومان الى جانب تحطم في الخلايا المبطنة لبعض النبيبات البولية وانسلاخ بطانتها مع ملاحظة وجود احتقان دموي وارتشاح للخلايا الالتهابية صورة(4-11) (12-4)



صورة (4-11) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم 12 ملغم / كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها كبيبة منكمشة (⬅) وزيادة فسحة بومان (⇦) وتحطم في جدران النبيبات البولية (⇦) وانسلاخ في ظهارتها المبطنة وتنخر الخلايا (⇦) (H & E stain, 200x)



صورة (4-12) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم 12ملغم / كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها وجود احتقان دموي (⇦) و ارتشاح الخلايا الالتهابية (⇦) مع تنكس الخلايا (⇦) وتنخرها (⬅) (H & E stain, 200x)

فاوجدت الدراسة التي اجراها الباحث .Elbassuoni وجماعته (2018) ان تجريع الجرذان ب 35 ملغم \كغم من وزن الجسم من مادة ا MSGلمدة أسبوعين فأوجدت النتائج النسجية عدم انتظام بنية الكلى وضمور الكبيبات جزئيا وتوسع محفظة بومان مع احتقان واضح بين الانابيب الملتوية القريبة وظهور خلايا التهابية.

كما اشارت الدراسة التي اجراها الباحث Paulوجماعته (2012) ان تجريع اناث الجرذان فمويا ب 4 غم \كغم من وزن الجسم من مادة MSG لمدة 180 يوما قد أدى الى احتقان في الكبيبات الكلوية وتضخم في الانابيب القاصية والدانية واحتقان الشعيرات الدموية ووجود نزف دموي.

كما كشفت النتائج التي توصل اليها الباحث Afeefy وجماعته (2012) عند تجريع الجرذان فمويا ب 6 ملغم \كغم من وزن الجسم من مادة MSGلمدة 30 يوماً أدى الى ظهور توسعاً شديداً في كبسوله بومان وانكماش الكبيبات الكلوية وفقدان حدود الحافة الفرشاتيه للانابيب الملتوية القريبة كما أظهرت تغيرات ينتج عنها تحطم وصغر حجم النواة وقلة حجم السايتوبلازم.

اتفقت الدراسة الحالية مع النتائج التي توصل لها الباحث Dixitوجماعته (2014) اذ أعطيت الجرذان ب 4 ملغم \كغم من وزن الجسم من مادة ال MSGلمدة 30 يوماً أدى عن اختلاف كبير في الكبيبات فضلا عن الانابيب القاصية والدانية مع زيادة مساحة محفظة بومان مع ظهور الخلايا الالتهابية وتغيرات تنكسيه في قشرة الكلى.

كما اتفقت دراستنا مع ما توصلت اليه الباحث Abd Al Hassen (2019) عند جرعت الجرذان المختبرية ب 20 ملغم \ كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوماً اذ لاحظ وجود توسع في فسحة محفظة بومان وتضخم الخلايا وتضخمها وفقدان البنية الطبيعية للأنابيب القاصية والدانية مع حدوث نزف دموي وحدوث تنكس في الخلايا الكلوية وضعف بنية الكلى .

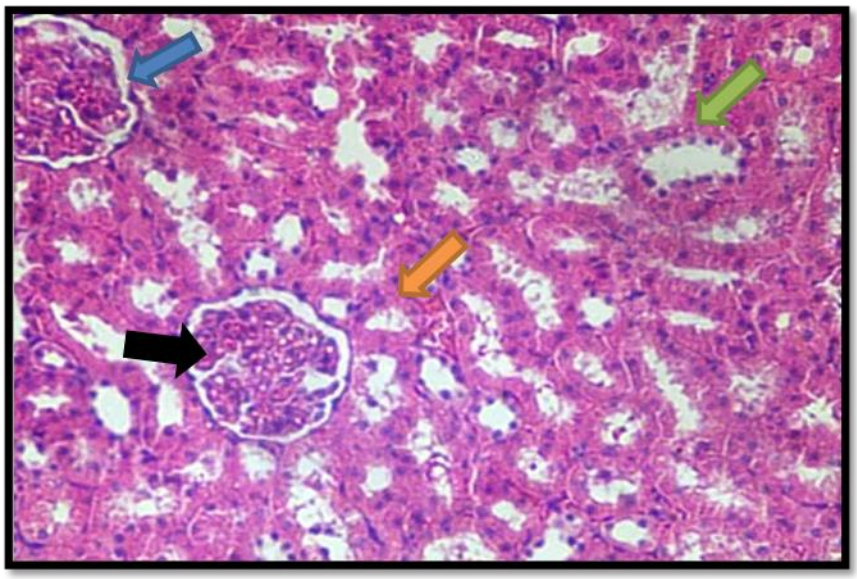
في حين اوجدت الدراسة التي اجراها الباحث Ortizوجماعته (2006) ان حقن الجرذان البيضاء بمادة MSG بواقع 4 ملغم \غم من وزن الجسم بمنطقة تحت البريتون فكانت النتائج النسجية وجود تغيرات تنكسية شديدة خصوصا في النبيبات الملتوية القريبة اكثر من النبيبات الملتوية البعيدة مع تنخر خلوي ووجود الخلايا الالتهابية.

في حين أشار الباحث Eweka (2007)ان تناول اناث الجرذان البيضاء مادة MSG بخلطها مع العليقة يوميا بواقع 3غم و6غم لمدة أسبوعين أظهرت النتائج النسجية وجود درجات من النخر الخلوي مع تغيرات تنكسية واضمحلال في محفظة بومان ووجود العديد من الفسحات الكلوية .

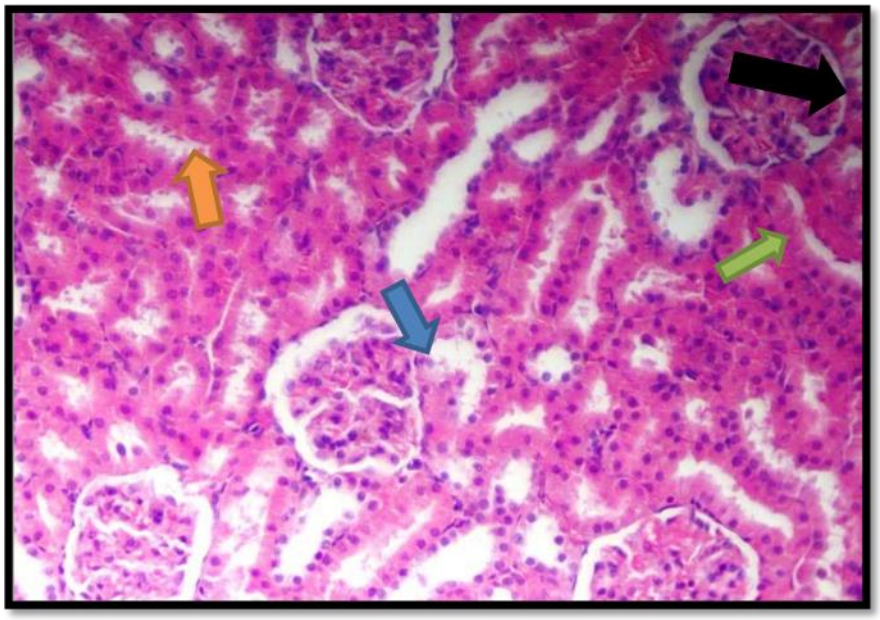
فاتفقت الدراسة التي اجراها الباحث Onaolapoوجماعته (2013) ان تجريع الفئران فمويا بواقع (0.5، 1.0، 1.5) ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 28 يوم فاظهرت النتائج النسيجة الى حدوث انكماش في النبيبات الكلوية وسماكة في الانابيب الكلوية .

2-2-2-4 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات

أظهرت نتائج دراسة المقاطع لعرضية لنسيج الكلى في المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بواقع (250,500,750)ملغم \كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوماً ان النسيج لم يعاني من اية تغيرات مرضية عند المقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة وكان النسيج طبيعي مماثل لما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة. صورة (4-13).(4-14)(4-15) .



صورة رقم (4-13) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي 250 ملغم / كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها حجم الكبيبة الطبيعية ( ) والنبيب الداني ( ) و النبيب القاصي( ) مع محفظة بومان( )
(H & E stain, 200x)



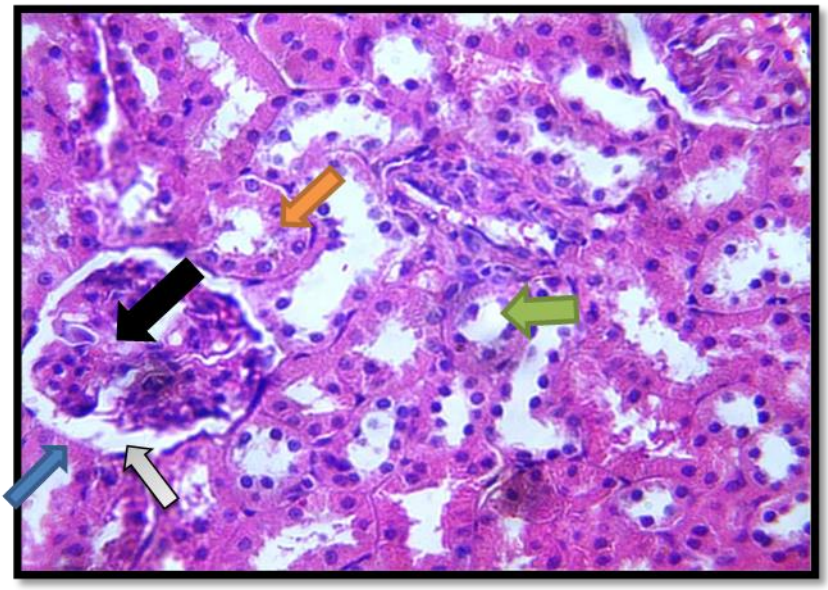
صورة رقم (4-14)مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي 500 ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها التركيب الطبيعي للكبيبة( ) و محفظة بومان ( ) مع النبيب الداني ( ) و النبيب القاصي ( ) (H & E stain, 200x)

اتفقت الدراسة الحالية مع النتائج التي توصل اليها الباحث Chou وجماعته (2016) اذ تم تجريع الحيوانات بالجرعات الاتية (20 , 100 ,200) ملغم \ كغم من وزن الجسم لمدة سبعة أيام واظهرت النتائج النسجية قدرة المستخلص المائي لنبات الكجرات على علاج الالتهاب الكلوي وإنتاج مضادات لالتهابات المسالك البولية وإمكانية استخدام شراب لشاي الأحمر لعلاج المرض السابق الذكر .

كما اوجدت الدراسة التي اجراها الباحث Seujange وجماعته (2013) التي جرعت فيها الجرذان ب 250 ملغم \كغم من وزن الجسم ولمدة سبع أسابيع بالمستخلص المائي لنبات الكجرات وقد أظهرت النتائج النسجية قدرته على التخفيف من مرض الكلى المزمن (CKD) chronic kidney disease وضغط الدم الانقباضي Systolic pressureوبالتالي تحسن البنية الخلوية والوظيفية لنسيج الكلى لما تحوية من مركبات فعالة تعمل على رفع مقاومة الجسم للجذور الحرة فنتج قلة تركيز ال MDA الذي يتناسب طرديا مع هذه الجذور .

الدراسة الحالية متفقه مع ما توصل اليه الباحثان Laikanam & Devi (2012) اذ جاءت تراكيز (250 و500 و750) ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة 28 يوم اذ خفض المستخلص المائي لأوراق الكجرات بشكل ملحوظ ترسب المكونات لحصى الكلى واظهرت المقاطع النسجية عدم وجود تغير غير امن على النسيج او

وليس هناك أي تأثير سام على النسيج وبالتالي اوصت الدراسة بإمكانية استخدام المستخلص المائي لنبات بالتراكيز الثلاث في علاج امراض الجهاز البولي عن طريق تناوله فمويا ووجدت الدراسة التي اجراها الباحث Betanabanabhaltaوجماعته (2009) االى ن تجريع المستخلص الكحولي فمويا للجرذان بواقع 75% لمدة 28 يوماً وقد اظهر قدرة النبات على علاج امراض الجهاز البولي وخاصة حصى الكلى اذ بينت النتائج النسجية تحسن ملحوظ في البنية النسجية وقد رجحت الدراسة ان السبب قدرته على رفع كفاءة ايون المغنسيوم الذي يعد مثبطا لتراكم لمركبات المكونة للحصى مثل الاوكزالات .



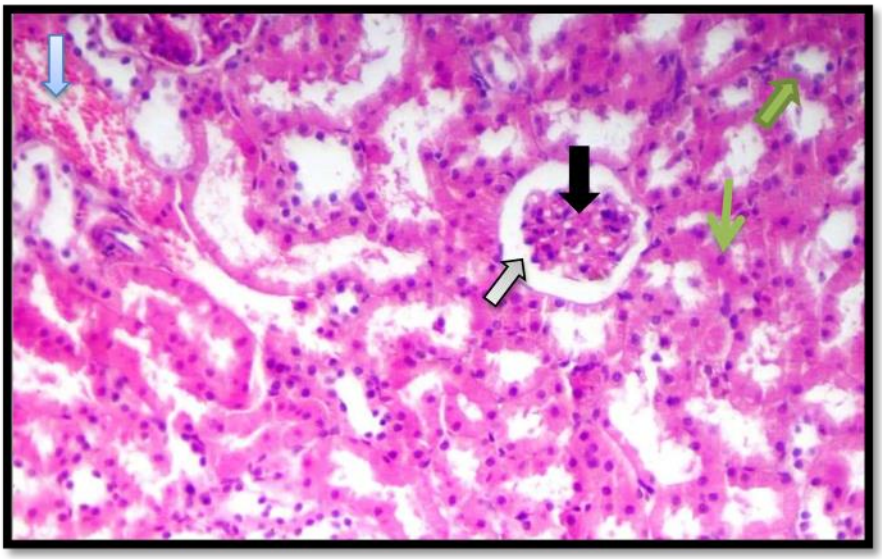
صورة رقم (4-15)مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات 750 ملغم / كغم من وزن الجسم يظهر فيها كبيبة طبيعية ( ) و محفظة بومان ( ) مع فسحة بومان ( ) النبيب الداني ( ) والنبيب القاصي ( ) (H & E stain, 200x)

3-2-2-4 الفعالية الوقائية للمستخلص المائي لاوراق نبات الكجرات

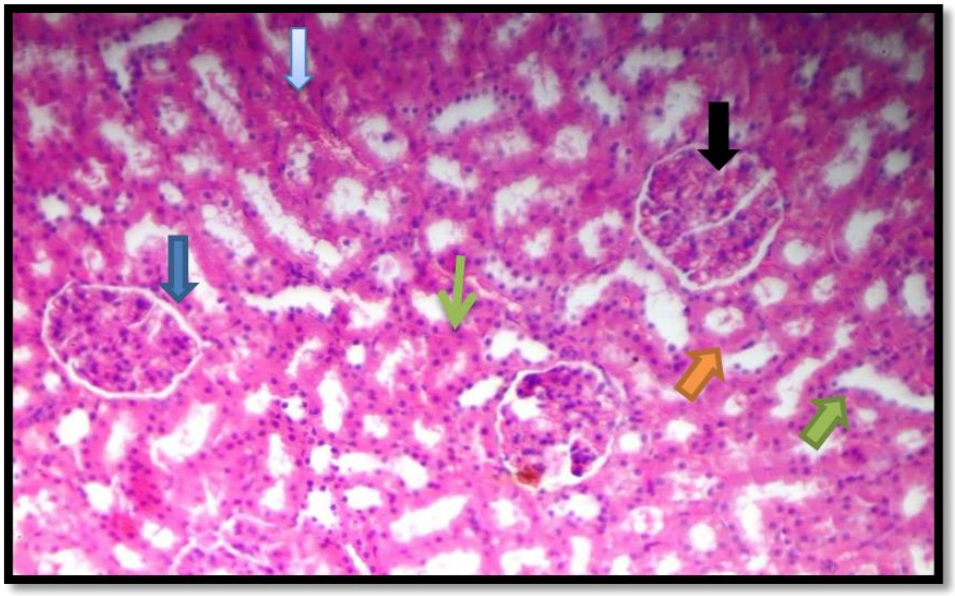
أظهرت نتائج الدراسة الحالية للمقاطع النسجية للكلية المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الكجرات كمادة وقائية بتراكيز (250,500,750) ملغم \كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوماً انها اقل تأثرا بسمية مادة MSG بتركيز 12 ملغم \كغم من وزن الجسم .

