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

# تقييم الفعالية الحياتية والدور الوقائي لنبات الجعدة *Teucruim Polium* في ذكور الأرانب *Oryctolagus cuniculus* المعاملة ببنزوات الصوديوم

**رسالة مقدمة**

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

**كتبت بواسطة :**

**اسراء خلف عبدالكريم**

**بكالوريوس تربية علوم حياة ـ جامعة كربلاء /2016م**

**بإشراف**

**أ.م.د نصير مرزا حمزة**

**1444 هـ** **2022م**

**بسم الله الرحمن الرحيم**

**(فَتَعَالَى اللَّهُ الْمَلِكُ الْحَقُّ وَلَا تَعْجَلْ بِالْقُرْآنِ مِن قَبْلِ أَن يُقْضَى إِلَيْكَ وَحْيُهُ وَقُل رَّبِّ زِدْنِي عِلْمًا )**

**سورة طه اية (114)**

## إقرار المشرف على الرسالة

أشهد إن إعداد هذه الرسالة الموسومة: **(تقييم الفعالية الحياتية والدور الوقائي لنبات الجعدة *Teucruim Polium* في ذكور الأرانب *Oryctolagus cuniculus* المعاملة ببنزوات الصوديوم)** قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزءٌ من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة /علم الحيوان.

**التوقيع:**

**الاسم :** د. نصير مرزا حمزة

**المرتبة العلمية:** استاذ مساعد

**مكان العمل:** كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

**التاريخ :** / / 2022

## توصية رئيس قسم علوم الحياة

أشارت إلى التوصية أعلاه من قبل الأستاذ المشرف ، أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

**التوقيع:**

**الاسم :** د. نصير مرزا حمزة

**المرتبة العلمية :** أستاذ مساعد

**مكان العمل** : كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء .

**التاريخ :** / / 2022

## إقرار المقوم اللغوي

أشهد إن هذه الرسالة الموسومة بـ **(تقييم الفعالية الحياتية والدور الوقائي لنبات الجعدة *Teucruim Polium* في ذكور الأرانب *Oryctolagus cuniculus* المعاملة ببنزوات الصوديوم )** تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الإمر بسلامة الاسلوب وصحة التعبير.

**التوقيع:**

**الاسم** : د. وفاء عباس فياض

**المرتبة العلمية**: استاذ دكتور

**مكان العمل** :جامعة كربلاء / كلية العلوم الإسلامية

**التأريخ**: ١٨ / ٩ / 2022

## ﴿إقـــــرار لجنة المناقشة﴾

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد بأننا قد أطلعنا على الرسالة الموسومة **(تقييم الفعالية الحياتية والدور الوقائي لنبات الجعدة *Teucruim Polium* في ذكور الأرانب *Oryctolagus cuniculus* المعاملة ببنزوات الصوديوم )** المقدمة من قبل الطالبة **(اسراء خلف عبد الكريم)** كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير / علم الحيوان/ تشريح مقارن ، وبعد إجراء المناقشة العلمية وجد إنها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير ( امتياز ).

**رئيس لجنة المناقشة**

**التوقيع:**
**الاسم:** د. علي فياض برغوث
**المرتبة العلمية:** استاذ
**مكان العمل:** كلية التربية للعلوم - جامعة واسط
**التاريخ:** ١٨ / ٩ / ٢٠٢٢

**عضو اللجنة**

**التوقيع:**
**الاسم:** ميثاق عبد الرزاق عزيز
**المرتبة العلمية:** استاذ
**مكان العمل:** كلية التربية للبنات- جامعة الكوفة
**التاريخ:** ١٨ / ٩ / ٢٠٢٢

**عضو اللجنة**

**التوقيع:**
**الاسم:** د. محمد وسام حيدر الحنّا
**المرتبة العلمية:** استاذ مساعد
**مكان العمل:** كلية التربية للعلوم الصرفة- جامعة كربلاء
**التاريخ:** ١٨ / ٩ / ٢٠٢٢

**عضو ومشرفا**

**التوقيع:**
**الاسم :** د. نصير مرزا حمزة
**المرتبة العلمية:** استاذ مساعد
**مكان العمل :** كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء
**التاريخ :** ١٨/ ٩/ ٢٠٢٢

**مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة**

**التوقيع :**
**الاسم :** د. حميدة عيدان سلمان
**المرتبة العلمية :** أستاذ
**التاريخ :** ٢١/ ٩ / ٢٠٢٢

# الإهداء

إلى الغائب الذي طال غيابه تاركا لعيوننا ظمأ الاشتياق . . الإمام صاحب العصر والزمان.

إلى من اتعبه الزمان من أجلنا . . . . أبي العزيز.

إلى العين التي فاضت الحب والأمل ماءً رقراقاً . . أمي الحنون.

إلى قلب أحب وصدق وأوفى و فاق. . زوجي الحبيب حيدر .

إلى من وجودي وقلبي لهم دوماً تواقٌ. . أخوتي وأخواتي.

إلى ثمرة فؤادي وهدية الرحمن لي . . . نور و علي و لمار .

الباحثة

## شكر وتقدير

الحمد لله الذي دلني على ما يقربني إليه ووفقني لما يزلفني لديه وأوزع لي إن أشكر نعمته وزاد لي حين شكرته والصلاة والسلام على حبيبه الأمين وآله الطاهرين وصحبه المنتجبين ، إكمالاً لنعم الباري علي واحسانه إلي ووصولاً إلى نهاية دراستي هذه اتقدم بوافر الشكر وجزيل الامتنان إلى أستاذي المشرف الأستاذ المساعد د. نصير مرزا حمزة لاقتراحه مشروع البحث وإشرافه المباشر والذي لم يتوانى ولو للحظة في تقديم النصيحة والمشورة العلمية لي ولزملائي الباحثون فلم نجد منه سوى الصدر الرحب والخلق الطيب والعلم الغزير فجزاه الله عني خير الجزاء .

كما اتقدم بجزيل الشكر وعظيم الامتنان لرئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة لأتاحتهم الفرصة لي لإكمال دراستي وشكري الخاص لرئيس القسم المحترم الأستاذ المساعد د. نصير مرزا حمزة و الأستاذة الدكتورة. رشا عبد الأمير لما قدموه لي من العون والجهد لتذليل الصعاب التي واجهتني أثناء الدراسة ويسرني إن اتقدم بوافر الشكر وعظيم التقدير للأستاذ المساعد الدكتور قيصر عبد السجاد محمد والأستاذة الدكتورة أشواق كاظم عبيد الطائي لما قدموه لي من مساعدة عظيمة لإنجاز هذا البحث .

أتقدم بالشكر الجزيل إلى فخري واعتزازي زوجي الحبيب لما قدمه لي من مساندة ودعم في جميع الاوقات الصعبة التي مرت علي خلال دراستي هذه ، وأتقدم بجزيل الشكر إلى أهل زوجي لما بذلوه معي من جهود حثيثة داعية الله إن يحفظهم ويوفقهم لما يحب ويرضى إنه مجيب الدعاء .كما أتقدم بجزيل الشكر إلى جميع أساتذتي وزملائي وزميلاتي في قسم علوم الحياة وإلى جميع من اسدى لي عوناً أو معروفاً أو املاً وتشجيعا ولم يرد ذكره وحضر فضله وعمله.

الباحثة

## قائمة المحتويات


| الموضوع | رقم الصفحة |
|---|---|
| قائمة المحتويات | I |
| قائمة الجداول | IV |
| قائمة الصور والإشكال | VIII |
| قائمة المختصرات | IX |
| الخلاصة | XII |
| الفصل الأول : المقدمة (Introduction) | 3-1 |
| 1. المقدمة | 2 |
| 1.1 الهدف من الدراسة | 3 |
| الفصل الثاني: استعراض المراجع (Literature Review) | 20-4 |
| 2-استعراض المراجع | 5 |
| 2-1- النباتات الطبية | 5 |
| 2-2-العائلة الشفوية | 5 |
| 2-2-1-نبات الجعدة | 6 |
| 2-2-2-وصف النبات | 6 |
| 2-3-المضافات الغذائية | 8 |
| 2-3-1-أنواع المضافات الغذائية | 8 |
| 2-3-2-تصنيف المضافات الغذائية حسب أرقام E | 10 |
| 2-3-3-المواد الحافظة | 11 |
| 2-3-3-1-المواد الحافظة الطبيعية | 11 |
| 2-3-3-2-المواد الحافظة الكيميائية | 11 |
| 2-4-الحوامض العضوية | 12 |
| 2-4-1-حامض البنزويك | 12 |
| 2-4-2-بنزوات الصوديوم | 13 |
| 2-5-التأثيرات الفسيولوجية لبنزوات الصوديوم | 14 |
| 2-5-1-التأثيرات العامة | 14 |
| 2-5-2- الإجهاد الكيميائي | 16 |
| 2-5-3- تأثير بنزوات الصوديوم على الإجهاد التأكسدي | 17 |
| 2-5-4- تأثير بنزوات الصوديوم على الكبد | 18 |
| 2-5-5- تأثير بنزوات الصوديوم على الكلية | 19 |
| الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل (Materials & Methods) | 48-21 |
| 3- المواد وطرائق العمل | 22 |
| 3-1- الأجهزة والادوات المستعملة | 22 |

| | |
|---|---|
| 3-2-3- عدد الفحوصات والمواد الكيميائية | 23 |
| 3-3-3- طرائق العمل | 24 |
| 3-3-1- حيوانات التجربة | 24 |
| 3-3-2- جمع النبات المستعمل | 24 |
| 3-3-3- تحضير المستخلص المائي لنبات الجعدة | 25 |
| 3-3-5-تصميم التجربة | 26 |
| 3-3-6-مخطط تصميم التجربة | 27 |
| 3-4- الدراسة الفسلجية والكيموحيوية | 28 |
| 3-4-1- تحضير العينات | 28 |
| 3-4-2- الدراسة الكيموحيوية | 28 |
| 3-4-2-1- تقدير إنزيمات الكبد | 28 |
| 3-4-2-2- قياس مستوى اليوريا في المصل | 31 |
| 3-4-2-3- قياس مستوى الكرياتينين في المصل | 33 |
| 3-4-2-4- قياس مستوى الكتروليتات الدم | 34 |
| 3-4-2-5- قياس تركيز الدهون | 38 |
| 3-4-2-6- قياس تركيز إنزيمات مضادات الأكسدة | 43 |
| 3-5- الدراسة النسيجية | 45 |
| 3-5-1- تحضير العينات | 45 |
| 3-5-1-1- تثبيت العينة | 46 |
| 3-5-1-2- الغسل | 46 |
| 3-5-1-3- الانكاز | 46 |
| 3-5-1-4- الترويق | 46 |
| 3-5-1-5- التشريب والطمر | 46 |
| 3-5-1-6- التشذيب والتقطيع | 46 |
| 3-5-1-7- التلوين | 47 |
| 3-5-1-8- التحميل | 49 |
| 3-6- التصوير المجهري | 49 |
| 3-7- التحليل الإحصائي | 49 |
| الفصل الرابع: النتائج والمناقشة (Results & Discussion) | 50– 81 |
| 4- النتائج والمناقشة | 51 |
| 4-1- التغيرات الوزنية | 51 |
| 4-1-1-تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم على أوزان أجسام الحيوانات في المجموعة الموجبة عند مقارنتها بالمجموعة السالبة | 51 |
| 4-1-2- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على أوزان الحيوانات في مجاميع المستخلص عند مقارنتها بمجموعة السيطرة السالبة | 52 |
| 4-1-3- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على أوزان الحيوانات في المجاميع الوقائية عند مقارنتها بمجموعة السيطرة الموجبة | 53 |

| | |
|---|---|
| 4-2- الدراسة الفسلجية | 55 |
| 4-2-1-تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 250ملغم/كلغم في مستويات إنزيمات الكبد لذكور الأرانب ولمدة 30يوما | 55 |
| 4-2-2- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على إنزيمات الكبد في مجاميع المستخلص عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة | 57 |
| 4-2-3- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على تراكيز إنزيمات الكبد في المجاميع الوقائية عند المقارنة مع المجموعة السيطرة الموجبة | 58 |
| 4-2-4- تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم على مستوى تركيز مضادات الأكسدة في مجموعة السيطرة الموجبة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة | 59 |
| 4-2-5- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على تركيز معايير الأكسدة (GSH,CAT) في مجاميع المستخلص عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة . | 61 |
| 4-2-6- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على معايير الأكسدة (GSH,CAT) في المجاميع الوقائية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة | 62 |
| 4-2-7- تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/كلغم من وزن الجسم على معايير الكلية في مجموعة السيطرة الموجبة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة | 65 |
| 4-2-8- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على معايير الكلية في مجاميع المستخلص عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة | 66 |
| 4-2-9- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على معايير الكلية في المجاميع الوقائية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة | 67 |
| 4-2-10- تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250)ملغم/كلغم من وزن الجسم على معايير الدهون في المجموعة الموجبة عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة | 69 |
| 4-2-11- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على معايير الدهون في مجاميع المستخلص عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة | 70 |

| | |
|---|---|
| 4-2-12- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على معايير الدهون في مجاميع الوقائية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة | 71 |
| 4-3- الدراسة النسيجية | 74 |
| 4-3-1- نسيج الكبد | 74 |
| 4-3-2- تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم على التركيب النسيجي للكبد في المجموعة الموجبة المجرعة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/كلغم عند المقارنة بمجموعة السيطرة السالبة | 74 |
| 4-3-3- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على نسيج الكبد في مجاميع المستخلص عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة | 76 |
| 4-3-4- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على نسيج الكبد في المجاميع الوقائية عند المقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة | 79 |
| المصادر (References) | 112-85 |
| المصادر العربية | 86 |
| المصادر الاجنبية | 87 |
| الخلاصة باللغة الإنكليزية (Summary) | I – IV |


## قائمة الجداول


| رقم الجدول | عنوان الجدول | الصفحة |
|---|---|---|
| 1-3 | جدول الأجهزة والادوات المختبرية المستعملة بالدراسة الحالية حسب المنشأ | 23 |
| 2-3 | جدول عدد الفحوصات والمواد الكيميائية المستعملة في الدراسة الحالية حسب المنشأ | 24 |
| 3-3 | جدول مكونات العليقة المركزة المعطاة اثناء الدراسة | 25 |
| 1-4 | جدول يبين تركيز إنزيمات الكبد ومعايير الأكسدة في المجاميع المدروسة | 64 |
| 2-4 | جدول يبين تركيز معايير الكلية في المجاميع المدروسة | 68 |

| | | |
|---|---|---|
| 3-4 | جدول يبين تركيز معايير الدهون في المجاميع المدروسة | 72 |


## قائمة الصور والإشكال


| رقم الصورة | عنوان الصورة | رقم الصفحة |
|---|---|---|
| 1-2 | صورة توضح الشكل العامة لنبات الجعدة (*Teucrum Polium*) | 8 |
| 2-3 | صورة جهاز المايكروتوم وعملية التقطيع النسيجي | 47 |
| 1-4 | مقطع مستعرض في كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) يوضح التركيب العامة للكبد في مجموعة السيطرة السالبة ( 40x) ( H & Estain) | 74 |
| 2-4 | مقطع مستعرض في نسيج كبد الأرنب ( *Oryctolagus cuniculus*) في المجموعة المجرعة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 250ملغم/كلغم من وزن الجسم ( 40x) (H & Estain) | 75 |
| 3-4 | مقطع مستعرض في نسيج كبد الأرنب ( *Oryctolagus cuniculus*) في المجموعة المجرعة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 250ملغم/كلغم من وزن الجسم ( 100x) (H & Estain) | 75 |
| 4-4 | مقطع مستعرض في كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) في المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز 150 ملغم /كلغم من وزن الجسم ( 40x) (H & Estain) | 77 |
| 5-4 | مقطع مستعرض في كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) في المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز 200ملغم/كلغم من وزن الجسم (H & Estain) (X40) | 77 |
| 6-4 | مقطع مستعرض في كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) في المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز 250ملغم/كلغم من وزن الجسم ( H & Estain) (40x) | 78 |

| | | |
|---|---|---|
| 7-4 | مقطع مستعرض في كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) في المجموعة الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز 150 ملغم/كلغم من وزن الجسم ثم جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 250 ملغم /كلغم من وزن ( H & Estain) (40x) | 79 |
| 8-4 | مقطع مستعرض في كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) في المجموعة الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز 200 ملغم/كلغم من وزن الجسم ثم جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 250 ملغم /كلغم من وزن ( H & Estain) (40x) | 80 |
| 9-4 | مقطع مستعرض في كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) في المجموعة الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز 250 ملغم/كلغم من وزن الجسم ثم جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 250 ملغم /كلغم من وزن ( H & Estain) (40x) | 80 |
| رقم الشكل | عنوان الشكل | الصفحة |
| 1-2 | الصيغة التركيبية لبنزوات الصوديوم | 15 |
| 1-3 | مخطط تصميم التجربة | 27 |


## قائمة المختصرات

| Abbreviation | Terms |
|---|---|
| ALP | Alkaline Phosphatase |
| AST | Aspartate Transaminase |
| ALT | Alanine Transaminase |
| CAT | Catalse |
| TG | Triglycerol |
| HDL | High Density lipoprotein |

| | |
|---|---|
| LDL | Low Density Lipoprotein |
| GPx | Glutathione peroxidase |
| WHO | World Health Organization |
| SOD | Super Oxide Dismutase |
| ROS | Reactive oxygen species |
| FDA | Food & Drug Association |
| H&E | Hematoxylene and Eosin |
| GSH | Glutathione |
| L.S.D | Least Significant Deference |

| | |
|---|---|
| NADPH | Nicotineamide Adenine Dinucleotide Phosphate |

## الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية لمعرفة التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات الجعدة *Teucruim Polium* للحد من تأثير الأضرار الكبدية التي تسببها المادة الحافظة بنزوات الصوديوم (C6H5OONa) في ذكور الأرانب *Oryctolagus cuniculus* عن طريق دراسة بعض المعايير الكيموحيوية وبعض التغيرات الفسلجية.

أجريت الدراسة في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء للمدة من الأول من تشرين الأول سنة (2021) لغاية الأول من كانون الأول سنة (2021 )، تم استعمال 48 من ذكور الأرانب و التي تراوحت أوزانها من (1000-1500) غراماً وأعمارها بين (5-11) شهراً تقريباً ، قسمت إلى ثماني مجاميع تضم (6) حيوانات لكل مجموعة ، عدت المجموعة الأولى (G1) مجموعة سيطرة سالبة وبدون معاملة والمجموعة الثانية (G2) جرعت فموياً بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز mg/kg (250)من وزن الجسم ولمدة 30 يوماً ، والمجاميع الثالثة (G3) والرابعة (G4) والخامسة (G5) جرعت فموياً بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز mg/kg (150 ، 200 ، 250) على التوالي ولمدة (30) يوماً، أما المجاميع السادسة (G6) والسابعة (G7) والثامنة (G8) فجرعت فموياً بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز mg/kg (150 ، 200 ، 250) على التوالي بعدها جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز mg/kg (250) في اليوم نفسه.

جمعت عينات الدم في المجاميع الثمانية بعد مرور شهر من التجريع لقياس المعايير الآتية: مستويات إنزيمات الكبد Aspartate transaminase (AST) و Alanin transaminase (ALT) و Alkalinephosphatase (ALP) واليوريا (Urea) والكرياتنين (Creatinine) والكتروليتات الدم التي اشتملت على أيون Sodium (Na) ،أيون Calisum (Ca)، أيون (K Potassium) ومضادات الأكسدة الإنزيمية Catalase (CAT) والكلوتاثيون (GSH) . وقياس معايير الدهون Total cholesterol (TC) و Total Triglyceride (TG) و البروتين الدهني العالي الكثافة (HDL) والبروتين الدهني الواطئ الكثافة (LDL) والتغيرات الوزنية فضلاً عن أخذ مقاطع نسجية للكبد لغرض دراسة التغييرات النسيجية عليها، وقد حصلنا على النتائج الآتية:

- أدى التجريع الفموي لحيوانات التجربة بمادة ببنزوات الصوديوم يوميا ولمدة (30) يوماً ووظيفياً ونسيجياً إلى:

وجود ارتفاع معنوي عند احتمالية (P<0.05) في كل من (ALP ,AST, ALT) واليوريا والكرياتنين والكوليسترول و(TG وLDL) ووجود انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية (P<0.05) في كل من (GSH وCAT) والصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم و (HDL) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة.

وتغييرات نسيجية في نسيج الكبد تمثلت بحدوث تنكس وتنخر للخلايا الكبدية وتوسع شديد في الجيبانيات واحتقان وتوسع الوريد المركزي وعدم انتظام الحبال الكبدية وارتشاح بعض الخلايا الكبدية مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

أما التجريع الفموي لحيوانات التجربة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة ولمدة (30) يوماً في مجاميع المستخلص بين إن هناك ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية (P<0.05 ) في مستوى كل من (GSH و CAT) والكالسيوم و(LDL و HDL) ، وعدم وجود فرق معنوي في تركيز إنزيمي الكبدAST , ALT واليوريا والكرياتينين والصوديوم والبوتاسيوم ، ووجود انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية (P<0.05) في تركيز (TG) و Cholesterol و (ALP) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

سببت المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (150،200) ملغم / كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً توسعاً بسيطاً في الوريد المركزي بينما ظهرت الخلايا الكبدية بصورة طبيعية خالية من أي ضرر كذلك ظهرت بعض الحبال الكبدية بصورة منتظم كما ظهرت الجيبانيات بصورة طبيعية ، بينما التركيز (250) ملغم /كلغم من وزن الجسم اظهر نسيج الكبد أقرب إلى شكلة الطبيعي فقد ظهر كل من الوريد المركزي والخلايا الكبدية بصورة أقرب إلى الطبيعية وانتظام بعض الحبال الكبدية والجيبانيات بصورة طبيعية .

أظهرت نتائج المعايير الوظيفية للمجاميع الوقائية حصول ارتفاع معنوي (P<0.05) في تركيز (GSH وCAT) والصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم و(HDL) ووجود انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية (P<0.05 ) في تركيز إنزيمات الكبد (ALP ,AST, ALT ) واليوريا والكرياتين و TG و Cholesterol و (LDL) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة. وحصول فرق غير معنوي عند (P<0.05) في تركيز إنزيم الكبد (AST) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة.

وبينت نتائج الفحص النسيجي لنسيج الكبد في المجاميع الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بان نسيج الكبد في المجموعة الوقائية ذات التركيز (150) ملغم /كلغم من وزن الجسم

قد ظهر الوريد المركزي متوسع بصورة بسيطة بالإضافة إلى عدم انتظام بعض الحبال الكبدية وحدوث توسع بسيط في الجيبانيات بينما ظهرت الخلايا الكبدية وانويتها بوضع طبيعي في حين أظهر نسيج الكبد عند الفحص المجهري للمجاميع الوقائية ذات التركيز (250،200) ملغم /كلغم من وزن الجسم الوريد المركزي بوضع طبيعي وانتظام الحبال الكبدية اضافة إلى ظهور الخلايا الكبدية وانويتها والجيبانيات بوضع أقرب إلى الطبيعي مما جعل النسيج قيد الدراسة أقرب ما يمكن إلى الحالة الطبيعية الا إنه لم يمنع حدوث بعض التأثيرات السمية لبنزوات الصوديوم في الجسم .

كما بينت النتائج الخاصة بالأوزان حدوث انخفاض في أوزان أجسام الحيوانات في المجموعة المجرعة ببنزوات الصوديوم بينما أظهرت النتائج ارتفاعاً بسيطاً في أوزان مجاميع المستخلص التي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بالإضافة إلى المجاميع الوقائية التي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بالإضافة إلى مادة بنزوات الصوديوم .

# الفصل الأول

# المقدمة

# Introduction

## 1- المقدمة Introduction

تعد بنزوات الصوديوم واحدة من المضافات الغذائية التي تستعمل بصورة كبيرة وفعالة في حفظ الأغذية وتشير العديد من الدراسات إلى إن استعمالها بتراكيز متزايدة يسبب العديد من الأمراض والتي يأتي في مقدمتها تنشيط مسارات الالتهاب في الجسم وبما يتناسب مع الكمية المستهلكة من تلك المادة وفي النهاية استحثاث تعرض جسم الكائن الحي للأمراض السرطانية . (Khan *et al*., 2020 ; Khoshnoud *et al.*, 2018)

إن مادة بنزوات الصوديوم هي من المواد الحافظة إذ تمتلك مفعولاً مضاداً للميكروبات في الأغذية لعدة سنوات ولهذا تستعمل كمادة حافظة لحفظ الأغذية خاصة الفاكهة والمشروبات الغازية وفي منتجات الحليب ، مثل الأجبان والألبان وغيرها (Zamani Mazdeh *et al.*, 2017)

وتستعمل أيضا في حفظ الخضروات واللحوم والمواد المعلبة والعصائر والحبوب والمخبوزات وغيرها ، ويداخل حامض البنزويك أيضا في حفظ مستحضرات التجميل والمواد الطبية والصيدلانية وأيضا غسول الفم (Kamala Kumari *et al*., 2019) .

إن استعمال الأدوية بكثرة وبتراكيز عالية في معالجة الأمراض التي تحدث في الجسم ترافقها العديد من المخاطر والتي تنطوي على التأثيرات السمية لتلك المواد والتي تظهر بصورة تأثيرات جانبية لها (Ekor, 2014) .

ومنذ ذلك الحين أصبح استعمال النباتات الطبية ذات مكانة كبيرة في علوم الصيدلة والطب وأصبحت مصدراً أمناً لصناعة الأدوية ويترافق ذلك مع التقدم الحاصل في مجالات الكيمياء وصناعة الأدوية والصيدلة ، فقد استعملت كمضادات أكسدة بدلاً من الأدوية التقليدية بسبب احتوائها على مركبات مضادة للأكسدة Antioxidants إلى جانب قدرتها في معالجة الالتهابات .(Salmerón-Manzano *et al*., 2020)

من جانب آخر استعملت النباتات الطبية في تطوير أنواع عديدة من الأدوية في العديد من البلدان المتقدمة عن طريق زيادة فعالية تلك المواد في معالجة العديد من الأمراض التي لم يكن من السهل معالجتها في أنواع محددة من الأدوية خصوصاً تلك التي ترافقها تأثيرات جانبية عديدة (Sharma *et al*., 2021)

ومن جانب آخر اعتبرت النباتات الطبية المصدر الاساسي لعلاج العديد من الأمراض التي كانت أمراضاً وبائية سريعة الانتشار في المجتمعات الفقيرة وذات الأعداد السكانية المتزايدة والتي يكون اقتصادها محدود ولا تمتلك قدرة شرائية لتلك الأدوية والتي يقابلها انتشار تلك النباتات بصورة واسعة وانخفاض اسعارها (Eric *et al*., 2016 ; van Andel & Fundiko, 2016)

يعد نبات الجعدة من النباتات الطبية المهمة التي أخذت مجالاً واسعاً في الاستعمالات العلاجية فقد استعملت في علاج العديد من الأمراض لقد استعمل مغلي الجعدة في علاج المغص الكلوي والمعوي وأمراض البرد واستعمل أيضاً في علاج أمراض الكليتين وإزالة آثار القروح من الجسم كما استعمل في علاج مرض السكري وعلاج ورم الطحال إلى جانب إن الاستمرار على منقوع الجعدة يفتح الانسداد في جميع أعضاء الجسم ويعد مضاد للالتهابات والحرارة ونمو البكتريا ومضاد للتشنج وخافض للضغط والدهون في الجسم (Gülsoy Toplan *et al.,* 2022) .

## 2- الهدف من الدراسة Aim of this study

1- معرفة الإضرار السمية التي يتعرض لها الجسم من استعمال مادة بنزوات الصوديوم (Sodium benzoate ) بوصفها من المواد التي تداخل في صناعة الأغذية كمواد حافظة .

2- اختبار الفعالية الطبية الوقائية للمستخلص المائي لنبات الجعدة *Teucrium Polium* وبتراكيز مختلفة ضد سمية البنزوات .

# الفصل الثاني

# استعراض المراجع

# Literature Review

# 2-استعراض المراجع Literature Review

## 2-1- النباتات الطبية :

امتلكت النباتات الطبية أهمية كبيرة العصور القديمة إذ كان القدماء يأخذون النبات الطبي بأكمله أو جزء منه لمعالجة الإمراض ، منذ عن طريق وضع النبات على العضو المصاب للشخص المريض ، إن الله سبحانه وتعالى خلق الإنسان وخلق معه النبات وهذا من فضلة سبحانه وتعالى وجعله غذاءً ودواءً في الوقت نفسه وإلى يومنا هذا نلاحظ سعي الإنسان عبر حياته للبحث عن النباتات التي تقلل من الالم وتعالج الإمراض ، وتنقل المصادر التاريخية لنا تاريخ طب الاعشاب في وادي الرافدين والذي يعود للحضارة السومرية قبل أكثر من 3000 سنة قبل الميلاد إذ ورث الأشوريون والبابليون هذا العلم من السومريين واهتموا به كثيراً (عبود و وحيد ،2017) .