اذ أظهرت النتائج النسجية في المجموعة الوقائية بالمستخلص المائي للكجرات 250 ملغم \كغم من وزن الجسم ثم مادة MSG ب 12 ملغم \كغم من وزن الجسم وجود انكماش بسيط بالكبيبة وزيادة مساحة فسحة

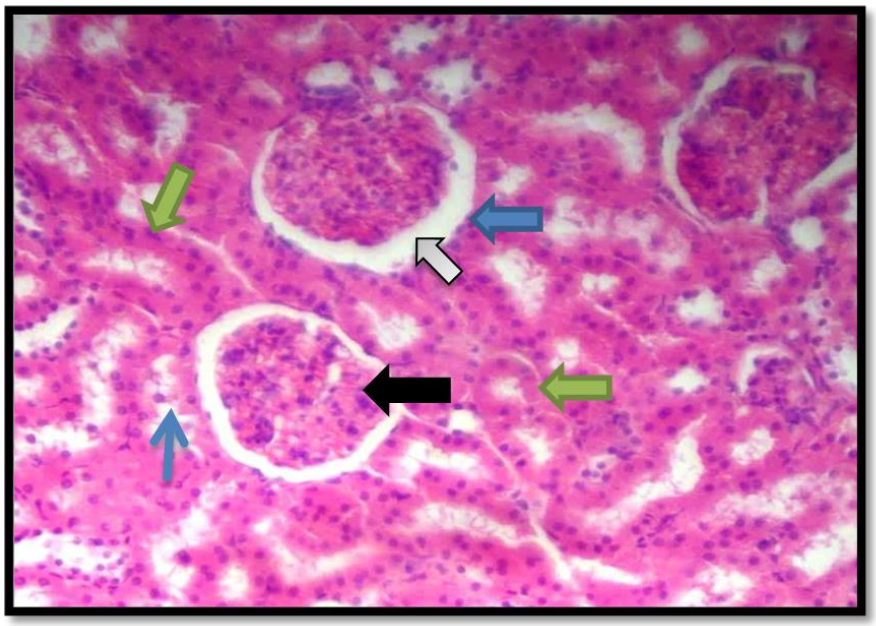
بومان مع البنية الطبيعية لبعض النبيبات مع وجود احتقان دموي وتنكس بسيط لبعض الخلايا، صورة (4-16, 17, 18).



صور(4-16)مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي للكجرات 250 بتركيز ملغم / كغم من وزن الجسم مع مادة MSG بتركيز 12ملغم / كغم يلاحظ انكماش بسيط بالكبيبة (⬅) و زيادة فسحة بومان) (⇦) مع البنية الطبيعية لبعض النبيبات (⇦) مع وجود احتقان دموي مع تنكس بسيط لبعض الخلايا (⇦) (H & E stain, 200x)



صورة (4-17) مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي للكجرات 500 ملغم / كغم من وزن الجسم كلوتاميت احادي الصوديوم بتركيز 12 ملغم / كغم يلاحظ الكبيبة والنسيج اقرب للطبيعي (⬅) والبنيه الطبيعية للنبيبات البولية الداني (⬅) والقاصي (⬅) مع احتقان دموي (⬅) مع تنكس بسيط لبعض الخلايا (⬅) و وجود محفظة بومان (⬅) (H & E stain, 200x)



صورة رقم (4-18) مقطع من نسيج الكلية للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي للكجرات 750 ملغم / كغم مع MSG 12 ملغم / كغم يلاحظ فيها الكبيبات طبيعية والنسيج اقرب للطبيعي ( ) مع البنية الطبيعية للنبيبات البولية ( ) مع انسلاخ بعض جدرانها ( ) وجود محفظة بومان ( ) مع توسع بسيط لفسحة بومان ( )
(H & E stain, 200x)

اما في المجموعة الوقائية بالمستخلص المائي لنبات الكجرات 500 ملغم \كغم من وزن الجسم ظهر النسيج والنبيبات بشكل أقرب للطبيعي مع تنكس بسيط لبعض الخلايا مع وجود احتقان دموي .

كما بينت المقاطع النسجية للمجموعة الوقائية لنبات الكجرات بتركيز 750 ملغم \كغم من وزن الجسم ظهور الكبيبات البولية والنسيج الكلوي من المجموعتين السابقتين مع انسلاخ بعض جدران ووجود محفظة بومان مع توسع بسيط لفسحة بومان .

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه الباحثان Arafat & Khalaf (2014) ان تجريع الجرذان البيضاء بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 500 ملغم \كغم لمدة ثلاثين يوما اوجد النماذج النسجية لها تأثير وقائي قوي.

كما اتفقت مع الدراسة التي اجراها الباحث Mossalam وجماعته (2011) اذ جرعت الفئران البيضاء فمويا لمدة شهر واحد ب 500 ملغم \كغم من وزن الجسم بالمستخلص اذ أظهرت المقاطع النسجية ان تناول المستخلص المائي للكجرات قبل مادة الملاثيون أدى الى التخفيف من وطأة إصابات الكلى واتضح من خلال

انخفاض الكرياتنين ومؤشرات الاكسدة وتحسن الصورة النسجية لتصبح شبه طبيعية وبهذا فان للكجرات تأثير وقائي على الكلى ضد الاكسدة التي تحدثها جرعات الملاثيون على الانسجة .

كما اوجدت الدراسة التي اجراها الباحث Orji وجماعته (2020) ان تجريع الجرذان البيضاء بالمستخلص المائي لنبات كجرات وبالتركيزين (250 و500) ملغم \كغم من وزن الجسم لمدة أربع أسابيع من خلال المقاطع النسجية قدرة المستخلص المائي على تعزيز وظائف الكلى ضد الاستجابة السمية التي يسببها استخدام عقار البراسيتمول بسبب احتوائه على العديد من المركبات المهمة مثل فيتامين C ويسرع من نظام اصلاح التلف الخلوي الذي يقلل من بيروكسيد الدهون وبالتالي حماية الغشاء الخلوي من الاجهاد التأكسدي وC الناتج من استخدام العقاقير مثل البراسيتمول.

في حين اشارت دراسة أخرى التي اجراها الباحث Yahaya وجماعته (2013) قدرة المستخلص الكحولي لنبات الكجرات على توفير دورا وقائيا على انسجة الكلى ضد العوامل البيئية والملوثات اذ تم إعطاء الجرذان البيضاء فمويا بواقع 400 ملغم \كغم لمدة 180 يوما فاظهرت النتائج النسجية بنية خلوية طبيعية فكانت الكبيبات طبيعية والانابيب الكلوية طبيعية.

كما اشارت الدراسة التي اجراها الباحث Yang وجماعته (2013) قدرة مركبات البولي فينول الموجودة في نبات الكجرات على حماية النسيج الكلوي من الإصابة بالتليف الذي ينتج عن الإصابة بمرض السكري النوع الثاني وبالتالي تحسين الوظائف الكلوية من خلال تجريع الفئران بواقع (100,200) ملغم \كغم من وزن الجسم مركبات البولي فينول المستخلص من ازهار نبات الكجرات لمدة اسبوعان .

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات Conclusions :

من خلال نتائج الدراسة الحالية تم استنتاج ما يأتي:

1- ادى التجريع الفموي بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم اجهادا تأكسديا اذ سبب اضراراً نسجية في نسيج الكبد والكلى تمثلت بتغيرات في كل من الخلايا الكبدية والجيبانيات والوريد المركزي الكبيبة الكلوية والنبيب الملتوي الداني والقاصي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

2- احدث الاجهاد التأكسدي تغييرات في بعض المعايير الوظيفية تمثلت بارتفاع معنوي في مستوى انزيمات الكبد AST و ALT وALP وتركيز اليوريا والكرياتنين والبوتاسيوم والمالون ثنائي الالديهايد ومعايير الدهون (TG,TC,HDL,LDL) بينما سبب انخفاض معنوي في معدل تركيزايون الكاليسيوم وايون الصوديوم و تراكيز بعض مضادات الاكسدة مثل الكلوتاثيون وانزيم الكاتليزوانزيم SOD بالمقارنه مع مجموعة السيطرة .في حين لم يكن له تأثير يذكر على وزن الجسم .

3- ان الدور الوقائي للمستخلص المائي لنبات الكجرات ادى الى معادلة الاجهاد التاكسدي الناجم عن التعرض لاحاديكلوتاميت الصوديوم من خلال تحسين معظم التغيرات النسجية المرضية في الكبد والكلى و التقليل من التأثيرات السمية على وظائف الكبد والكلى

4- تبيّن أنَّ التجريع بالمستخلص المائي لنبات الكجرات بتركيز 750 mg/kg كانت له الفعّالية الأقوى ، في التقليل من تأثيرات مادة كلوتاميت احادي الصوديوم فيما يخص المعايير الفسيولوجية والنُسجية المدروسة.

التوصيات Recommendations :

1- دراسة التاثيرات السمية لاحادي كلوتاميت الصوديوم على خلايا الجسم (المعايير الجينية) خصوصا في الفترات الزمنية الطويلة من الاخذ
2- اجراء دراسة مقارنة لتحديد التركيز الأمثل لكلوتاميت احادي الصوديوم في الاستخدامات الغذائية
3- دراسة التاثيرات السمية كلوتاميت احادي الصوديوم على انسجة المعدة والامعاء
4- الكشف عن امركبات الفعالة للمستخلص الكحولي لشاي الكجرات واستخدامة في الدراسات الوقائية

المصـادر

References

المصادر العربية

- جامعة الدول العربية، المنظمة العربية للتنمية الزراعية (1988). النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي. دار مصر للطباعة. الخرطوم، السودان، ص 5-14
- الجساس ,فهد بن محمد -الأمين ,صلاح الدين عبد الله (2008). المواد المضافة للأغذية. مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية. ص92
- جون نيكرسون ولويس رونيسيفال (1985) . أسس علوم الأغذية / إضافات غذائية. الطبعة الثالثة . الدار العربية للنشر والتوزيع -:0181: 185-187
- حسين ,محمد صلاح .حامد السعيد وسهير السيد شربيني 1994). استجابة نبات الكركديه لبعض منظمات النمو. مجلة البستنة21 (2): 122. المركز القومي للبحوث. القاهرة. مصر.
- حلابو ،سعد احمد سعد .بخيت ,محمود علي احمد (2010).موسوعة التصنيع الغذائي . المكتبة الاكاديمية –كلية الزراعة ,جامعة القاهرة ص270- 283
- الخطيب, سؤدد اسامه .(2016). تأثير المستخلص المائي لنبات الشاي الأحمر) Hibiscus sabdariffa L (على مرتسم الدهون والكلوكوز في ذكور الارانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي. مجلة العلوم الزراعية العراقية – 4336-326 :)1.
- الزبيدي، أسيل نجاح صبر (2003). دراسة تشريحية ونسجية مقارنة لكلى الفأر*Mus musculus* وخنزير غينيا *Cavia procellus* : دراسة تشريحية ونسجية: رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة القادسية.
- الزبيدي، زهير نجيب وبابان، هدى عبد الحكيم وفليح، فارس كاظم .(1996) دليل العلاج بالأعشاب الطبية العرا قية. صيدلية يوسف الله ويردي، ص 70
- الزيادي , عبد الرحمن .(2009). الدليل المتكامل الكبد الأمراض-التشخيص –العلاج. مصر ،دار الشروق (2) :31 1-183
- فهد، ستار جبار (2009)، تأثير مواعيد الزراعة وفترات الري في معدل نمو وانتاجية نبات شاي الكجرات ، مجلة ابحاث ميسان ، المجلد(6)، العدد (11)جامعة ميسان ،ص844
- السعدي, محمد . 2006 . خفايا وأسرار النباتات الطبية والعقاقير في الطب القديم والحديث. دار اليازوري العلمية للنشر والتوزيع. عمان، الأردن
- سعيد.باسماعيل محمد,الجساس ,فهد بن محمد ,المخلافي .محمود خالد ,زيتون. أشرف عبد المنعم (2013) الإضافات الغذائية. العلوم والتقنية الجزء الأول: ع 106 ص 22
- شمخي، خالد جميل و سعد تركي مفتن و عطشان لفتة عوض. 2012 . تأثير مستويات النتروجين والفسفور في بعض مكونات الحاصل والصفات النوعية لنبات شاي الكجرات Hibiscus sabdariffa L . مجلة المثنى الزراعية. 1(1) :16- 26 .
- صبحي, درحاب . 2005 . خدمة وزراعة الكركديه . معهد بحوث البساتين، بحوث النباتات الطبية والعطرية ، وزارة الزراعة واستصلاح الأراضي - مركز البحوث الزراعية , الإدارة المركزية الإرشاد الزراعي . جمهورية مصر العربية.
- الصراف، عبد الحسن محمد . 1991 . النشرة الإرشادية في زراعة الكجرات . الهيئة العامة للخدمات الزراعية. قسم الإرشاد الزراعي. بغداد – جمهورية العراق.
- الصراف، عبد الحسن محمد جواد (1991 .(النشرة الإرشادية في زراعة الكجرات، مطبعة العمال المركزية، بغداد.