وإلى جانب ذلك اشتهرت الحضارة الهندية واليونانية بمعرفة واسعة في النباتات الطبية ، وكان العصر الإسلامي من العصور التي أزدهر فيها التداوي بالنباتات الطبية أذ اعتمدوا عليها في غذائهم ودوائهم وأثرها في معالجة الإمراض (Robelius, 2007)

وقد بينت دراسة كل من موسى واخرون (2015) في مناطق الصحراء الغربية في العراق وكان ذلك للنباتات الطبية ذات القيمة العلاجية وتصنيفها وفقاً إلى الموسوعة النباتية العراقية (Flora of Iraq) وحساب محيطها وارتفاعها ووزنها الجاف وكثافتها وتكرارها النسبي ، إذ وجدوا تسعة أنواع نباتية ذات فائدة طبية من جميع الأنواع المحددة وهذه الأنواع النباتية التي تنتمي إلى عوائل نباتية مختلفة هي : الرمرامية Chenopodiaceae ، والمظلية Umbelliferae ، والمركبة Compositae ، ولسان الثور Boraginaceae ، وآذان الصخلة Plantaginaceae ، والشفوية Labiatae ، إذ لاحظوا سيادة الأنواع المعمرة عكس الأنواع الحولية وكانت العائلة الشفوية من العوائل ذات سيادة عالية على حساب العائلات الأخرى .

## 2-2- العائلة الشفوية

تعد العائلة الشفوية من أهم العائلات الموجودة في المملكة النباتية اذ تحوي (230) جنساً و(7100) نوعاً وهي منتشرة في إنحاء العالم لكنها متركزة في مناطق البحر الأبيض المتوسط إذ إنها تنمو طبيعيا في المناطق المتباينة والمناخات المختلفة ومعظم نباتات هذه العائلة هي أعشاب حولية أو

معمرة وفي أحيان قليلة جداً تكون شجيرات وأغلب هذه الأنواع تكون ذات رائحة عطرية مميزة (Karpiński, 2020) .

## 2-2-1- نبات الجعدة :

ينتمي نبات الجعدة إلى العائلة الشفوية ويعرف بعدد من الأسماء منها حشيشة الريح والقصلم والطرف ومسك الجن والشندقورة وعشبة الخياطة والقدحة وحرض وتوم الحبة وجعيدة والمسيكة وله استعمالات عديدة في الغذاء و الدواء إذ يمتلك خواص مضادة للأكسدة إذ تم تشخيص حوالي 45 مركباً فعالاً فيه لها تأثيرات رافعة لتركيزات الأنزيمات المضادة للأكسدة إذ تعد مقوياً عاماً وفاتحاً للشهية ، كما إنه يمتلك تأثيرات جيدة ضد التشنج ، وأمراض الجهاز الهضمي ، ويستعمل في البلدان النامية بنطاق كبير لآلام البطن للكبار والصغار، كما إنه يستعمل لعلاج العديد من الإمراض المختلفة منها مشاكل الكبد ، وضغط الدم ، وخافض للحرارة ، والروماتيزم ، والأمراض الطفيلية وهو مضاد للمايكروبات ، كما يعد علاجاً للأمراض الجلدية المزمنة كالاكزيما والصدفية كما تعمل على تنظيم الهرمونات لدى النساء فهي منظفة للرحم ومنشطة للخصوبة عند النساء ومدرة للطمث ( للحيض ) كما إنها طاردة للديدان والدودة الشريطية خاصة أذا أضيف إليها الشيح وبذور اليقطين وتمنع تكون الحصى في الكليتين كما تستعمل لعلاج حصى المرارة وتكمن أهميتها في كونها تحتوي على العديد من العناصر المضادة للأكسدة إذ تم تشخيص العديد من المركبات الفعالة فيه والتي لها تأثيرات مثبطة لتأثير الجذور الحرة في الجسم (El Atki *et al*., 2020) ( Ghasemi *et al*., 2019) .

## 2-2-2- وصف النبات

تعد الجعدة من النباتات العشبية الصغيرة التي تنتشر على نطاق واسع في مناطق البحر الأبيض المتوسط في المناطق الصخرية والتلال والصحاري والأماكن الجافة ، وهو نبات معمر يمتلك قاعدة خشبية وساق مستديرة ومنتصبة كما إن أزهاره تقع في أعلى النبات بصورة كثيفة أما أوراقه فهي مستطيلة أو خطية (Ferrer-gallego *et al*., 2019)

ويشتق الاسم العلمي للنبات من المصطلح اليوناني *Teucrum* الذي يرتبط بملك طروادة القديم إذ كان أول من استعمل هذا النبات لأغراض طبية أما كلمة *Polium* تعني الرمادي المائل إلى البياض وفي هذا اشارة إلى لون الأزهار (Venditti *et al*., 2017).

تحتوي الجعدة على كثير من المركبات الفعالة بيولوجياً والتي من أهمها القلويدات التي منها Stkadrin و Sisteron إلى جانب الزيوت الاساسية والفلافونيدات وهي مركبات فينولية لها

تركيب كيميائي يتكون من (15) ذرة من الكاربون مع مجوعتين فينولين مرتبطة بثلاث ذرات كاربون إذ له أثراً حيوياً مهماً في تقليل خطر الإصابة بالعديد من الأمراض فهي تعمل كمانعة للتخثر بالإضافة إلى كبح الإجهاد التأكسدي الناتج من تولد الجذور الحرة فضلاً عن حماية الجسم من الأمراض القلبية والسرطانية والأمراض المرتبطة بتقدم العمر كما تعمل الفلافونيدات على تحسين النظام الإنزيمي الوقائي عند الإنسان ومن أهم المركبات التي توجد في الفلافونيدات هي: الكامبفيرول kaempferol والسابونينات Saponines والكيورستين quercetin وستيرولات غير مشبعة وهي عنصر أساسي يوجد في أغشية خلايا الكائنات الحية حقيقية النواة إذ يسيطر على سيولة الغشاء ونفاذيته إذ يكون لسيترول بنية مشابهة للكوليسترول و له القدرة على تقليل نسبة LDL في الدم وهذا يعطي القدرة على منع امتصاص الكوليسترول عن طريق التثبيط التنافسي ، كما يحتوي النبات على العديد من الزيوت الطيارة والتي لها أثراً كبيراً في معالجة الأمراض (Asadi & Farahmandfar, 2020 )Amraee *et al*., 2020)

فضلاً عن امتلاك نبات الجعدة على مركبات كربوهيدراتية مثل : فركتوز، وكلوكوز، وسكروز، ورامينوز، ورافينوز وغيرها من السكريات والتي هي مركبات عديدة الهيدروكسيل وتمتلك وظيفة الدهيدية أو كيتونية (Venditti *et al.,* 2017)

صورة رقم (2-1) توضح الشكل العامة لنبات الجعدة ***Teucrum Polium*** حسب (World, 2012)

## 2-3-المضافات الغذائية :

تعرف المضافات الغذائية هي المواد التي لا تستهلك كغذاء بحد ذاتها ولا تستعمل كمكون أساسي للغذاء سواء كانت تمتلك قيمة غذائية أو لا ، لكنه يتم اضافتها للغذاء عن قصد لغرض تكنولوجي أو لنقل أو خزن أو تغليف هذه الأغذية وقد تصبح هذه المضافات هي أو منتجاتها الثانوية من مكونات هذا الغذاء( Niem *et al.,* 2018 ) ; Chinyere, 2021 )

تعد المضافات الغذائية من المواد المهمة لارتباطها بصحة الإنسان وسلامته ، اذ ترتبط العديد منها بالأمراض الخطيرة والمزمنة كما إن صناعة الأغذية اصبحت مرتبطة بإضافة هذه المواد ، وإن مصنعو الأغذية يستعملون هذه المواد لكي يقدموا سلعهم بمذاق لذيذ وبصورة جذابة وقوام جميل لغرض زيادة ارباحهم ، ونتيجة لزيادة تراكيز تلك المواد في الغذاء اصبح الغذاء يشكل خطراً على صحة الإنسان وسلامته (داود ،2017) .

وفي وقتنا الحاضر بدأ اضافة العديد من المواد الحافظة للغذاء وذلك لأن التطور الحاصل في تسويق الأغذية المتنوعة المعروضة يتطلب صنع الغذاء في مكان ومعالجته في مكان آخر ومن ثم تصديره لاحقاً إلى العديد من الدول الأخرى وهذا يوضح طول المدة بين الإنتاج والاستهلاك مما وجب استعمال المضافات الغذائية لحفظ الغذاء من التلف والتعفن والتغيرات غير مرغوبة التي قد تحصل فيه (عبد شهيد ،2020).

## 2-3-1- أنواع المضافات الغذائية :

إن المضافات الغذائية عديدة ومتنوعة ولهذا قسمت إلى عدة مجاميع حسب الاستخدام (Sarac & Sari, 2019) إلى ما يلي :

### 1- اضافات عناصر غذائية :

تضاف هذه المواد إلى الأغذية لرفع القيمة الغذائية لها ، لاستعادة عناصر فقدت منها أثناء التصنيع مثل المعادن أو الفيتامينات ، وقد تكون هذه الإضافة لغرض اضافة عناصر لا توجد في هذا الغذاء في طبيعتها .

### 2- المواد الملونة :

وهي المواد التي تضاف إلى الأغذية لغرض اعطائها لون معين وقد تكون هذه المواد كيميائية أو طبيعية وذلك لجذب المستهلك لشراء هذه الأغذية لأن الألوان الطبيعية تكون غير ثابتة لأنها تتأثر بالحرارة والضوء مما يؤدي إلى استخدام المضافات الملونة لأنها ذات الوان ثابتة .

## 3- المواد المبيضة والمساعدة على النضج :

لهذه المواد خاصية تسريع التبيض وكما إنها تساعد على النضج في اقل وقت ممكن مما يؤدي إلى توفير نفقات الخزن وهي تحمي الأغذية من الإصابة بالقوارض أو الحشرات خلال تخزينها وهي ذات اصل كيميائي .

## 4- المواد المعطرة :

تستعمل هذه المواد بتراكيز منخفضة جداً قد تكون اجزاء من المليون ،وهي قد تكون طبيعية أو مصنعة وتستعمل لغرض اعطاء رائحة عطرة للغذاء .

## 5- المحليات :

تستعمل هذه المواد لإعطاء الطعم الحلو للغذاء مثل السكر ، وقد تستعمل مواد صناعية للتحلية تعطي طعم السكر ، لكنها لا تؤدي إلى رفع السعرات الحرارية وهذه جيدة للأشخاص الراغبين بإنقاص أوزانهم والمصابين بالإمراض منها السكري .

## 6- مكسبات النكهة :

هذه المواد تعطي نكهة خاصة إلى الأغذية المضافة لها وقد تكون طبيعة مثل البهارات ، الزيوت الطيارة أو تكون صناعية وتستعمل النكهات الصناعية لعدم توفر كميات كبيرة من النكهات الطبيعية التي يحتاجها الإنتاج في المصانع الكبيرة .

## 7- المواد الحافظة :

هي المواد التي تعمل على منع حدوث التغيرات الكيميائية التي قد تحدث في الغذاء بسبب تفاعل الاوكسجين مع الزيوت أو الدهون الموجودة في الأغذية والذي ينتج عنه التزرنخ الذي يكون مضر بصحة الإنسان وقد تكون هذه المواد طبيعية مثل السكر والملح أو مصنعة مثل نترات الصوديوم وبنزوات الصوديوم.

## 8- عوامل الاستحلاب والرغوة والمواد المثبتة :

عوامل الاستحلاب هناك مواد لا يمكن مزجها معاً مثل الماء والزيت لذلك تضاف لها عوامل الاستحلاب ومن امثلة هذه المواد هي شمع الاستحلاب وكحول الكيتيريل، أما مواد الرغوة فهي تساعد على مزج السوائل مع الغازات كما في المشروبات الغازية .

## 2-3-2-تصنيف المضافات الغذائية حسب أرقام E :

أشارت دراسة (Regulation *et al*., 2022) إن الدول الأوربية قد حددت المضافات الغذائية التي يسمح باستعمالها وقد استعملت رموز وأرقام تدل عليها وقد استعملت الحرف E الذي يوضع قبل الرقم الذي يدل على نوع المادة المضافة التي قد تكون طبيعية أو صناعية . ومدلول تلك الأرقام كما يأتي :

أ- من E100 إلى E181 تشير إلى المواد الملونة .

ب- منE200 إلى E290 تشير إلى المواد الحافظة .

ج- من E296 إلى E385 تشير إلى مواد مانعة للتأكسد .

د- من E400 إلى E495 تشير إلى المواد المثبتة والمستحلبة .

ل- من E500 إلى E585 تشير إلى املاح معدنية ومواد مانعة للتكتل .

ع- من E620 إلى E640 تشير إلى المواد المنكهة.

ص- منE900 إلىE1520 تشير إلى مواد اخرى متنوعة .

## 2-3-3- المواد الحافظة Preservatives

المواد الحافظة هي المواد التي تضاف إلى المنتجات القابلة للتلف للحفاظ على جودتها وإطالة العمر الافتراضي ، بسبب قابليتها على تدمير البكتريا والعفن والخمائر وأي كائن دقيق ومنع تكاثرها ونشاطها لذلك تمنع تدهور المنتجات بسرعة ، وتحسين القوام اضافة إلى تعزيز النكهة وطول مدة الخزن ، ويمكن تعريف المواد الحافظة على إنها المواد التي لها القدرة على تثبيط أو اعاقة عملية التفكيك Decomposition ، والتحميض Acidifcation ، وعملية التخمر Fermentation ، التي تحصل في الغذاء (Hussein, 2020)

إن سبب استعمال المواد الحافظة يرجع إلى وجود الإحياء المجهرية المسببة لتلف الأغذية والمواد الأخرى واحداث تغيرات غير مرغوبة في المواد فاستعمالها يؤدي إلى تأخير أو منع أو اخفاء التغيرات غير المرغوبة في الأغذية إذ تؤدي تثبيط نمو هذه الإحياء عن طريق التداخل الذي يحصل بين المواد الحافظة وأغشية خلايا الإحياء المجهرية وإنزيماتها واليتها الوراثية ( Khan *et al.*, 2020) .

وهناك (200) مادة حافظة للأغذية تسبب ردود فعل شديدة الحساسية للمستهلك وقد تسبب فرط النشاط لدى الاطفال (Xue *et al.,* 2020) ، وكما تسبب المواد الحافظة ضرراً للمستهلكين حتى على مستوى الكروموسومات (Version, 2020)

تنقسم المواد الحافظة إلى ما يلي :

### 2-3-3-1-المواد الحافظة الطبيعية :

هذه المواد تشمل : الملح ، والسكر ، والتوابل ، وغيرها من المواد الطبيعية (Keim, 2017)

### 2-3-3-2-المواد الحافظة الكيميائية :

المواد الكيميائية الحافظة هي المواد الي تعمل على حفظ المواد الغذائية وتجعلها صالحة للاستهلاك لأطول مدة ممكنة ويمنعها من التلف ، وكما تجعل عملية النضوج أبطئ مما في الحالة الطبيعية ، تمنع فساد الأغذية حيوياً وكيميائياً Biological and Chemical deterioration (Amit *et al.*, 2017).

إن هذا النوع من المواد الحافظة هو الأكثر استعمالاً لأنه أكثر فعالية في عملية حفظ المواد الغذائية لفترات اطول ، والمواد الكيميائية الأكثر استعمالاً هي ثاني أوكسيد الكبريت ، حامض السوربيك ، حامض البروبيونيك ، النتريت ، ونترات الصوديوم ، و البوتاسيوم ، وحامض البنزويك ، وبنزوات الصوديوم ( Ganesh Kumar *et al.,* ; Mandal, 2019 2015).

وقد أشارت دراسة (Deckers *et al.,* 2020 ; Daou *et al.*, 2021) إلى إن التركيزات العالية من المواد الحافظة واستعمالها بصورة مستمرة قد يسبب طفرات أو يكون سام للجينات .

## 2-4-الحوامض العضوية :

تعد الحوامض العضوية مركبات تمتلك مجموعة كربوكسيل Carboxylic group فعالة وتمتلك صيغة عامة (RCOOH) وهي ذات طبيعة قطبية ، وبسبب تأينها غير التام تعد هذه الحوامض ضعيفة إذ إن جزءاً فقط من أيونات الهيدروجين ($H^+$) ينفصل عن الأيون السالب ($RCOO^-$) وإن كمية الحامض غير مفككة Unassociated تعتمد على الرقم الهيدروجيني للوسط (صبر ، 2015) .

تضاف الحوامض العضوية الضعيفة إلى الكثير من الأغذية لزيادة مدة حفظها إذ تمنع نمو البكتريا والإحياء المجهرية المسببة لتلفها وتعد الحوامض العضوية من أكثر المواد الحافظة للأغذية تأثيرا إذ إن جزءاً من فعاليتها المضادة للجراثيم وعملها كمحمضات Acidulants إذ تعمل على تخفيض الأس الهيدروجيني لمنتجات الغذاء إلى المستويات التي تثبط نمو البكتريا والجراثيم (Bodie, 2019) .

وتصنف الحوامض العضوية إلى حوامض احادية الكاربوكسيل وحوامض ثنائية الكاربوكسيل وحوامض ثلاثية الكاربوكسيل ومن أكثر تلك الحوامض استعمالاً في حفظ الأغذية هو حامض البروبيونيك Propionic acid ، و حامض السوربيك Propionic acid ، وحامض البنزويك (Seekles *et al.,* 2022 ; Kwon *et al.*, 2019)

## 2-4-1- حامض البنزويك C6H5COOH.

إن حامض البنزويك من أقدم الأحماض العضوية استعمالاً كمادة حافظة وأكثرها شيوعاَ وهو حامض كاربوكسيلي ضعيف و صيغته الجزيئية (C6H5COOH) ووزنه الجزيئي (122,13) ويتسامى عنده (100) درجة مئوية وضغط بخاره عند (20) درجة مئوية يتراوح من (0.11) إلى (0,53) باسكال ، وإنه مادة صلبة ذات لون ابيض قابليته للذوبان في الماء ضعيفة وكما إنه يستقلب بصورة رئيسية إلى مركب الكلايسين المتقارن وحامض الهيبوريك الذي يتم التخلص منهما في الثديات عن طريق الكلية وكما يوجد حامض البنزويك بصورة كحول بنزيل (Zhang *et al.,* 2021) (Widhalm & Dudareva, 2015) .

إذ يستعمل كمضاد للبكتريا والإحياء المجهرية في الأغذية لعدة سنوات ، وفعاليته الاساسية ضد الفطريات وبعض أنواع البكتريا إذ يتراوح الأس الهيدروجيني الاقصى لتثبيط الميكروبات بواسطة حامض البنزويك بين (2.5– 5) لذلك يستخدم حامض البنزويك لحفظ الأغذية

ذات الحامضية العالية مثل المشروبات الغازية ، والقشطة وعصائر الفاكهة والألبان والمخللات (Sokołowska *et al.,* 2020)

ويستعمل في تخليق المركبات المختلفة اذ يداخل بصورة خاصة في صناعة الفينول وإن أكثر من نصف منتجات العالم من الفينول يتم صناعتها من البنزويك (WHO ,2000 ) .

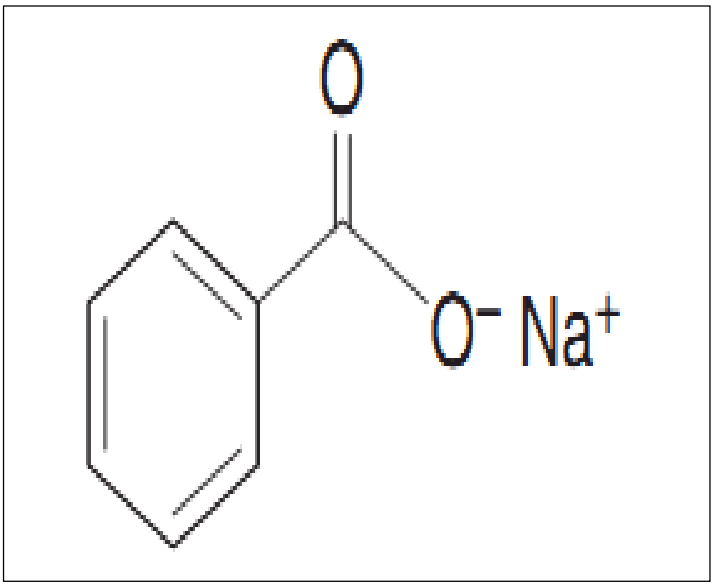
يمكن إنتاج حامض البنزويك بصورة طبيعية بواسطة عدة نباتات كمركب وسطي في تركيب مركبات أخرى ، مثل : التوت البري ، والخوخ ، و الدارسين ، والقرنفل ، و الإجاص المجفف . يوجد أيضاً بصورة طبيعية في منتجات الحليب ، ويكون تركيز حامض البنزويك الموجود طبيعياً في الغذاء لا يتجاوز (40) ملغم/ كغم ( Hazan *et* (Barbosa-Cnovas *et al.,* 2003) .*al.,*2004)

كما يستخدم حامض البنزويك فيما عدا الطعام والشراب في مستحضرات التجميل وغسولات الفم والمواد الصيدلانية ومعاجين الإسنان والمنكهات والمراهم المطهرة التي تستعمل لمعالجة أصابات الجلد الفطرية (Aledwany *et al.*, 2018) .

## 2-4-2- بنزوات الصوديوم Sodium Banzoate

إن مادة بنزوات الصوديوم لها صيغة جزيئية هي (C6H5OONa ) ووزنها الجزيئي هو (144.1) دالتون ومظهرها يكون بصورة مسحوق بلوري ابيض ويرمز لبنزوات الصوديوم لدى الاتحاد الأوربي (E211) (European Commission, 2018) .

وهي مادة ناتجة من تفاعل حامض البنزويك مع هيدروكسيد الصوديوم والتي عند ذوبانها في الماء تنتج حامض البنزويك ، وتستعمل بنزوات الصوديوم كمادة حافظة في الأغذية وعلى الرغم من إن حامض البنزويك غير متفكك يكون ذو فعالية عالية لأغراض الحفظ الا إن قابلية الذوبان العالية لبنزوات الصوديوم في الماء والتي تبلغ أكثر من (200) مرة من حامض البنزويك جعلته أكثر استعمالاً لأغراض الحفظ ، لبنزوات الصوديوم فعالية عالية ضد الميكروبات مثل الفطريات (الاعفان ، الخمائر) وأنواع من البكتريا ، وتكون بنزوات الصوديوم ذات فعالية عالية في عملية الحفظ عند استعمالها كمادة حافظة للمنتجات التي تكون ذات طبيعة حامضية وبصورة خاصة الأطعمة والمشروبات التي تحمل رقم هيدروجيني PH <4.5 (Shahmohammadi *et al.*, 2016)




الشكل : (2-1) الصيغة التركيبية لبنزوات الصوديوم حسب ( Davidson *et al,2005*)

وقد أشارت دراسة الباحثون (Halla *et al.,* 2018) إن الاستعمالات الرئيسة لبنزوات الصوديوم تتمثل في حفظ المشروبات الغازية ، وكما إنها تستعمل في حفظ السلع المخبوزة والدهون والزيوت ، وحبوب الفطور ، والحليب ومشتقاته ، ومنتجات اللحوم والخضروات ، والجلي ، والشاي والقهوة ، والتوابل وغيرها من المواد الأخرى .

ويدخل استعمال مادة بنزوات الصوديوم في حفظ المنظفات المنزلية ، ويدخل أيضاً في غسولات الفم ، وحفظ المواد الصيدلانية (Mohamed *et al.,* 2021).

## 2-5- التأثيرات الفسيولوجية والنسيجية لبنزوات الصوديوم :

### 2-5-1- التأثيرات العامة

إن مادة بنزوات الصوديوم من المواد التي لها تأثيرات سامة على جميع اعضاء الجسم إذ إنها تؤثر في الأنظمة الفسيولوجية في جسم الكائن الحي وقد وجد إلى جانب ذلك إن مادة بنزوات الصوديوم مسؤولة عن تثبيط انقسام الخلية ، كما ذكر إن تناول القطط تركيز (25) ملغم /كلغم من وزن الجسم من بنزوات الصوديوم ولمدة (20) يوماً يسبب التوعك ، التهيج في الجلد والعيون ، يرافقها حدوث تغيرات نسيجية في الكبد والكلى تمثلت بحدوث تغيرات انحلالية في خلاياها ، وعند

تناولها الغذاء الحاوي على بنزوات الصوديوم بتركيز (620) ملغم/ كلغم من وزن الجسم يؤدي إلى تحفيز السلوك العدواني وفرط الحساسية (جدوع ،2021) .

ومن الإضرار الأخرى لبنزوات الصوديوم على اعضاء الجسم هو تأثيره على الجهاز العصبي إذ يسبب ضعف الأعصاب وتثبيط الجهاز العصبي المركزي والسلوك العدواني وتأثيره على مراكز المخ العليا ونقل السيلة العصبية عن طريق تأثيره على مستوى أيونات الصوديوم والبوتاسيوم التي تعمل على نقل الإيعاز العصبي عن طريق آلية صوديوم – بوتاسيوم كذلك فقدان السيطرة على الحركة الإرادية وكذلك حدوث تغيرات نسيجية ووظيفية في الجهاز العصبي (Walczak-Nowicka & Herbet, 2022)

ولبنزوات الصوديوم تأثيرات ضارة على الجهاز الهضمي إذ إن التراكيز العالية من بنزوات الصوديوم تسبب تسمم حاد وتقيء وغثيان وتهيج معدي معوي وفرط حساسية وفقدان للشهية ومغص معوي واسهال شديد مما يؤدي إلى فقدان وزن الجسم وقد يسبب الجفاف في الجسم بالإضافة إلى تأثيره على نسبة مستوى سكر الدم إذ يعمل على رفع نسبته في الدم عن طريق تأثيره على البنكرياس الذي يصبح غير قادر على افراز الانسولين بصورة طبيعي أو بسبب تحلل الكلايكوجين المخزون في الكبد (Yadav *et al* .,2021)

كما تؤثر بنزوات الصوديوم على مستويات الدهون في الجسم إذ يعمل على رفع مستوى الكوليسترول والدهون الثلاثية و (LDL) ويعمل على خفض مستوى (HDL) وبهذا يكون الجسم معرض بصورة كبيرة إلى حدوث الجلطات القلبية والذبحات الصدرية بسبب زيادة نسبة الكوليسترول والدهون الثلاثية في الدم مما يؤدي إلى زيادة لزوجة الدم وعدم سريان الدم في الأوعية الدموية مما يؤدي إلى ترسيب تلك الدهون في الأوعية الدموية مسببة بذلك تصلب الشرايين ومن أهمها الشريان التاجي مسببة بذلك انخفاض في عملية ضخ الدم إلى إنحاء الجسم مما يؤدي إلى انخفاض في اداء الوظائف الجسمية (Oghenetekevwe *et al.*, 2019)

كما تعد مادة بنزوات الصوديوم من المواد التي لها تأثير مباشر على المراكز الاساسية المنتجة للدم مما يؤدي إلى اضطرابات في نسب مستويات الدم وبالتالي التأثير على الوظائف الطبيعية للجسم وقد أشارت دراسة أجريت على ثلاث مجاميع من الجرذان تم تجريعهم بثلاث تراكيز مختلفة من بنزوات الصوديوم وكانت التراكيز هي (25،100،400) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (28) يوماً حدوث وانخفاض معنويا اعداد كريات الدم الحمر بالإضافة إلى صغر حجم

الكريات وانخفاض العدد الكلي لكريات الدم البيض رافقه انخفاض واضح في تركيز الهيموغلوبين ( Dewangan ,2009) .

وقد أشارت درا(Abdel Aziz & Zabut,) إن تجريع الجرذان فمويا بمادة بنزوات الصوديوم بجرعة تركيزها (500) ملغم/كلغم من وزن الجسم ولفترات مختلفة كانت (12) يوماً و (26) يوماً حدوث زيادة في عدد الخلايا اللمفاوية وكريات الدم البيض وانخفاض في عدد الخلايا المرصوصة ومعدل حجمها بالإضافة إلى انخفاض عدد كريات الدم الحمر والهيموغلوبين والصفائح الدموية .

في حين أشارت دراسة اخرى أجريت على الفئران تم تجريعها بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 155ملغم /كلغم من وزن الجسم ولفترات مختلفة هي (30، 60، 120،180) يوماً إلى حدوث انخفاض معنوي في عدد كريات الدم الحمر ، وتركيزالهيموغلوبين أما في نهاية المدة الثانية والثالثة والرابعة لوحظ ارتفاع ملحوظ في مستويات الإلبومين والكلوبيولين والبروتين الكلي مع انخفاض في أوزان الكبد والكلى والطحال (Sinha and D 'souza, 2006).