- عبد الله ,عبد الرحمن محفوظ خليل (2018) . دور الكايتوسان وفيتامين E في التقليل من تأثير كلوتاميت أحادي الصوديوم في بعض المتغيرات الكيموحيوية والمناعية
- العلوجي ، صباح ناصر .(2007) علم وظائف الأعضاء .الطبعة الثانية .دار الفكر للطباعة والنشر والتوزيع: ص: 262-263.
- عمران، باسم محمد.(1988). نبات الكجرات زراعته وفوائده الغذائية والطبية. مقالة في مجلة طب وعلوم ,العدد, (15):.6.
- العواجي, منصور ناصر . 2006 . الكركديه الشاي المنعش. الطبعة الأولى. دار الحضارة للنشر والطبع والتوزيع. 99 صفحة.
- فريحات , حكمت عبد الكريم .(2009) فسيولوجيا جسم الإنسان .مكتبة دار الثقافة للنشر والتوزيع. الأردن: ص 24-250.
- الفهداوي , وليد فايق جزاع (2014)انتاج مشروبات مرطبة طبيعية من بعض الأعشاب الطبية ودراسة صفاتها الكيمياوية والفيزياوية والميكروبية, رسالة ماجستير مقدمة الى قسم الأغذية , كلية الزراعة – جامعة تكريت .
- الفياض ,حسن مهدي صالح (2017). استخدام الشرش السائل الحامضي ومستخلص الكجرات (Hibiscus sabdariffaL.)في صناعة المثلجات المائية .مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (17)العدد (3)
- الكاتب ,يوسف منصور(2000).تصنيف النباتات البذرية. الطبعة الثانية - جامعة بغداد -
- مشتت , مصطفى كريم (2019).دراسة الدور الوقائي للمستخلص المائي البارد لبذور نبات الكتان *Linum usitatissimum* على التغيرات الوظيفية والنسجية لذكور الجرذان *Rattus norvegicu* المعرضة لمادة غلوتومات الصوديوم الأحادية .رسالة ماجستير . كلية التربية للعلوم الصرفة , جامعة كربلاء
- الموسوي,علي حسين عيسى(1987). علم تصنيف النبات، الطبعة الأولى – جامعة بغداد
- الموسوي,علي حسين عيسى(2000). علم تصنيف النبات، الطبعة الثانية – جامعة بغداد
- مجيد، عبد المنعم حمد. عطية، خلف فارس، محمد مدلول 2016، تقدير كلوتاميت احادي الصوديوم والفوسفات في اللحوم والاسماك المعلبة والمجمدة ومشتقاتها بواسطة طريقة كروماتوغرفايا السائل عالي الأداء ومطيافية الاشعة فوق البنفسجية، كلية التربية جامعة سامراء.
- نيكرسون ،جون .رونسيفال ,لويس (1986).اسس علم الأغذية /إضافات كيميائية .الطبعة الثالثة .الدار العربية للنشر والتوزيع -0181 ص 185-187
- هادي ,صباح مهدي ويعقوب ,ليث احمد و عباس,لميس محمد رياض (2011).تأثير المستخلص نبات الكجرات Hibiscus sabdariffaعلى بعض الاحياء المجهرية الممرضة .مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية المجلد الخامس العدد الثالث

المصادر الاجنبية

- Abd Al Hassen, M.N., 2019. *Effect of Lycopene In Vivo and In Vitro on Some Physiological and Histological Changes Induced by Monosodium Glutamate in Rats* (Doctoral dissertation, Council of The College of Veterinary Medicine, University of Basrah)
- Abuelgasim A. I., and Elmahdi O. R. B. , 2008. Serrobiochemica Effects of Potassium Bromate on Wistar Albino Rats. American Journal of Food Technology. 3 : 303 - 309.
- Adaramoye, O., Ogungbenro, B., Anyaegbu, O. and Fafunso, M., 2008. Protective effects of extracts of Vernonia amygdalina, Hibiscus sabdariffa and vitamin C against radiation-induced liver damage in rats. *Journal of Radiation Research*, *49*(2), :123-131.
- Adeyemi, D.O., Ukwenya, V.O., Obuotor, E.M. and Adewole, S.O., 2014. Anti-hepatotoxic activities of Hibiscus sabdariffa L. in animal model of streptozotocin diabetes-induced liver damage. *BMC complementary and alternative medicine*, *14*(1), :1-11.
- Afeefy, A., Mahmoud, M. and Arafa, M., 2012. Effect of honey on monosodium glutamate induced nephrotoxicity (histological and electron microscopic studies). *Journal of American Science*, *8*(1s), :146-156.
- Ahluwalia, P., K. Tewari, and P. Choudhary. "Studies on the effects of monosodium glutamate (MSG) on oxidative stress in erythrocytes of adult male mice." *Toxicology letters* 84, no. 3 (1996): 161-165.
- Ahmed, M.H., 2016. Effect of some food additives consumption on the body weight and toxicity and the possible ameliorative role of green tea extract. *Sciences*, *6*(04), :716-730.
- Ahmed, R.R., Abdul-Hamid, M., Galaly, S.R. and Hamdalla, H.M., 2019. Monosodium glutamate-induced liver microscopic and biochemical changes in male rats, and the possible amendment of quercetin. *Egyptian Journal of Zoology*, *71*(71), :44-55.
- Akanya, H.O.; Peter, S.; Ossamulu, I.F. ; Oibiokpa, F.I. and Adeyemi, H. Y. (2015). Evaluation of the changes in some liver function and haematological parameters in MSG fed rats. Int. J. of Bio. Res. and Rev. 6(3): 113-120.
- Akeil,M.(2006).House pharmacy.Dar AL_Mujtaba for printing,1(ed).In Arabic.
- Akindahunsi, A.A. and Olaleye, M.T., 2003. Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of Hibiscus sabdariffa L. *Journal of ethnopharmacology*, *89*(1), :161-164.
- Alarcon-Aguilar.Francisco J. Alejandro Zamilpa , Ma. Dolores Perez-Garcia , Julio C. Almanza-Perez , Eunice Romero-Nu˜nez , Efrain A. Campos-Sepulveda , Laura I. Vazquez Carrillo , Ruben Roman-Ramosa . Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice.Journal of Ethnopharmacology 114 (2007) 66–71

- Ali, B.H., Mousa, H.M. and El-Mougy, S., 2003. The effect of a water extract and anthocyanins of hibiscus sabdariffa L. on paracetamol-induced hepatoxicity in rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *17*(1), : 56-59.
- Ali, B.H., Wabel, N.A. and Blunden, G., 2005. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of Hibiscus sabdariffa L.: a review. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *19*(5), :369-375.
- Ali, W.M., 2000. *Chemical analysis and biological active of kujarat flowers Hibiscus sabdariffa L. and its use in ice-cream industry* (Doctoral dissertation, MSc thesis, College of Agriculture, University of Basrah).
- AL-Khatawi, G.M.G., AL-Attabi, M.R. and Bargooth, A.F., 2019. Physiological and Histological Study to the Effects of Monosodium Glutamate in Laboratory male Rats and the protective role of vitamin E. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL QUALITY ASSURANCE*, *10*(02), :272-279.
- Al-kubaisy, K.N., Al-Groom, R.M. and Al-Amoush, A., 2016. Changes in the Oxidative Stress Biomarkers in Rat Liver Tissue Exposed to Cadmium and Protect with Hibiscus sabdariffa L.(Rossle) Flower Extract. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *5*, :818-824.
- Al-Mousawi, N.H., 2017. Study on effect of glutamate monosodium exposure on some blood and biochemical parameters in adult albino rats. *J. Entomol. Zool. Stud*, *5*(6), :1029-1031.
- Alqasoumi, S.I., Al-Rehaily, A.J., AlSheikh, A.M. and Abdel-Kader, M.S., 2008. Evaluation of the hepatoprotective effect of Ephedra foliate, Alhagi maurorum, Capsella bursa-pastoris and Hibiscus sabdariffa against experimentally induced liver injury in rats. *Natural Product Sciences*, *14*(2), :95-99.
- Al-Rawi, A. & Chakravarty, H. L. (1964). Medicinal plants of Iraq. Directorate general of agriculture, Baghdad, Iraq
- Al-Sarraj, K., Jawdat, S.Z. and Gaffer, E., 1997. A new natural and simple stain for cell division. *J Comm Med*, *10*(1).
- Al-Shamma, A. and Mitscher, L.A., 1979. Comprehensive survey of indigenous Iraqi plants for potential economic value. 1. Screening results of 327 species for alkaloids and antimicrobial agents. *Journal of natural products*, *42*(6), :633-642.
- AL-Sharkawy Alaa N.A , Mahmoud S. Gab-Allah, Abdel-Baset I. El-Mashadand Dalia F.(2017) BENHA VETERINARY MEDICAL JOURNAL, VOL. 33, NO. 2: 75-87
- Alzubade, B., 2014. Effects of aqueous extract of Hibiscus sabdariffa L. on some biochemical indices of liver and kidney function in male albino rats. *Mag Al-Kufa Uni Bio*, *6*(2), :1-9.
- Amin, A. and Hamza, A.A., 2005. Hepatoprotective effects of Hibiscus, Rosmarinus and Salvia on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life sciences*, *77*(3), :266-278.

- Anon.The Natural Health Place, 'The Truth about MSG and Aspartame', Hilary, 31 March 2008, http://www.hilary.com/features/msg.html.
- Anthony Cemaluk, C.E. and Ejike, G.E., 2017. Effect of pulverized Mangifera indica (mango) seed kernel on monosodium glutamate-intoxicated rats' serum antioxidant capacity, brain function and histology. *EC Pharmacology and Toxicology*, *4*, :228-243.
- Anwar. M. M and Mohamed. N. E.(2010) Impact of Flax Seed and Canola Oils Mixture Supplementation on The Physiological and Biochemical Changes Induced by Monosodium Glutamate in Rats. Journal of Radiation Research and Applied Sciences. J. Rad. Res. Appl. Sci., Vol. 3, No 3(B), : 943 – 964
- Arafat, E.A.G. and Khalaf, H.A., 2014. Effect of aqueous extract of Hibiscus sabdariffa on hyperthyroidism-induced changes in the renal cortex of rats: A histological study. *Egyptian Journal of Histology*, *37*(3), :603-614.
- Arora, A., Nair, M.G. and Strasburg, G.M., 1998. Structure–activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radical Biology and Medicine*, *24*(9), :1355-1363.
- Arruda, N.J., Filho, J.L., Montenegro, M.C., Araújo, A.N. and Silva, V.L., 2003. Simple and inexpensive flow L-glutamate determination using pumpkin tissue. *Journal of agricultural and food chemistry*, *51*(24), :6945-6948.
- Ateya, R.H., Taha, N.M., Mandour, A.E.A., Lebda, M.A. and El-Morshedy, A.M., 2016. Effect of Monosodium Glutamate and Sodium Nitrite on Some Biochemical Parameters in Japanese Quails. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, *48*(1).
- Ati K. A.; Ati S.; Mohammed A. M and Saad C. A et al. (2009): Response of broiler chicks to dietary monosodium glutamate. Pakistan Vet J.; 29(4) : 165 - 168.
- Atta, M.B., 2003. Some characteristics of nigella (Nigella sativa L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food chemistry*, *83*(1), :63-68.
- Azooz, M.M., 2009. Foliar application with riboflavin (Vitamin B2) enhancing the resistance of Hibiscus sabdariffa L.(Deep red sepals variety) to salinity stress. *J. Biol. Sci*, *9*(2), :109-118.
- Baines, D. and Seal, R. eds., 2012. *Natural food additives, ingredients and flavourings*. Elsevier.
- Bako, I.G., Mabrouk, M.A., Maje, I.M., Buraimoh, A.A. and Abubakar, M.S., 2010. Hypotensive effect of aqueous seed extract of Hibiscus sabdariffa linn (Malvaceae) on normotensive cat. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, *2*(1), :5-8.
- Bancroft, J.D. and Gamble, M. eds., 2008. *Theory and practice of histological techniques*. Elsevier health sciences.
- Bancroft, J.D. and Stevens, A., 1982. Theory and practice of histological techniques. 2 nd (ed.) churchill living stone, Edinburgh.
- Barhé, T.A. and Tchouya, G.F., 2016. Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from Hibiscus Sabdariffa L., Glycine max L. Merr.,

yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals. *Arabian Journal of Chemistry*, *9*(1), :1-8.

- Belluardo, N., Mudo, G. and Bindoni, M., 1990. Effects of early destruction of the mouse arcuate nucleus by monosodium glutamate on age-dependent natural killer activity. *Brain research*, *534*(1-2), :225-233.
- Bergmeyer, H.U. and Bernt, E., 1974. Colorimetric assay of Reitman and Frankel. In *Methods of enzymatic analysis* (: 735-739). Academic Press.
- Bhattacharya, T. and Ghosh, S.K., 2019. Effect of neonatal exposure of monosodium glutamate in kidney of albino mice–a histological study. *Nepal Medical College Journal*, *21*(2), : 134-141.
- Bhattacharya, T., Bhakta, A. and Ghosh, S.K., 2011. Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neo-natal exposure. *Nepal Med Coll J*, *13*(1), :11-16.
- Biodun, D. and Biodun, A., 1993. A spice or poison. *Is monosodium glutamate safe for human consumption*, :5.
- BISWAS, A, DSOUZA,U.J, BHAT, S, D. D. the hepatoprotective effect of Hibiscus rosasinensis flower extract on diet-induced hyper cholestrolmiain mail albino wister rats . IJMPS; 4(2014)(6): 01-10
- Blaylock R. Excititoxins: The taste that kills. New York: Raven Press; 1994.
- Bonjar, G.S., 2004. Screening for antibacterial properties of some Iranian plants against two strains of Escherichia coli. *Asian Journal of plant sciences*.
- Bouras-Vallianatos, P., 2015. Galen's reception in Byzantium: Symeon Seth and his refutation of Galenic theories on human physiology. *Greek, Roman, and Byzantine Studies*, *55*(2), :431-469.
- Burger, L.L. and Sherwood, O.D., 1998. Relaxin increases the accumulation of new epithelial and stromal cells in the rat cervix during the second half of pregnancy. *Endocrinology*, *139*(9), :84-95.
- Burtis, C.A. and Bruns, D.E., 2014. *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book*. Elsevier Health Sciences.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R. and Bruns, D.E., 2012. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book*. Elsevier Health Sciences.
- Chandrakar, V., Dubey, A. and Keshavkant, S., 2016. Modulation of antioxidant enzymes by salicylic acid in arsenic exposed Glycine max L. *Journal of soil science and plant nutrition*, *16*(3), :662-676.
- Chang, Y.C., Huang, K.X., Huang, A.C., Ho, Y.C. and Wang, C.J., 2006. Hibiscus anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and oxLDL-mediated macrophages apoptosis. *Food and Chemical Toxicology*, *44*(7), :1015-1023.
- Chazelas, E., Deschasaux, M., Srour, B., Kesse-Guyot, E., Julia, C., Alles, B., Druesne-Pecollo, N., Galan, P., Hercberg, S., Latino-Martel, P. and Esseddik, Y., 2020. Food additives: distribution and co-occurrence in 126,000 food products of the French market. *Scientific reports*, *10*(1), :1-15.

- Chen, C.C., Chou, F.P., Ho, Y.C., Lin, W.L., Wang, C.P., Kao, E.S., Huang, A.C. and Wang, C.J., 2004. Inhibitory effects of hibiscus sabdariffa l extract on low-density lipoprotein oxidation and anti-hyperlipidemia in fructose-fed and cholesterol-fed rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *84*(15), : 89-96.
- Chen, C.C., Hsu, J.D., Wang, S.F., Chiang, H.C., Yang, M.Y., Kao, E.S., Ho, Y.C. and Wang, C.J., 2003. Hibiscus sabdariffa extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Journal of agricultural and food chemistry*, *51*(18), :72-77.
- Cho, Y.Y., Kwon, E.Y., Kim, H.J., Park, Y.B., Lee, K.T., Park, T. and Choi, M.S., 2009. Low trans structured fat from flaxseed oil improves plasma and hepatic lipid metabolism in apo E−/− mice. *Food and chemical toxicology*, *47*(7), : 50-55.
- Chou, S.T., Lo, H.Y., Li, C.C., Cheng, L.C., Chou, P.C., Lee, Y.C., Ho, T.Y. and Hsiang, C.Y., 2016. Exploring the effect and mechanism of Hibiscus sabdariffa on urinary tract infection and experimental renal inflammation. *Journal of ethnopharmacology*, *194*, : 617-625.
- Clapp, W. L. (2009)."Renal Anatomy". In: Zhou XJ, Laszik Z, Nadasdy T, D'Agati VD, Silva FG, eds. Silva's Diagnostic Renal Pathology. New York: Cambridge University Press.
- Clarke, H.E., Coates, M.E., Eva, J.K., Ford, D.J., Milner, C.K., O'donoghue, P.N., Scott, P.P. and Ward, R.J., 1977. Dietary standards for laboratory animals: report of the Laboratory Animals Centre Diets Advisory Committee. *Laboratory Animals*, *11*(1), :1-28.
  - cultivated species . National resource institute . publisher Chatham, UK.
- Dahiru, D., Obi, O.J. and Umaru, H.,(2003). Effect of Hibiscus sabdariffa calyx extract on carbon tetrachloride induced liver damage. *Biokemistri*, *15*(1), :27-33.
- Dauchet, L., Montaye, M., Ruidavets, J.B., Arveiler, D., Kee, F., Bingham, A., Ferrières, J., Haas, B., Evans, A., Ducimetière, P. and Amouyel, P., 2010. Association between the frequency of fruit and vegetable consumption and cardiovascular disease in male smokers and non-smokers. *European journal of clinical nutrition*, *64*(6), :578-586.
- De Carvalho Papa, P., Vargas, A.M., da Silva, J.L.T., Nunes, M.T. and Machado, U.F., 2002. GLUT4 protein is differently modulated during development of obesity in monosodium glutamate-treated mice. *Life sciences*, *71*(16), :1917-1928.
- Desrosier, N.W. and Desrosier, J.N., 1977. *The technology of food preservation* (No. Ed. 4). AVI Publishing Company, Inc.
- Dhalla, N.S., Temsah, R.M. and Netticadan, T., 2000. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Journal of hypertension*, *18*(6), :655-673.
- Diniz, Y.S., Fernandes, A.A., Campos, K.E., Mani, F., Ribas, B.O. and Novelli, E.L., 2004. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. *Food and Chemical Toxicology*, *42*(2), :313-319.

- Dixit, S.G., Rani, P., Anand, A., Khatri, K., Chauhan, R. and Bharihoke, V., 2014. To study the effect of monosodium glutamate on histomorphometry of cortex of kidney in adult albino rats. *Renal failure*, *36*(2), :266-270.
- Eid, F.A., Abu Elnaga, N.A., Sarhan, M. and Mansour, H., 2018. Effect of monosodium glutamate on liver of pregnant rats and their fetuses (Histological and histochemical studies). *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, *73*(11), :8091-8098.
- Elagouza, I.M., El Nashar, D.E. and Eissa, S.S., 2010. The possible ultra structural ameliorative effect of taurine in rat's liver treated with monosodium glutamate (MSG). *The Open Hepatology Journal*, *2*(1).
- Elbassuoni, E.A., Ragy, M.M. and Ahmed, S.M., 2018. Evidence of the protective effect of l-arginine and vitamin D against monosodium glutamate-induced liver and kidney dysfunction in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *108*, :799-808.
- El-Ezaby, M.M., Abd-El Hamide, N.A.H., El-Maksoud, M.A.E., Shaheen, E.M. and Embashi, M.M., 2018. Effect of some food additives on lipid profile, kidney function and liver function of adult male albino rats. *J Bas Environ Sci*, *5*, :52-59.
- EL-Kholy, W.M., EL-Sawi, M.R. and Galal, N.A., 2018. Effect of Myrtus Communis Extract against Hepatotoxicity. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, *70*(9), :1676-1681.
- El-Saadany, S.S., Sitohy, M.Z., Labib, S.M. and El-Massry, R.A., 1991. Biochemical dynamics and hypocholesterolemic action of Hibiscus sabdariffa (Karkade). *Food/Nahrung*, *35*(6), :567-576.
- El-Sheikh, N.M. and Khalil, F.A., 2011. L-Arginine and L-glutamine as immunonutrients and modulating agents for oxidative stress and toxicity induced by sodium nitrite in rats. *Food and Chemical Toxicology*, *49*(4), :758-762.
- Elyazji, N.; Abdel –Aziz , I .; Shahwa, O. & Lubbad, A ., 2015 . Effects of Monosodium Glutamate on Some Biochemical and Hematological Parameters in Adult Rabbits and Potential Protective Effect of Soybean Oil . J. Biol. Chem. Research. , 32 (1): 131 -141.
- Emelike, C.U., Obike, C.J., Nwandikor, U.U., Ifediora, A.C., Onyenweaku, F., Odo, M.C. and Obeagu, E.I., 2014. Physicochemical constituents, phytochemical and morphological effects of oral administration of aqueous extract of Hibiscus sabdariffa on kidney and liver of Wistar albino rats. *American Journal of Research Communication*, *2*(7), :101-112.
- Engvall, E. and Perlman, P., 1971. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA. Peeters. H., ed. *Protides of the Biological Fluids*, :553-556.
- Essa, M.M., Subramanian, P., Suthakar, G., Manivasagam, T., Dakshayani, K.B., Sivaperumal, R., Subash, S. and Vinothini, G., 2006. Influence of Hibiscus sabdariffa (Gongura) on the levels of circulatory lipid peroxidation products and liver marker enzymes in experimental hyperammonemia. *Journal of Applied Biomedicine*, *4*(1), :53-58.

- Eweka, A.O. and OmIniabohs, F.A.E., 2007. Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the kidney of adult Wistar rats. *Internet J Health*, *6*(2), :2.
- Eweka, A.O., Igbigbi, P.S. and Ucheya, R.E., 2011. Histochemical studies of the effects of monosodium glutamate on the liver of adult Wistar rats. *Annals of medical and health sciences research*, *1*(1), : 21-30.
- Ezzat, S. M., Salama, M. M., Seif el-Din, S. H., Saleh, S., El-Lakkany, N. M., Hammam, O. A., ... & Botros, S. S. (2016). Metabolic profile and hepatoprotective activity of the anthocyanin-rich extract of Hibiscus sabdariffa calyces. *Pharmaceutical biology*, *54*(12), 3172-3181.
- Fakhrai-Rad, H., Nikoshkov, A., Kamel, A., Fernström, M., Zierath, J.R., Norgren, S., Luthman, H. and Galli, J., 2000. Insulin-degrading enzyme identified as a candidate diabetes susceptibility gene in GK rats. *Human molecular genetics*, *9*(14), :2149-2158.
- Farombi, E.O. and Onyema, O.O., 2006. Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. *Human & experimental toxicology*, *25*(5), :251-259.
- Fassati, P. and Prencipe, L., 1982. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin. chem*, *28*(10), :2077-2080.
- Forno, I.W., Kassulke, R.C. and Harley, K.L.S., 1992. Host specificity and aspects of the biology of Calligrapha pantherina (Col.: Chrysomelidae), a biological control agent of Sida acuta [Malvaceae] and S. rhombifolia in Australia. *Entomophaga*, *37*(3), :409-417.
- Freeman, M. (2006). Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review. Journal of the American Academy of Nurse Practitioners, 18(10): 482–486.
- Frenkel, G., Nelson, D.L., Soltvedt, B.C. and Lehninger, A.L., 2000. *Test Bank for Nelson and Cox, Lehninger Principles of Biochemistry*. Worth Publishers.
- Friedewald, W.T., Levy, R.I. and Fredrickson, D.S., 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*, *18*(6), :499-502.
- Fulmer, M. (2008). Do food dyes affect kids behavior. Los Angeles Times.
- GAET, N.,Hibiscus sabdariffa L. In: Ivan, A. (Ed.), Medicinal Plants of the World. Human Press, New York, 1999, ::165–170
- Geha, R.S., Beiser, A., Ren, C., Patterson, R., Greenberger, P.A., Grammer, L.C., Ditto, A.M., Harris, K.E., Shaughnessy, M.A., Yarnold, P.R. and Corren, J., 2000. Review of alleged reaction to monosodium glutamate and outcome of a multicenter double-blind placebo-controlled study. *The Journal of nutrition*, *130*(4), :1058S-1062S.
- Gurrola-Díaz, C.M., García-López, P.M., Sánchez-Enríquez, S., Troyo-Sanromán, R., Andrade-Gonzalez, I. and Gómez-Leyva, J.F., 2010. Effects of Hibiscus sabdariffa extract powder and preventive treatment (diet) on the lipid profiles of patients with metabolic syndrome (MeSy). *Phytomedicine*, *17*(7), :500-505.

- Hadwan MH, kadhum Ali S.(2018) New spectrophotometric assay for assessments of catalase activity in biological samples. Analytical biochemistry. 2018 Feb 1;542:29-33.
- Hainida, E., Ismail, A., Hashim, N., Mohd.-Esa, N. and Zakiah, A., 2008. Effects of defatted dried roselle (Hibiscus sabdariffa L.) seed powder on lipid profiles of hypercholesterolemia rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *88*(6), :1043-1050.
- Hashemi, J.M., 2014. Hibiscus sabdariffa calyx extract alleviate hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride on male albino rats. *Nature and Science*, *12*(6), :111-120.
- Hassan, B.A.R., 2012. Medicinal plants (importance and uses). *Pharmaceutica Analytica Acta*, *3*(10), :10-11.
- He, K., Zhao, L., Daviglus, M.L., Dyer, A.R., Van Horn, L., Garside, D., Zhu, L., Guo, D., Wu, Y., Zhou, B. and Stamler, J., 2008. Association of monosodium glutamate intake with overweight in Chinese adults: the INTERMAP Study. *Obesity*, *16*(8), :1875-1880.
- He, Z.; Luscombe-Marsh, N.D.; Wittert, G.A.; Yuan, B.; Dai, Y.; Pan, X.; Taylor, A.W. (2010). Monosodium glutamate is not associated with obesity or a greater prevalence of weight gain over 5 years: findings from the Jiangsu nutrition study of Chinese adults. Brit. *J. of Nutr*.; 104(03): 457–463.
- Hermanussen, M. and Tresguerres, J.A.F., 2003. Does high glutamate intake cause obesity?. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, *16*(7), :965-968.
- Herrera-Arellano, A., Flores-Romero, S., Chavez-Soto, M.A. and Tortoriello, J., 2004. Effectiveness and tolerability of a standardized extract from Hibiscus sabdariffa in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. *Phytomedicine*, *11*(5), :375-382.
- Hirunpanich, V., Utaipat, A., Morales, N.P., Bunyapraphatsara, N., Sato, H., Herunsale, A. and Suthisisang, C., 2006. Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of Hibiscus sabdariffa L. in hypercholesterolemic rats. *Journal of ethnopharmacology*, *103*(2), :252-260.
- Hong, V. and Wrolstad, R.E., 1990. Use of HPLC separation/photodiode array detection for characterization of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *38*(3), :708-715.
- Huang, T.W., Chang, C.L., Kao, E.S. and Lin, J.H., 2015. Effect of Hibiscus sabdariffa extract on high fat diet–induced obesity and liver damage in hamsters. *Food & nutrition research*, *59*(1), :29018.
    - Huang, X.-J.; Choi, Y.-K., Im, H.-S.; Yarimaga, O.; Yoon, E. and Kim, H.-S. (2006). Aspartate aminotransferase (AST/GOT) and alanine aminotransferase (ALT/GPT) detection techniques. Sensors, 6(7): 756–782.
- Humason, G. L. (1962). Animal tissue techniques. Animal Tissue Techniques.
- Husarova, V. and Ostatnikova, D., 2013. Monosodium glutamate toxic effects and their implications for human intake: a review. *Jmed Research*, *2013*(, :1-12.

- Iamsaard, S., Sukhorum, W., Samrid, R., Yimdee, J., Kanla, P., Chaisiwamongkol, K., Hipkaeo, W., Fongmoon, D. and Kondo, H., 2014. The sensitivity of male rat reproductive organs to monosodium glutamate. *Acta medica academica*, *43*(1).
- Ibrahim, O.M., 2012. Some hematological and histological impact of sub-acute exposure to mono sodium glutamate in mice. *Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, *36*(0E), : 127-131.
- Idris, M.H.M., Budin, S.B., Osman, M. and Mohamed, J., 2012. Protective role of Hibiscus sabdariffa calyx extract against streptozotocin induced sperm damage in diabetic rats. *Excli Journal*, *11*, :659.
- Ikeda K. On the taste of the salt of glutamic acid. J Tokyo Chem Soc 1909;30;820-36.
- Ilegbedion, I.G., Onyije, F.M. and Digba, K.A., 2013. Evaluation of MSG on electrolyte balance and histology of gastroesophageal mucosa. *Middle-East J Sci Res*, *18*(2), :163-167.
- Insawang, T.; Selmi, C.; Cha'on, U.; Pethlert, S.; Yongvanit, P.; Areejitranusorn, P. and Prasongwattana, V. (2012).Monosodium glutamate (MSG) intake is associated with the prevalence of metabolic syndrome in a rural thai population. *Nutri. and Metabo.* ;9(1): 1.
- Iwalokun, B.A. and Shittu, M.O., 2007. Effect of Hibiscus sabdariffa (calyce) extract on biochemical and organoleptic properties of yogurt. *Pakistan Journal of Kamal Niaz, Elizabeta Zaplactic, Jonathan Spoor, 'Extensive Use of Monosodium Glutamate: A Threat to Public Health ?EXCLI Journal, vol 17, 19March 2018, pp. 273-278Nutrition*, *6*(2), :172-182.
- Jinap, S. and Hajeb, P., 2010. Glutamate. Its applications in food and contribution to health. *Appetite*, *55*(1), :1-10.
- Kamal, S., 2010. Nephroprotection of lacidipine against gentamycin-induced nephrotoxicity in albino rats. *Journal of experimental pharmacology*, *2*, :59.
- Kanter, M., Coskun, O., Armutcu, F., Uz, Y.H. and Kizilay, G., 2005. Protective effects of vitamin C, alone or in combination with vitamin A, on endotoxin-induced oxidative renal tissue damage in rats. *The tohoku journal of experimental medicine*, *206*(2), : 155-162.
- Kao, E.S., Hsu, J.D., Wang, C.J., Yang, S.H., Cheng, S.Y. and Lee, H.J., 2009. Polyphenols extracted from Hibiscus sabdariffa L. inhibited lipopolysaccharide-induced inflammation by improving antioxidative conditions and regulating cyclooxygenase-2 expression. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, *73*(2), :385-390.
- Khadija, A., Ati, A., Mohammed, S., Saad, A.M. and Mohamed, H.E., 2009. Response of broiler chicks to dietary monosodium glutamate. *Pak. Vet. J*, *29*(4), :165-168.
- Khaled N. Al-kubaisy, Rania M. Al-Groom and Adeeb Al- Amoush. 2016. Changes in the Oxidative Stress Biomarkers in Rat Liver Tissue Exposed to Cadmium and Protect with Hibiscus sabdariffa L. (Ro`ssle) Flower Extract. Int.J.Curr.Microbiol.A:Sci. 5(8): 818-824

- Kiliç, C.S., Aslan, S., Kartal, M. and Coskun, M., 2011. Fatty acid composition of Hibiscus trionum L.(Malvaceae). *Records of Natural Products*, *5*(1), :65.
- Kim, M.S., Kim, J.K., Kim, H.J., Moon, S.R., Shin, B.C., Park, K.W., Yang, H.O., Kim, S.M. and Park, R., 2003. Hibiscus extract inhibits the lipid droplet accumulation and adipogenic transcription factors expression of 3T3-L1 preadipocytes. *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*, *9*(4), :499-504.
- Kondoh, T. and Torii, K., 2008. MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male Sprague–Dawley rats. *Physiology & behavior*, *95*(1-2), :135-144.
- Kumbhare, V., Gajbe, U., Singh, B.R., Reddy, A.K. and Shukla, S., 2015. Histological & histochemical changes in liver of adult rats treated with monosodium glutamate: a light microscopic study. *World Journal of Phamacy and Pharmaceutical Sciences*, *4*(4), : 898-911.
- Kuriyan, R., Kumar, D.R., Rajendran, R. and Kurpad, A.V., 2010. An evaluation of the hypolipidemic effect of an extract of Hibiscus Sabdariffa leaves in hyperlipidemic Indians: a double blind, placebo controlled trial. *BMC complementary and alternative medicine*, *10*(1), :1-8.
- Kushwaha, V. and Bharti, G.E.E.T.A., 2015. Effect of Monosodium Glutamate (Msg) administration on some antioxidant enzymes in muscles of adult male mice. *J Appl Biosci*, *41*(1), :54-56.
- Laikangbam, R. and Devi, M.D., 2012. Inhibition of calcium oxalate crystal deposition on kidneys of urolithiatic rats by Hibiscus sabdariffa L. extract. *Urological research*, *40*(3), :211-218.
- Leung, J.C., Ragland, N., Marphis, T. and Silverstein, D.M., 2008. NMDA agonists and antagonists induce renal culture cell toxicity. *Medicinal Chemistry*, *4*(6), :565-571.
- Lieske, J.C., Goldfarb, D.S., De Simone, C. and Regnier, C., 2005. Use of a probioitic to decrease enteric hyperoxaluria. *Kidney international*, *68*(3), :1244-1249.
- Lin, H.H., Huang, H.P., Huang, C.C., Chen, J.H. and Wang, C.J., 2005. Hibiscus polyphenol-rich extract induces apoptosis in human gastric carcinoma cells via p53 phosphorylation and p38 MAPK/FasL cascade pathway. *Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center*, *43*(2), :86-99.
- Lin, T.L., Lin, H.H., Chen, C.C., Lin, M.C., Chou, M.C. and Wang, C.J., 2007. Hibiscus sabdariffa extract reduces serum cholesterol in men and women. *Nutrition research*, *27*(3), :140-145.
- Lin, W.L., Hsieh, Y.J., Chou, F.P., Wang, C.J., Cheng, M.T. and Tseng, T.H., 2003. Hibiscus protocatechuic acid inhibits lipopolysaccharide-induced rat hepatic damage. *Archives of Toxicology*, *77*(1), :42-47.
- Liu, C.L., Wang, J.M., Chu, C.Y., Cheng, M.T. and Tseng, T.H., 2002. In vivo protective effect of protocatechuic acid on tert-butyl hydroperoxide-induced rat hepatotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, *40*(5), :635-641.