## 2-5-2- الإجهاد الكيميائي Chemical stress

هو الإجهاد الذي يحدث في جسم الكائن الحي نتيجة لتداخل العمليات الكيميائية الطبيعية مع المواد الكيمائية مثل المبيدات والأدوية والمواد الحافظة والتلوث وهذا التداخل قد يسبب الإجهاد الكيميائي لأنها تتداخل مع توازن معايير الدم في الجسم للكائن الحي (Ahmad Bhat *et al.*, 2019; Hernandez *et al.*, 2019).

إن الإجهاد الكيميائي له قدرة على توليد الجذور الحرة والتي بدورها تؤدي إلى تدمير الغشاء البلازمي الحي للخلايا في جسم الكائن الحي وذلك عن طريق تغير تركيزات الكالسيوم في الجسم بالإضافة إلى تغيرات لطبيعة البروتينات والدهون الموجودة في أغشية الخلايا كما إنها تغير وظيفة وتركيب المايتوكوندريا (Sharifi-Rad *et al.*, 2020)

إن المايتوكوندريا هي المركز الرئيس الذي تتولد فيه الجذور الحرة بسبب توفر الطاقة لتنشيط الأنزيمات داخل خلوية إذ إن للمايتوكوندريا دور اساسي في الحفاظ على قابلية الخلية على الحياة والنمو إذ إن النشاط الزائد للمايتوكوندريا يسبب زيادة في تكوين الجذور الحرة وتكوين جذر الاوكسجين السالب Superoxide (ROS) والجذور الأخرى وهذا يسبب تغيرات تركيبية في المايتوكوندريا مثل تحطيم الغشاء الداخلي والخارجي (جدوع ،2021)

وقد أشارت دراسة (Reiter *et al.,* 2018) إن الجذور الحرة تمتلك قابلية كبيرة على تثبيط العديد من الأنزيمات المهمة والتي لها أثراً مهماً في المحافظة على التنظيم الوظيفي والتركيبي كما هو الحال في انخفاض مستويات إنزيم ATPase المحفز بالكالسيوم والمعتمد على المغنيسيوم مما يؤدي إلى تأثير على تدفق الكالسيوم وكذلك قلة فعالية NADase وإنزيم كلوتاثيون بيروكسيديز Glutathione Peroxidase (GPX) مما يؤدي إلى تثبيط الأيض وإزالة سمية الهأيدروبيروكسيد Hydroperoxide والذي ينتج عن ذلك ضعف في دفاعات الجسم ضد الجذور الحرة في الجسم وزيادة الجهد التأكسدي الذي يدهور وظيفة المايتوكوندريا ويقلل فعاليتها في توليد الطاقة .

## 2-5-3- تأثير بنزوات الصوديوم على الإجهاد التأكسدي

يقصد بالإجهاد التأكسدي هو عدم التوازن بين المؤكسدات ومضادات الأكسدة بحيث تتغلب المؤكسدات على مضادات الأكسدة مما يؤدي إلى حدوث اضرار كبيرة في الخلايا اذ إنها في الحالة الطبيعية توجد حالة توازن بين فعالية مضادات الأكسدة وإنتاج الجذور الحرة التي تؤدي إلى حدوث حالة التوازن الخلوي وعندما يحصل خلل في هذا التوازن فإن هذا يقود إلى حدوث الإجهاد التأكسدي (Singh *et al.,* 2019)(Salehi *et al.*, 2018) مما يؤدي إلى زيادة إنتاج الجذور الحرة التي هي جزيئات فعالة جداً لها القدرة على اكسدة الأحماض النووية والكربوهيدرات والدهون والبروتينات ، ويمكن تعريف الجذور الحرة على إنها ذرة أو أيون أو جزئ لها واحد أو أكثر من الالكترونات المفردة موجودة في غلافها الخارجي ( الغلاف الأخير في الذرة ) والتي تتفاعل بصورة سريعة جداً مع جذر او جزيئة اخرى بتفاعلات مختلفة وعديدة مما ينتج عن ذلك التفاعل هو تدمير للأنسجة المحتوية عليها (Parcheta *et al.,* 2021) (Di Meo & Venditti, 2020)

يمتلك كل من حامض البنزويك وبنزوات الصوديوم ومشتقات اخرى للبنزوات فعالية تأكسدية كما يمكن اعتبارها مؤكسدات أولية ، اذ تعد مواد تحفز الإجهاد التأكسدي في جسم الكائن الحي ، عن طريق تكوين مجاميع فعالة Reactive species من جذور الاوكسجين ، بالإضافة إلى تثبيط الأنظمة المضادة للأكسدة Antioxidante في الجسم (Beloborodova *et al.,*2012) (Yetuk *et al.,*2014)

كما ذكر(Alsudani & Alhamadawi, 2020) إن الاستهلاك المستمر لمادة بنزوات الصوديوم تكون مصدراً رئيسياً لإنتاج أنواع الاوكسجين الفعالة (ROS) ونتيجة لذلك تنخفض تراكيز إنزيمات مضادات الأكسدة وظهور بيروكسيد الدهون في أنسجة كبد الجرذان التي تعرضت

لبنزوات الصوديوم ونتيجة لذلك قد يتضرر الكبد وقد يتطور هذا الضرر إلى تليف في أنسجة الكبد مما يؤدي إلى زيادة أنشطة إنزيمات الكبد .

## 2-5-4- تأثيرات بنزوات الصوديوم على الكبد

يعد الكبد من أكبر اعضاء الجسم يقع تحت الحجاب الحاجز وفي الجهة اليمنى من الجزء العلوي للجوف البطني إذ يبلغ وزنه من (1-2) كلغم في الشخص البالغ حيت يتكون الكبد من فصين غير متساويين في الحجم إذ يكون الفص الأيمن أكبر من الفص الإيسر ، ويتكون كل فص من وحدات أصغر تسمى الفصيصات lobules التي تنتظم بصورة اعمدة والمنطقة المحصورة بين هذا الاعمدة تسمى بالجيوب هذه الجيوب sinuses تكون مملؤة بالدم القادم من فروع صغيرة من الشريان الكبدي والوريد البابي الكبدي كما يحتوي الكبد على خلايا كوبفر kupffer cells التي تعمل على إزالة المواد الغريبة التي تصل إلى الكبد عن طريق الدم (Young *et al*. ,2013 ) ، كما تمتاز خلايا الكبد بقابليتها على تجديد نفسها ، فقد اثبتت الدراسات المختبرية قدرة الكبد على تجديد أنسجته واسترجاع حجمه الطبيعي بعد إزالة ثلثي حجمه ( Bouras-Vallianatos , 2014)

ومن أهم الوظائف التي يقوم بها الكبد هي إزالة السموم ، وإزالة الأمونيا بصورة يوريا ، وإطلاق الأحماض الأمينية غير الاساسية ، استحداث السكر ، وتحويل الكاربوهيدرات والبروتينات إلى دهون وخزن الكلايكوجين ، واكسدة الأحماض الدهنية ، وتخزين العديد من الفيتامينات مثل فيتامين A و B12 ، فضلاً عن إلى تخزين الحديد وإنتاج البروتينات الدهنية وبروتينات البلازما ويمتاز الكبد أيضا بامتلاكه إنزيمات عديدة تكشف عن حالة وظيفية وهذه الأنزيمات هي (AST,ALT,ALP) بالإضافة إلى قياس تركيز كل من (LDL,HDL,GGT) (Paulusma *et al.,* 2022)

فقد أجريت العديد من الدراسات لمعرفة تأثير تجريع الجرذان بمادة بنزوات الصوديوم فقد لوحظ ارتفاع تركيز كل من (LDL, ALP, ALT, ASL) وهذا الارتفاع يشير إلى حدوث ضرر في نسيج الكبد نتيجة التوتر التأكسدي الحاصل بفعل بنزوات الصوديوم (Abd El-Sameaa *et al*., 2018)

كما اظهرت نتائج دراسة حديثة أجريت على الفئران التي جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (300) ملغم /كلغم من وزن الجسم إن هذه التراكيز تسبب تغيرات نسيجية في الكبد مثل الالتهاب الحاد البؤري والتهاب البابي المعتدل في خلايا الكبد وقد تسببت جرعة (600) ملغم/كلغم

من بنزوات الصوديوم في حدوث التهاب انحلالي طفيف وتضخم في خلايا الكبد في المنطقة المحيطة بالوريد المركزي (Khodaei *et al*,2019 )

وبنفس الاتجاه لوحظ إن التجريع الفموي لذكور الجرذان البالغة ولفترات معاملة مختلفة بلغت المدة الأولى ثلاثة اشهر، أما المدة الثانية فقد بلغت اثنا عشر شهراً إذ لوحظ تغيرات في نسيج الكبد وقد كان ابرزها هو فقدان معظم التنظيم النسيجي للكبد بالإضافة إلى وجود تقرحات في الخلايا الكبدية مع وجود تغيرات دهنية في الخلايا الكبدية وذلك عن طريق وجود قطرات دهنية في السايتوبلازم وكذلك حدوث استنزاف في الكاربوهيدرات (Alsamarrai *et al.*, 2020).

كما لوحظ إن تجريع الفئران البيض بمادة بنزوات الصوديوم أدى إلى زيادة فعالية المايتوكوندريا وفقدان الانوية في بعض المواضع بالإضافة إلى التفجي الشديد في الخلايا الكبدية وانكماش الغشاء البلازمي وتكوين امتدادات اصبعية الشكل (Sinha & D'souza ,2010) .

## 2-5-5- تأثير بنزوات الصوديوم على الكلية

يحتوي جسم الفقريات على زوج من الكلى يقع على الجزء الخلفي من البطن وتتألف كل كلية من طبقتين هما : الطبقة الخارجية تدعى بالقشرة cortex وتكون حاوية على النفرونات وهي الوحدة الوظيفية للكلية ، ويتكون كل نفرون من الكبيبة glomeruli والنبيب الملتوي القريب proximalconvoluted tubule وعروة هنلي lob of Henley والنبيب الملتوي البعيد distal convoluted tubule والقناة الجامعة collecting duct والطبقة الداخلية التي تسمى باللب medulla التي تحتوي على تراكيب تسمى الأهرامات الكلوية renal pyramids التي تتكون من كؤوس صغير تلتحم مع بعضها لتكون حوض الكلية renal pelvis الذي يدفع البول إلى الحالب (Clapp ,2009)

تعد الكلية المركز الرئيس لإزالة الفضلات النتروجينية التي تتكون داخل جسم الكائن الحي نتيجة الفعاليات الأيضية ومن ضمنها اليوريا والامونيا وحامض اليوريك والتي لها أثراً مهم في تنظيم الضغط الإزموزي للسوائل الجسمية كما تساهم في إزالة الفضلات الناتجة من أيض المواد النتروجينية مثل الكرياتينين وهذا يتم عن طريق الحفاظ على تراكيز المواد الذائبة بالدم مثل الصوديوم ، والبوتاسيوم ، والفوسفات ، والكالسيوم ، والبيكاربونات ، وإن جميع تلك الوظائف تنجز عن طريق ثلاث عمليات رئيسية وهي الترشيح Filtration واعادة الامتصاص Reabsorption والإفراز Secretion (Raidal & Echols, 2007).

تؤثر بنزوات الصوديوم على نسيج الكلية عن طريق حدوث اضرار في عمل النبيبات الكلوية إذ تكون غير قادرة على الامتصاص الطبيعي للمواد وحدوث تغيرات نسيجية مرضية في الكلية (Mahmoud *et al.*, 2019) كما لوحظ العديد من التغيرات النسيجة المرضية في كلى الجرذان المعاملة ببنزوات الصوديوم متمثلة بانحلال النبيبات البولية والخلايا الظهارية المبطنة لها مما أدى إلى حدوث تليف بؤري وتسرب عدد من الخلايا الالتهابية (Zeghib & Boutlelis, 2021) كما أشارت دراسة الباحث إلى إن تجريع الجرذان بمادة بنزوات الصوديوم أدى إلى اتساع واحتقان الشعيرات الدموية للكبيبة وحدوث توسع في تجويف النبيبات الملتوية القريبة والنبيبات الملتوية البعيدة نتيجة انحلال خلاياها بالإضافة إلى حدوث تليف حول الكبيبة والنبيبات الكلوية وإن التراكيز المرتفعة تسبب اضرار البالغة الخطورة بأنسجة الكلية .

وقد بينت دراسة (Oladele *et al.*, 2020) إن بنزوات الصوديوم تسبب اضرار عديدة في الكلية تمثلت بتحطيم بعض الأنابيب البولية والخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات وضمور في الكبيبة وانسلاخ بعض الخلايا الالتهابية كما إن نسيج الكلية اظهر سمكاً غير منتظم في الغشاء القاعدي الكبيبي مع حصول تلف كلوي تمثل بحدوث ارتفاع معنوي في تركيز اليوريا والكرياتينين بالإضافة إلى حدوث تضخم وارتشاح في الخلايا الالتهابية في طبقة تحت الالتهابية .

# الفصل الثالث

# المواد وطرائق العمل

# Materials and Methods

# 3-المواد وطرائق العمل Materials and Methods

## 3-1 الأجهزة والادوات المستعملة:

**جدول (3-1) الأجهزة والادوات المختبرية المستعملة بالدراسة الحالية حسب المنشأ**

| اسم الجهاز أو الاداة | | المنشأ |
|---|---|---|
| جهاز الطرد المركزي | Centerifuge | England |
| مجهر ضوئي | Light microscope | Japan |
| ميزان الكتروني حساس | Electric balance sensitive | China |
| حمام مائي | Water bath | England |
| المشراح الدوار | Rotary microtom | England |
| مطحنة كهربائية | Electric Grinder | Italy |
| صفيحة ساخنة | Hot plate | Italy |
| فرن كهربائي | Electric oven | Germany |
| جهاز التقطير | Water Distillator | England |
| انابيب ابندروف | Apendrof tube | Germany |
| انابيب جل تيوب | Gel tube | Germany |
| شرائح زجاجية | Slides | Germany |
| اغطية للشرائح الزجاجية | Cove slides | Germany |
| انابيب اختبار بلاستيكية | Plastic test tube | Germany |
| سيت تشريح | Dissectin set | China |
| شاش طبي | Medical jict | S.A.R |

## 2-3- عُدد الفحوصات والمواد الكيميائية Kits and Chemicals materials

**جدول (3-2) عدد الفحوصات والمواد الكيميائية المستعملة في الدراسة الحالية حسب المنشأ**

| العدد والمواد | الشركة المجهزة والمنشأ |
|---|---|
| عدة قياس ALT | Giesse/Italy |
| عدة قياس AST | Giesse/Italy |
| عدة قياس ALP | Biomerieux/France |
| عدة قياس اليوريا Urea | Biomerieux/France |
| عدة قياس الكرياتينين Creatinine | Spinreact/Spain |
| عدة قياس الصوديوم والبوتاسيوم | Germany/Human |
| عدة قياس الكالسيوم | Germany/Human |
| عدة قياس الدهون الثلاثية TG | Biomerieuxsa-France |
| عدة قياس الكوليسترول | BioSystem–Spain |
| عدة قياس الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL | BioSystem–Spain |
| عدة قياس مضادات الأكسدةGSH-CAT | Giesse/Italy |
| بنزوات الصوديوم (C6H5OONa) | India |
| زايليين ( Xylene) | GCC-England |
| مسحوق صبغة الايوسين (Eosin stain powder ) | BDH-England |
| فورمالين (Formalin) 37% | GCC-England |
| حامض الخليك الثلجي ( Glacial acetic acid) | Fluka-German |
| مسحوق صبغة الهيموتوكسلين ( emotoxylin stain powder) | BDH-England |
| كحول مطلق Ethanol | Fluka-German |
| شمع البرافين ( Parafin wax) | Merc-German |

## 3-3- طرائق العمل Methods

### 3-3-1- حيوانات التجربة Experimental Animals

استخدمت في هذه الدراسة (48) من ذكور الأرانب و التي تراوحت أوزانها من (1000-1500) غرام وأعمارها بين (5-11) شهر تقريباً ، تم تربيتها في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء للمدة من الأول من تشرين الأول سنة (2021) لغاية الأول من كانون الأول سنة (2021) ، وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية خاصة مغطاة بأغطية معدنية ، فرشت أرضيتها بنشارة الخشب الناعمة وتمت العناية بنظافة الاقفاص وتبديل الارضية باستمرار وتعقيمها بالمطهرات وكذلك العناية المستمرة بنظافة قناني الإرواء وغرفة الإيواء ، كما خضعت جميع حيوانات التجربة إلى ظروف مختبريه ملائمة من إذ درجة حرارة (25) مْ ومدة الإضاءة والتهوية ، زودت الحيوانات بالماء والعليقة القياسية Ad libitum والمحضرة وفق ( Clarke *et al*,1977 ) بصورة حرة طيلة مدة البحث ، وتركت الحيوانات لمدة أسبوعين للتكيف مع الظروف قبل اجراء التجربة وللتأكد من خلوها من الإمراض .

جدول (3-3) مكونات العليقة المركزة 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 | 1.70كغم |
| 3 | دقيق الحنطة | 17.0 | 1.70كغم |
| 4 | جريش الشعير | 20.0 | 2.00كغم |
| 5 | جريش الذرة | 25.5 | 2.50كغم |
| 6 | ملح الطعام | 1.0 | 0.10كغم |

### 3-3-2- جمع النبات المستعمل :

تم شراء أوراق نبات الجعدة من محلات العطارة الموجودة في أسواق محافظة كربلاء ، وتم نقلها إلى مختبر الدراسات العليا وتم تصنيفها بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية (Mohd ,2010) .

### 3-3-3-تصنيف نبات الجعدة

تصنيف نبات الجعدة حسب (El-Husseini *et al.,* 2008) كما يأتي :

Kingdom:Plantae

Phylum: Angiosperms

Classe : Dicotyledones

Order: Tubiflorales

Famille : Labiatae

Genus :*Teucrium*

Species:*T . Polium*

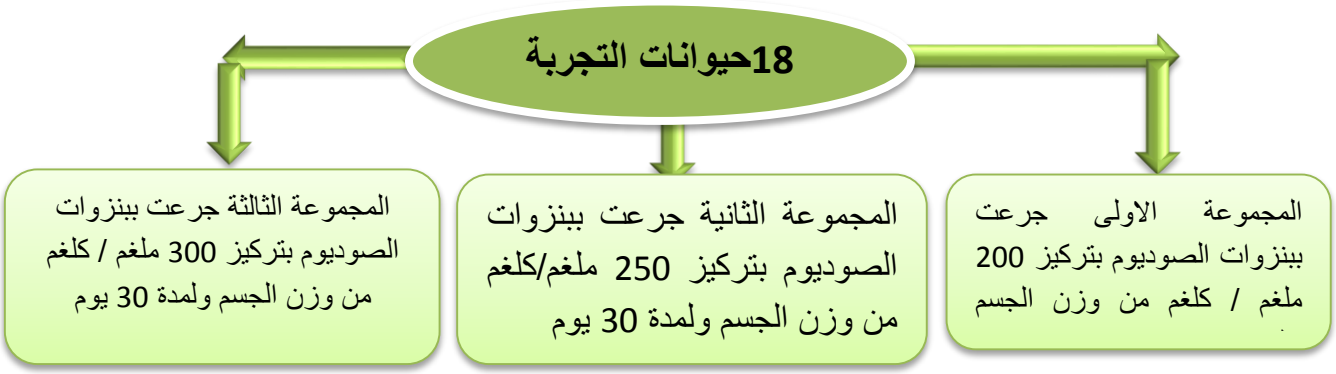
### 3-3-4 تحضير المستخلص المائي لنبات الجعدة :

تم غسل أوراق نبات الجعدة بالماء الجاري ثم جفف وطحن باستعمال مطحنة ومزج (20) غم من المسحوق الجاف مع (400) مل من الماء المقطر باستعمال الخلاط الكهربائي وترك لمدة (24) ساعة بدرجة حرارة الغرفة بعدها رشح الخليط باستعمال عدة طبقات من الشاش الطبي للتخلص من العوالق بعد ذلك طرد مركزياً بسرعة (3000) دورة / دقيقة (10) دقائق ، ثم رشح المستخلص باستعمال أوراق ترشيح نوع Whatman No. 0.1 للحصول على محلول رائق ، جفف المستخلص باستعمال الفرن الكهربائي بدرجة (40) م ثم حفظ في الثلاجة لحين الاستعمال (Hernandezi *et al* ;1994) .

### 3-3-5-تجربة الجرعة المؤثرة للمادة السمية :

تم اخذ 18 من ذكور الارانب (*Oryctolagus cuniculus*) ومن ثم قسمت بشكل عشوائي الى ثلاث مجاميع (6 حيوانات لكل مجموعة) ومن ثم جرعت المجموعة الاولى بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز 200 ملغم/كلغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوم بينما جرعت المجموعة الثانية بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز250 ملغم / كلغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوم اما المجموعة الثالثة فقد جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز300 ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوم وقد تم مراقبة المجاميع طوال مدة التجربة فقد اظهر التركيز الاول 200 ملغم / كلغم عدم وجود أي تأثيرات غريبة في حيوانات المجموعة فقد كانت الحيوانات طبيعية وذات سلوك طبيعي بينما اظهرت المجموعة الثانية تأثيرات بسيطة على اوزان الحيوانات الظاهرية بالاضافة الى قلة استهلاك الغذاء المقدم لها ، بينما

المجموعة الثالثة ذات التركيز 300 ملغم /كلغم امتناع الحيوانات عن تناول الغذاء نهائياً بالاضافة الى قلة الاوزان بصورة واضحة جداً كما ظهرت الحيوانات خاملة الحركة وهلاك قسم منها اثناء مدة التجريع ومن خلال ذلك تم اعتبار جرعة 200 ملغم /كلغم هي جرعة غير مؤثرة وان جرعت 300 ملغم / كلغم هي جرعة مميتة بينما تم اختيار جرعة 250 ملغم / كلغم كجرعة مؤثرة للحيوان .




### 3-3-6- تصميم التجربة :

1- المجموعة الأولى: مجموعة السيطرة السالبة (G1 ) من دون معاملة ، قدم لها العليقة والماء فقط وتشمل على (6) حيوانات .

2- المجموعة الثانية : مجموعة السيطرة الموجبة (G2) جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز(250) ملغم /كلغم من وزن الجسم وتشمل (6) حيوانات .

3- المجموعة الثالثة : مجموعة المستخلص تركيز أول ( G3 ) جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة فقط بتركيز (150) ملغم/كغم من وزن الجسم وتشمل على (6) حيوانات .

4- المجموعة الرابعة : مجموعة المستخلص تركيز ثاني (G4) جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة فقط تركيز (200) ملغم /كغم من وزن الجسم وتشمل (6) حيوانات .

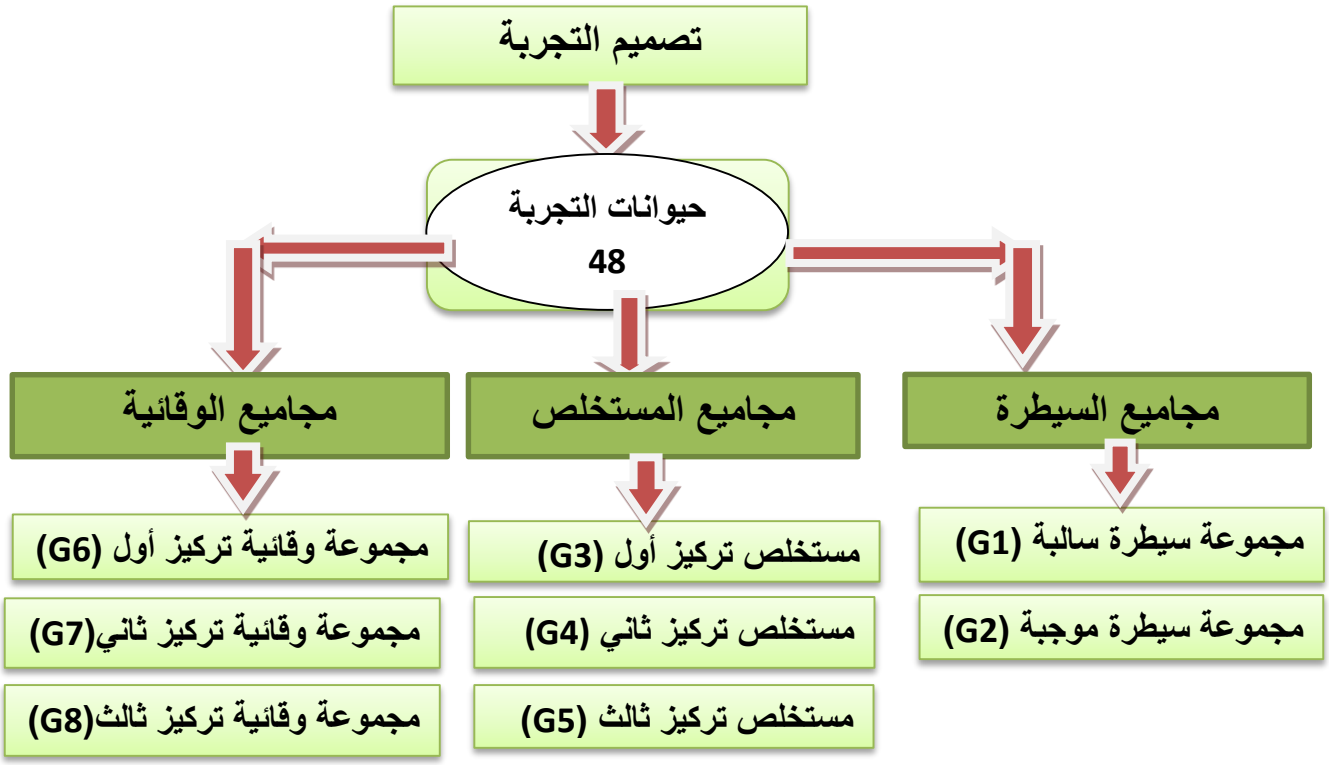
5- المجموعة الخامسة: مجموعة المستخلص تركيز ثالث (G5) جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة فقط تركيز (250) ملغم /كغم من وزن الجسم وتشمل (6) حيوانات .

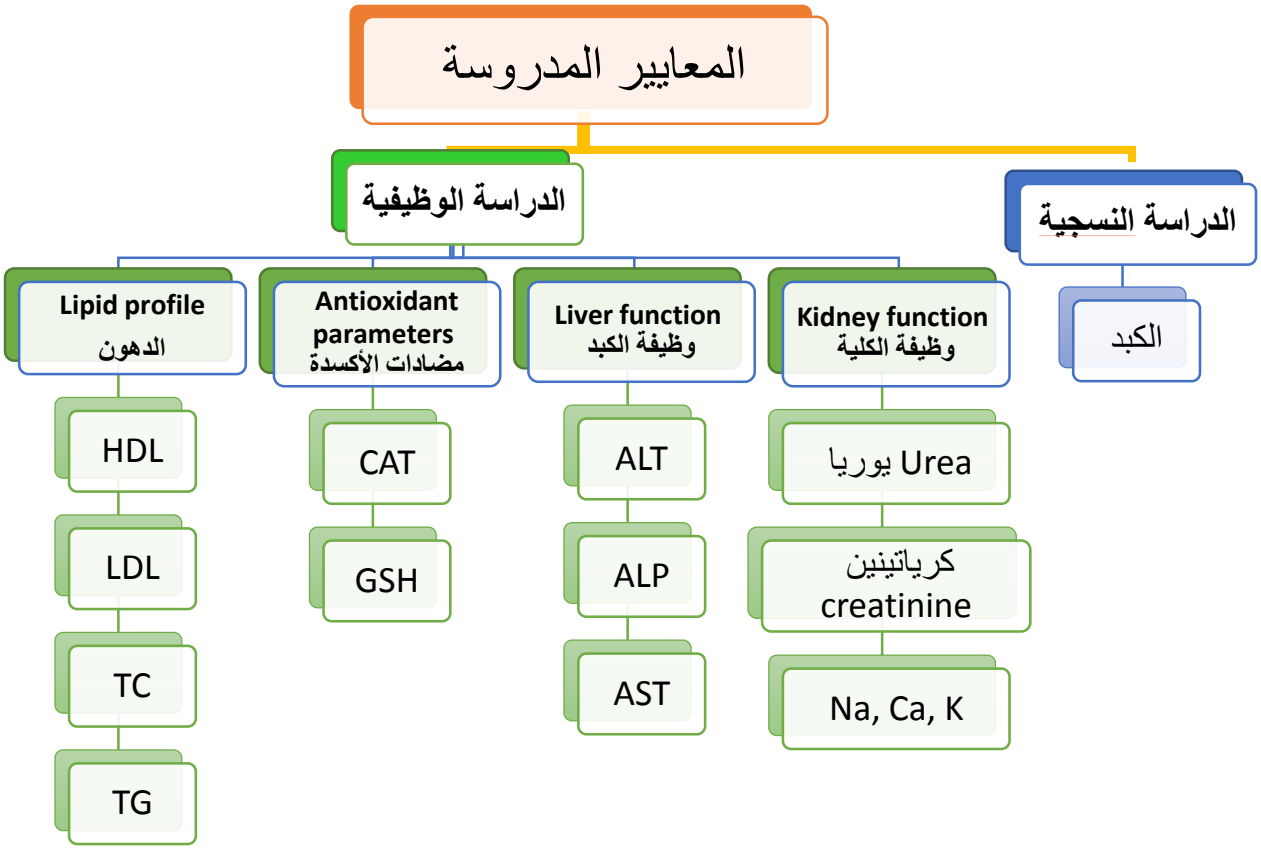
6- المجموعة السادسة : المجموعة الوقائية تركيز أول (G6 ) جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (150) ملغم /كغم من وزن الجسم ثم جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز(250) ملغم /كغم من وزن الجسم وتشمل (6) حيوانات

7- المجموعة السابعة : المجموعة الوقائية تركيز ثاني (G7) جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (200) ملغم /كغم من وزن الجسم ثم جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم /كغم من وزن الجسم وتشمل (6) حيوانات.