- Liu, J.Y., Chen, C.C., Wang, W.H., Hsu, J.D., Yang, M.Y. and Wang, C.J., 2006. The protective effects of Hibiscus sabdariffa extract on CCl4-induced liver fibrosis in rats. *Food and Chemical Toxicology*, *44*(3), :336-343.
- Liu, L.C., Wang, C.J., Lee, C.C., Su, S.C., Chen, H.L., Hsu, J.D. and Lee, H.J., 2010. Aqueous extract of Hibiscus sabdariffa L. decelerates acetaminophen-induced acute liver damage by reducing cell death and oxidative stress in mouse experimental models. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*(2), : 329-337.
- Loeb, W. F., & Quimby, F. W. (1999). The clinical chemistry of laboratory animals.
- Louis, S.J., Kadams, A.M., Simon, S.Y. and Mohammed, S.G., 2013. Combining ability in Roselle cultivars for agronomic traits in Yola, Nigeria. *Greener Journal of Agricultural Sciences*, *3*(2), :145-149.
- Lovrić, J., Mesić, M., Macan, M., Koprivanac, M., Kelava, M. and Bradamante, V., 2008. Measurement of malondialdehyde (MDA) level in rat plasma after simvastatin treatment using two different analytical methods. *Periodicum biologorum*, *110*(1), :63-68.
- Luvonga, W., Njoroge, M.S., Makokha, A. and Ngunjiri, P.W., 2012, September. Chemical characterisation of Hibiscus sabdariffa (Roselle) calyces and evaluation of its functional potential in the food industry. In *Scientific Conference Proceedings*.
- Lynelle, L. and Carima, D. (2011). Human physiol nlaukimdak.wikispaces.com/12. +Urol.3-4.
- M Toutou, M., Soliman, A.A., E Abd Elnabi, H., E Abouelwafa, A. and M Abdel Rahim, M., 2018. Does feeding African Catfish, Clarias gariepinus vinegar-immersed poultry viscera affect its growth performance, hygienic status and pathogenic bacterial load?. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, *22*(2), :61-76.
- Macho, L., Fickova, M. and Zorad, S., 2000. Late effects of postnatal administration of monosodium glutamate on insulin action in adult rats. *Physiological research*, *49*, :S79-85.
- Mahmoud, H.I., Mahmoud, M.E., Ismail, H.A. and Hassan, H.M., 2010. The effect of some natural and synthetic colorants on blood parameters of male albino rats. *J. Biol. Enviro. Sci*, *5*, : 37-54.
- Manal Said, T. and Nawal, A.B., 2012. Adverse effects of monosodium glutamate on liver and kidney functions in adult rats and potential protective effect of vitamins C and E. *Food and Nutrition Sciences*, : 651-659.
- Manyes, L., Escrivá, L., Serrano, A.B., Rodríguez-Carrasco, Y., Tolosa, J., Meca, G. and Font, G., 2014. A preliminary study in Wistar rats with enniatin A contaminated feed. *Toxicology mechanisms and methods*, *24*(3), :179-190.
- Masre, S.F., Razali, N.A., NAIMAH, N.N.N. 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).
- Morazzoni, P. and Bombardelli, E., 1996. Vaccinium myrtillus L. *Fitoterapia (Milano)*, *67*(1), :3-29.

- Mori, R.C.T., Hirabara, S.M., Hirata, A.E., Okamoto, M.M. and Machado, U.F., 2008. Glimepiride as insulin sensitizer: increased liver and muscle responses to insulin. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, *10*(7), :596-600.
- Morris, M.J., Tortelli, C.F., Filippis, A. and Proietto, J., 1998. Reduced BAT function as a mechanism for obesity in the hypophagic, neuropeptide Y deficient monosodium glutamate-treated rat. *Regulatory peptides*, *75*, :441-447.
- Morton, JF (1998): Roselle. In: fruits of warm climate. Dowling, C. F. (Ed). Media Inc. Greensboro, NCP: 281-286.
- Mossalam, H.H., Abd-El Aty, O.A., Morgan, E.N., Youssaf, S. and Mackawy, A.M.H., 2011. Biochemical and ultra structure studies of the antioxidant effect of aqueous extract of hibiscus sabdariffa on the nephrotoxicity induced by organophosphorous pesticide (malathion) on the adult albino rats. *Journal of American Science*, *7*(12), :561-572.
- Naidu, K.A., 2003. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition journal*, *2*(1), :1-10.
- NHIC (Natural Health Information Center), (2008): http://www.Natural-Health Information- Center.com
- Niaz, K., Zaplatic, E. and Spoor, J., 2018. Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health?. *EXCLI journal*, *17*, :273.
- Ninomiya, K., 1998. Natural occurrence. *Food Reviews International*, *14*(2-3), :177-211.
- Nwaopara, A.O., Odike, M.A.C., Inegbenebor, U., Nwaopara, S.O., Ewere, G.I. 2008a. A comparative study on the effects of excessive consumption of ginger, clove, red pepper and black pepper on the histology of the Kidney. Pak.J.Nutr., 7:287- 291
- Odigie, I.P., Ettarh, R.R. and Adigun, S.A., 2003. Chronic administration of aqueous extract of Hibiscus sabdariffa attenuates hypertension and reverses cardiac hypertrophy in 2K-1C hypertensive rats. *Journal of ethnopharmacology*, *86*(2-3), :181-185.
- Oforofuo, I.A.O., Onakewhor, J.U.E. and Idaewor, P.E., 1997. The effect of chronic administration of MSG on the histology of the adult Wistar rat testes. *Bio Res Comm*, *9*(2), :30-56.
- Okediran, B.S., Olurotimi, A.E., Rahman, S.A., Michael, O.G. and Olukunle, J.O., 2014. Alterations in the lipid profile and liver enzymes of rats treated with monosodium glutamate. *Sokoto journal of veterinary sciences*, *12*(3), :42-46.
- Okoko, T. and Oruambo, I.F., 2008. The effect of Hibiscus sabdariffa calyx extract on cisplatin-induced tissue damage in rats. *Biokemistri*, *20*(2).
- Okwudiri, O.O., Sylvanus, A.C. and Peace, I.A., 2012. Monosodium glutamate induces oxidative stress and affects glucose metabolism in the kidney of rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, *2*(1), :1.
- Olatunji, L.A., Adebayo, J.O., Oguntoye, O.B., Olatunde, N.O., Olatunji, V.A. and Soladoye, A.O., 2005. Effects of aqueous extracts of petals of red and green Hibiscus

sabdariffa. on plasma lipid and hematological variables in rats. *Pharmaceutical biology*, *43*(5), :471-474.

- Ologundudu, A., Ologundudu, A.O., Oluba, O.M., Ololade, I.A. and Obi, F.O., 2009. Effect of Hibiscus sabdariffa anthocyanins on 2, 4-dinitrophenylhydrazine-induced hematotoxicity in rabbits. *African Journal of Biochemistry Research*, *3*, :140-144.
- Olusola, A. O,.(2016). Effect of Ethanolic Extract of Hibiscus sabdariffa and 2, 4-Dinitrophenylhydrazine on Kidney Function Parameters of Rats. AASCIT Communications Volume 2, Issue 6ISSN: 2375-3803
- Onakewhor, J.U., Oforofuo, I.A. and Singh, S.P., 2017. Chronic administration of monosodium glutamate induces oligozoospermia and glycoen accumulation in Wistar rat testes. *African Journal of Reproductive Health*, *2*(2).
- Onaolapo, A.Y., Onaolapo, O.J., Mosaku, T.J., Akanji, O.O. and Abiodun, O., 2013. A histological study of the hepatic and renal effects of subchronic low dose oral monosodium glutamate in Swiss albino mice. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, :294-306.
- Onibi, G.E. and Osho, I.B., 2007. Oxidative stability and bacteriological assessment of meat from broiler chickens fed diets containing Hibiscus sabdariffa calyces. *African Journal of Biotechnology*, *6*(23).
  - Onyema, O.O., Alisi, C.S., Ihetuge, A.P.,(2012). Monosodium glutamate induces oxidative stress and affects glucose metabolism in the kidney of rats. Int. J. Biochem. Res. Rev D: 101654445.
- Onyema, O.O., Farombi, E.O., Emerole, G.O., Ukoha, A.I. and Onyeze, G.O., 2006. Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats.
- Onyenekwe, P.C., Ajani, E.O., Ameh, D.A. and Gamaniel, K.S., 1999. Antihypertensive effect of roselle (Hibiscus sabdariffa) calyx infusion in spontaneously hypertensive rats and a comparison of its toxicity with that in Wistar rats. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*, *17*(3), :199-206.
- Orisakwe, O.E., Husaini, D.C. and Afonne, O.J., 2004. Testicular effects of sub-chronic administration of Hibiscus sabdariffa calyx aqueous extract in rats. *Reproductive Toxicology*, *18*(2), :295-298.
- Orji, B.O., Obi, F.O., Modo, E.U., Osibemhe, M. and Otitolaiye, C.A., 2020. Amelioration of paracetamol-induced nephrotoxicity in mice by aqueous extract from the calyx of Hibiscus sabdariffa Linn. *Biokemistri*, *32*(1).
- Ortiz, G.G., Bitzer-Quintero, O.K., Zárate, C.B., Rodríguez-Reynoso, S., Larios-Arceo, F., Velázquez-Brizuela, I.E., Pacheco-Moisés, F. and Rosales-Corral, S.A., 2006. Monosodium glutamate-induced damage in liver and kidney: a morphological and biochemical approach. *Biomedicine & pharmacotherapy*, *60*(2), :86-91.
- Osuntogun, B. and Aboaba, O.O., 2004. Microbiological and physico-chemical evaluation of some non-alcoholic beverages. *Pakistan Journal of nutrition*, *3*(3), :188-192.

- Patton, C. J., & Crouh, S. R. (1977). Urea colorimetric endpoint determination urease-Berthelot reaction. Annal. Chem, 49, 464–469.
- Paul, M.S., Abhilash, M., Varghese, M.V., Alex, M. and Harikumaran Nair, R., 2012. Protective effects of α-tocopherol against oxidative stress related to nephrotoxicity by monosodium glutamate in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, *22*(8), :625-630.
- Pérez-Torres, I., Zuniga Munoz, A., Beltrán-Rodríguez, U., Díaz-Díaz, E., Martínez-Memije, R. and Guarner Lans, V., 2014. Modification of the liver fatty acids by Hibiscus sabdariffa Linnaeus (Malvaceae) infusion, its possible effect on vascular reactivity in a metabolic syndrome model. *Clinical and Experimental Hypertension*, *36*(3), :123-131.
- Pinterova, L.; Zelezna, B.; Fickova, M.; Macho, L.; Krizanova, O.; Jezova, D. and Zorad, S. (2001). Elevated AT1 receptor protein but lower angiotensin II-binding in adipose tissue of rats with monosodium glutamate-induced obesity. *Horm. Metab. Res*. 33: 708–712.
- Plotto, A., Mazaud, F., Röttger, A. and Steffel, K., 2004. Hibiscus: Post-production management for improved market access. *Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*.
- Prasongwatana, V., Woottisin, S., Sriboonlue, P. and Kukongviriyapan, V., 2008. Uricosuric effect of Roselle (Hibiscus sabdariffa) in normal and renal-stone former subjects. *Journal of Ethnopharmacology*, *117*(3), :491-495.
- Qi, Y., Chin, K.L., Malekian, F., Berhane, M. and Gager, J., 2005. Biological characteristics, nutritional and medicinal value of roselle, Hibiscus sabdariffa. *Circular-urban forestry natural resources and environment*, *604*, :1-2.
- Resendiz-Lopez, I., Loara-pina, B. and Castano-Tostado, E., 1998. Antimutagenicity of natural phenolic compounds in dried flowers from Hibiscus sabdariffa L against 1-nitropyrene. On line: File. *A:\Hib*, *5*.
- Rogers, P.J. and Blundell, J.E., 1990. Umami and appetite: effects of monosodium glutamate on hunger and food intake in human subjects. *Physiology & behavior*, *48*(6), :801-804.
- Rosemary, R. and Haro, G., 2014. Antidiabetic effect of roselle calyces extract (Hibiscus sabdariffa L.) in streptozotocin induced mice. *Int J PharmTech Research*, *6*(5), :1703-11.
- Saad, B., Zaid, H., Shanak, S. and Kadan, S., 2017. Anti-diabetes and anti-obesity medicinal plants and phytochemicals. *Anti-diabetes and Antiobesity Medicinal Plants and Phytochemicals*.
- Samuels, A., 1999. The toxicity/safety of processed free glutamic acid (MSG): a study in suppression of information. *Accountability in Research*, *6*(4), :259-310.
- Santhakumari, P., Prakasam, A. and Pugalendi, K.V., 2006. Antihyperglycemic activity of Piper betle leaf on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of medicinal food*, *9*(1), :108-112.

- SAS .(2012). Statistical Analysis System, User,s Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Institute Incorporated Cary. N.C. USA
- Scanlon, V.C. and Sanders, T., 2018. *Essentials of anatomy and physiology*. FA Davis.
- Schippers, R.R., 2000. *African indigenous vegetables: an overview of the cultivated species*.
- Seadlak, J. and Lindsay, R.H., 1968. Analytical Biochemistry. 192, Cited by Al-Zamyle, OM, Al-Nimer MS, Al-Muslih RK (2001). Detection the levelof peroxynitrite and related with antioxidant satus in the serum of patients with acute myocardial ifraction. *Nation. J. Chem*, *4*, :625-637.
- Seujange, Y., Leelahavanichkul, A., Yisarakun, W., Khawsuk, W., Meepool, A., Phamonleatmongkol, P., Saechau, W., Onlamul, W., Tantiwarattanatikul, P., Oonsook, W. and Eiam-Ong, S., 2013. Hibiscus sabdariffa Linnaeus aqueous extracts attenuate the progression of renal injury in 5/6 nephrectomy rats. *Renal failure*, *35*(1), :118-125.
- Sharma, A., Prasongwattana, V., Cha'on, U., Selmi, C., Hipkaeo, W., Boonnate, P., ... & Reungjui, S. (2013). Monosodium glutamate (MSG) consumption is associated with urolithiasis and urinary tract obstruction in rats. PloS one, 8(9), e75546.
- Sharma, V. and Deshmukk, R.A., 2015. A fifth taste or bio bomb. *Euro J Pharma Med Res*, *2*(2), :381-400.
- Shavandi, A., Bekhit, A.E.D.A., Saeedi, P., Izadifar, Z., Bekhit, A.A. and Khademhosseini, A., 2018. Polyphenol uses in biomaterials engineering. *Biomaterials*, *167*, :91-106.
- Sheweita, S.A., Abd El-Gabar, M. and Bastawy, M., 2001. Carbon tetrachloride-induced changes in the activity of phase II drug-metabolizing enzyme in the liver of male rats: role of antioxidants. *Toxicology*, *165*(2-3), :217-224.
- Shi, Z., Luscombe-Marsh, N.D., Wittert, G.A., Yuan, B., Dai, Y., Pan, X. and Taylor, A.W., 2010. Monosodium glutamate is not associated with obesity or a greater prevalence of weight gain over 5 years: findings from the Jiangsu Nutrition Study of Chinese adults. *British Journal of Nutrition*, *104*(3), :457-463.
- Shrestha, S., Jha, C., Das, B.L. and Yadav, P., 2018. Effects of monosodium glutamate on liver tissue of Wistar albino rats-A histological and biochemical study. *Exp Anim*, *8*(10).
- Siew, Y.Y., Yew, H.C., Neo, S.Y., Seow, S.V., Lew, S.M., Lim, S.W., Lim, C.S.E.S., Ng, Y.C., Seetoh, W.G., Ali, A. and Tan, C.H., 2019. Evaluation of anti-proliferative activity of medicinal plants used in Asian Traditional Medicine to treat cancer. *Journal of ethnopharmacology*, *235*, :75-87.
- Singh, K. and Ahluwalia, P., 2003. Studies on the effect of monosodium glutamate [MSG] administration on some antioxidant enzymes in the arterial tissue of adult male mice. *Journal of nutritional science and vitaminology*, *49*(2), :145-148.