8- المجموعة الثامنة : المجموعة الوقائية تركيز ثالث (G8) جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز(250) ملغم /كغم من وزن الجسم ثم جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم /كغم من وزن الجسم وتشمل (6) حيوانات .

### 3-3-6- مخطط تصميم التجربة :



**الدراسة الفسلجية والكيموحيوية / تضمنت الدراسة الفسلجية والكيموحيوية الخطوات الآتية :**

## 3-4-1- تحضير العينات :

بعد انتهاء مدة التجريع البالغة (30) يوماً تم جلب الحيوانات إلى المختبر، وتم سحب الدم من القلب مباشرة بطعنة القلب Heart Puncture باستعمال محقنة طبية معقمة سعة 5 مل بعد تخدير الحيوانات بمادة الكلوروفورم (chloroform) ، ثم وضع الدم في أنابيب لدائنية (Gel-tube) وفصل منه المصل (serum) باستعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة (5000 RPM) ولمدة (5) دقيقة ومن ثم سحب المصل (serum) باستعمال ماصة دقيقة متغيرة (Micropipette) ووضع في ابندروف تيوب (Ibendrove tube) ، وتم حفظ المصل في الثلاجة لحين اجراء الاختبارات الكيموحيوية ومعايير الأكسدة في مصل الدم .

## 3-4-2- الدراسة الكيموحيوية :

تضمنت الدراسة الكيموحيوية حساب تركيز مجموعة من المعايير في مصل الدم وكما يأتي

### 3-4-2-1- تقدير إنزيمات الكبد :

**أولا : تقدير فعالية الأنزيمات الناقلة للأمين AST و ALT**

Asparate transaminase (AST) & Alanine transaminase (ALT)

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

الكواشف المستعملة :

1- المحلول الدارئ أو المنظم Buffer Solution

يتكون هذا المحلول من منظم الفوسفات Phosphate Buffer بتركيز (100) ملي مول/لتر واس هيدروجيني مقداره (7.4) والاسبارتيت 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 هأيدرازين (2 )Dinitrophenyl hydrazine (4 ) DNPH ،

استخدم هذا المحلول بتركيز (2) ملي مول/لتر، بعدها تم تخفيف محتوى علبة واحدة من الكاشف بلتر من الماء المقطر وترك المحلول ليستقر عند حفظه بدرجة (2-8) مئوية.

3- المحلول القياسي Standard Solution

استخدم (1) مل من محلول البايروفيت وأضيف له (4) مل من محلول منظم الفوسفات Phosphate Buffer برقم هيدروجيني (7.4) .

محاليل العمل :تم عمل مجموعة من أنابيب الاختبار وكما يأتي :

1- محلول البلانك Blank Solution

تم وضع (0.5) مل من المحلول الدارئ في أنبوبة اختبار وأضيف إليه (100) ماكروليتر من الماء المقطر مع الرج الجيد.

2- محلول الاختبار Test Solution

تم وضع (0.5) مل من المحلول الدارئ في أنبوبة اختبار ثانية وأضيف إليه (100) ماكروليتر من مصل الدم مع الرج بصورة جيدة.

3- محلول السيطرة Control Solution

تم وضع (0.5) مل من المحلول الدارئ في أنبوبة اختبار ثالثة.

4- المحلول القياسي

تم وضع (0.5) مل من المحلول الدارئ في أنبوبة اختبار رابعة وأضيف إليه (100) ماكروليتر من المحلول القياسي مع الرج بصورة جيدة.

طريقة العمل :-

تم وضع 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 أضيف (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 الآتية لحساب فعالية الإنزيمين :

AST في المصل ( وحدة دولية/لتر) = (السيطرة -الاختبار)/(البلانك -القياسي) 133 x

ALT في المصل ( وحدة دولية/لتر) = (السيطرة -الاختبار)/(البلانك -القياسي) 67 x

**ثانيا: تقدير فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP ) في مصل الدم**

Determination of Alkaline Phosphatase (ALP) Activity in Blood Serum

المبدأ الإساس Basic Principle

ثانيا: تم تقدير فعالية إنزيم (ALP) باستعمال طريقة إنزيمية وذلك باستعمال عدة جاهزة (Kit) استناداً إلى طريقة (Engvall and Perlmann, 1971) وهي طريقة لونية تستند على استخدام المادة الإساس (Substrate) التي يعمل عليها إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline Phosphatase).

المحاليل المستعملة 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 حامضية (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

وضع في أنبوبة اختبار(2) ملليلتر من المادة الإساس ثم توضع في حمام مائي بدرجة (37C) لمدة (5) دقائق ثم يضاف (50) ماكروليتر من مصل الدم وتم أعادة الأنبوبة إلى الحمام المائي بدرجة الحرارة نفسها لمدة (15) دقيقة، ثم أضيف إليها (0.5) ملليلتر من المحلول المثبط ومزجت جيدا وأضيف بعدها (0.5) ملليلتر من المحلول الملون.

2. محلول السيطرة Control Solution

تم وضع (2) ملليلتر من المادة الإساس في أنبوبة الاختبار بعدها وضعت في حمام مائي بدرجة (37C) لمدة (5) دقائق، ثم أضيف (0.5) ملليلتر من المحلول المثبط وبعد مزجها جيدا

أضيف (0.5) مليليتر من المحلول الملون ثم مزجت بصورة جيد ثم أضيف لها (50) ماكروليتر من مصل الدم.

3. المحلول القياسي Standard Solution

وضع في أنبوبة اختبار (2) مليليتر من المادة الإساس ثم وضع في حمام مائي بدرجة (37C) لمدة (5) دقائق ، ثم أضيف لها (50) ماكروليتر من المحلول القياسي أعيدت الأنبوبة إلى الحمام المائي بدرجة الحرارة نفسها لمدة (15) دقيقة، ثم أضيف أليها (0.5) مليليتر من المحلول المثبط ومزجت جيدا وأضيف بعدها (0.5) مليليتر من المحلول الملون .

4. المحلول الثابت Blank Solution

تم وضع (2) مليليتر من المادة الإساس في أنبوبة اختبار ثم وضعت في حمام مائي بدرجة (37C) لمدة (5) دقائق، بعدها أضيف (0.5) مليليتر من المحلول المثبط ورجت جيدا ثم يضاف (0.5) مليليتر من المحلول الملون وبعد مزجها جيدا أضيف (50) ماكروليتر من الماء المقطر .

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

الحسابات Calculation

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

$$\frac{\text{شدة امتصاصية محلول الاختبار – امتصاصية محلول السيطرة}}{\phantom{x}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$

بوحدة(U/L)

## 3-4-2-2- قياس مستوى اليوريا في المصل

تم قياس مستوى اليوريا في المصل بحسب طريقة (Patton & Crouch,1977).

المبدأ الإساس :

يعتمد على التحلل المائي لليوريا بوجود إنزيم اليوريز ( Urease ) وفق المعادلة الآتية:

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

يتفاعل أيون الإمونيوم مع السليكات (Salicylate) والهأيبوكلوريت (Hypochlorite) ليكون معقداً اخضر اللون من 2-2 ثنائي كاربوكسيل إندوفينول (2.2 dicarboxylindophenol).

| Reagent type | Material | Concentration |
|---|---|---|
| Reagent (1) a | Urease | 5000µ/L |
| Reagent (1) b | Phosphate buffer<br>Sodium salicylate<br>Sodium nitroprusside<br>EDTA | 120 mmol/L, pH 7<br>63.4 mmol/L<br>500 mmol/L<br>1.5 mmol/L |
| Reagent (2) | Sodium Hypochlorite<br>Sodium Hydroxide | 18 mmol/L<br>750 mmol/L |
| CAL. | Standard | |

طريقة العمل:

محلول العمل: Working Reagent

تم تحضيره بمزج (R1a) مع (R1b).

| Reagent | Blank | Standard | Test |
|---|---|---|---|
| Standard | //// | 10 µL | //// |
| Serum | //// | //// | 10 µL |
| Working Reagent (1) | 1 ml | 1 ml | 1 ml |

تم مزج وتحضن الأنابيب لمدة (3min) في حمام مائي بدرجة (37 C°).

| | | | |
|---|---|---|---|
| Reagent (2) | 0.2 ml | 0.2 ml | 0.2 ml |

تم مزج وحضن الأنابيب لمدة (5) دقيقة في حمام مائي بدرجة (37 C°). بعدها يتم قراءة الامتصاصية على الطول الموجي (600 nm).

الحسابات:

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

$n$ = تركيز القياسي

### 3-2-4-3- قياس مستوى الكرياتينين في المصل

تم قياس مستوى الكرياتينين في المصل باستعمال طريقة (Humason,1962)

المبدأ الاساسي:

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

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

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

طريقة العمل:

محلول العمل: Working Reagent

تم 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 |

تم مزجه وترك لمدة (25 min) في ($25\ C^{o}$). بعدها تم قراءة الامتصاصية على الطول الموجي (510 nm) بعد (30 sec) (A1) بعدها تم قراءة الامتصاصية الثانية بعد مرور (60) ثانية (A2).

الحسابات:

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

**3-4-2-4- قياس مستوى الكتروليتات الدم:**

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

تم قياس مستوى أيونات الصوديوم في المصل باستعمال طريقة ( Loeb & Quimby, 1999) .

المبدأ الاساسي:

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

| Reagent type | Material | Concentration |
|---|---|---|
| PREC (Precipitant solution) | Uranyl acetate<br>Magnesium acetate | **19 mmol/L**<br>**140 mmol/L** |
| R1 | Ammonium thioglycolate<br>Ammonia | **550 mmol/L**<br>**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) دقيقة ، تدور الأنابيب في جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بسرعة (6000 RPM) لمدة (5-10) دقيقة .

| 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) دقيقة 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

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

تم قياس مستوى أيونات البوتاسيوم في المصل باستعمال طريقة (Wu, 2006) .

**المبدأ الاساسي :**

يتفاعل أيون 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، ويحرك باستعمال جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بسرعـــــة (6000 RPM) لمـــــــدة (5-10) دقيقة.

**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:**

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

$n$ = تركيز القياسي.

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

تم قياس مستوى أيونات الكالسيوم في المصل باستعمال طريقة (Wu, 2006) .

المبدأ الاساسي:

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

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

| Reagent type | Material | Concentration |
|---|---|---|
| Reagent (1) Buffer solution | (2 amino-2methyl-1-propanol) | 500 mmol/L, PH 7. |
| Reagent(2)Chromogen solution | Cresolphthalein complex<br>8-hydroxyquinoline | 0.62 mmol/L<br>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) دقيقة بعدها يتم قياسها طيفياً على طول موجي (570 nm) بعد تصفير الجهاز بواسطة البلانك.

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

$n$ = تركيز القياسي.

### 3-4-2-5- قياس تركيز الدهون :

**أولا : قياس مستوى الكوليستيرول الكلي:**

قُدر مستوى الكوليستيرول في مصل الدم serum باستعمال عدة فحص جاهزة kit بالاعتماد على التفاعلات الإنزيمية وفقا للخطوات المرفقة فيها بحسب طريقة (Allain *et al.*, 1974) إذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل Cholesterol Esterase بوجود الاوكسجين وإنزيم Cholesterol Oxidase اللذين يعملان على اكسدة الكوليستيرول الحر المتكون نتيجة التفاعل الأول إلى Cholest -4en-3one و Hydrogen Peroxidase وهذا الأخير يتفاعل مع الفينول Phenol و 4- Aminoantipyrinel وبوجود إنزيم Peroxidase ليكون كواينونوامين quinoneoimine وردي اللون وكما موضح في المعادلات الآتية :

$$2H_2O_2 + \text{Phenol} + 4 - \text{amino} - \text{antipyrine} \xrightarrow{Peroxidase} \text{Quinoneimine} + 4H_2O$$

طريقة العمل:

$$\text{Cholesterol Ester} \xrightarrow{\text{Cholesterol Estrase}} \text{Fatty Acids} + \text{Cholesterol}$$

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

استعملت ثلاثة أنابيب اختبار هي العينة sample ، المحلول القياسي standard والمكافئ blank وبحسب الجدول التالي .

| المحاليل | العينة | المحلول القياسي | المحلول الكفئ blank |
|---|---|---|---|

| | standard | Sample | Solution |
|---|---|---|---|
| -- | 10 $\mu$ l | -- | المحلول القياسي |
| -- | -- | 10 $\mu$ l | العينة |
| 1 ml | 1 ml | 1 ml | كاشف العمل |

مزجت الأنابيب جيداً بوساطة قضيب زجاجي ثم تركت لمدة (10) دقائق في المختبر عند درجة حرارة تتراوح بين (16-25) مْ ثم قرأت الامتصاصية الضوئية باستعمال جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer عند طول موجي (500) نانوميتر.

الحسابات

بحسب تركيز الكوليسترول الكلي وفقا للقانون الآتي :

نسبة الكوليستيرول الكلي (ملغم/ديسلتر) $= n \times \frac{A\ sample}{A\ standard}$

إذ إن :

n = 200 وهو تركيز المحلول القياسي.

A Sample : الامتصاصية الضوئية للعينة.

A Standard : الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

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

### المبدأ الإساس Basic Principle

تم قياس الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم باستعمال عدة التحليل Kit من نوع Kit Biomerieuxsa 69280 IE toile-France وهي طريقة إنزيمية تتضمن سلسلة من التفاعلات وتنتهي بإنتاج صبغة Quinoneimine، إذ تحتوي عدة التحليل على إنزيم اللأيبيز (Lipase) الذي يعمل على تحليل الكليسيريدات الثلاثية الموجودة في مصل الدم إلى كليسيرول وأحماض دهنية، إن الكليسيرول الناتج يتفسفر بواسطة ادينوسين ثلاثي الفوسفات ATP وإنزيم كليسيروكاينيز (Glycero Kinase) إلى كليسيرول-3 – فوسفيت الذي يتأكسد بواسطة إنزيم كليسيرول - 3 - فوسفيت أوكسديز (Glycerol–3 Phosphate Oxidase) إلى ثنائي

يدروكسي أسيتون فوسفيت وبيروكسيد الهيدروجين وعن طريق إنزيم البيروكسيديز (Peroxidase) و 4 – امينو إنتي بايرين (4-aminoantipyrine) يتكون لون وردي ناتج عن مركب كينون أيمين (Quinoneimine) الذي تتناسب شدة لونه مع تركيز الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم (Fassati 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 المستعملة 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 إنتي بايرين، لايبيز $\leq$ 1 وحدة / لتر، كليسيروكاينيز (200) وحدة / لتر، كليسيرو – 3 – فوسفيت أوكسديز $\leq$ 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 إلى المحلول الانزيمي مع المزج يبقى المحلول مستقر لمدة شهر واحد.

3- المحلول القياسي Standard Solution :

ويتكون من كليسيرول (2.25) مول/لتر ويكافئ (200 ملغم/100مليليتر) 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 ( 37C) 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

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

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

**تقدير تركيز البروتينات الدهنية العالية الكثافة HDL** :

قُدر تركيز البروتينات الدهنية عالية الكثافة HDL) cholesterol) بطريقة الترسيب وفقاً للخطوات المرفقة مع عدة الفحص الجاهزة بحسب طريقة (Burstein,1970). وتعتمد هذه الطريقة على ترسيب دقائق الاستحلاب الكيلوسية و (LDL) و (VLDL) والموجودة في مصل الدم وتم ذلك بإضافة معامل الترسيب Precipitating reagent إلى مصل العينات وبعد الانتهاء من هذه العملية وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي علما إن المحلول الناتج بعد عملية الترسيب كان رائقاً ويحوي على (HDL) والذي يمكن قياس تركيز الكوليسترول فيه باستعمال الكاشف Reagent A من العدة الخاصة بتقدير تركيز الكوليسترول .

طريقة العمل: تتضمن طريقة العمل في تقدير تركيز HDL cholesterol خطوتين هما :

1. الترسيب

استخدمت هذه الخطوة لتحضير الراشح (الرائق) وذلك بإضافة (0.5) مل من محلول الترسيب Reagent1 إلى (0.5) مل من مصل الدم ومزج جيدا وترك لمدة (5) دقائق في درجة حرارة الغرفة ، ثم يوضع في جهاز الطرد المركزي لمدة (10) دقائق بسرعة (3000) دورة/ دقيقة .

2- تقدير كمية HDL cholesterol

استخدمت ثلاثة أنابيب اختبار هي أنبوب العينة sample ، أنبوب المحلول القياسي standard والكفئ blank وبحسب الجدول التالي

| المحاليل Solution | العينة Sample | المحلول القياسي andard | المحلول الكفئ lank |
|---|---|---|---|
| محلول رائق من العينة | -- | 0.5µl | -- |
| المحلول القياسي | 0.5µl | -- | -- |
| العينة | -- | -- | 0.5µl |
| كاشف العمل | 2.0 ml | 2.0 ml | 2.0 ml |

بعدها أضيف (2.0) مل من Reagent A إلى المحاليل الثلاثة المذكورة اعلاه ومزجت جيدا ثم تركت لمدة (5) دقائق في الحمام المائي بدرجة حرارة (37) مئوي وبعدها قرأت الامتصاصية بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي (510) نانوميتر.

الحسابات:

تم حساب تركيز الدهون عالية الكثافة HDL cholesterol من القانون الآتي :

$$\text{HDL} - \text{C} = \frac{A\ \text{sample}}{\text{A standard}} \times \text{C.STD} \times 2$$

إذ إن:

C.STD= قيمة المحلول القياسي وتقدر 50 mg/dl

(2) = عامل التخفيف بالمزج مع عامل الترسيب Precipitating reagent

n = 200 وهو تركيز المحلول القياسي.

A Sample : الامتصاصية الضوئية للعينة.

A Standard : الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

**تقدير تركيز البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة LDL :**

قُدر مستوى البروتينات الدهنية واطئة الكثافة LDL-Cholestrol حسابيا باستعمال معادلة فريد وولد (Friedewald equation) (Friedewald, *et al.*,1972) وهي :

$$\text{LDL} = \text{TC} - (\text{HDL} + \text{TAG}/5)$$

إذ إن:

TC: هو مستوى الكوليستيرول الكلي Cholesterol.

TAG: مستوى الدهون الثلاثية Triglyceride .

**3-4-2-6- قياس تركيز إنزيمات مضادات الأكسدة**

**أولا: تقدير مستوى نشاط الكتاليز في المصل Catalase activity**

تقدير مستوى إنزيم الكاتاليز باستعمال طريقة (Hadwan & Abed, 2016)

**المبدأ الإساس :**

Catalase catalyzes the following reaction:

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

تم تقييم نشاط إنزيم الـــ Catalase عن طريق تحضير الأنزيمات فـــــي (1.0) مل من المادة المتفاعلة مـادة ( (65) mmol/ml hydrogen peroxide in (60) mmol/l (sodium–potassium phosphatebuffer,) pH (7.4) عند درجة حرارة (37) °Cخلال ثلاث دقائق ثم أوقف التفاعل بواسطة مولبيدات الإمونيوم ammonium molybdate ، بعد ذلك قيست امتصاصية المعقد الاصفر من المولبيدات وبيروكسيد الهيدروجين خلال (374) nm 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 (7.0) =PH التي يتم تحضيرها من :

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

محلول B يتكون من Na2HPO4.O2H2 اذ وزن (6.90) من المحلول ويذاب في لتر ماء مقطر 2 -بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 30%

يحضر انيا بتخفيف (20.34) بيروكسيد الهيدروجين بتركيز %من الفوسفيت المنظم إلى حجم (100) ml

**طريقة العمل ( Procedure ) :**

خفف المصل بنسبة (1:10)من المحلول المنظم وبحسب الخطوات الآتية :

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

يبدأ التفاعل بإضافة بيروكسيد الهيدروجين إلى الأنابيب ثم يقاس باستعمال جهاز المطياف

مرئي (القارئ للأشعة غير المرئي) UV- Spectrophotometer وبطول موجي(240) .

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

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

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

**المبدأ الإساس:**

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

**تحضير الكواشف Preparation of Reagent**

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

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

## 3-5-الدراسة النسيجية :

### 3-5-1-تحضير العينات :

من أجل تحضير العينات للدراسة النسيجة تم تشريح العينات بعد تخديرها باستعمال مادة الكلوروفورم (Chloroform) بالطريقة المغلقة (Closed method) والتي تتضمن وضع الحيوان في قنينة محكمة الغلق اذ يوضع داخلها قطن يحتوي على الكلوروفورم ومن ثم يتم وضع الحيوان وغلق غطاء القنينة بأحكام وبعد مرور مدة (3- 5 دقائق) تم تخدير الحيوان وجرت عملية التشريح اذ ثبـــــت الحيوان بكلاليب في صحن التشريح على جهته الظهرية وعمل شق على شكل حرف (T) المقلوب من نقطة ما بين الفخذين وباتجاه الإمام وصولا إلى عظم القص و

أزيلـــت الاحشاء الداخلية كافة وتم التعرف على الكبد إذ حدد موقعه ضمن التجويف الجسمي بعدها أزيل الكبد وتم حفظها في محلول الفورمالين (10% ) للدراســـــة النسيجية .

### 3-5-2- تحضير الشرائح المجهرية

حضرت شرائح البرافين تبعاً للطريقـــة التـــي وصفهـــا بانكروفـــت وستيفـــن (Bancroft & Stevens, 1982) وكالآتي :

#### 3-5-2-1- تثبيت العينات (Sample Fixation)

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

#### 3-5-2-2- الغسل (Washing)

بعد انتهاء مدة التثبيت البالغة (48) ساعة غسلت العينات بالماء الجاري لمدة 5 دقائق.

#### 3-5-2-3- الإنكاز (Dehydration)

مررت النماذج بعد الغسل بسلسلة تصاعديـة مـــن الكحـــول الإثيلـــي بدءاً بتركيـــز (70% ,80% ,90%,100% ,100%) ولمدة ساعة ونصف لكل تركيز .

#### 3-5-2-4- الترويق (Clearing)

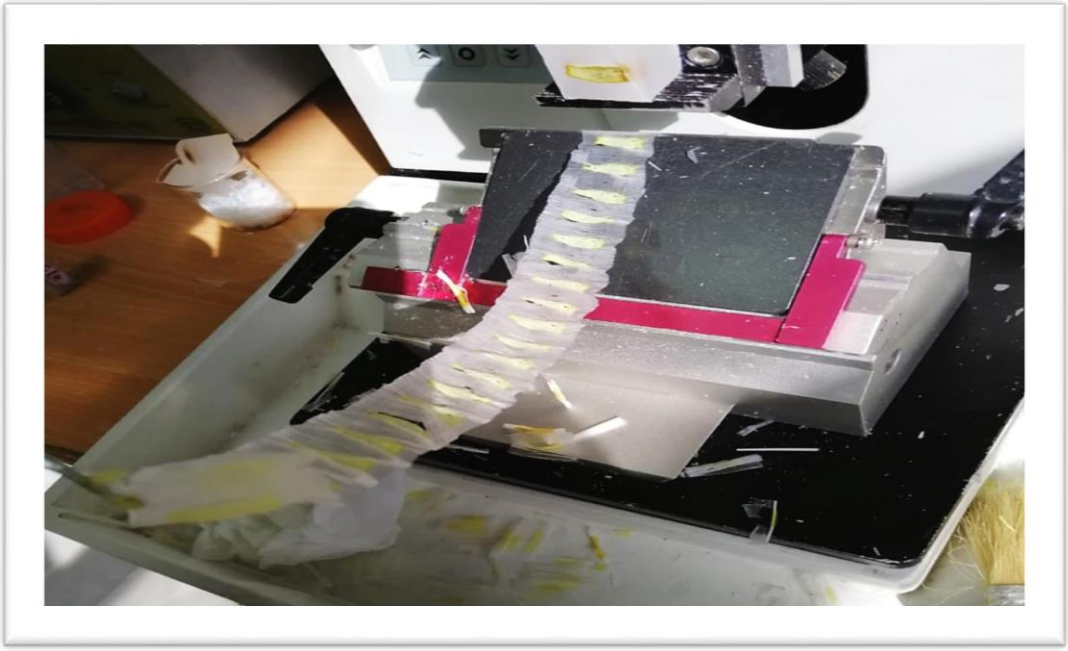
روقت العينات بالزأيلين ولمدة (5) دقائق.

#### 3-5-2-5- 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 وبصورة حرف (L) يتم وضعها بصورة متقابل للحصول على شكل مربع مع مراعاة أسلوب وضع العينة داخل المقطع من اجل الحصول على مقطع عمودي (طولي) أو عرضي.

#### 3-5-2-6- التشذيب والتقطيع ( Trimming and cutting)

شذبت قوالب الشمع الحاوية على النماذج بعد إن ثبتت على حامل خشبي وقطعت النماذج باستعمال المشراح الدوار (Micro tome) بسمك (5 µ) ، ثم نقلت المقاطع إلى حمام مائي بدرجة (38 درجة مئوية) لغرض تسطيح النسيج ، ووضعت الاشرطة على شرائح زجاجيـة. صورة رقم (3-1)



صورة (3-1 ) جهاز المايكروتوم وعملية التقطيع النسيجي

### 3-5-2-7- التلوين (Staining)

استخدمت الملونات الآتية للدراسة النسيجية :

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

لإظهار البنيان النسيجي للمقاطع بصورة عامة والمحضرة على وفق طريقة بانكروفـــت وستيفـــن (Bancroft & Stevens, 1982) وكالآتي :

| ت | المادة | الكمية |
|---|---|---|
| 1 | مسحوق الهيماتوكسلين | 2.5 غم |
| 2 | كحول اثيلي مطلق | 25 مل |
| 3 | شب البوتاسيوم $AlK(SO_4)_2.12H_2O$ أو شب الإمونيا $NH_4Al(SO_4)_2.12H_2O$ | 50 غم |
| 4 | ماء مقطر دافئ | 500 مل |
| 5 | أوكسيد الزئبقيك الإحمر(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 الاحمر، 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 & Stevens, 1982) وكالآتي :

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

أذيب الايوسين في الكحول بصورة جيدة ثم أضيف إليه حامض الخليك الثلجي ورشح قبل الاستخدام في اليوم التالي.

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

الصبغ باستعمال الهيماتوكسلين والأيوسين :

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

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

3. غسلت الشرائح بالماء الجاري لمدة (10) دقيقة للحصول على أفضل زرقة.

4. لونت الشرائح بملون الأيوسين لمدة دقيقتين

5.غسلت الشرائح بالماء المقطر .

6. ثم مررت الشرائح بسلسلة تصاعدية من الكحول الإثيلي (70%,80% ,90% ,100%) لمدة دقيقتين وروقت بالزايلين وعلى مرحلتين لمدة 5 دقائق ).

### 3-5-2-8- التحميل (Mounting)

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

### 3-5-2-9- التصوير (Photography)

صورت الشرائح المجهرية تحت القوى (40x) باستعمال المجهر الضوئي نوع (Meiji) مزود بكاميرا تصوير نوع (Canon) لتصوير التراكيب النسيجية الخاصة بالكبد في الحيوانات قيد الدراسة.

التحليل الإحصائي

حللت البيانات باستعمال برنامج (SAS) وقورنت النتائج باستعمال قيمة أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمالية ($P< 0.05$ )(SAS ,2012)عند Means= S.E .

# الفصل الرابع

# النتائج والمناقشة

# Results and Discussion

## 4-النتائج والمناقشة :

### 4-1-دراسة التغيرات الوزنية :

### 4-1-1- تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم على أوزان أجسام الحيوانات في مجموعة السيطرة الموجبة .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية إن أوزان أجسام الحيوانات في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) والتي جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم / كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً قد انخفضت من مدى (1,100 - 1,450) غم قبل التجريع لتصل إلى ( – 1,280 950) غم بعد التجريع ، وهذا يبين إن مادة بنزوات الصوديوم لها تأثيراً ضاراً على أوزان أجسام الحيوانات وقد اتفق ذلك مع نتائج ( الكامل ، 2016) الذي لاحظ انخفاض في أوزان مجموعة السيطرة الموجبة والمجرعة بمادة بنزوات الصوديوم وقد اعزى ذلك إلى إن مادة بنزوات الصوديوم قد اثرت على الكبد إذ سببت تنخر وتنكس في خلاياه مما أدى إلى انخفاض في معدل التمثيل الغذائي لتلك الحيوانات رافقه انخفاض في أوزان اعضاء الجسم وبذلك أدى إلى انخفاض أوزان أجسام الحيوانات بصورة عامة .

وفي الاتجاه نفسه اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة الباحثون ( Hasson *et al*., 2021) الذين وجدوا حدوث انخفاضاً كبيراً في أوزان الحيوانات المجرعة ببنزوات الصوديوم وقد أعزوا سبب ذلك إلى سمية مادة بنزوات الصوديوم على أعضاء الجسم الحية وبصورة رئيسية الكلى اذ رافقه ضمور بعض الأنابيب الكلوية أدى إلى حدوث خلل في توازن الكتروليتات الجسم مما أدى إلى انخفاض في الوزن الكلي لأجسام هذه الحيوانات .

وبنفس الاتجاه اشار الباحثون (Olofinnade *et al*., 2021) إلى إن الانخفاض الحاصل في أوزان أجسام الحيوانات المجرعة ببنزوات الصوديوم بسبب انخفاض تركيز إنزيمات مضادات الأكسدة التي تعمل على تحسين التمثيل الغذائي في الجسم ، وإن انخفاض تركيز هذه الأنزيمات يعمل على سوء التمثيل الغذائي في الجسم والذي بدوره يؤدي إلى انخفاض في أوزان الجسم .

وتأتي نتائج دراسة الباحثين (Karakahya & Koca, 2016) تأكيداً لنتائج الدراسة الحالية اذ لاحظوا ارتفاع في تركيز إنزيمات الكبد في مصل الحيوانات المجرعة ببنزوات الصوديوم وقد اعزو سبب ارتفاع تركيز هذه الأنزيمات إلى تنخر وتحطم الخلايا الكبدية الذي يؤدي إلى

انخفاض أوزان الكبد في مجموعة الحيوانات المجرعة ببنزوات الصوديوم وبذلك يؤدي إلى انخفاض أوزان الحيوانات .

وقد أشارت دراسة (Tawfek *et al.,* 2015) إلى إن انخفاض أوزان الحيوانات المجرعة بمادة بنزوات الصوديوم يعود إلى تأثير بنزوات الصوديوم على المواد الدهنية الموجودة في الإغشية الخلوية والذي يؤدي إلى تحطيم تلك الإغشية والذي يؤدي إلى موت تلك الخلايا وخاصة الخلايا الموجودة في العضلات التي تكون غنية بالدهون وبذلك انخفاض في أوزان العضلات والذي يؤدي إلى انخفاض أوزان أجسام الحيوانات .

وقد بينت دراسة (Priya *et al* ,2010) إن انخفاض أوزان أجسام الحيوانات المجرعة ببنزوات الصوديوم بتراكيز (50,25) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (28) يوماً هو تأثير بنزوات الصوديوم على عملية امتصاص المواد الغذائية مما يؤدي إلى نقصان في عملية تكوين الدم بسبب قلة العناصر الغذائية الداخلة في تكوينه مثل البروتينات والحديد أو بسبب نقص العناصر الغذائية الواصلة عن طريق الدم إلى اعضاء الجسم الأخرى مثل القلب والرئتين والكبد والكلى مما يؤدي إلى عدم تغذية هذه الاعضاء بصورة صحيحة وبذلك يؤدي إلى انخفاض في أوزانها والذي يرافقه انخفاض في الوزن الكلي لهذه الحيوانات .

## 4-1-2- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على أوزان أجسام الحيوانات في مجاميع المستخلص :

بينت نتائج الدراسة الحالية إن أوزان أجسام الحيوانات في مجاميع المستخلص (G5,G4,G3) والتي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وبتراكيز مختلفة (250,200,150) ملغم / كلغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوماً أدى إلى ارتفاع بسيط في أوزان أجسام حيوانات هذه المجاميع إذ كان مدى الأوزان ( 1,150-1,430) غم قبل التجريع ثم اصبحت (1,238-1,641) غم بعد التجريع وهذا يدل على إن المستخلص المائي لنبات الجعدة لم يكن له تأثيرات جانبية على نمو وزيادة وزن الجسم

لقد اتفق ذلك مع دراسة (Davoudi-Kiakalayeh *et al*., 2017) الذين لاحظوا حدوث زيادة بسيطة في أوزان الحيوانات المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة عن طريق ملاحظة ارتفاع تركيزات إنزيمات مضادات الأكسدة التي تدل على سلامة نسيج الكبد فضلاً عن إلى خلو

الجسم من الالتهابات التي تسبب قلة في حجم النسيج أو العضو المصاب الذي يرافقه انخفاض في وزن الجسم

وتأتي نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Salimnejad *et al.,* 2017) الذين بينوا إن مجاميع الحيوانات المصابة بالسكري والمجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة قد اظهرت تغيرات وزنية بسيطة إذ ارتفعت أوزانها بصورة طبيعي عند مقارنتها مع مجموعة الحيوانات المصابة بالسكري وغير مجرعة وقد اعزى ذلك إلى إن نبات الجعدة يحتوي العديد من المواد الفعالة التي تساعد على بناء أنسجة البنكرياس مما يحسن من افراز الانسولين الذي يساعد على تنظيم التمثيل الغذائي في الجسم .

وفي الاتجاه نفسه اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج (Mehrabani *et al*., 2011) الذين لاحظوا ارتفاع في أوزان الحيوانات المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة إذ ارتفعت أوزانها بصورة تدريجية باستمرار عملية التجريع عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة .

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Journal *et al*., 2018) الذين لاحظوا ارتفاع في أوزان الفئران المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة عن طريق ملاحظة انخفاض في تراكيز إنزيمات الكبد عن الحدود غير الطبيعية لها والتي ارتفعت بسبب تعرض الجسم إلى المواد السمية وقد فسر ذلك إلى إن نبات الجعدة يحتوي العديد من المركبات الفعالة التي تساعد في حماية نسيج الكبد من التلف والحفاظ على الخلايا الكبدية بصورة سليمة مما يؤدي إلى انخفاض في تراكيز إنزيمات الكبد في مصل الفئران المجرعة وهذا ينعكس على سلامة التمثيل الغذائي والايض الحاصل في جسم الحيوان مما يؤدي إلى زيادة في وزن الكبد وبذلك زيادة في وزن جسم الحيوان بصورة عامة

## 4-1-3-تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على أوزان أجسام الحيوانات في مجاميع الوقائية :

بينت نتائج الدراسة الحالية إن أوزان أجسام الحيوانات في المجاميع الوقائية (G8,G7,G6) والتي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتراكيز مختلفة (250,200,150) ملغم /كلغم من وزن الجسم ثم جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً إن هناك ارتفاع في وزن الجسم إذ كانت الأوزان (1,370-1,500) غم قبل التجريع

واصبحت (1,530-1,390) غم بعد التجريع هذا يدل على إن نبات الجعدة له أثراً وقائياً لما يمتلكه من مركبات فعالة تساعد على حماية الجسم من الإثار السمية التي تسببها بنزوات الصوديوم .

وقد جاءت نتائج الدراسة الحالية مطابقة لنتائج (Nosrati *et al.,* 2010) الذين لاحظوا ارتفاع في أوزان أجسام الحيوانات لحيوانات المجموعة الوقائية عن طريق ارتفاع مستويات مضادات الأكسدة التي تشكل الية لاستشعار الأكسدة والاختزال داخل الجسم بسبب ارتباطها بصورة مباشرة بالتغيرات التي تحدث في مستويات الأكسدة الخلوية وبالتعبير عن الجينات التي تنظم البروتينات الناتجة من عملية التمثيل الغذائي ومقدار الطاقة المستعملة داخل الجسم ، وبذلك يمكن الاشارة إلى إن مضادات الأكسدة تساهم بصورة اساسية بزيادة الوزن أو نقصانه حيث ان زيادة تركيز انزيمات مضادات الاكسدة يؤدي الى حفظ انسجة الجسم من التلف الحاصل من تأثير الجذور الحرة مما يؤدي الى زيادة وزن النسيج .

وفي الاتجاه نفسه أشارو (Panovska *et al*., 2007) إلى إن الزيادة أو النقصان في الإجهاد التأكسدي يرتبط بالكثير من الامراض التي يتعرض لها الجسم ومنها امراض القلب والأوعية الدموية والسكري والتي تؤدي إلى انخفاض في تركيز الأنزيمات المضادة للأكسدة في حين زيادة تركيز هذه الأنزيمات يدل على سلامة الجسم من الامراض مما يؤدي إلى بناء خلايا جديدة وحدوث زيادة في وزن الجسم وقد علل الزيادة الحاصلة في أوزان حيوانات المجموعة الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة فضلاً عن المادة السمية رباعي كلوريد الكاربون (CCl4) إلى الدور الوقائي الذي يمتلكه نبات الجعدة الذي يساعد على حماية الجسم من الإجهاد التأكسدي الحاصل بفعل المادة السمية .

في حين خالفت نتائج الدراسة الحالية نتائج دراسة (Activity *et al.*, 2014) الذين لاحظوا ارتفاع واضح في تراكيز إنزيمات الكبد التي تشير إلى حدوث تنخر وتنكس في الخلايا الكبدية في مجاميع الحيوانات الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة والمادة السمية (CCl4) والذي أدى إلى ارتفاع تلك الإنزيمات مما يدل على حدوث ضرر في النسيج الكبدي والذي يرافقه انخفاض في أوزان الكبد مما ينعكس على وزن الجسم إذ إن ارتفاع تراكيز إنزيمات الكبد يتزامن مع حدوث سوء الهضم فضلاً عن سوء التمثيل الغذائي في الجسم .

أوضحت نتائج الدراسة الحالية إن استمرار عملية التجريع بمادة بنزوات الصوديوم يؤدي إلى انخفاض أوزان أجسام الحيوانات بصورة واضحة بينما عملية تجريع الحيوانات بالمستخلص المائي لنبات الجعدة سواء كان في مجاميع المستخلص أو المجاميع الوقائية فإنه أدى الى زيادة في أوزان

أجسام الحيوانات بصورة واضحة خلال مساهمت المستخلص المائي لنبات الجعدة في حماية الجسم من الاجهاد التأكسدي الحاصل بفعل المادة السمية .

## 4-2- الدراسة الفسلجية :

### 4-2-1-تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/كلغم في مستويات إنزيمات الكبد لذكور الأرانب ولمدة (30) يوماً

بينت نتائج الدراسة الحالية جدول ( 4-1) وجود ارتفاع معنوي عند مستوى ( $P<0.05$ ) في تركيز إنزيمات الكبد (ALT,AST,ALP ) في مجموعة السيطرة الموجبة (G2 ) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1 ) ، إن ذلك ناجم من حدوث ضرر في النسيج الكبدي في الحيوانات المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم بسبب سميتها للجسم .

نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع نتائج دراسة ( Instituto Nacional de Estadística, 2021) التي أشارت إلى ارتفاع تركيز إنزيمي ( ALT,AST ) في بلازما الدم في المجاميع المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم والتي كان لها تأثير ضار على جميع اجزاء الجسم ومن ضمنها الكبد إذ ادت إلى تحطيم أغشية الخلايا الكبدية .

من جانب اخر أشارت دراسة (Helal *et al*., 2019) إلى إن سبب ارتفاع تركيز إنزيمات الكبد في حيوانات المجاميع المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم جاء كنتيجة لتحطم أغشية خلايا الكبد والذي تسببه التغيرات الكيموحيوية الناتجة عن الجذور الحرة المتحررة .

وبنفس الاتجاه أشارت دراسة (Abd El-Sameaa *et al*., 2018) إلى حدوث ارتفاع معنوي واضح في تراكيز إنزيمات الكبد في المجاميع المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم إذ تسببت تلك المادة بحدوث تلف في الخلايا الكبدية مما أدى إلى تحرر تلك الأنزيمات إلى مجرى الدم وبالتالي ضعف الإداء الوظيفي للكبد .

لاحظ الباحثون (Khidr *et al.*,2012 ) أيضاً ارتفاع معنوي في تركيز هذه الأنزيمات في مصل الدم عند تجريع ذكور الجرذان فموياً بمادة بنزوات الصوديوم بتراكيز مختلفة ولمدة (30) يوماً وإن سبب ارتفاع هذه الأنزيمات يعود إلى ضرر الكبد الذي يعتبر الموقع الرئيس في معالجة وإزالة السموم الناتجة من سمية بنزوات الصوديوم .

وتأتي نتائج الباحثين (Sinha& D'Souza,2010) لتؤكد نتائج الدراسة الحالية إذ بينت إن هنالك ارتفاع في تراكيز هذه الأنزيمات عند تجريع ذكور الجرذان البالغة وغير البالغة ولفترات مختلفة بمادة بنزوات الصوديوم مما سبب ارتفاع تراكيز هذه الأنزيمات ( ALT,AST,ALP ) والذي يرتبط بسمية بنزوات الصوديوم إذ يعمل الكبد بدوره على الحد أو التخلص منها باعتبارها مواد سمية يؤدي تزايدها في خلايا الكبد إلى حدوث موت لتلك الخلايا متبوع بتهتك في اغشيتها ونزف دموي داخل نسيج الكبد وبذلك حدوث ترشيح لتراكيز عالية من إنزيمات الكبد إلى الدم نتيجة ذلك الضرر .

وبنفس الاتجاه بين الباحثون (Horeya Erfan & Karlma, 2021) إن هناك ارتفاع في مستوى إنزيمات الكبد في مجموعة الحيوانات المجرعة بمادة بنزوات الصوديوم واعزى سبب ذلك الارتفاع إلى التأثير الضار لبنزوات الصوديوم الذي يسبب انطلاق الجذور الحرة إلى مجرى الدم وبذلك تعرض الخلايا إلى الإجهاد التأكسدي عن طريق حدوث نقص في تركيز إنزيمات مضادات الأكسدة وبذلك تحلل الغشاء الخلوي للخلايا الكبدية مما يؤدي إلى نضوح تلك الأنزيمات بصورة كبيرة إلى مجرى الدم.

وبنفس الاتجاه اشار الباحثون (Oyewole *et al*., 2012) إن هناك ارتفاع معنوي في تركيز هذه الأنزيمات والذي علل ذلك الارتفاع إلى تسرب هذه الأنزيمات بكميات كبيرة من أنسجة الكبد إلى مصل الدم بسبب التلف الذي تسببه بنزوات الصوديوم في نسيج الكبد والمتمثل بالفعل السمي المباشر على الخلايا الكبدية الذي يمكن إن يؤدي إلى تحطيم الدهون والبروتينات و(DNA) في الخلايا الكبدية مما يؤدي إلى تنكسها ومن ثم تحطيم تلك الخلايا وبذلك نضوح ما تحتويه من تلك الأنزيمات إلى الدم.

وقد جاءت نتائج هذه الدراسة مشابهة لنتائج (Aziz & Zabut, 2012) الذين لاحظوا فيها ارتفاع مستويات (ALT) و (AST) بعد معاملة الجرذان ببنزوات الصوديوم وقد أعزوا سبب هذا الارتفاع إلى إن حالة الإجهاد ألتأكسدي الناتجة عن زيادة مجاميع الاوكسجين الفعالة التي تنطلق بفعل سمية بنزوات الصوديوم تكون سبباً في تحطم الـ (DNA) والبروتينات والدهون في الخلايا الكبدية مما يؤدي إلى تنكس هذه الخلايا وتحطمها ومن ثم نضوح محتوياتها إلى مجرى الدم ومنها إنزيمي (ALT) و (AST)

كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة الباحثين (Alsamarrai *et al.*, 2020) (Kang *et al.*, 2005) الذين لاحظوا ارتفاع في تركيز هذه الأنزيمات في مجرى الدم وقد علل

ذلك الارتفاع إلى إن الكبد هو أكبر الاعضاء المتخصصة لأداء وظائف كثيرة في الجسم ومنها إزالة السموم مما يجعل منه عرضة للتلف والضرر بسبب هذه المواد وما ينتج من أيضها من جذور حرة .

وفيما يتعلق بتأثير مدة الإعطاء فقد بينت النتائج إنه كلما ازدادت مدة التجريع ببنزوات الصوديوم أدى ذلك إلى ارتفاع في مستويات هذه الأنزيمات وقد يعزى ذلك إلى كون البنزوات من المواد التي تظهر تأثيراتها بصورة تراكمية في الجسم ويزداد تأثيرها بزيادة التركيز المعطى ومدة التجريع (Ibekwe *et al.*, 2007) وقد اظهرت نتائجنا ارتفاعاً في تركيز إنزيمات الكبد (AST,ALT,ALP) بزيادة مدة التجريع في ذكور الأرانب مما يدل على إن مدة التعرض للبنزوات كان لها تأثيراً واضحاً في ارتفاع مستوى هذه الأنزيمات ويزداد تأثيرها بزيادة التركيز ومدة التجريع .

## 4-2-2- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على إنزيمات الكبد في مجاميع المستخلص عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة

أوضحت نتائج الدراسة الحالية الجدول ( 4-1) إلى عدم وجود فرق معنوي عند مستوى ($P<0.05$ ) في تركيز إنزيمي الكبد (ALT ,AST) ، بينما بينت النتائج وجود انخفاض معنوي عند مستوى ($P<0.05$) في تركيز إنزيم (ALP) في مجاميع المستخلص (G5,G4,G3) التي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتراكيز(250,200,150) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً عند المقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1) إذ لم يسبب اعطاء المستخلص ارتفاع معنوي في الحيوانات المجرعة بينما سبب انخفاض معنوي في تركيز إنزيم (ALP).

نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع نتائج دراسة الباحثون (Movahedi *et al*., 2014) الذين لاحظوا عدم وجود فرقاً معنوياً في تركيز هذه الأنزيمات في مجموعة الحيوانات المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة والذي اعزى ذلك إلى إن النبات يساهم في منع تولد الجذور الحرة في الجسم والتي تتولد من تعرض الجسم بصورة مباشرة أو غير مباشرة إلى السموم أو الأدوية وتأتي هذه الفعالية البايولوجية للمستخلص المائي للنبات من امتلاك نبات الجعدة العديد من المركبات الفعالة ومنها الفلافونيدات بوصفها المحتويات النشطة الرئيسة .

ومن جانب اخر أشارت دراسة الباحثين (Vahidi *et al.,* 2010) إلى وجود انخفاض معنوي في تركيز إنزيمات الكبد في مجرى دم الحيوانات المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وقد اعزى ذلك إلى احتواء النبات العديد من المركبات الفعالة التي تعد كمضادات اكسدة تساهم في خفض

تركيز هذه الأنزيمات عن طريق اعادة البنية الهيكلية والوظيفية للكبد بعد تعرضه للتلف عن طريق منع تكوين الجذور الحرة التي تحطم أغشية الخلايا الكبدية وبذلك الحفاظ على البنية الهيكلية للخلايا مما يؤدي إلى حفظ هذا الإنزيمات داخل الخلايا الكبدية

في حين لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Kalantari *et al.,* 2013) الذين لاحظوا ارتفاع في مستويات تركيز هذه الأنزيمات في المجاميع المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (125) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (5) ايام عند مقارنتها مع المجموعة غير المجرعة وقد بينوا سبب ارتفاع تراكيز هذه الأنزيمات هو انخفاض تركيز الجرعة المعطاة أو قصر مدة التجربة .

وفي الاتجاه نفسه لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Ghasemi *et al.*, 2019) التي بينت ارتفاع واضح في تراكيز هذه الأنزيمات في مصل دم المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي للجعدة عند مقارنتها مع مجموعة الحيوانات غير المجرعة ويعود سبب ارتفاع تراكيز هذه الأنزيمات إلى زيادة تركيز الجرعة التي قد اثرت بصورة معاكسة على وظائف الكبد ، أو قد يكون سبب ارتفاع هذه الأنزيمات إلى استمرار التجريع لمدة طويلة من التجريع إذ تحولت تلك الجرع العالية من المستخلص إلى مواد سامة التي سببت السمية الكبدية .

## 4-2-3- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على تراكيز إنزيمات الكبد في المجاميع الوقائية عند المقارنة مع المجموعة السيطرة الموجبة :

بينت نتائج الدراسة الحالية جدول ( 4-1 ) وجود انخفاض معنوي عند مستوى ( $P<0.05$ ) في تركيز إنزيمات الكبد (ALT,AST, ALP) في المجاميع الوقائية (G8,G7,G6) التي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وبتراكيز (250,200,150) ملغم /كلغم ومن ثم جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً عند المقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) إذ ساهم المستخلص بتقليل نشاط الجذور الحرة في مجرى الدم وبصورة متفاوتة تبعاً لتركيز الجرعة المعطى للحيوان وبذلك انعكس ذلك على تركيز تلك الإنزيمات

نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع نتائج دراسة (Chabane *et al.,* 2021) الذين لاحظوا انخفاضاً واضحاً جداً في تركيز هذه الأنزيمات في المجاميع الوقائية التي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة فضلاً عن المادة السمية ($CCl_4$) وقد بينوا سبب هذا الانخفاض في تركيز

الإنزيمات قد يعود إلى تحسن وظيفة الكبد أو سلامة الخلايا الكبدية الذي يؤدي إلى منع انتشار هذه الإنزيمات في مصل الدم .

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Shahraki *et al.,* 2007) التي اظهرت وجود انخفاضاً في تركيز هذه الإنزيمات عند تجريع الفئران بتراكيز مختلفة من المستخلص المائي لنبات الجعدة في المجاميع المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة فضلاً عن المادة السمية (STZ) وقد اعزى سبب انخفاض هذه الإنزيمات إلى سلامة هيكل ووظيفية الكبد بسبب احتواء نبات الجعدة على مركبات فعالة تعد كمضادات اكسدة قوية تمنع تكوين الجذور الحرة مما تساعد الكبد في الحفاظ على وظيفته الطبيعية .

كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Shafiee-Nick *et al.,* 2012) الذي لاحظ انخفاض في تراكيز إنزيمي الكبد (AST,ALT) في المجاميع الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة فضلاً عن المادة السمية Streptozotocin عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة وقد اعزى ذلك الانخفاض إلى امتلاك نبات الجعدة العديد من المركبات الفعالة مثل المركبات الفينولية والقلويدات التي تساعد بناء الخلايا الكبدية بصورة سليمة وحمايتها من الإجهاد التأكسدي الذي تسببه المادة السمية مما يؤدي إلى انخفاض في تراكيز إنزيمات الكبد في مصل الدم .

وبنفس الاتجاه اشار الباحثون (Journal *et al.*, 2018) إلى إن انخفاض تراكيز إنزيمات الكبد في المجاميع الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة فضلاً عن المادة السمية (STZ) نتيجة امتلاك النبات عدد كبير من المركبات الفعالة التي تعد كمضادات اكسدة تساعد على حمايةغ الكبد من الأضرار السمية التي تلحق به من تعرضه للمواد السمية اذ تعمل على اعادة بناء الخلايا التالفة والمتضررة في نسيج الكبد والذي ينتج عنه منع حدوث تسرب هذه الإنزيمات إلى مجرى الدم.

إذ لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Iriadam *et al.,* 2006) الذين لاحظوا ارتفاع في تراكيز إنزيمات الكبد (AST,ALT) في إناث الفئران المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتراكيز (85,83 ) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (60) يوماً فضلاً عن المادة السمية Streptozotocin (STZ) وقد اعزى سبب ذلك إلى الطبيعة الفسيولوجية في الإناث مما أدى إلى عدم استجابة الجسم للتغيرات الفسيولوجية التي يحدثها المستخلص المائي لنبات الجعدة مما أدى إلى ارتفاع تركيز تلك الأنزيمات .

## 4-2-4- تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم على مستوى تركيز مضادات الأكسدة في مجموعة السيطرة الموجبة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1):

بينت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-1 ) إلى وجود انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) تمثلت في انخفاض تركيز إنزيمات (CAT , GSH) إذ ساهمت مادة بنزوات الصوديوم في ارتفاع تركيز السموم في الجسم وتعرض الكبد إلى ضغط تأكسدي عن طريق المساهمة في تنشيط الجذور الحرة في مصل دم الحيوانات التي جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) إذ ساهمت مادة بنزوات الصوديوم في ارتفاع تركيز السموم في الجسم وتعرض الكبد إلى ضغط تأكسدي عن طريق تنشيط الجذور الحرة في مجرى الدم مما أدى إلى استهلاك كميات كبيرة من هذه الإنزيمات في معالجة الجذور الحرة فضلاً عن عدم قدرة الكبد في المجاميع المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم على افراز كميات كبيرة من هذه الأنزيمات و بذلك انخفض تركيز هذه الإنزيمات في مجرى الدم .

نتائج الدراسة الحالية تتفق مع نتائج دراسة (Khodaei *et al.,* 2019) التي أجريت على الفئران والتي قسمت إلى ثلاث مجاميع ومن ثم تم تجريعها ببنزوات الصوديوم وبتراكيز مختلفة (150 ،300 ، 600 ) ملغم/كلغم من وزن الجسم إذ اظهرت النتائج إن هناك انخفاض واضح في مستوى تركيز الكلوتاثيون والكتاليز وقد يكون سبب الانخفاض هو وجود اضرار في أنسجة الكبد أو وجود آثار سمية اخرى في اجهزة الجسم التي تتطلب زيادة في استهلاك الكلوتاثيون والكتاليز نتيجة الآثار السمية لمادة بنزوات الصوديوم التي تؤثر على جميع اعضاء الجسم .

وبنفس الاتجاه أشارت دراسة (Zhang *et al.,*2011) إلى وجود انخفاض تركيز مادة (GSH) عند تجريع الفئران بتراكيز مختلفة ولفترات مختلفة بمادة بنزوات الصوديوم وإن سبب الانخفاض تركيز (GSH) يعود إلى زيادة استهلاكه في معالجة الجذور الحرة التي تتحرر داخل الجسم نتيجة تعرضه للتسمم بالمواد السمية أو انخفاض في عملية بنائه داخل الجسم .

تتأثر عملية بناء وتحلل الكلوتاثيون بكل من (ATP) وحامض الهيبوريك على التوالي ، إذ تتضمن عملية بناء الكلوتاثيون خطوتين تتمإن بوساطة إنزيمي - $\gamma$ -glutamylcystiene synthetase و glutathione synthetase وكلا التفاعلات الإنزيمية يتطلب وجود (ATP) كما إن الخطوة الأولى في عملية تحلل الكلوتاثيون يتم تحفيزها بوساطة إنزيم ( γ-glutamyl transferase (Meister and Tate,1976) وكما يمكن لمادة بنزوات الصوديوم إن تثبط

عملية الفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation وأكسدة الأحماض الدهنية في الكبد ، لذلك فإن سمية بنزوات الصوديوم يمكن إن تؤدي إلى التغيير في أيض الطاقة مما يؤدي إلى انخفاض مستوى (acetyl - CoA، ATP) (Beloborodova *et al.*, 2012) .

وقد يُعزى سبب الانخفاض في مستوى الكلوتاثيون إلى حدوث حالة الإجهاد التأكسدي بفعل المعاملة المستمرة ببنزوات الصوديوم ونتيجة مشاركة الكلوتاثيون الفعالة في منع الأكسدة في حالات الإجهاد التأكسدي أما عن طريق الإزالة المباشرة للجذور الحرة أو عن طريق الإنزيمات التي تكون مادة أساسية لها مثل الكلوتاثيون بيروكسيديز مما يؤدي إلى زيادة استهلاك الكلوتاثيون وتحوله إلى شكله غير الفعال الكلوتاثيون ثنائي الكبريت ( Yetuk *et al* , 2004) .

تعد مجموعة الثايول (السلفا هايدريل) في تركيب الكلوتاثيون عاملاً مختزلاً جيداً تهب ذرة الهيدروجين بسهولة وذلك لضعف الاصرة بين الكبريت والهيدروجين (S-H) وقوة الاصرة بين (C-H) في الجذور الحرة لذلك فهي تقوم بحماية الاغشية من الأذى التأكسدي وتستهلك عند اتحادها مع الجذور الحرة (Pompella *et al*, 2003)، كما إن لحامض البنزويك وبنزوات الصوديوم القابلية على التداخل مع مجاميع الثايول للمركبات المختلفة ومنها الكلوتاثيون (Yetuk *et al* , 2014 ) .