- Singh, K. and Pushpa, A., 2005. Alteration in some antioxidant enzymes in cardiac tissue upon monosodium glutamate [MSG] administration to adult male mice. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *20*(1), :43-46.
- Singh, M. (2005). Fact or Fiction? The MSG controversy. Food and Drug Law. Harvard Law School.
- Soliman, A.M., 2011. Extract of Coelatura aegyptiaca, a freshwater clam, ameliorates hepatic oxidative stress induced by monosodium glutamate in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *5*(3), :398-408.
- Steve, L. T. and Susan, L. H. (2003). Food allergy research and resource program. Expert opinion on monosodium glutamate. Retrieved from http://www.truthinlabeling.org/farrp-viaAD.pdf. Accessed on 07/10/2013.
    - Tawfik , M.S. and Al-Badr, N. (2012). Adverse Effects of Monosodium Glutamate on Liver and Kidney Functions in Adult Rats and Potential Protective Effect of Vitamins C and E. F. and Nutr. Sci.;3:651-659.
- Taylor, A.J. and Linforth, R.S., 2010. On-line monitoring of flavour processes. *Food flavour technology*, :266-295.
    - Tebekeme, O and Ibiba, FO (2008):The effect of Hibiscus sabdariffa calyx extract on cisplatin-induced tissue damage in rats .Biokemistri, 20 (2): 47-52
- Thomas, M., Sujatha, K.S. and George, S., 2009. Protective effect of Piper longum Linn. on monosodium glutamate induced oxidative stress in rats.
- Tindall, H.D., 1983. *Vegetables in the Tropics*. Macmillan International Higher Education..
- Tomes, D.T.,(1990). Current Research in Biotechnology with Application to Plant Breeding, : 23-32. In Nijkamy, L.H.W. van der plas and Journal van Aartjik Publishers, Dordrecht , The Netherlands
- Tsai, P.J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B. and Jordan, B.R., 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) extract. *Food research international*, *35*(4), :351-356.
- Tsao, A.S., Kim, E.S. and Hong, W.K., 2004. Chemoprevention of cancer. *CA: a cancer journal for clinicians*, *54*(3), :150-180.
- Tseng, T.H., Kao, E.S., Chu, C.Y., Chou, F.P., Wu, H.W.L. and Wang, C.J., 1997. Protective effects of dried flower extracts of Hibiscus sabdariffa L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*, *35*(12), :1159-1164.
- Vinodini, N., Nayanatara, A.K., Gowda, K.M., Ahamed, B., Ramaswamy, C. and Bhat, R.M., 2008. Effect of monosodium glutamate-induced oxidative damage on rat testis. *J Chin Clin Med*, *3*, :370-373.
- Vinodini, N.A., Nayanatara, A.K., Ramaswamy, C., Ranade, A.V., Kini, R.D., Gowda, K.M., Ahamed, B. and Bhat, R., 2010. Study on evaluation of monosodium glutamate induced oxidative damge on renal tissue on adult Wistar rats. *Journal of Chinese clinical medicine*, *5*(3).
- Walker, R. and Lupien, J.R., 2000. The safety evaluation of monosodium glutamate. *The Journal of nutrition*, *130*(4), :1049S-1052S.

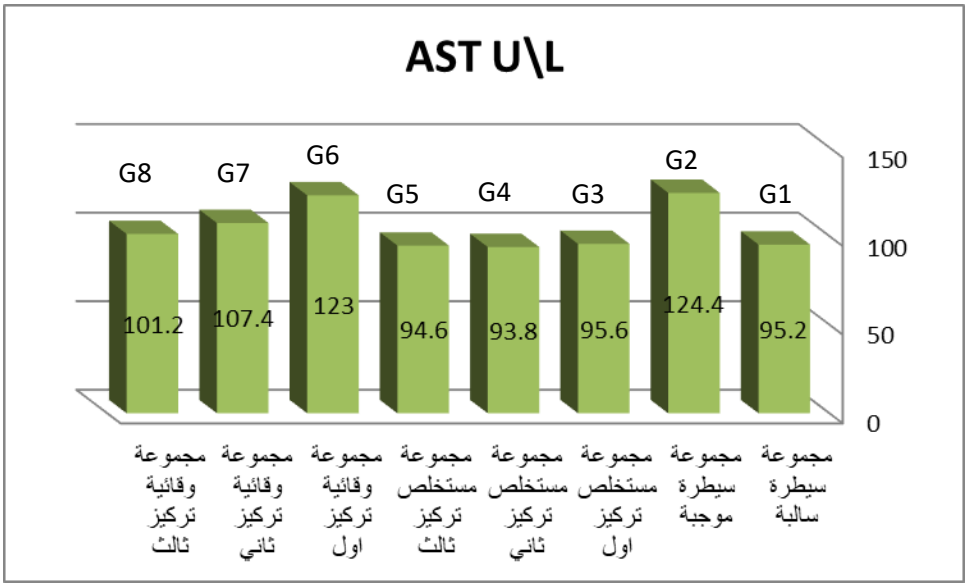
- Wang, C.J., Wang, J.M., Lin, W.L., Chu, C.Y., Chou, F.P. and Tseng, T.H., 2000. Protective effect of Hibiscus anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. *Food and chemical toxicology*, *38*(5), :411-416.
- Warnick, G.R., Cheung, M.C. and Albers, J.J., 1979. Comparison of current methods for high-density lipoprotein cholesterol quantitation. *Clinical Chemistry*, *25*(4), :596-604.
- Waugh, A. and Grant, A., 2010. Ross and Wilson's Anatomy and Physiology in Health and Illness, Edinburgh: Churchill Livingstone.
- William, H. and Carl, K. W. (2000). Food toxicology. Chemical Rubber Company Press 8 (pp 191-206).
- William, J.B. and Linda, M.B., 2000. Color atlas of veterinary histology.
- World Health Organization (2012). Food additives. Retrieved from www.who,int/topics/food additives/en/. Accessed on 19/05/2021
- Wu, A.H., 2006. *Tietz clinical guide to laboratory tests-E-book*. Elsevier Health Sciences.
- Wu, C.H., Yang, M.Y., Chan, K.C., Chung, P.J., Ou, T.T. and Wang, C.J., 2010. Improvement in high-fat diet-induced obesity and body fat accumulation by a Nelumbo nucifera leaf flavonoid-rich extract in mice. *Journal of agricultural and food chemistry*, *58*(11), :7075-7081.
- Yahaya, T., Okpuzor, J. and Oladele, E.O., 2013. The Bioprotective Efficacy of Hibiscus sabdariffa (Roselle), Moringa oleifera (Moringa) Zingiberofficinale (Ginger) and Telfairiaoccidentalis ('Ugwu') in the Livers and Kidneys of Rattus norvegicus (Albino rats) Exposed to Cement dust. *IOSR J Environ Sci Toxicol Food Technol*, *7*, :24-30.
- Yang, W.H., Drouin, M.A., Herbert, M., Mao, Y. and Karsh, J., 1997. The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *99*(6), :757-762.
- Yang, Y.S., Wang, C.J., Huang, C.N., Chen, M.L., Chen, M.J. and Peng, C.H., 2013. Polyphenols of Hibiscus sabdariffa improved diabetic nephropathy via attenuating renal epithelial mesenchymal transition. *Journal of agricultural and food chemistry*, *61*(31), :7545-7551.
- Yin, M.C. and Chao, C.Y., 2008. Anti-Campylobacter, anti-aerobic, and anti-oxidative effects of roselle calyx extract and protocatechuic acid in ground beef. *International journal of food microbiology*, *127*(1-2), :73-77.
- Young, B., Woodford, P. and O'Dowd, G., 2013. *Wheater's functional histology E-Book: a text and colour atlas*. Elsevier Health Sciences.
- Zealand, F.S. (2003). Monosodium glutamate, a safety assessment. Series No. 20 FSANZ.
- Železná, B., Ficková, M., Macho, L., Križanová, O., Ježová, D. and Zórad, Š., 2001. Elevated AT1 receptor protein but lower angiotensin II-binding in adipose tissue of

rats with monosodium glutamate-induced obesity. *Hormone and metabolic research*, *33*(12), :708-712.

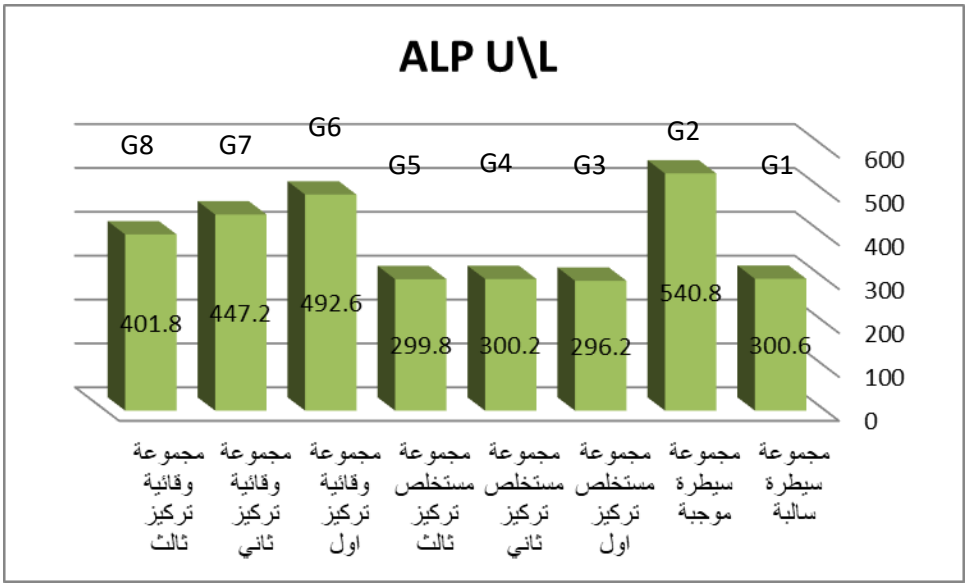
- Zhang, C., Bruins, M.E., Yang, Z.Q., Liu, S.T. and Rao, P.F., 2016. A new formula to calculate activity of superoxide dismutase in indirect assays. *Analytical biochemistry*, *503*, :65-67.
- Zorad, S., Jezova, D., Szabova, L., Macho, L. and Tybitanclova, K., 2003. Low number of insulin receptors but high receptor protein content in adipose tissue of rats with monosodium glutamate-induced obesity. *General physiology and biophysics*, *22*(4), :557-560.

الملاحق

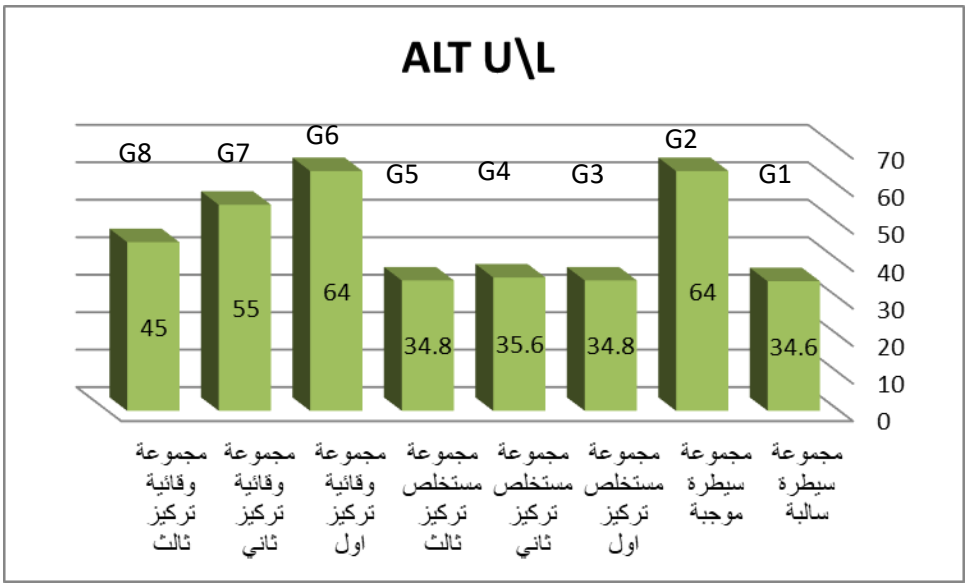
Appendixes



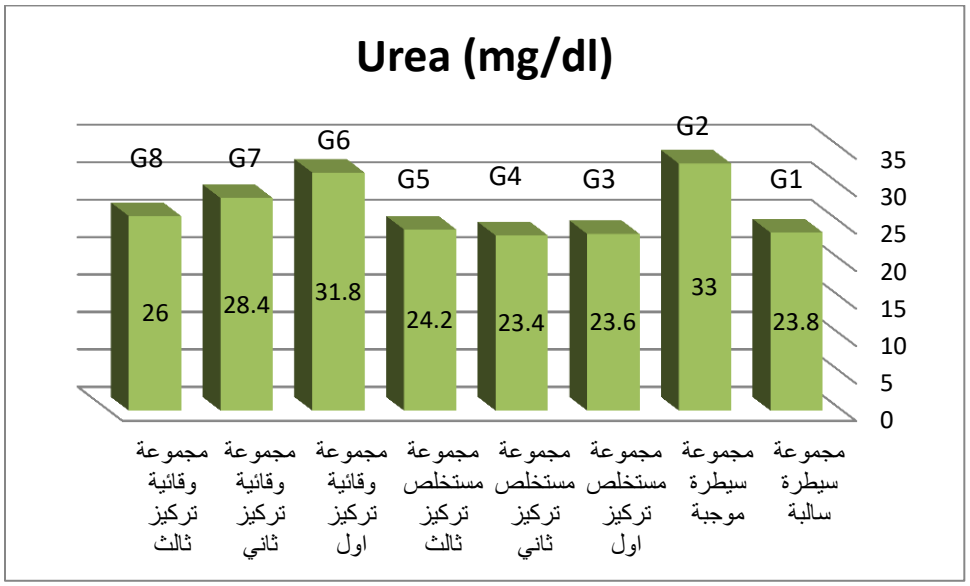
شكل (1) يبين تركيز انزيم (AST) في مجاميع التجربة



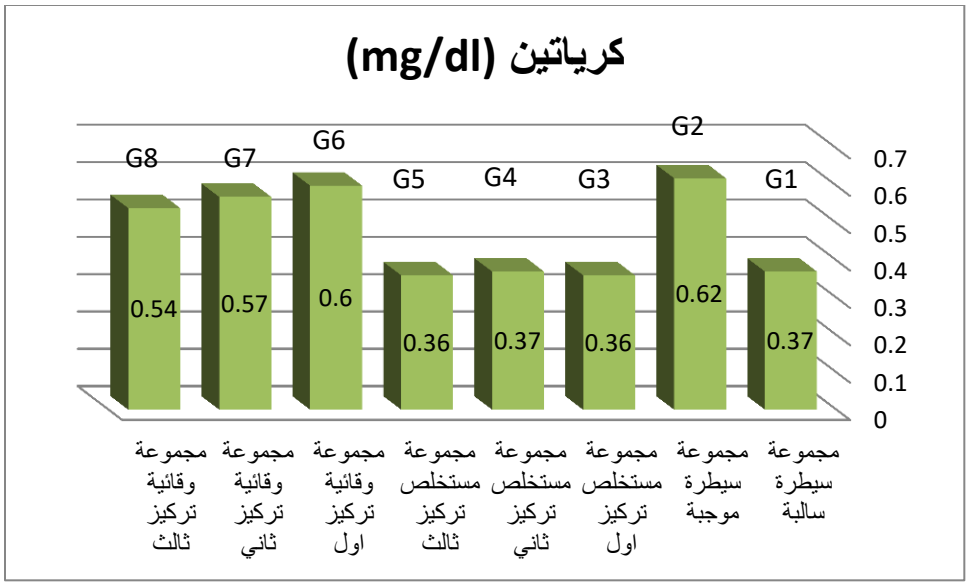
شكل (2) يبين تركيز انزيم (ALP) في مجاميع التجربة



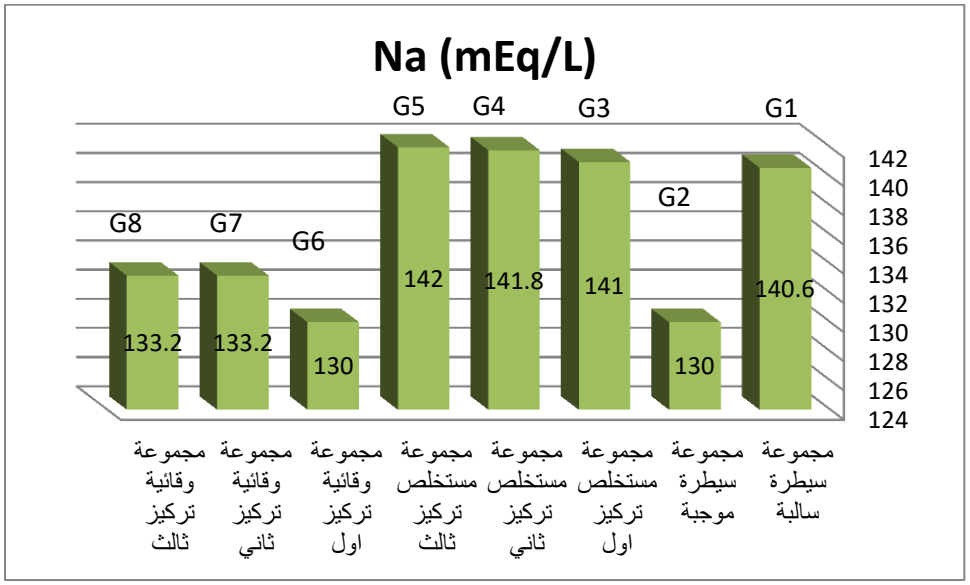
شكل (3) يبين تركيز (ALT) في مجاميع التجربة



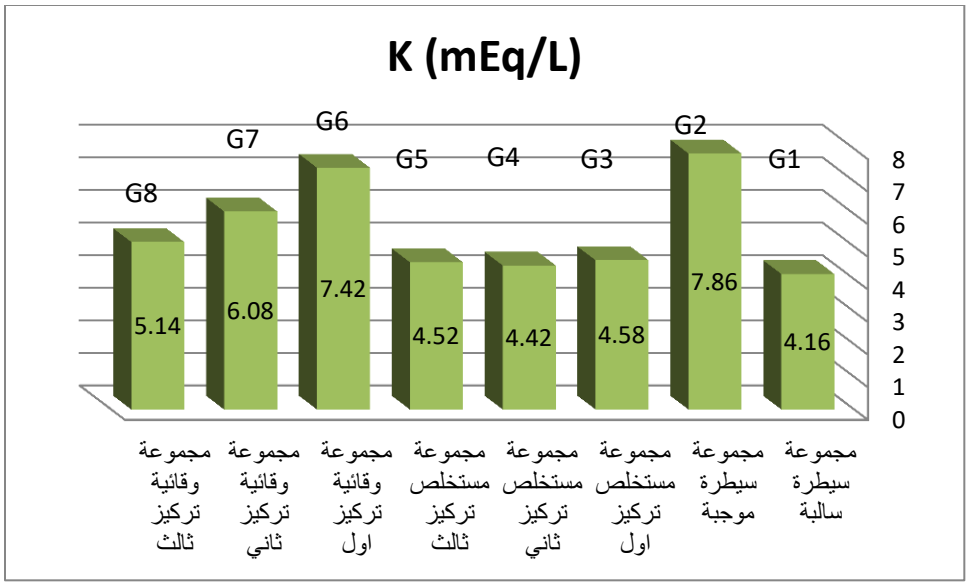
شكل رقم (4) يبين تركيز اليوريا في مجاميع التجربة



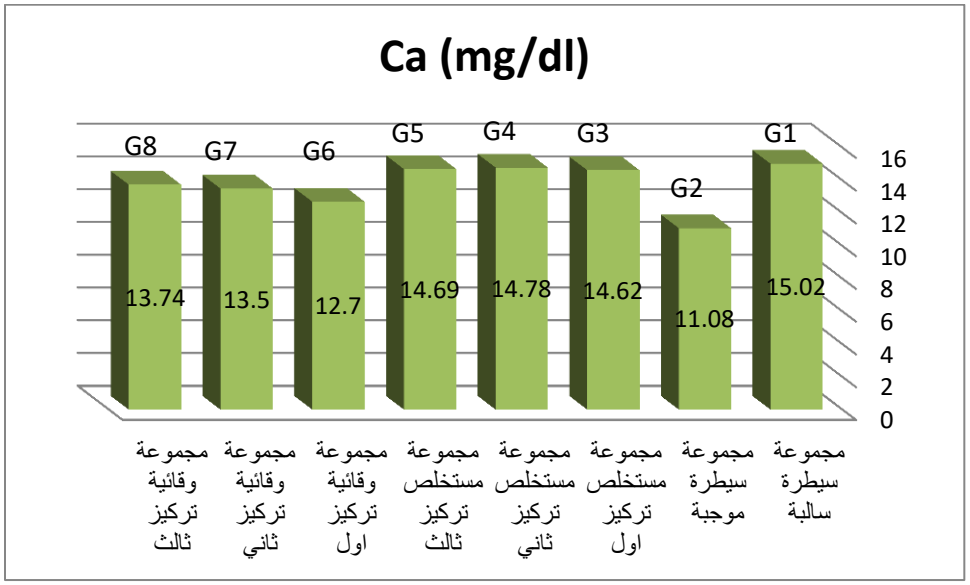
شكل (5) يبين تركيز الكرياتنين في مجاميع التجربة



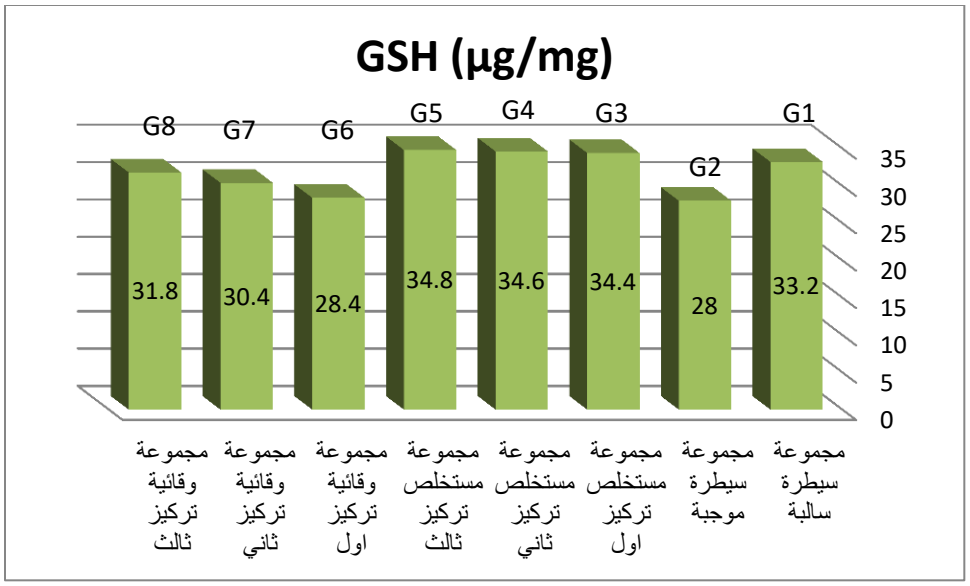
شكل (6) يبين تركيز ايون الصوديوم في مجاميع التجربة



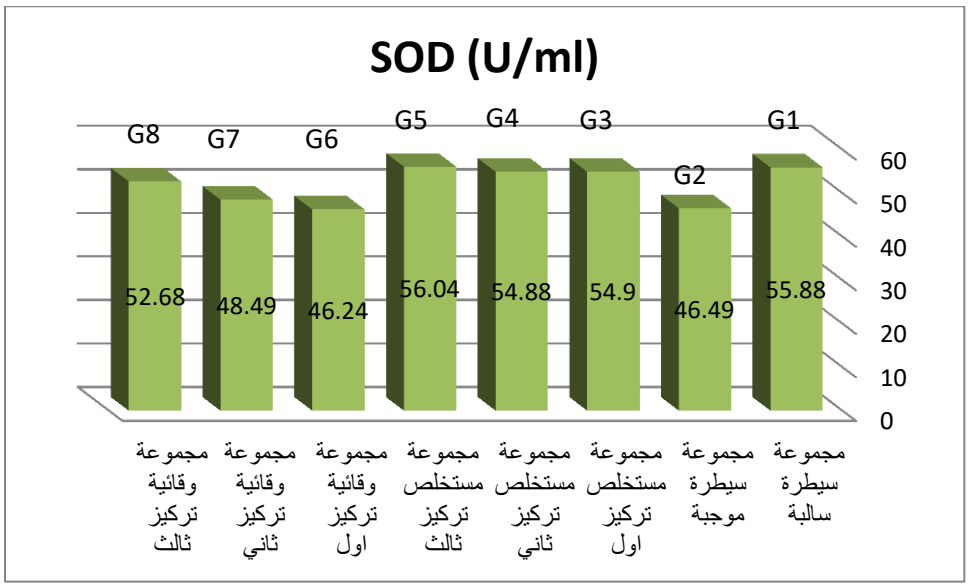
شكل (7) يبين تركيز ايون البوتاسيوم في مجاميع التجربة



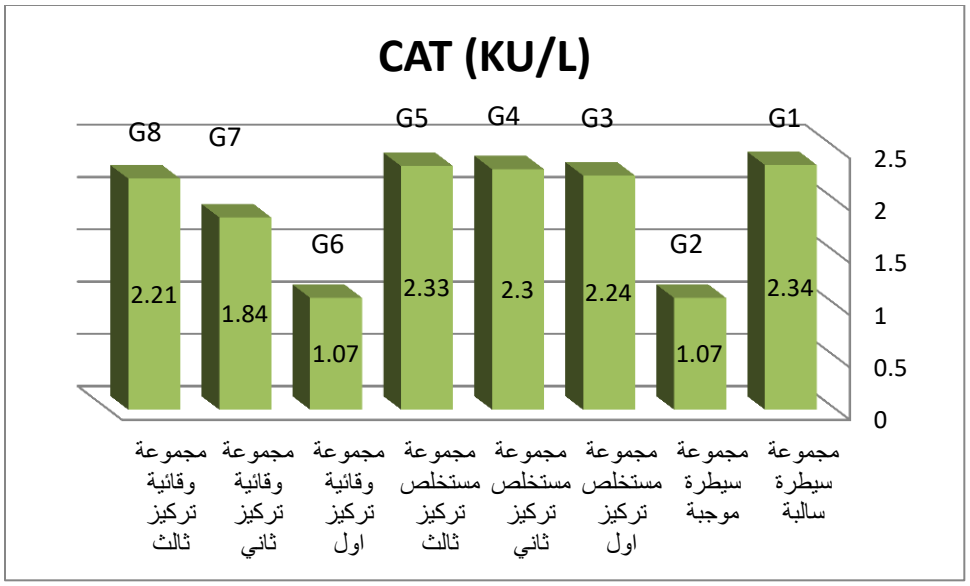
شكل (8) يبين تركيز ايون الكالسيوم في مجاميع التجربة



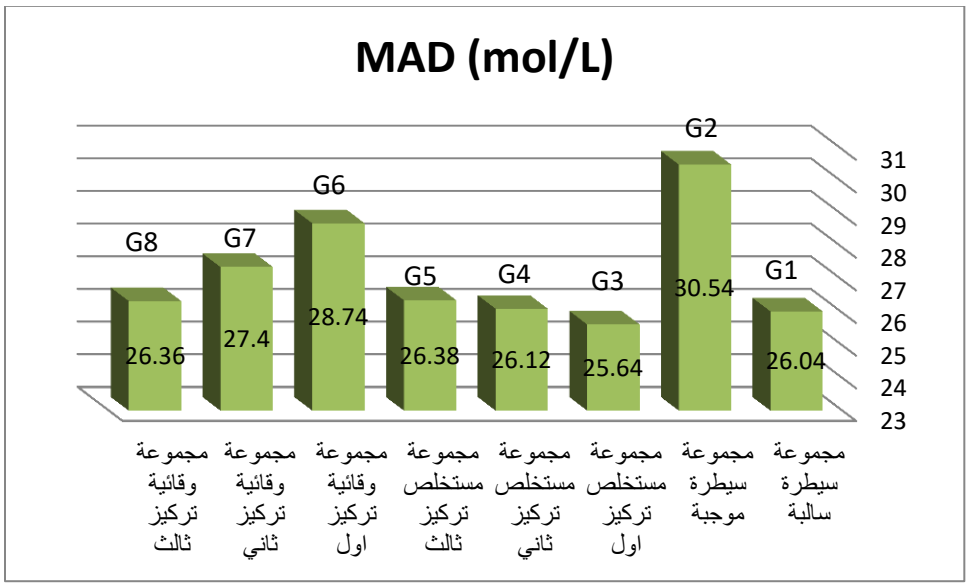
شكل (9) يبين تركيز انزيم GSHفي مجاميع التجربة



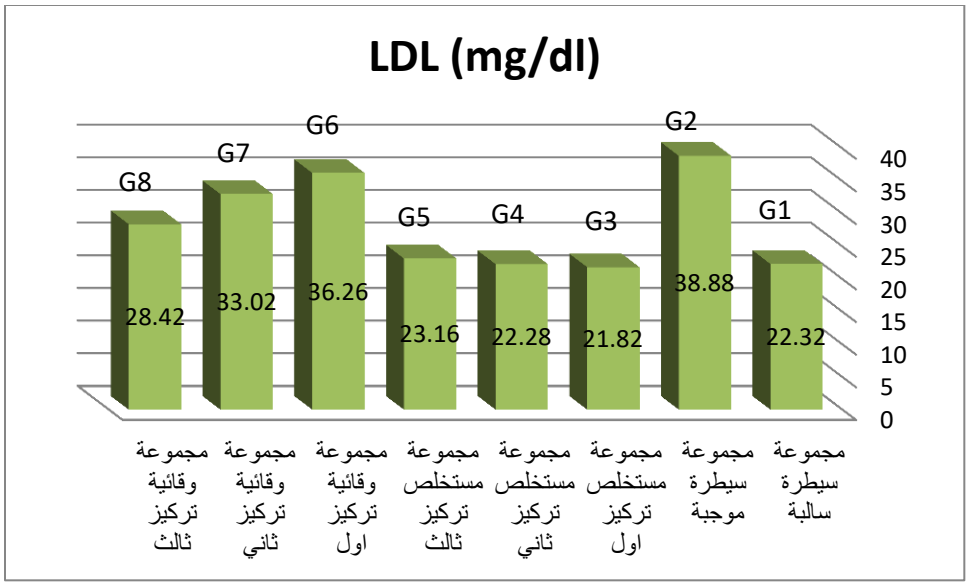
شكل (10) يبين تركيز SOD في مجاميع التجربة