ويمكن إن يُعزى سبب خفض مستوى الكلوتاثيون في الجسم إلى حصول انخفاض في معدل تدوير أو إنشاء الكلوتاثيون بوساطة إنزيم الكلوتاثيون ريديوكتيز وذلك يعتمد على كمية (NADPH) التي تُعد المادة المحفزة لعمل هذا الإنزيم الذي يعمل على إعادة الشكل الفعال للكلوتاثيون من شكله غير الفعال (ثنائي الكبريت) (Couto *et al*,2013)، وإن المصدر الرئيس لتوليد NADPH هو دورة البنتوز فوسفات Pentose phosphate التي يعمل فيها إنزيم Glucose - 6 - phosphate dehydrogenase (G6PDH) على توليد (NADPH) ، ويمتاز إنزيم (G6PDH) بكونه حساساً لأصناف الاوكسجين الفعالة وإن عدم تنشيطه يؤدي إلى إعاقة دورة البنتوز فوسفات وبذلك إعاقة توليد NADPH في الخلية (Griveau *et al*. ,1995) .

## 4-2-5- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على تركيز معايير الأكسدة (GSH,CAT) في مجاميع المستخلص عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) .

بينت نتائج الدراسة الحالية والمبينة في الجدول (4-1) إن هناك ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في مستوى تركيز ( GSH,CAT ) في مصل دم المجاميع التي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة ( G5,G4,G3) بتراكيز مختلفة (250,200,150) ملغم/كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) إذ ساهم المستخلص المائي لنبات الجعدة برفع تركيز هذه الإنزيمات في مجاميع الحيوانات المجرعة بالمستخلص المائي مما يعني إن المستخلص ليس له تأثيراً ضاراً على اعضاء الجسم .

نتائج الدراسة الحالية تتفق مع نتائج دراسة (Ardestani *et al.,* 2008) الذي لاحظ ارتفاع في مستوى هذه المعايير (GSH,CAT) في مجاميع الفئران المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وقد اعزى سبب ارتفاع هذه المعايير إلى إن نبات الجعدة يمتلك العديد من المواد الفعالة التي تعد مضادات اكسدة هي المسؤولة عن سلامة الأنسجة في جميع اعضاء الجسم مما ادى إلى إنتاج كميات كبيرة من هذه المضادات التي قد ظهرت بتراكيز مرتفعة في مجرى الدم .

وتأتي نتائج الدراسة الحالية لتأكد نتائج دراسة (Jaradat, 2015) الذي لاحظ إن هناك ارتفاع واضح في مستويات هذه المضادات (GSH,CAT) في المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة في الفئران المصابة بالسكري المستحث بواسطة ( STZ) واعزى الارتفاع في مستوى هذه المعايير إلى وجود المواد الفعالة في نبات الجعدة التي تتمركز في أوراق النبات اذ تحتوي المركبات الفينولية التي تعد مواد مضادة للأكسدة وتعمل على تثبيط اكسدة الدهون مما يؤدي إلى عدم تكون الجذور الحرة أو إنها تساهم في اطالة المرحلة الأولى من عملية الأكسدة وبالتالي تأخر تكوين البيروكسيدات والهيدروبيروكسيد مما يؤدي إلى انخفاض تركيز (MDA) الذي تتناسب كميته طردياً مع تكوين الجذور الحرة ، وبنفس الاتجاه اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Ljubuncic *et al.,* 2006) التي اظهرت تعزيزاً كبيراً في أنشطة (GSH) مما يدل على قدرة المستخلص المائي لنبات الجعدة على رفع انظمة الجسم ودفاعاته وحماية أنسجة الكبد من التلف في الحيوانات المجرعة بالمستخلص النباتي .

### 4-2-6- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على معايير الأكسدة (GSH,CAT) في المجاميع الوقائية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة : (G2)

أوضحت نتائج الدراسة الحالية وكما مبين في الجدول (4-1) وعند مستوى احتمالية ($P<0.05$) إن هناك ارتفاع معنوي في مستوى تركيز (GSH,CAT) في المجاميع الوقائية

(G8,G7,G6) التي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتراكيز مختلفة (250,200,150) ملغم/كلغم من وزن الجسم ومن ثم جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/ كلغم ولمدة (30) يوماً إذ ارتفع تراكيز هذا الأنزيمات في المجاميع الوقائية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) إذ سبب اعطاء المستخلص المائي لنبات الجعدة حالة وقائية لأعضاء الجسم ضد المادة السمية بنزوات الصوديوم .

وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة ( Bahramikia & Yazdanparast, 2012) الذين لاحظوا ارتفاع تدريجي في تركيز (GSH,CAT) في المجاميع الوقائية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة المجرعة بالمادة السمية وقد اعزى هذا الارتفاع التدريجي إلى احتواء نبات الجعدة على مواد فعالة مثل الفلافونيدات تساعد على كسح الجذور الحرة وبذلك زيادة تركيز مضادات الأكسدة بصورة تدريجي في مصل دم الحيوانات المجرعة بالمستخلص النباتي .

وبنفس الاتجاه أشارت نتائج دراسة الباحثين (Bassalat *et al.*, 2020) إلى وجود ارتفاع واضح في مستوى تركيز (GSH,CAT) الفئران المصابة بداء السكري المستحدث بواسطة Streptozotocin (STZ) إذ تم تجريعها بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (0.5) غم / كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً إذ ارتفع تركيز (GSH,CAT) في أنسجة البنكرياس وقد علل سبب هذا الارتفاع إلى إن المركبات الكيميائية الموجودة في نبات الجعدة تمتلك مجموعة واسعة من التأثيرات الدوائية بما في ذلك مضادات اكسدة ومضادات للالتهابات .

وكذلك اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Amini *et al.,* 2011) إذ لاحظوا ارتفاع واضح جداً في مستوى (GSH) في حيوانات المجموعة الوقائية وكانت نسبة ارتفاعه حوالي (80٪) من نسبته في مجاميع السيطرة المجرعة بالمادة السمية فضلاً عن ارتفاع تركيز كل من مضادات الاكسدة (GPX,SOD) على التوالي ويبدو إن سبب ذلك الارتفاع هو احتواء النبات على مواد مضادة للأكسدة مثل المواد الفينولية والزيوت الطيارة التي لها أهمية في معالجة العديد من الالتهابات .

وفي الاتجاه نفسه اتفقت نتائج التجربة الحالية مع نتائج دراسة (Khan *et al.*, 2015) الذين لاحظوا ارتفاع تراكيز إنزيمات مضادات الأكسدة (CAT,SOD ,POX) في مجموعة الفئران المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وقد اعزى ذلك الارتفاع إلى سلامة أنسجة الكبد الذي يقوم بإفرازهذه الأنزيمات مما يدل على الدور الوقائي الذي يلعبه مستخلص نبات الجعدة ضد الإضرار السمية التي تؤثر على الكبد بصورة مباشرة .

**جدول (4-1) يبين تركيز إنزيمات الكبد ومعايير الأكسدة في المجاميع المدروسة :**

| CAT | GSH | ALP | AST | A LT | المعايير المدروسة / المعاملات |
|---|---|---|---|---|---|
| 42.41 ±0.34 A | 6.20 ±0.10 A | 98.40±0.67 A | 31.80±0.48 A | 29.80±0.37 A | **مجموعة سيطرة سالبة (G1)** |
| 32.26± 0.25 B | 3.73±0.07 B | 120.20±0.20 B | 40.80±0.37 B | 42.60±0.67 B | **مجموعة سيطرة موجبة (G2)** |
| 44.62 ±0.33 C | 6.61±0.13 C | 96.40±0.50 C | 31.70±0.70 A | 29.60±0.24 A | **مجموعة مستخلص تركيز أول (G3)** |
| 44.85± 0.21 C | 6.75±0.02 C | 96.80±0.20 C | 31.60±0.24 A | 29.20±0.37 A | **مجموعة مستخلص تركيز ثاني (G4)** |
| 44.89± 0.03 C | 6.98±0.19 C | 96.40±0.67 C | 31.40±0.24 A | 29.20±0.37 A | **مجموعة مستخلص تركيز ثالث (G5)** |
| 34.52± 0.32 D | 4.71±0.03 D | 118.80±0.37 D | 40.20±0.37 C | 39.40±0.50 C | **مجموعة وقائية تركيز أول (G6)** |
| 36.83 ±0.42 D | 4.81±0.08 D | 118.40±0.50 D | 39.00±0.31 C | 39.00±0.44 C | **مجموعة وقائية تركيز ثاني(G7)** |
| 38.64± 0.14 D | 5.04±0.03 D | 117.60±0.50 D | 39.00±0.31 C | 37.00±0.31 C | **مجموعة وقائية تركيز ثالث (G8)** |
| 0.8244 | 0.2955 | 1.4112 | 1.179 | 1.2474 | LSD(0.05) |

Means ± SE

**الحروف المختلفة عمودياً تعني إن هناك فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P>0.05)**

### 4-2-7- تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/كلغم من وزن الجسم على معايير الكلية في مجموعة السيطرة الموجبة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) :

لقد أوضحت نتائج الدراسة الحالية والمبينة في الجدول (4-2) إن هناك فرق معنوي واضح عند احتمالية ($P<0.05$) في تركيز المعايير الوظيفية للكلية في بلازما الدم إذ ارتفع تركيز كل من اليوريا والكرياتين وانخفض تركيز كل من ( Na ,K , Ca) في حيوانات مجموعة السيطرة الموجبة التي تم تجريع حيواناتها ببنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) إن اخذ مادة بنزوات الصوديوم أدى إلى حدوث التسمم الكبدي والذي يتأتى بدرجة اساسية من إطلاق جذور الاوكسجين الحرة الفعالة داخل الجسم والتي بدورها تؤدي إلى ازدياد حدوث التلف النسيجي داخل الجسم الأمر الذي يتسبب عليه انتقال الضرر إلى نسيج الكلية وبذلك قلة كفاءتها في تنظيم تركيز اليوريا والكرياتينين داخل مجرى الدم ومن ثم اختلال تركيز الكتروليتات الدم .

وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Abd algadir *et al* ,2009) الذين لاحظوا أيضا ارتفاع في مستويات كل من اليوريا والكرياتينين إذ يمثل تركيز الكرياتينين في مصل الدم إلى مدى سلامة وصحة الكلى بينما تمثل نسبة تركيز اليوريا في الدم إلى صحة كل من الكلى والكبد كما إن ارتفاع نسبة الكرياتين واليوريا يشير إلى خلل وظيفي في الكلية وكما إن معدل ترشيح الكرياتين بسرعة يمثل خلل في الترشيح الكبيبي وهذا دليل واضح للتأثير الضار لمادة بنزوات الصوديوم .

أشارت نتائج دراسة (Radwan *et al.,* 2020) إلى وجود ارتفاع في تركيز اليوريا والكرياتينين في مجاميع المعاملة ببنزوات الصوديوم بتركيز (200) ملغم /كلغم من وزن الجسم عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة وقد بين سبب ارتفاع تراكيز كل من اليوريا والكرياتين إلى الضرر الناجم عن بنزوات الصوديوم على نسيج الكلية ، واتفقت النتائج أيضا مع ( Zeghib & Boutlelis, 2021) الذين لاحظوا ارتفاع في تركيز اليوريا والكرياتين في المجاميع المجرعة ببنزوات الصوديوم ، في حين لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Ibekwe,2007) الذي لاحظ إن هناك ارتفاع معنوي في مستويات الصوديوم والبوتاسيوم في الجرذان المعاملة ببنزوات الصوديوم بتراكيز مختلفة بلغت ( 120,60 ) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة اسبوعين واعزى الارتفاع في تلك المستويات (الصوديوم والبوتاسيوم) إلى تأثير بنزوات الصوديوم على الكلية والذي ادى إلى اضطراب بالتنظيم التركيبي الكلوي الذي يؤدي إلى التأثير على وظيفة الكلية والذي ينعكس

على مستويات هذه الاليكتروليتات ، وإن الاضطراب الحاصل في توازن الصوديوم – بوتاسيوم في مجرى دم الحيوانات المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم يعزى إلى تأثيرات الإجهاد التأكسدي على فعالية إنزيم Na-K-ATPase الذي يلعب أثراً هاماً في تنظيم تركيز هذه الاليكتروليتات داخل وخارج جسم الخلية ، وإن تثبيط Na-K-ATPase يسبب اضطرابات في توازن الصوديوم – بوتاسيوم وبذلك يؤدي إلى تغير سائلية غشاء الخلية مما يؤدي إلى اضطرابات في وظيفة الخلية (Choudhary & Rathinasamy,2013 ) .

## 4-2-8- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على معايير الكلية في مجاميع المستخلص عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) :

بينت نتائج الدراسة الحالية والمبينة في الجدول (4-2 ) عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) عدم وجود فرق معنوي في تركيز اليوريا والكرياتين والصوديوم والبوتاسيوم ، بينما أوضحت نتائج الدراسة الحالية عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) إن هناك ارتفاع معنوي في تركيز الكالسيوم في مجاميع المستخلص ( G5,G4,G3 ) والتي جرعت بتراكيز مختلفة (250,200,150 ) ملغم/كلغم من وزن الجسم بالمستخلص المائي لنبات الجعدة ولمدة (30) يوماً عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) وهذا يدل على إن المستخلص المائي لنبات الجعدة ليس له تأثير ضار على الكلية .

وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Betallu *et al.,* 2018) الذين لاحظوا عدم وجود فرق في تركيز اليوريا والكرياتينين والصوديوم والبوتاسيوم بينما لاحظوا انخفاض في تركيز الكوليسترول والدهون الثلاثية وسكر الدم في المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (20) ملغم /كلغم من وزن الجسم عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة غير المجرعة واعزى انخفاض تركيز الصوديوم والبوتاسيوم إلى احتواء النبات على مواد فعالة تساعد بأعاده حالة التوازن بين الصوديوم – بوتاسيوم الداخل والخارج من وإلى الخلية فضلاً عن إن نبات الجعدة يعزز من افراز البنكرياس للإنسولين الذي بدوره يعزز دخول البوتاسيوم إلى الخلايا العضلية عن طريق تحفيز-Na K-ATPase .

وبنفس الاتجاه اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة ( Al-Mamoori & Aburjai, 2020) الذين لاحظوا ارتفاع في تركيز الكالسيوم وعدم وجود فرق معنوي في تركيز اليوريا في مصل دم الفئران المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (200) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (40) يوماً عند مقارنتها مع مجموعة الحيوانات غير مجرعة وقد اعزى سبب ذلك إلى دور

النبات في الحفاظ على تركيز اليوريا بمستوى مقارب من الحد الطبيعي وذلك لاحتواء نبات الجعدة على مواد فعالة ومفيدة مثل الفينولات ، والزيوت الطيارة ، والقلويدات ، والفلافونيدات وغيرها التي تعد مضادات اكسدة تساعد الكلية بالحفاظ على اداء وظائفها بصورة طبيعي .

## 4-2-9- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على معايير الكلية في المجاميع الوقائية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) .

بينت نتائج الدراسة الحالية والمبينة في الجدول (4-2) وعند مستوى احتمالية ($P<0.05$) إن هناك انخفاض معنوي في تركيز المعايير الوظيفية للكلية (اليوريا والكرياتينين ) وحصول ارتفاع معنوي تركيز ( الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم ) في المجاميع الوقائية (G8,G7,G6) التي تم تجريعها بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتراكيز مختلفة (250,200,150) ملغم/كلغم من وزن الجسم ثم جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250)ملغم /كلغم من زن الجسم ولمدة (30) يوماً عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) .

نتائج الدراسة الحالية تتفق مع نتائج دراسة (Khleifat *et al.,* 2002) الذين لاحظوا إن هناك فروق معنوية في تركيز كل من اليوريا وحامض اليوريك وسكر الدم إذ انخفض تركيز كل منهم وارتفع تركيز كل من البوتاسيوم والصوديوم والكالسيوم في مجاميع الفئران التي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وبتركيز (20,50 )ملغم /كلغم وقد اعزى ذلك إلى احتواء نبات الجعدة على مواد فعالة تساعد على ارجاع مستوى تلك المعايير قريبة من المستوى الطبيعي مثل : الكاربوهيدرات، والزيوت الطيارة ، والفلافونيدات ، والقلويدات ، والعديد من المواد الفعالة الأخرى .

نتائج الدراسة الحالية تأتي تأكيداً لنتائج دراسة (Ghasemi *et al.,* 2019) الذين لاحظوا انخفاضاً واضحاً في تركيز الكرياتين في الفئران المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وقد بين سبب ذلك الانخفاض يعود إلى فعالية نبات الجعدة في الحفاظ على هيكل ووظيفة الكلى والذي يعود إلى وجود المواد الفينولية والقلويدات والفلافونيدات التي تعتبر من مضادات الأكسدة التي تعمل على حفظ وظيفة وهيكل الكلية .

بينما خالفت نتائج الدراسة الحالية نتائج دارسة الباحثون (Chabane *et al.,* 2021) الذين لاحظوا ارتفاع بسيط في تركيز اليوريا والكرياتينين وإنزيمات الكبد (AST,ALT,ALP) في الفئران التي تم تجريعها بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وقد أعزوا سبب هذا الارتفاع إلى الضرر الحاصل في الكبد والكلية نتيجة المعاملة المستمرة بتراكيز مرتفعة من المستخلص المائي لنبات الجعدة التي قد

اثرت عكسياً على وظيفة كل من الكبد والكلية إذ إن الجرعات العالية من المستخلص المائي لنبات الجعدة قد تعمل بصورة معاكسة على وظائف الجسم .

**جدول (4-2) يبين تركيز معايير الكلية في المجاميع المدروسة**

| Ca | K | Na | Creatinine | Urea | المعايير المدروسة / المعاملات |
|---|---|---|---|---|---|
| 3.38 ± 0.05 A | 4.22±0.09 A | 142.40 ± 0.24 A | 0.98±0.03 A | 39.60 ± 0.40 A | **مجموعة سيطرة سالبة (G1)** |
| 2.32 ± 0.04 B | 3.70±0.12 B | 130.60 ±0.40 B | 1.86±0.02 B | 45.80 ± 0.48 B | **مجموعة سيطرة موجبة (G2)** |
| 3.62 ±0.02 C | 4.18±0.09 A | 142.40 ± 0.37 A | 0.98±0.03 A | 39.60 ± 0.40 A | **مجموعة مستخلص تركيز أول (G3)** |
| 3.85 ± 0.03 C | 4.22 ± 0.08 A | 142.40 ± 0.37 A | 0.98±0.02 A | 39.60 ± 0.24 A | **مجموعة مستخلص تركيز ثاني (G4)** |
| 3.98 ± 0.03 C | 4.22 ±0.04 A | 142.40 ± 0.24 A | 0.98±0.03 A | 39.60 ± 0.24 A | **مجموعة مستخلص تركيز ثالث (G5)** |
| 3.54 ± 0.05 D | 4.60±0.05 C | 132.80 ± 1.11 C | 1.48±0.04 C | 41.60 ± 0.60 C | **مجموعة وقائية تركيز أول (G6)** |
| 3.82 ± 0.02 D | 4.82±0.03 C | 134.80 ± 0.37 C | 1.44±0.04 C | 40.80 ± 0.58 C | **مجموعة وقائية تركيز ثاني (G7)** |
| 3.98 ± 0.05 D | 4.94±0.06 C | 138.40 ± 0.67 C | 1.20±0.03 C | 40.60 ± 0.40 C | **مجموعة وقائية تركيز ثالث (G8)** |
| 0.1247 | 0.23 | 1.5778 | 0.1039 | 1.2639 | LSD(0.05) |

**Means ± SE**

**الحروف المختلفة عمودياً تعني إن هناك فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P>0.05)**

**4-2-10- تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/كلغم من وزن الجسم على معايير الدهون في المجموعة الموجبة عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة (G1):**

بينت نتائج الدراسة الحالية وكما مبين في الجدول (4-3) وعند مستوى احتمالية ($P<0.05$ ) إلى وجود ارتفاع معنوي في مستوى تركيز كل من (TG ,Cholesterol , LDL) ،ووجود انخفاض معنوي في تركيز (HDL) في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) التي تم تجريع حيواناتها بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم / كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً عند مقارنتها بمجموعة السيطرة السالبة (G1) .

وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Helal *et al.,* 2019) الذي بين إن هناك ارتفاع معنوي في تركيز (TG ,Cholesterol ,LDL) وحدوث انخفاض معنوي في تركيز (HDL) في الفئران المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم وقد اعزى السبب إلى تأثير بنزوات الصوديوم على هيكل الغشاء الخلوي مما يؤدي إلى تعطيل وظيفته الذي يؤثر على سيولة ونفاذية ونشاط الأنزيمات مما يؤدي إلى اكسدة دهون الغشاء الخلوي ووصول الأحماض الدهنية الحرة الموجودة في الأنسجة الدهنية إلى مجرى الدم .

وبنفس الاتجاه اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج الباحثين ( Oghenetekevwe *et al.*, 2019) الذين لاحظوا ارتفاع في تركيز (TG, Cholesterol ,LDL ) في مجاميع الحيوانات المجرعة ببنزوات الصوديوم عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة وقد اعزى سبب الارتفاع إلى التأثيرات السمية لبنزوات الصوديوم على الكبد الذي يعمل على إطلاق الأنزيمات التي تساعد على أيض الدهون .

كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية أيضاً مع نتائج دراسة (Aziz & Zabut, 2012) الذين لاحظوا ارتفاع واضح في مستوى TG, Cholesterol في الفئران البيض التي تم تجريعها بتركيز (500) ملغم/كلغم من وزن الجسم من بنزوات الصوديوم لمدة (8) اسابيع عند مقارنتها مع المجاميع غير المعاملة وقد اعزى ذلك إلى تأثير بنزوات الصوديوم على الكبد إذ إن اغلب Cholesterol المتجمع في الامعاء يأتي من افراز المرارة فضلاً عن الامتصاص الغذائي إذ إن الكوليسترول الكلي في الجسم يعتمد على التوازن بين الكوليسترول الممتص من النظام الغذائي وبين الكوليسترول المتكون في الجسم .

أما في الدراسات السريرية البشرية التي قام بها الباحثين (Lin *et al.,* 2022) لمعرفة التأثير الدوائي لبنزوات الصوديوم على المصابين بأمراض نفسية إذ قسم المرضى إلى ثلاث مجاميع بصورة عشوائية وتم تجريعهم بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (1500-250) ملغم/ دلتر من وزن الجسم لمدة ثمان اسابيع إذ لاحظوا انخفاض واضح في مستوى تركيز (LDL) .

## 4-2-11- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على معايير الدهون في مجاميع المستخلص عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة (G1):

بينت نتائج الدراسة الحالية وكما مبين في الجدول (4-3) وعند مستوى احتمالية ($P<0.05$) إن هناك ارتفاع معنوي في تركيز (HDL,LDL) بينما أوضحت النتائج انخفاض معنوي في تركيز (TG ,Cholesterol) في مجاميع المستخلص (G5,G4,G3) التي تم تجريعها بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وبتراكيز مختلفة ( 250,200,150 ) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) .

نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع نتائج دراسة (Amraei *et al.,* 2018) الذي وجد انخفاض في مستوى (TG) والكوليسترول وارتفاع واضح في تركيز (LDL) في الفئران المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة عند مقارنتها مع مجموعة الحيوانات غير المجرعة .

وفي الاتجاه نفسه اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (صالح ،2010 ) الذي لاحظ انخفاض معنوي في الكوليسترول و(HDL) وقد اعزى ذلك الانخفاض إلى قدرة الفلافونيدات التي هي احدى مضادات الأكسدة إلى خفض الكوليسترول في الدم فضلاً عن تعزيز عملية أيضه وبذلك تحويلة إلى مركبات اخرى تمنع من عملية خزنه داخل الأنسجة أو قد يعود إلى قدرة الفلافونيدات على زيادة فعالية الإنسولين الذي يعمل على أيض السكريات وبذلك أيض الدهون طبيعياً اذ كلما زاد أيض السكريات زاد أيض الدهون .

كما إن نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع نتائج دراسة الباحثين (Betallu *et al.,* 2018) الذين لاحظوا انخفاض في مستويات الكوليسترول والدهون الثلاثية في بلازما الدم في الفئران المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وبتراكيز مختلفة عند مقارنتها مع مجاميع الحيوانات غير مجرعة وقد اعزى ذلك إلى إن نبات الجعدة يحتوي العديد من المواد الفعالة التي تعد مضادات اكسدة تعمل على خفض الدهون في بلازما الدم .

## 4-2-12- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على معايير الدهون في مجاميع الوقائية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) :

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية الحالية وكما مبين في الجدول (4-3) وعند مستوى احتمالية ($P<0.05$) إلى وجود انخفاض معنوي في تركيز كل من (TG ,Cholesterol ,LDL) ، وارتفاع معنوي في تركيز (HDL) في المجاميع الوقائية (G8,G7,G6) التي جرعت بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتراكيز مختلفة (250,200,150) ملغم/كلغم من وزن الجسم ثم جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز(250) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) إذ ساهم المستخلص المائي لنبات الجعدة بتوفير حماية وقائية للجسم ضد الإثار السمية التي تسببها مادة بنزوات الصوديوم .

نتائج الدراسة الحالية جاءت متفقة مع نتائج دراسة (Al-Essa & Al-Kubaisy, 2004) الذين لاحظوا انخفاضاً في تركيز Cholesterol وارتفاع في مستوى HDL في مجاميع الفئران المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وبتركيز ( 2.5) مل/ لتر من وزن الجسم ولمدة (21) يوماً وقد اعزى ذلك لاحتواء نبات الجعدة على مواد فعالة مثل الفلافونيدات القلويدات أو إلى المركبات الكيميائية الأخرى التي يمتلكها النبات والتي تعتبر كمضادات اكسدة التي تساعد في أيض الدهون بصورة صحيحة وتحويلها إلى مركبات اخرى .

وفي الاتجاه نفسه اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Mousavi *et al.,* 2012) الذي لاحظ ارتفاع واضح في تركيز (HDL) وانخفاض في تركيز (LDL) في مجاميع الجرذان المصابة بداء السكري المستحث بالسكروز والمقاوم للانسولين عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة وقد اعزى ذلك إلى المواد الفعالة التي يمتلكها نبات الجعدة التي تساعد على أيض وخزن الدهون في الأنسجة الحية للكائن بصورة صحيحة .

بينما جاءت نتائج الدراسة الحالية مخالفة لنتائج دراسة الباحثون ( Davoudi-Kiakalayeh *et al.,* 2017) الذين لاحظوا ارتفاعاً واضحاً في مستوى الكوليسترول في ذكور الفئران التي جرعت بتراكيز مختلفة من المستخلص المائي لنبات الجعدة (400,200,100) ملغم / كلغم من وزن الجسم .

وفي الاتجاه نفسه خالفت نتائج الدراسة الحالية نتائج دراسة الباحثون ( Shahraki *et al.,* 2007) الذين لاحظوا ارتفاعاً في مستوي كل من (TG, LDL ,Cholesterol) في حين لاحظوا انخفاضاً في تركيز سكر الدم في مجاميع الحيوانات الوقائية المصابة بداء السكري المستحث بالمادة

السمية streptozotocin (STZ) وقد بينوا سبب ذلك إلى إن نبات الجعدة يحتوي على خصائص خافضة لسكر الدم ، الا إنه يسبب بعض التأثيرات السامة للكبد .

**الجدول (4-3) يبين تركيز معايير الدهون في المجاميع المدروسة**

| المعايير المدروسة / المعاملات | LDL | HDL | Cholesterol | TG |
|---|---|---|---|---|
| **مجموعة سيطرة سالبة** (G1) | 24.00 ± 0.54 A | 23.80 ± 0.37 A | 51.40 ± 0.92 A | 101.00 ±0.44 A |
| **مجموعة سيطرة موجبة** (G2) | 35.60±0.40 B | 19.40 ± 0.24 B | 58.40 ±1.09 B | 130.20 ± 1.95 B |
| **مجموعة مستخلص تركيز أول (G3)** | 31.20±0.58 C | 25.80 ± 0.37 C | 48.20 ± 0.58 C | 97.40 ±0.50 C |
| **مجموعة مستخلص تركيز ثاني (G4)** | 30.40 ± 0.24 C | 25.60 ± 0.24 C | 47.90 ± 0.54 C | 96.80 ± 0.37 C |
| **مجموعة مستخلص تركيز ثالث (G5)** | 29.80 ± 0.37 C | 26.20 ± 0.58 C | 47.60 ± 0.50 C | 96.60 ± 0.40 C |
| **مجموعة وقائية تركيز أول (G6)** | 33.60 ± 0.67 D | 21.00 ± 0.31 D | 54.40 ± 0.24 D | 125.80 ± 1.77 D |
| **مجموعة وقائية تركيز ثاني (G7)** | 33.40 ± 0.24 D | 21.20 ± 0.20 D | 54.40 ± 1.24 D | 123.60 ± 0.87 D |
| **مجموعة وقائية تركيز ثالث (G8)** | 29.80 ± 0.73 D | 22.40 ± 0.24 D | 53.80 ± 0.66 D | 121.80 ± 0.73 D |
| LSD | 1.4618 | 0.9874 | 2.2499 | 3.1126 |

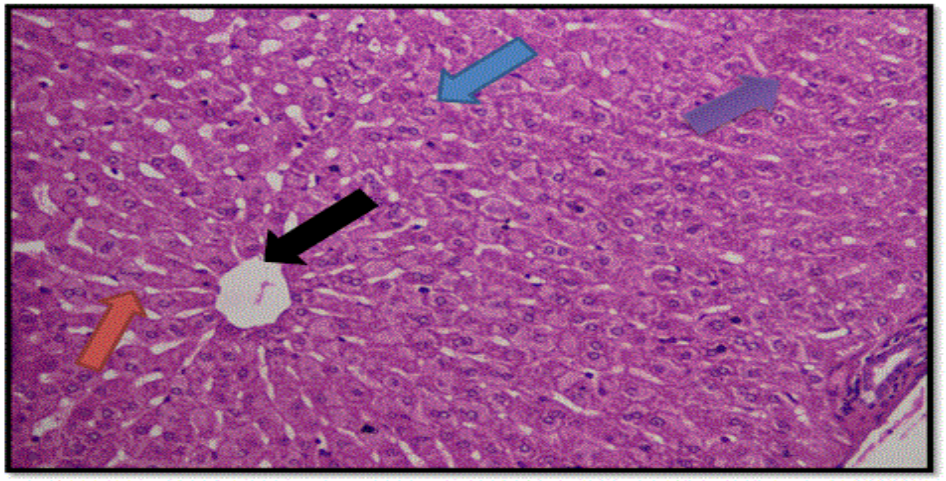
**Means ± SE**

**الحروف المختلفة عمودياً تعني إن هناك فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P>0.05)**

## 4-3- الدراسة النسيجية :

### 4-3-1- نسيج الكبد :

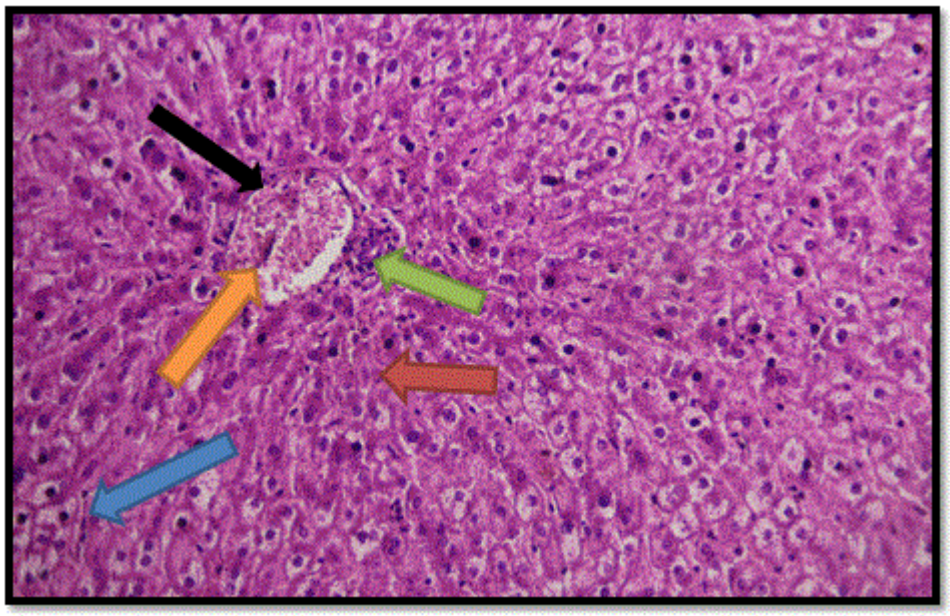
يتكون الكبد من فصين رئيسيين الفص الأيمن Right lobe و الفص الإيسر left lobe إذ يكون الفص الأيمن أكبر حجما من الفص الإيسر وينقسم كل فص إلى فصوص أصغر تسمي الفصيصات ( lobules ) ، إذ أظهرت المقاطع العرضية لنسيج الكبد في مجموعة السيطرة السالبة احتواء كل فصيص على وريد مركزي ( Central vein ) ، تحيط به مجموعه كبيرة من الخلايا الكبدية (Hepatocytes) ، المرصوصة والتي تكون مرتبة بصورة أشرطة وتحتوي على إنويه واضحة تقع بينها الفجوات التي تسمى بالجيبانيات (Sinusoids) صورة رقم (4-1)



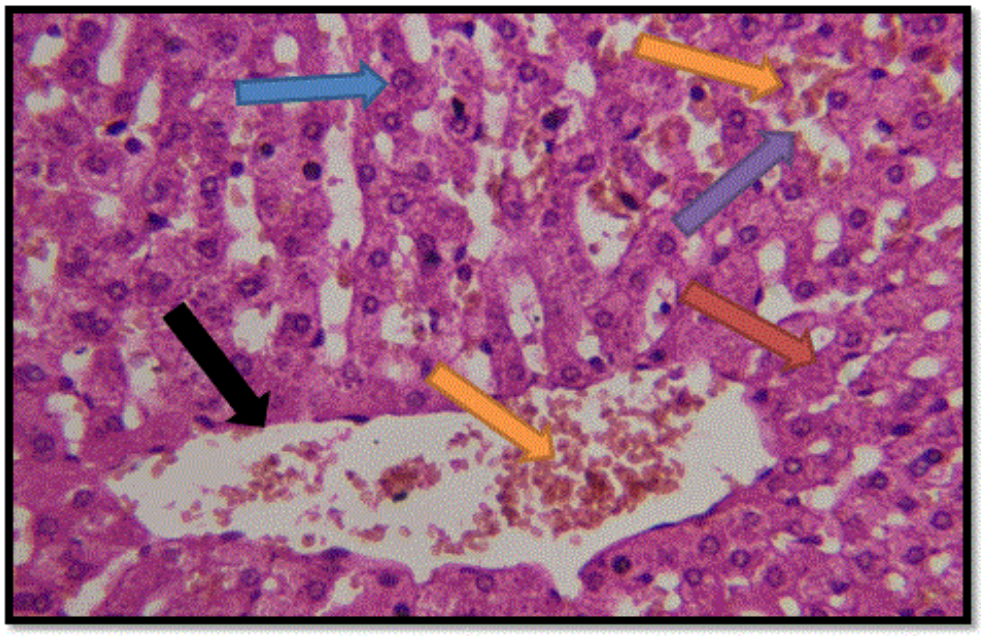
صورة رقم (4-1) مقطع مستعرض في كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus* ) توضح التركيب النسيجي العام للكبد في مجموعة السيطرة السالبة ، لوحظ وجود الوريد المركزي بصورة طبيعية ( ⬅ ) الخلايا الكبدية وأنويتها طبيعية ( ⬅ ) انتظام الحبال الكبدية ( ⬅ ) ووجود الجيبانيات ( ⬅ ) ( 40X ) (H&E stain ) .

### 4-3-2- تأثير المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم على التركيب النسيجي للكبد في مجموعة السيطرة الموجبة المجرعة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/كلغم عند المقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1):

أوضحت المقاطع النسيجية للكبد في المجموعة المعاملة ببنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/ كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً بانه يعاني من توسع واحتقان في الوريد المركزي وحدوث تنخر وتنكس في الخلايا الكبدية فضلاً عن عدم انتظام الحبال الكبدية كذلك عدم الجيبانيات ولوحظ أيضاً ارتشاح الخلايا الالتهابية حول الوريد المركزي كما في صورة رقم (4-2) .



صورة (4-2) مقطع مستعرض في نسيج كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) للمجموعة المجرعة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/كلغم من وزن الجسم ، لوحظ توسع واحتقان الوريد المركزي ( ⬅ ) ، نزف دموي ( ⬅ ) ، ارتشاح الخلايا الالتهابية ( ⬅ ) وتنخر الخلايا الكبدية ( ⬅ ) مع عدم انتظام الحبال الكبدية ( ⬅ ) (H & E stain) (40x )



صورة (4-3) مقطع مستعرض في نسيج كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) للمجموعة المجرعة بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/كلغم من وزن الجسم ، لوحظ توسع الوريد المركزي ( ⬅ ) ، نزف دموي ( ⬅ ) تنخر الخلايا الكبدية ( ⬅ ) مع عدم انتظام الحبال الكبدية ( ⬅ ) ، وتوسع الجيبانيات ( ⬅ ) (H & Estain) (100x ) .

اتفقت نتائج الدراسة الحالية والتي أوضحت الخلل الناتج في نسيج الكبد مع نتائج دراسة الباحثين (Oladele *et al.,* 2020) والتي اظهرت تنخر في نسيج الكبد فضلاً عن تغيرات تنكسية في الخلايا الكبدية في مجموعة الحيوانات المعاملة ببنزوات الصوديوم .

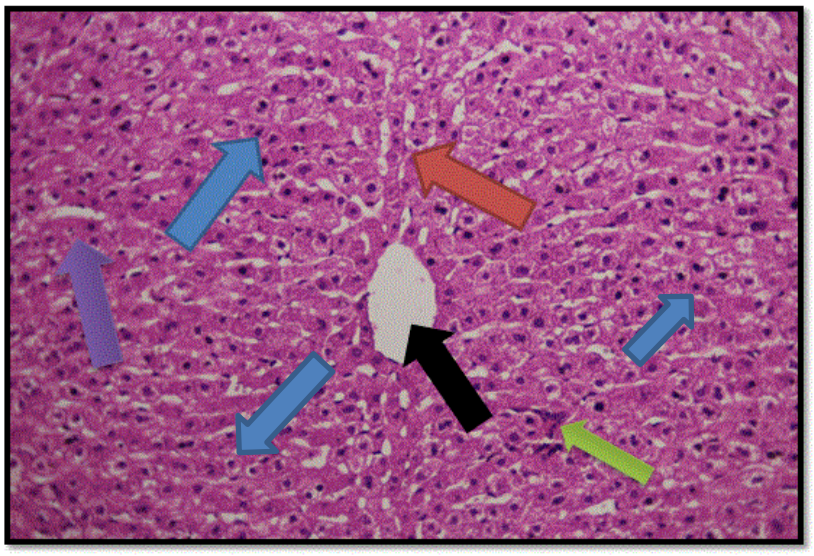
وبنفس الإتجاه اشار الباحث (Hussein, 2020) إلى إن التجريع الفموي اليومي بمادة بنزوات الصوديوم يؤدي إلى السمية الكبدية الواضحة عن طريق الأضرار الهيكلية للكبد وتعزيز الإجهاد التأكسدي الذي يولد الجذور الحرة والتي تعمل على تحطيم الهيكل الخلوي للكبد مما يسبب حدوث تنخر وتنكس للخلايا الكبدية وفقدان الأنوية ومن ثم موت الخلايا .

بينما جاءت دراسة (Khan *et al.,* 2020 ) لتؤكد سمية مادة بنزوات الصوديوم على الكبد عن طريق التأثيرات الضارة التي تسببها في نسيج الكبد مما يؤدي إلى الاحتقان والتوسع الحاصل في الوريد المركزي اضافة إلى التوسع في الجيبانيات والتنخر الحاصل بالخلايا الكبدية وتنكسها ، وارتشاح خلوي في القنوات البوابية وضعف في الأوعية الدموية الموجودة داخل نسيج الكبد وحصول تنخر في الفصوص الكبدية .

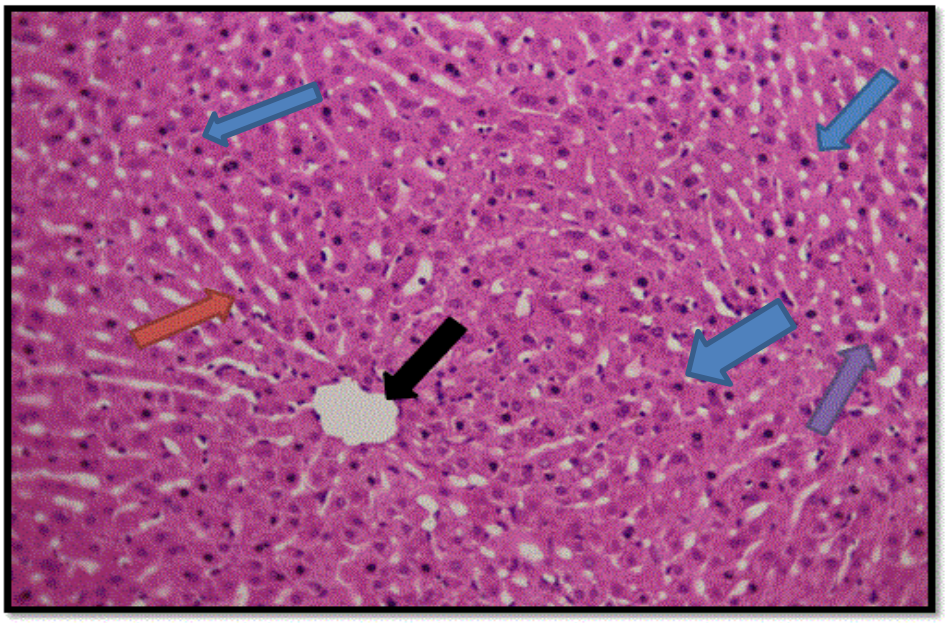
بينما اشار (Karakahya & Koca, 2016 ; Khider *et al* .,2012) إلى إن نسيج كبد الجرذان المجرعة بمادة بنزوات الصوديوم بتراكيز مختلفة ولمدد مختلفة هي 3 و12 شهر عانت من حدوث ضرر كبير في الأوعية الدموية بالنسبة لحيوانات المجموعة الأولى في حين وجدوا فقدان فصيصات الكبد لشكلها الطبيعي كما وجدوا تحطم الخلايا الكبدية في حيوانات المجموعة الثانية .

## 4-3-3- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على نسيج الكبد في مجاميع المستخلص عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1):

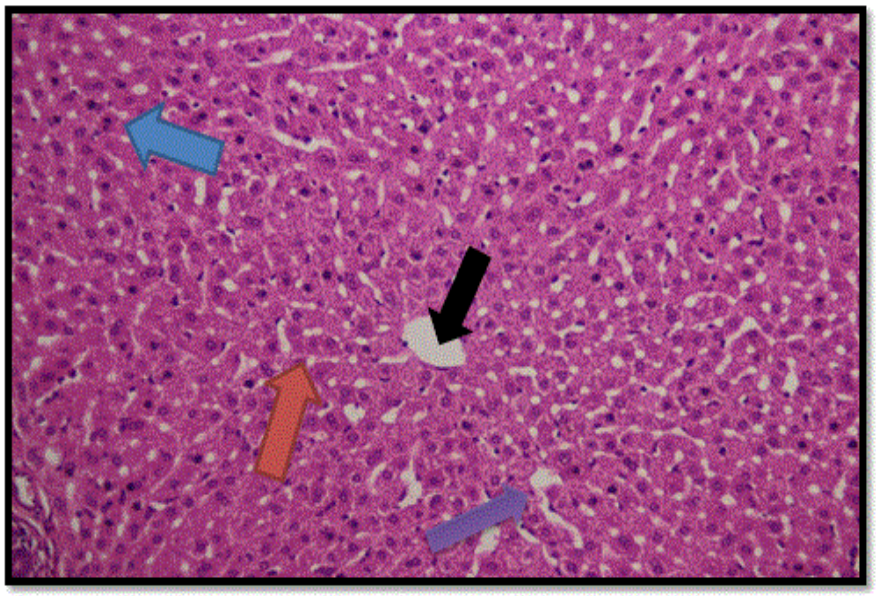
أوضحت نتائج الدراسة الحالية إن نسيج الكبد في الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (250,200,150 ) ملغم / كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً إذ ظهر الوريد المركزي بصورة طبيعية وظهرت الخلايا الكبدية بصورة طبيعية خالية من أي ضرر و ظهرت الحبال الكبدية بصورة منتظمة وكذلك الجيبانيات فقد ظهرت بصورة طبيعية كما في صورة رقم (4-4) وصورة (4-5) وصورة (4-6) عند المقارنة مع نسيج الكبد في مجموعة السيطرة السالبة صورة (4-1 ) مما يدل على إن نبات الجعدة لا يمتلك أي اضرار جانبية على الكبد .



صورة (4-4) مقطع مستعرض في نسيج كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) للمجموعة المستخلص المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (150) ملغم/ كلغم من وزن لوحظ الوريد المركزي بصورة طبيعية ( ⬅ ) وجود الخلايا الكبدية بصورة طبيعية ( ⬅ ) مع انتظام الحبال الكبدية ( ⬅ ) فضلاً عن ظهور الجيبانيات بصورة طبيعية ( ⬅ ) (40x) (H & E stain)



صورة (4-5) مقطع مستعرض في نسيج كبد الأرنب ( *Oryctolagus cuniculus* ) للمجموعة المستخلص المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (200) ملغم/كلغم من وزن لوحظ الوريد المركزي بصورة طبيعية ( ⬅ ) وجود الخلايا الكبدية بصورة طبيعية ( ⬅ ) مع انتظام الحبال الكبدية ( ⬅ ) فضلاً عن وجود الجيبانيات بصورة طبيعية ( ⬅ ) (40x ) (H & E stain) .



صورة (4-6) مقطع مستعرض في كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) في المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (250) ملغم/كلغم من وزن الجسم لوحظ الوريد المركزي بصورة طبيعية ( ⬅ ) الخلايا الكبدية بصورة طبيعية ( ⬅ ) مع انتظام بعض الحبال الكبدية ( ⬅ ) فضلاً عن وجود الجيبانيات ( ⬅ ) (40x) (H & E stain) .

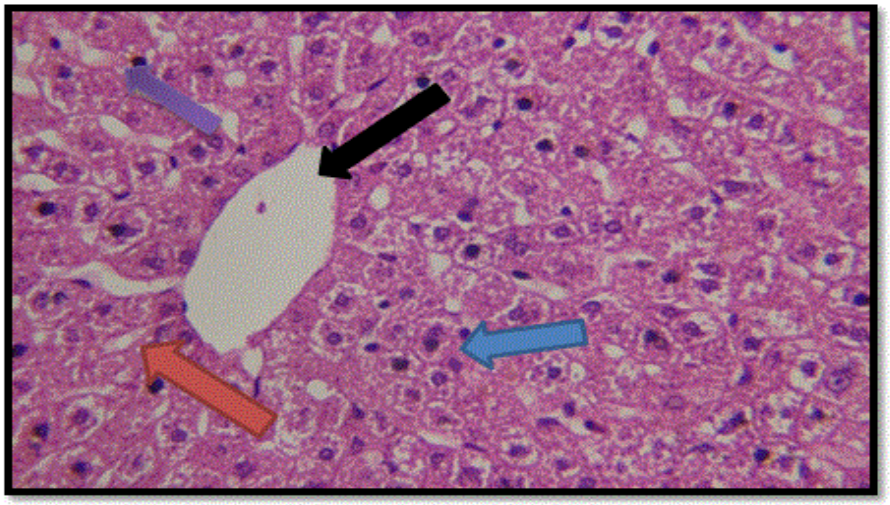
أوضحت الدراسة الحالية عدم وجود تأثيرات جانبية على نسيج الكبد عند تجريع الأرانب بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وهذا ما يتفق مع ما أشار اليه (Panovska *et al.*, 2007) الذي لاحظ سلامة نسيج الكبد عند تجريع الفئران بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وقد اعزى ذلك إلى ما تحتويه الجعدة من مركبات فعالة لها أهمية كبيرة في الحفاظ على سلامة التركيب الهيكلي والوظيفي للكبد وكذلك احتوائها على الأحماض الفينولية والفلافونيدات وبذلك تعمل كمادة وقائية للكبد ولا تسبب أي ضرر على النسيج.

اتفقت الدراسة الحالية مع ما أشارت اليه (Yazdanparast, 2013) الذي لاحظ عدم وجود اضرار في نسيج الكبد في المجاميع المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وقد بين سبب ذلك إلى امتلاك مستخلص نبات الجعدة مواد ذات نشاط وقائي ضد الالتهابات والإجهاد التأكسدي والجذور الحرة المتولدة .

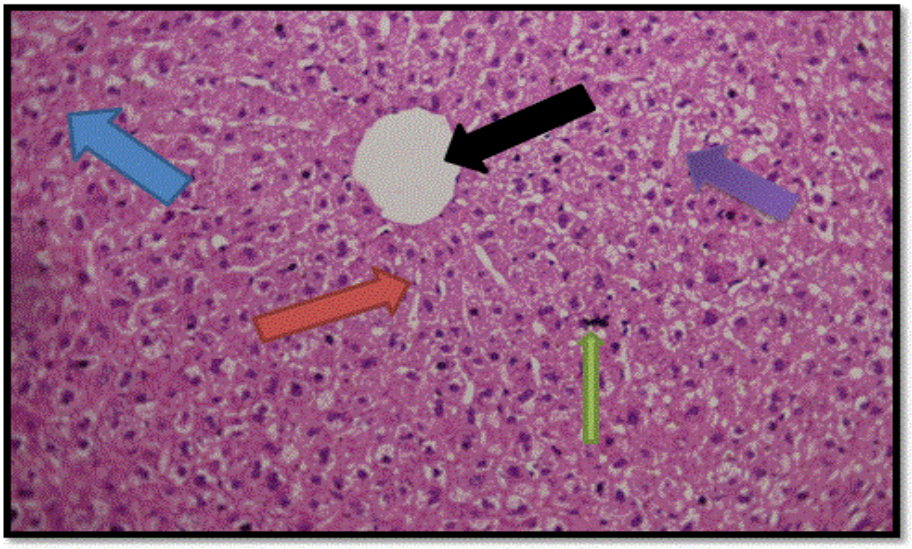
و بنفس الاتجاه اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Khleifat *et al.*, 2002) الذين لاحظوا وجود الوريد المركزي بصورة اقرب إلى الحالة الطبيعية وظهور الجيبانيات بصورة منتظمة وجود الخلايا الكبدية و أنويتها بحالة طبيعية مما يدل على سلامة البنية الهيكلية للكبد في المجاميع المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة وهذا دليل على فعالية نبات الجعدة في الحفاظ على الكبد .

## 4-3-4- تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة على نسيج الكبد في المجاميع الوقائية عند المقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2):

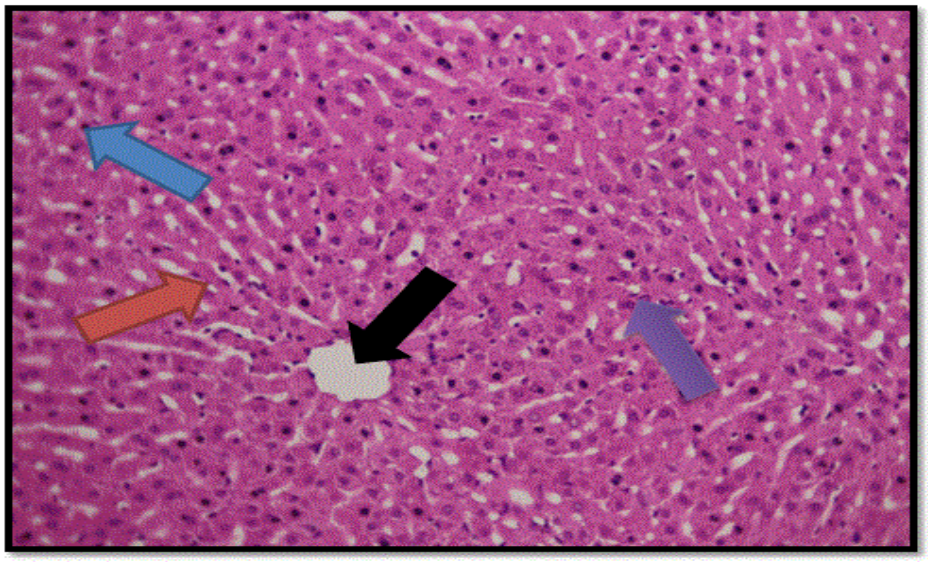
أوضحت نتائج الدراسة الحالية إن نسيج الكبد في الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (250,200,150) ملغم /كلغم من وزن الجسم ومن ثم تم تجريعها بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم /كلغم من وزن الجسم ولمدة (30) يوماً بان نسيج الكبد في المجموعة الوقائية ذات التركيز (150) ملغم /كلغم من وزن الجسم قد ظهر الوريد المركزي متوسع بصورة بسيطة فضلاً عن عدم انتظام الحبال الكبدية وحدوث توسع في بعض الجيبانيات بينما ظهرت بعض الخلايا الكبدية متنخرة كما في صورة رقم (4-7) في حين اظهر نسيج الكبد عند الفحص المجهري للمجاميع الوقائية ذات التركيز (250,200) ملغم /كلغم من وزن الجسم الوريد المركزي بصورة طبيعية وانتظام الحبال الكبدية إضافة إلى ظهور الخلايا الكبدية و أنويتها والجيبانيات بصورة اقرب إلى الطبيعية مع ارتشاح بعض الخلايا كما في صورة (4-8) و(4-9) عند المقارنة مع المقاطع النسيجية في مجموعة السيطرة الموجبة صورة رقم (4-2) (4-3) .



صورة (4-7) مقطع مستعرض في نسيج كبد الأرنب (*Oryctolagus cuniculus*) للمجموعة الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (150) ملغم/ كلغم من وزن ثم جرعت بمادة بنزوات الصوديوم بتركيز(250) ملغم /كلغم من وزن الجسم لوحظ الوريد المركزي بصورة متوسع قليلاً ( ) تنخر بعض الخلايا الكبدية ( ) مع عدم انتظام الحبال الكبدية ( ) فضلاً عن توسع الجيبانيات ( ) (40x ) (H & E stain) .



صورة (4-8) مقطع مستعرض في نسيج كبد الأرنب ( *Oryctolagus cuniculus*) للمجموعة الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (200) ملغم/ كلغم من وزن الجسم ثم جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/ كلغم من وزن الجسم لوحظ الوريد المركزي بصورة طبيعية ( ⬅ ) الخلايا الكبدية ظهرت بصورة طبيعية ( ⬅ ) مع انتظام الحبال الكبدية ( ⬅ ) فضلاً عن عدم توسع الجيبانيات ( ⬅ ) ارتشاح بعض الخلايا ( ⬅ ) ( H & E stain) (40x ) .



صورة (4-9) مقطع مستعرض في نسيج كبد الأرنب ( *Oryctolagus cuniculus*) للمجموعة الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (200) ملغم/ كلغم من وزن الجسم ثم جرعت ببنزوات الصوديوم بتركيز (250) ملغم/ كلغم من وزن الجسم يلاحظ الوريد المركزي بصورة طبيعية ( ⬅ ) الخلايا الكبدية بصورة طبيعية ( ⬅ ) مع انتظام الحبال الكبدية ( ⬅ ) فضلاً عن عدم توسع الجيبانيات ( ⬅ ) ( H & E stain) (40x ) .

وهذا يدل على إن المستخلص المائي لنبات الجعدة ساهم في حماية نسيج الكبد من تأثير بنزوات الصوديوم في المجاميع الوقائية وقد جاء هذا الأثر عن طريق امتلاكه العديد من المواد الفعالة التي ساهمت في تحسن الأداء الوظيفي للكبد فضلاً عن قدرته المتمثلة في إزالة الجذور الحرة ومنع تكوينها عن طريق تقليل مستوى الالتهاب الذي يلحق بالخلايا بسبب تعرض الجسم للمواد السمية ويظهر ذلك عن طريق مساهمته في رفع تراكيز الأنزيمات المضادة للأكسدة في الجسم نتائج الدراسة الحالية تتفق مع ما اشار اليه الباحث (Shahat *et al*., 2016) إلى إن نبات الجعدة يوفر حماية لخلايا الكبد ضد التأثيرات الالتهابية وبذلك تؤدي إلى منع تحرر الجذور الحرة وبذلك تقليل الخطر الناجم من الإجهاد التأكسدي نتيجة لامتلاك المستخلص المائي لنبات الجعدة على المركبات الفينولية التي تؤدي أثراً وقائياً يحمي خلايا الجسم وبالخصوص الخلايا الكبدية من الإجهاد التأكسدي وتحرر الجذور الحرة .

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Bachtarzi *et al.*, 2016) الذي لاحظ سلامة النسيج الكبدي اذ اشار إلى الدور الوقائي للمستخلص المائي لنبات الجعدة عن طريق تحسين الأداء الوظيفي لخلايا الكبد فضلاً عن قدرته على منع تكوين الجذور الحرة نتيجة امتلاك المستخلص المائي لنبات الجعدة على العديد من المركبات الفعالة مثل القلويدات والمواد الفينولية التي تعمل كمضادات اكسدة طبيعية تعمل على حماية الخلايا الكبدية من الإجهاد التأكسدي إلى جانب تنظيم الفعالية الأيضية لخلايا الجسم وبالأخص الخلايا الكبدية .