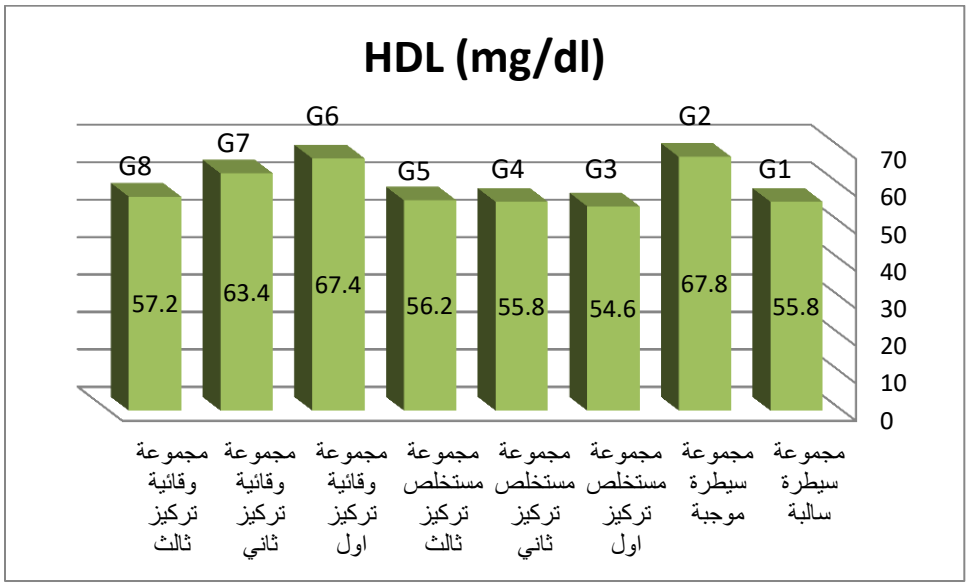
شكل (11) يبين تركيز CATفي مجاميع التجربة



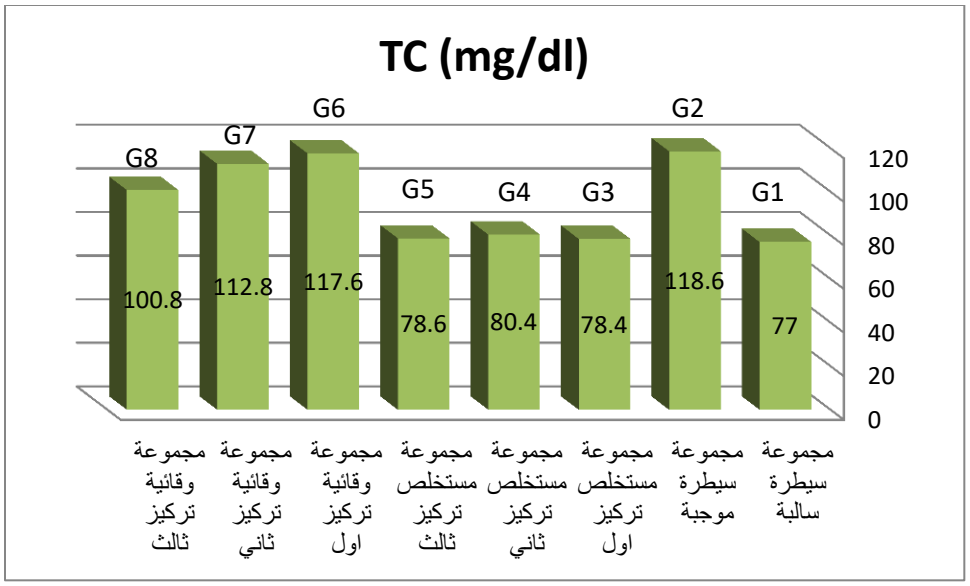
شكل (12) يبين تركيز MDAفي مجاميع التجربة



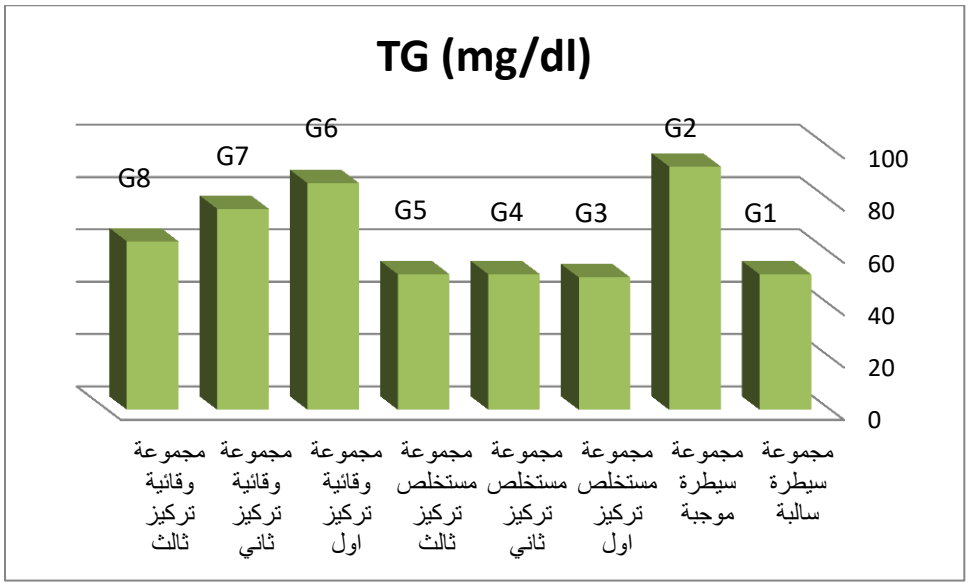
شكل (13) يبين تركيز LDLفي مجاميع التجربة



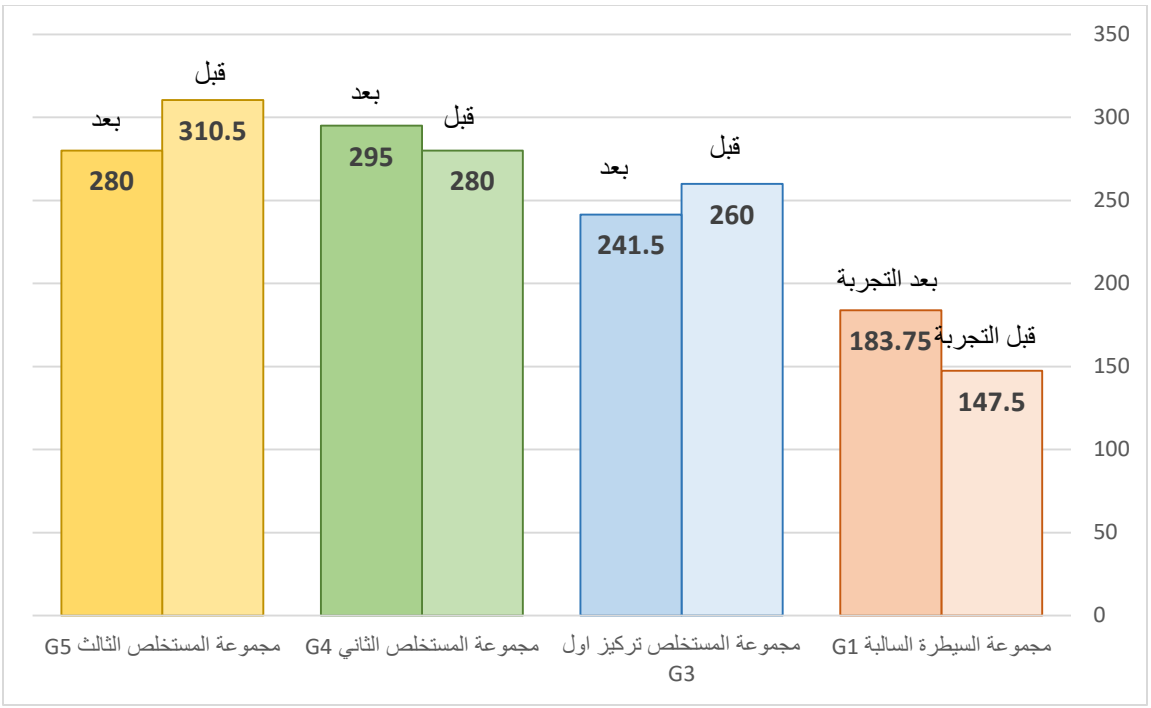
شكل (14) يبين تركيز HDL في مجاميع التجربة



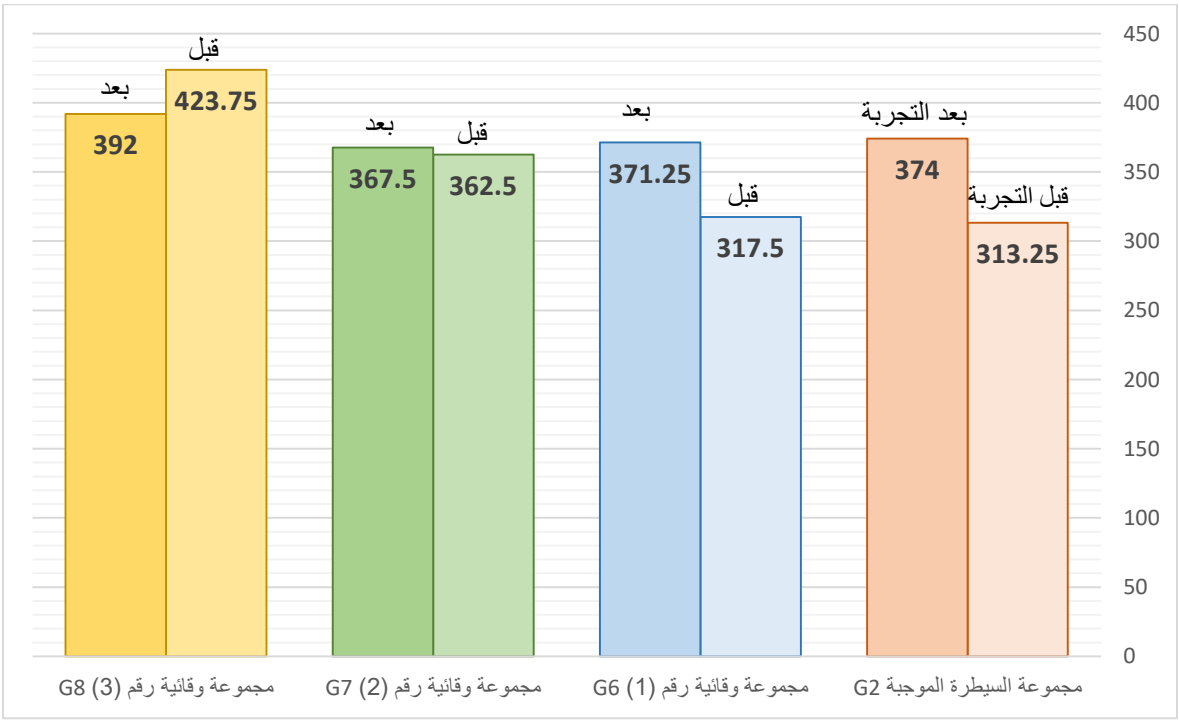
شكل (15) يبين تركيز TCفي مجاميع التجربة



شكل (16) يبين تركيز TGفي مجاميع التجربة



شكل (17) يبين مجاميع الوزن في مجموعة السيطرة السالبة G1 ومجاميع المستخلص (G3, G4, G5) قبل وبعد انتهاء التجربة.



شكل (18) يبين مجاميع الوزن في مجموعة السيطرة الموجبة G2 والمجاميع الوقائية (G6, G7, G8) قبل وبعد انتهاء التجربة.

Abstract

The current study aimed to know the protective effect of the aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* (Gujarat) to reduce the effect of liver and kidney damage caused by the preservative monosodium glutamate (MSG) in male albino rats by studying some physiological changes and histological parameters.

The study was conducted in the animal house of the College of Pharmacy - University of Karbala for the period from September of the year 2020 to February of the year 2021, 40 male adult white rats were used, the ranges weights between (280-400) gram, randomly divided into eight groups comprising (5 animals per group) orally dosed for a period of one month. The first group G1, the control group, was dosed orally on a daily basis with tap water, and the second group G2 was orally dosed with monosodium glutamate at a concentration of 12 (mg/kg) dissolved in distilled water, and the third groups G3, the fourth G4 and the fifth were 5g orally with aqueous extract of Gujarat at a concentration of (mg/kg) 250, 500, 750, respectively, as for the sixth groups G6, the seventh G7 and the eighth G8, they were dosed with aqueous extract of the Gujarat plant at a concentration (mg/kg) (250, 500, 750), respectively, then they were dosed with monosodium glutamate at a concentration of 12 (mg/kg) after passing (3-4) hours

Blood samples were collected in the eight groups one month after dosing and blood serum was obtained for the purpose of measuring the level of the following physiological parameters: levels of liver enzymes aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), alkalinephosphatase (ALP), urea (Urea) and creatinine And blood electrolytes, which included (Sodium ion (Na), Calisum ion Ca)), Potassium ion (K) and oxidative enzyme indicators, which included Maloaldialdehyde (MDA) and enzyme antioxidants Catalase (CAT) and the enzyme Superoxide dismutuse SOD and glutathione standards (GSH) and lipid profile include Total cholestrol (TC), Total Triglyceride (TG), high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL) and weight changes, as well as taking histological sections of the liver and kidney for the purpose of studying the histological changes, and we obtained the following results:

Oral administration to experimental animals with monosodium glutamate daily for 30 days, both functionally and histologically, led to a significant increase ($P<0.05$) in each of ALP, AST, ALT, urea, creatinine, K and (MDA, TC, TG, LDL, HDL). In addition, there was a significant decrease ($P<0.05$) in each of sodium ion, calcium ion Ca, HDLand antioxidants (GSH, CAT, SOD) compared with the control group.

Histological changes in the liver tissue represented by congestion and severe expansion of the central vein with irregularity in the hepatic cords as well as the presence of congestion and expansion of the sinusoids and infiltration of inflammatory cells compared with the control group and histological changes in the kidney tissue include the glomerulas shrinkage the lining cells of some urinary tubules and their lining was shed, while noticing the presence of blood congestion and infiltration of inflammatory cells compared to the control group.

Oral administration of experimental animals with the aqueous extract of the plant Gujarat s daily for a period of 30 days, but a change was recorded in some functional parameters, most notably a significant decrease ($P<0.05$) in the rate of MDA and a significant increase ($P<0.05$). In the average concentration of Glutathione GSH, CAT and SOD compared with the control group. It also did not cause histological changes in the liver and kidney tissues of rats dosed with the extract at its three concentrations compared with the control group.

The results of the physiological criteria for the protective groups showed a significant decrease ($P<0.05$) in the lipid parameters that included TC, TG and LDL and liver enzymes ALT, ALP, AST, urea, creatinine, ion K and MDA compared with the positive control group. In addition, there was a significant decrease ($P<0.05$) in each of the sodium ion, calcium, HDL and antioxidants SOD, CAT and GSH compared with the positive control group.

The results of the histological examination of liver and kidney tissues in the protective groups treated with aqueous extract of Gujarat plant contributed to reducing the toxic effects of monosodium glutamate. preventive measures, which contributed to reducing The effects are clearly, which made the tissue under study as close as possible to the normal state, but it did not prevent the occurrence of some toxic effects of monosodium glutamate in the body. That the current results of weight indicates weight instability which animals suffered at the physiological or histological level, and this may be related to the nature of the food used, the components of the diet used, and the length of time for the experiment.

We conclude from the current study the effectiveness of the aqueous extract of Gujarat plant in curbing the activity of free radicals and neutralizing the oxidative stress induced by the preservative monosodium glutamate in liver and kidney tissues and some functional parameters in male white rats.

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education &Scientific Research

University of Karbala

College of Education for Pure Sciences

Department of Biology

Study of the protective role of aqueous extract of leaves of Hibiscus sabdariffa L. on some functional and histological parameters in white male rats treated with monosodium glutamate.

By

Sara Farouk Majeed Al-taweel

B. Edu. Biology - University of Karbala / 2005

A thesis submitted to the college of education for pure sciences / university of Karbala as a partial fulfillment of requirements for a degree of the master in Biology – Zoology

Supervised By:

Assist prof .Dr. Naseer Marza Hamza

2021 A.D. 1443 A.H.