وبنفس الاتجاه أشارت الباحث (Activity *et al*., 2014) إلى سلامة النسيج الكبدي عن طريق ظهور الوريد المركزي بصورة طبيعية وانتظام الحبال الكبدية وسلامة الخلايا الكبدية من التنكس والتنخر في المجاميع الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة عند مقارنتها مع المجاميع الموجبة وقد اعزى ذلك إلى امتلاك نبات الجعدة على العديد من المركبات الفعالة التي تساهم في حماية نسيج الكبد من المواد السمية .

أشارت دراسة (Kalantari *et al*., 2013) إلى إن نبات الجعدة له دور وقائي جيد عن طريق تقليل التلف الحاصل في نسيج الكبد في المجاميع المجرعة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة فضلاً عن المادة السمية (Acetaminophen) إذ لاحظوا انتظاماً للحبال الكبدية وسلامة الخلايا الكبدية وظهور الوريد المركزي بصورة طبيعي عن طريق احداث تلف في نسيج الكبد .

في حين اختلفت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Ghasemi *et al.*, 2019) الذين لاحظوا ارتفاعاً في تركيز إنزيمات الكبد في المجاميع الوقائية المجرعة بالمستخلص الكحولي المائي

لنبات الجعدة وإن ارتفاع هذه الأنزيمات دليل على وجود اضرار نسيجية ووظيفية في الكبد إذ تمثلت بتوسع الوريد المركزي وتفجي شديد وتنكس في الخلايا الكبدية فضلاً عن توسع الجيبانيات وعدم انتظام الحبال الكبدية .

خالفت نتائج الدراسة الحالية نتائج دراسة (Krache *et al.*, 2015) الذي لاحظ تغيرات نسيجية في نسيج الكبد تمثلت بالتفجي الشديد في الخلايا الكبدية وعدم انتظام الحبال الكبدية وتوسع في الوريد المركزي والجيبانيات وكذلك حدوث نزف دموي وقد بين سبب ذلك إن المستخلص الكحولي لنبات الجعدة لها آثار جانبية على نسيج الكبد وقد يعود سبب ذلك إلى طريقة المستخلص التي من الممكن إن تؤثر على فعالية المستخلص أو قد يعود إلى ظروف التجربة .

# الاستنتاجات والتوصيات

# Conclusions and Recommendations

## الاستنتاجات Conclusions :

عن طريق نتائج الدراسة الحالية تم استنتاج ما يلي :

1- اظهرت نتائج الدراسة الحالية إن مادة بنزوات الصوديوم سببت تغيرات سمية معنوية في بعض المعايير الدموية والتي اشتملت على إنزيمات الكبد حيث ارتفع تركيز كل من (ALT,AST,ALP) بينما انخفض تركيز مضادات الأكسدة ( GSH,CAT ) وارتفع تركيز كل من اليوريا والكرياتين وارتفع وانخفض تركيز الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم فضلاً عن ارتفاع تركيز كل من وانخفاض (HDL) (LDL,TC,TG)إلى جانب تغيرات مرضية في نسيج الكبد في مجموعة السيطرة الموجبة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

2- اظهرت نتائج الدراسة الحالية إن مستخلص نبات الجعدة يمتلك فعالية وقائية ضد السمية التي تسببها مادة بنزوات الصوديوم عن طريق تحسين تركيز بعض المعايير الدموية والتي شملت إنزيمات الكبد حيث انخفض تركيز كل من (ALP, AST, ALT ) في المجاميع الوقائية بينما ارتفع تركيز انزيمات مضادات الاكسدة (GSH,CAT) وانخفاض كل اليوريا والكرياتين وارتفاع كل من الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم فضلاً عن انخفاض كل من (LDL,TC,TG) وارتفاع تركيز (HDL) إلى سلامة الكبد النسيجية في المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز (150,200,250) ملغم /كلغم من وزن الجسم .

3-وقد بينت النتائج الحالية إن التجريع بالمستخلص المائي لنبات الجعدة بتركيز 250 ملغم /كلغم من وزن الجسم كانت له الفعالية الاقوى في التقليل من التأثيرات السمية لبنزوات الصوديوم فيما يخص المعايير الفسلجية والنسيجية المدروسة .

## التوصيات Recommendations :

**1-** دراسة التأثيرات الوقائية للمستخلص النانوي المائي لنبات الجعدة على بعض المعايير الوظيفية لذكور الأرانب

2- دراسة تأثير مادة بنزوات الصوديوم على بعض المعايير الدموية المرتبطة بالجهاز التناسلي الذكري إلى جانب الدراسة النسيجية

3- دراسة تأثير المستخلص المائي والنانوي لنبات الجعدة على نسيج الكلية

4- دراسة التأثير الوقائي والعلاجي للمركبات الفعالة في مستخلص نبات الجعدة في الحيوانات المختبرية المستحث فيها السرطان

5- دراسة المركبات الفعالة الموجودة في اوراق نبات الجعدة كلاً على حدة وتشخيص اي المركبات الاكثر فعالية في عملية التأثير الوقائي للكبد والكلية .

6- دراسة التأثيرات الوقائية للمستخلص المائي لنبات الجعدة على الارانب المصابة بداء السكري المستحث بالمختبر .

# المصادر

# References

## المصادر العربية

**الكامل ،رنا داود سلمان (2016) .** تقييم المضافات الغذائية في بعض المنتجات الغذائية المحلية ودراسة تأثيراتها الكيميائية و الفسلجية والنسيجية في الفئران المختبرية أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة البصرة – البصرة – العراق .

**جدوع ، رقية عباس .(2021) .** دراسة تشريحية لبيان الدور الوقائي للمستخلص المائي البارد لنبات السعد (*Cyperus rotundus* ) على بعض المعايير الكيموحيوية والنسجية في ذكور الجرذان المعاملة بمادة بنزوات الصوديوم ، رسالة ماجستير ، كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة كربلاء

**داود ،محمد عبد المقصود . (2017) .** الإحكام الفقهية للمضافات الغذائية دراسة مقارنة ، مجلة الشريعة والقانون ، المجلد 2 ،العدد (32 ) .

**عبد الشهيد ، رواء حميد . ( 2021 ) .** تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي لفاكهة التنين الحمراء *Hylocereus polyrhizus* على المعايير الكيموحيوية وأنسجة الكبد و الكلى في الجرذان البيض المعاملة بنترات الصوديوم ، رسالة ماجستير ، كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة كربلاء

**عبود ، عبد الله صبار ، وحيد ، حسام كنعان . (2017) .** أهمية النباتات الطبية و استعمالتها في الحضارات القديمة .مطبعة بغداد – جامعة بغداد .

**صالح ،فرح سمير . (2011) .** تأثير الفلافونيدات المعزولة من نبات الجعدة *Teucrium polium* في بعض المتغيرات الكيموحيوية لمصل دم الجرذان السلمية و المصابة بداء السكري المستحث بالالوكسان . مجلة التربية والعلم – المجلد (24) ، العدد (3)

**صبر، اسيل نجاح . (2016) .** تأثير بنزوات الصوديوم كمادة حافظة في مستويات بعض الهرمونات و المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذان البيض . اطروحة دكتوراه ، كلية التربية – جامعة القادسية .

**موسى ،محمد عثمان ، العاني ،محمد عبد المنعم ،صبري ، نوفل عدنان ، العلواني ، عبد الكريم احمد . (2015) .** توزيع بعض النباتات في ثلاث مناطق في الصحراء الغربية في العراق . مجلة الانبار للعلوم الزراعية ،المجلد 13 ، العدد (1) .

## المصادر الإنكليزية

**Abd – AL gadir, M. I. ; Ihaimer, M. M. ; Sabah Elkhier, M. K. and Idris, O. F.(2009).** Effect of Benzoic Acid and Combination of Benzoic with citric acid as Food Additives on Renal Function of Experimental Rates. Asian J. Clin.Nutr. 1(2)PP: 83-87 .

**Abd El-Sameaa, R., Aioub, A., Elsobky, A., & Hendawy, M. (2018).** ToxIcological and Histopathological Effects of Diazinon and SodIuim Benzoate on the Nile Tilapia Fish, Oreochromis niloticus L. Zagazig Journal of Agricultural Research, 45(1),P: 165–175.

**Abdel Aziz, I. I. and Zabut, B.M.(2012).** Blood indices of sodium-benzoate administrated albino rats: effect of olive oil and/or time-dependent recovery . Egyptian Journal of Biology,PP: 14: 50-56 .

**Activity, H., Alcoholic, O. F. H.-, Of, E., & Teucrium, I. (2014).** Hepatoprotectie Activity of Hydro- Alcoholic.P: 3(4), 1331–1339.

**Afshin, A., Sur, P. J., Fay, K. A., Cornaby, L., Ferrara, G., Salama, J. S., Mullany, E. C., Abate, K. H., Abbafati, C., Abebe, Z., Afarideh, M., Aggarwal, A., Agrawal, S., Akinyemiju, T., Alahdab, F., Bacha, U., Bachman, V. F., Badali, H., Badawi, A., … Murray, C. J. L. (2019).** Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. The Lancet, P: 393(10184), 1958–1972.

**Ahmad Bhat, S., Hassan, T., & Majid, S. (2019).** International Journal of Medical Science and Diagnosis Research (IJMSDR) Heavy Metal Toxicity and Their Harmful Effects on Living Organisms-A Review. 3(1), P: 106–122.

**Aledwany, A., Basal, W., Al-Senosy, N., & Issa, A. (2018).** Assessment of Genotoxicity of Potassium Nitrate and Sodium Benzoate in Drosophila melanogaster Using Smart and Comet Assays. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology, 10(2),P: 83–97.

**Al-Essa, L., & Al-Kubaisy, K. (2004).** the Effects of Teucrium Polium Leaves on Hematological Indices and Some Biochemical Parameters in Rats. Bulletin of Pharmaceutical Sciences. Assiut, 27(1), P: 75–78.

**Allain.(1974).**Measurement of cholesterol.Clin.Chem. 20:470-475.

**Al-Mamoori, F., & Aburjai, T. (2020).** Anti-nephrolithiatic efficacy of teucrium polium aerial parts extract in a lithiasic rat model. Journal of Research in Pharmacy, 24(6), P: 874–881.

**Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S. G., Richmond, W., & Fu, P. C. (1974).** Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clinical Chemistry, 20(4), P: 470–475.

**Alsamarrai, J., Ibrahim, Z., & Mustafa, M. A. (2020).** Study Of Some Enzymatic And Histopathological Variants Of The Effect Of Sodium Benzoate On Rabbits. 07(09), 624–635.

**Alsudani, A. A., & Alhamadawi, H. A. (2020).** A physiological study of the effect of some food additives on the hypothalamic-pituitary-testis axis in male albino rats. Journal of Physics: Conference Series, 1664(1).

**Amini, R., Yazdanparast, R., Aghazadeh, S., & Ghaffari, S. H. (2011).** Teucrium polium reversed the MCD diet-induced liver injury in rats. Human and Experimental Toxicology, 30(9), P: 1303–1312.

**Amit, S. K., Uddin, M. M., Rahman, R., Islam, S. M. R., & Khan, M. S. (2017).** A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. Agriculture and Food Security, 6(1),P: 1–22.

**Amraee, S., Bahramikia, S., & Mohammadi, A. (2020)**. Effective fraction of Teucrium polium suppressed polyol pathway through inhibiting the aldose reductase enzyme: Strategy to reduce retinopathy. Journal of Medicinal Plants, 19(73),P: 82–90.

**Amraei, M., Ghorbani, A., Seifinejad, Y., Mousavi, S. F., Mohamadpour, M., & Shirzadpour, E. (2018).** The effect of hydroalcoholic extract of Teucrium polium L. On the inflammatory markers and lipid profile in hypercholesterolemic rats. Journal of Inflammation Research, 11, P: 265–272.

**Ardestani, A., Yazdanparast, R., & Jamshidi, S. (2008).** Therapeutic effects of Teucrium polium extract on oxidative stress in pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Medicinal Food, 11(3), 525–532.

**Asadi, Y., & Farahmandfar, R. (2020).** Frying stability of canola oil supplemented with ultrasound-assisted extraction of Teucrium polium. Food Science and Nutrition, 8(2).

**Aziz, I. I. S. A., & Zabut, B. M. H. (2012).** Blood indices of sodium-benzoate-administrated albino rats : effect of olive oil and / or time-dependent recovery. 14(0), P: 50–56.

**Bachtarzi, K., Hilmi, S., Laouar, H., Belkheiri, A., & Pacha, Y. H. (2016).** The chronic toxic effect of Teucrium polium aqueous extract on some blood parameters in rat. Der Pharma Chemica, 8(19), P: 384–387.

**Bahramikia, S., & Yazdanparast, R. (2012).** Phytochemistry and medicinal properties of teucrium polium L. (Lamiaceae). Phytotherapy Research, 26(11), P:1581–1593.

**Bancroft, J.D. and Stevens, A., (1982).** Theory and practice of histological techniques. 2 nd (ed.) churchill living stone, Edinburgh

**Barbosa-Cnovas, G. V. ; Fernndez-Molina, J. J. ; Alzamora, S. M. ; Tapia, M. S. ; Lopez Malo, A. and Chanes, J. W.(2003).** Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas. Food and Argriculture Organization of the United Nations.p.50

**Bassalat, N., Taş, S., & Jaradat, N. (2020).** Teucrium leucocladum: An effective tool for the treatment of hyperglycemia, hyperlipidemia, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020.

**Beloborodova, N. ; Bairamov, A. ; Olenin, A. ; Shubina, V. ; Teplova, V. and Fedotcheva, N. (2012).** Effect of phenolic acids of microbial origin on production of reactive oxygen species in mitochondria and neutrophils. J Biomed Sci. 19(89):1-9.

**Bergmeyer, H.U. and Bernt, E., 1974.** Colorimetric assay of Reitman and Frankel. In Methods of enzymatic analysis ( 735-739). Academic Press.

**Betallu, M. A., Tadke, V. B., Vhankate, S. M., Girish, R., Malki, S., Derbaci, I., & Quenez, R. (2018).** Hypolipidemic and hypoglycemic affects of teucrium polium L. capitatum extracts in rats. Pharmacia Lettre, 10(2), 31–35.

**Bodie, A. R. (2019).** ScholarWorks @ UARK Potential Antimicrobials for Controlling Listeria monocytogenes in Frankfurters.

**Bomzon, A., Shtukmaster, S., & Ljubuncic, P. (2010).** The effect of an aqueous extract of teucrium polium on glutathione homeostasis in vitro: A possible mechanism of its hepatoprotectant action. Advances in Pharmacological Sciences, 2010.

**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.

**Burstein, M. J. (1970).** Measurement of HDL. Lipid Res. , 11:583

**Chabane, S., Boudjelal, A., Keller, M., Doubakh, S., & Potterat, O. (2021).** Teucrium polium - wound healing potential, toxicity and polyphenolic profile. South African Journal of Botany, 137. 10.017Widhalm, J. R., & Dudareva, N. (2015). A familiar ring to it: Biosynthesis of plant benzoic acids. Molecular Plant, 8(1),P: 83–97.

**Chinyere, S. (2021).** Analysis of Health Consequences of Preservatives on Agricultural Foods. 9(January), P: 1–6

**Choudhary, A. K. and Rathinasamy, S. D.(2013).** Aspartame induces alteration in electrolytes homeostasis of immune organs in wistar albino rats. Biomed Prev Nutr.4(2):181-187.

**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.

**Couto, N. ; Malys, N. ; Gaskell, S. and Barber, J. (2013).** Partition and Turnover of Glutathione Reductase from Saccharomyces cerevisiae: a Proteomic Approach. Journal of Proteome Research ,12 (6): P:2885-2894.

**Daou, R., Joubrane, K., Maroun, R. G., Khabbaz, L. R., Ismail, A., & El Khoury, A. (2021).** Mycotoxins: Factors influencing

production and control strategies. AIMS Agriculture and Food, 6(1), 416–447.

**Davidson, P. M. ; Sofos, J. N. and Branen, A. I.(2005).** Antimicrobials in Food. 3rd ed., Taylor and Francis group, USA.p.12

**Davoudi-Kiakalayeh, A., Mohammadi, R., Pourfathollah, A. A., Siery, Z., & Davoudi-Kiakalayeh, S. (2017).** Alloimmunization in thalassemia patients: New insight for healthcare. International Journal of Preventive Medicine, 8,p: 1–6.

**Deckers, M., Deforce, D., Fraiture, M. A., & Roosens, N. H. C. (2020).** Genetically modified micro-organisms for industrial food enzyme production: An overview. Foods, 9(3).

**Dewangan, D. (2009).** Studies on toxico pathology of Sodium benzoate in rats. M. V. Sc. Thesis, Indira Gandhi Agricultural University.

**Di Meo, S., & Venditti, P. (2020).** Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020.

**Djahafi, A., Taïbi, K., & Abderrahim, L. A. (2021).** Aromatic and medicinal plants used in traditional medicine in the region of Tiaret, North West of Algeria. Mediterranean Botany, 42(October).

**Ekor, M. (2014).** The growing use of herbal medicines: Issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. Frontiers in Neurology, 4 JAN(January), 1–10.

**El Atki, Y., Aouam, I., El Kamari, F., Taroq, A., Lyoussi, B., Oumokhtar, B., & Abdellaoui, A. (2020).** Phytochemistry, antioxidant and antibacterial activities of two Moroccan Teucrium polium L. subspecies: Preventive approach against nosocomial infections. Arabian Journal of Chemistry, 13(2).

**El-Husseini, N., Abd El-Ghani, M. M., & El-Naggar, S. I. (2008).** Biogeography and diversity of the Tubiflorae in Egypt. Polish Botanical Journal, 53(2),P: 105–124

**Engvall, E. and Perlman, P., (1971)**. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA. Peeters. H., ed. Protides of the Biological Fluids, P:553-556.

**Eric, L. K., Valentin, K. V., & Jean, L. (2016).** Popular medicinal plants used by the Bantu people and Pygmies living in the administrative territories of Beni and Lubero (DRC). Journal of Medicinal Plants Research, 10(30),P: 479–494.

**European Commission. (2018).** (Text with EEA relevance) 21.6.2017. 2016(68), 48–119.

**Fassati, P. and Principe ,L. (1982).** Measurement of Triglyceride.Clin.

**Ferrer-gallego, P. P., Roselló, R., Gómez, J., Laguna, E., & Peris, J. B. (2019).** ( Mill .) Schreb ., Labiatae ), un tàxon nou per a la flora ibèrica. P: 27–43

**Friedewald, W. T. , Levy, R. I. and Fredrickson, D. S. (1972)** Clin

**Ganesh Kumar, C., Srinivasa Rao, P., Gupta, S., Malapaka, J., & Kamal, A. (2015).** Chemical Preservatives-Based Storage Studies and Ethanol Production from Juice of Sweet Sorghum Cultivar, ICSV 93046. Sugar Tech, 17(4), P: 404–411.

**Ghasemi, T., Keshavarz, M., & Parviz, M. (2019).** Acute hepatorenal dose dependent toxicity of teucrium polium hydro alcoholic extract in rat. International Journal of Pediatrics, 7(9), P: 10099–10107.

**Giebisch, G., Krapf, R., & Wagner, C. (2007).** Renal and extrarenal regulation of potassium. Kidney International, 72(4),P: 397–410. https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002288

**Gülsoy Toplan, G., Göger, F., Taşkin, T., Ecevit-Genç, G., Civaş, A., Işcan, G., Kürkçüoğlu, M., Mat, A., & Başer, K. H. C. (2022).** Phytochemical composition and pharmacological activities of Teucrium polium L. Collected from eastern Turkey. Turkish Journal of Chemistry, 46(1), P:269–282.

**Gülsoy Toplan, G., Göger, F., Taşkin, T., Ecevit-Genç, G., Civaş, A., Işcan, G., Kürkçüoğlu, M., Mat, A., & Başer, K. H. C. (2022).** Phytochemical composition and pharmacological activities of Teucrium polium L. Collected from eastern Turkey. Turkish Journal of Chemistry, 46(1),

**Hadwan, Mahmoud Hussein and Hussein Najm Abed. (2016).** "Data Supporting the Spectrophotometric Method for the Estimation of Catalase Activity." Data in Brief 6:194–99.

**Halla, N., Fernandes, I. P., Heleno, S. A., Costa, P., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Rodrigues, A. E., Ferreira, I. C. F. R., & Barreiro, M. F. (2018).** Cosmetics preservation: A review on present strategies. Molecules, 23(7), 1–41.

**Hasson, A. M., Majhwol, E. M., Jabar, H., & Almuoswi, N. (2021).** Evaluation of Some Kidney Functions of Rates Treated with Sodium Benzoate. 25(1), 4859–4866.

**Hazan, R. ; Levine, A. and Abeliovich, H.(2004).** Benzoic acid, a weak organic acid food preservative, exerts specific effects on intracellular membrane trafficking pathways in Saccharomyces cerevisiae. Appl.Environ. Microbiol. 70(8): 4449–4457.

**Helal, E. G. E., Abdelaziz, M. A., Fadel, H. A. E., & EL-Shenawe, N. S. A. (2019).** The Therapeutic Effects of Vitamin C on Changes of Some Biochemical Parameters in Male Albino Rats Treated with Mixture of Food Additives (Sodium Benzoate + Mono Sodium glutamate + Chlorophyllin). The Egyptian Journal of Hospital Medicine, 75(6), 3131–3138.

**Hernandez, A. F., Buha, A., Constantin, C., Wallace, D. R., Sarigiannis, D., Neagu, M., Antonijevic, B., Hayes, A. W., Wilks, M. F., & Tsatsakis, A. (2019).** Critical assessment and integration of separate lines of evidence for risk assessment of chemical mixtures. Archives of Toxicology, 93(10), 2741–2757.

**Hernandezi , M; Lopez, R; Abanas, R.M.;V and Arias, A.(1994)** .Antimicrobial activity of visnea mocanera leaf extracts .j. Ethno pharma cology ,41 ;115-119.

**HOREYA ERFAN, M.D., S. M. Y. M. D. ., & KARIMA EL-SAYED, M.D., M. A. Z. M. D. . (2021).** Assessment of the Effect of Concomitant Use of Sodium Benzoate and Fructose on the Liver Structure and Function in Young Albino Rats. The Medical Journal of Cairo University, 89(6), 761–767.

**Humason, G. L. (1962).** Animal tissue techniques. Animal Tissue Techniques.

**Hussein, H. K. (2020).** https://doi.org/10.24297/jab.v13i.8717. 13.

**Ibekwe, S. E. ; Uwakwe, A. A. and Monanum , O. (2007).** Effect of oral intake of sodium benzoate on some haematological parameters of wistar albino rats. Scientific Research and Essay ,2 (1): 6-9 .

**Instituto Nacional de Estadística. (2021).** Available on-line at: 48(2), 39–62.

**Iriadam, M., Musa, D., Gümüflhan, H., & Baba, F. (2006).** Effects of two Turkish medicinal plants Artemisia herba-alba a n d Teucrium polium on blood glucose levels and other b i o c h e m i c a l parameters in rabbits. Journal of Cell and Molecular Biology, 5, 19–24.

**Jaradat, N. A. (2015).** Review of the taxonomy, ethnobotany, phytochemistry, phytotherapy and phytotoxicity of germander plant (Teucrium polium L.). Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 8(2), 13–19.

**Journal, J., Reza Mir, A., Reza shahraki, M., Reza Komeli, G., & Author, C. (2018).** Mir et al. Antidiabetic Effects of Teucrium polium and Achillea millefolium aqueous extracts

on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Physiology (JJP), 1(2), 1–9.

**Kaboglu, A., & Aktac, T. (2002).** A study of the effects of sodium benzoate on the mouse liver. Biologia, 57(3), 375-382.

**Kalantari, H., Forouzandeh, H., Azemi, M. E., Rashidi, I., & Goudarzi, M. (2013).** Study of the protective effect of Teucrium polium L. extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 12(1), 123–129.

**Kamala Kumari, P. V., Akhila, S., Srinivasa Rao, Y., & Rama Devi, B. (2019).** Alternative to artificial preservatives. Systematic Reviews in Pharmacy, 10(1), S13–S16.

**Kang, J. S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Puatanachokchai, R., Salim, E. I., Hagihara, A., Seki, S., & Fukushima, S. (2005).** Enhancement by estradiol 3-benzoate in thioacetamide-induced liver cirrhosis of rats. Toxicological Sciences, 85(1), 720–726.

**Karakahya, F., & Koca, Y. B. (2016).** Effects of the Food Additive Sodium Benzoate on Developing Chicken Liver Gelişmekte Olan Tavuk Karaciğeri Üzerine Gıda Katkı Maddesi Sodyum Benzoatın Etkileri Effects of the Food Additive Sodium Benzoate on Developing Chicken Liver 2 . MATERIAL AND METHOD. 37(2).

**Karakahya, F., & Koca, Y. B. (2016).** Effects of the Food Additive Sodium Benzoate on Developing Chicken Liver Gelişmekte Olan Tavuk Karaciğeri Üzerine Gıda Katkı Maddesi Sodyum

Benzoatın Etkileri Effects of the Food Additive Sodium Benzoate on Developing Chicken Liver 2 . MATERIAL AND METHOD. 37(2).

**Karpiński, T. M. (2020).** Essential oils of lamiaceae family plants as antifungals. Biomolecules, 10(1).

**Keim, R. G. (2017).** The Future Is Now. Journal of Clinical Orthodontics : JCO, 51(1), 9–10

**Khan, I. S., Dar, K. B., Ganie, S. A., & Ali, M. N. (2020).** Toxicological impact of sodium benzoate on inflammatory cytokines, oxidative stress and biochemical markers in male Wistar rats. Drug and Chemical Toxicology, 0(0), 1–10.

**Khan, M., Mobin, M., Abbas, Z., & ALMutairi, K. (2015).** Acclimation of Teucrium polium Plants to Seasonal Variations by Alterations in the Activities of Antioxidant Enzymes and Protein Accumulation. British Journal of Applied Science & Technology, 11(5), 1–9.

**Khidr, B. M. ; Makhlouf, M. M. and Ahmed, S. M.(2012).** Histological and ultrastructural study on the effect of sodium benzoate on the liver of adult male albino rats. Journal of Zoology.41 (1): 11-39.

**Khleifat, K., Shakhanbeh, J., & Tarawneh, K. (2002).** The Chronic Effects of Teucrium polium on Some Blood Parameters and Histopathology of Liver and Kidney in the Rat. Turkish Journal of Biology, 26(2), 65–71.

**Khodaei, F., Kholghipour, H., Hosseinzadeh, M., & Rashedinia, M. (2019).** Effect of sodium benzoate on liver and kidney

lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mice. Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences, 8(2), 217–223.

**Khoshnoud, M. J., Siavashpour, A., Bakhshizadeh, M., & Rashedinia, M. (2018).** Effects of sodium benzoate, a commonly used food preservative, on learning, memory, and oxidative stress in brain of mice. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 32(2).

**Krache, I., Boussoualim, N., Charef, N., Trabsa, H., Ouhida, S., Benbacha, F., Daamouche, Z. E. Y., Benzidane, N., Baghiani, A., Khennouf, S., & Arrar, L. (2015).** Evaluation of acute and chronic toxic effects of Algerian germander in Swiss albino mice. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 5(Suppl 3), 027–032.

**Kwon, H., Choi, Y., & Kim, D. (2019).** Monitoring of the Sorbic Acid, Benzoic Acid and Sulfur Dioxide for Commonly Consumed Beverages, Snacks and Instant Ramens in Korea. 32(4), 379–384.

**Lin, C.-H., Wang, S.-H., & Lane, H.-Y. (2022).** Effects of Sodium Benzoate, a D-Amino Acid Oxidase Inhibitor, on Perceived Stress and Cognitive Function Among Patients With Late-Life Depression: A Randomized, Double-Blind, Sertraline- and Placebo-Controlled Trial. International Journal of Neuropsychopharmacology, 1–11.

**Ljubuncic, P., Dakwar, S., Portnaya, I., Cogan, U., Azaizeh, H., & Bomzon, A. (2006).** Aqueous extracts of Teucrium polium possess remarkable antioxidant activity in vitro.

Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 3(3), 329–338.

**Loeb, W. F., & Quimby, F. W. (1999).** The clinical chemistry of laboratory animals (Issue Sirsi) i9781560327172).

**Mahmoud, G. S., Sayed, S. A., Abdelmawla, S. N., & Amer, M. A. (2019).** Positive effects of systemic sodium benzoate and olanzapine treatment on activities of daily life, spatial learning and working memory in ketamine-induced rat model of schizophrenia. International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology, 11(2), 21–30.

**Mandal, D. (2019).** Food preservative chemistry: Effects and side effects J. Indian Chem. Soc, 96(December), 1519–1528.

**Markel, A.L. ; Achkasov, A. F. ; Alekhina, T. A ; Prokudina, O. I. ; Ryazanova, M. A. and Ukolova, T. N.(2011).** Effects of the alpha- and gamma-polymorphs of glycine on the behavior of catalepsy prone rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 98(2): 234-240.

**Mehrabani, D., Ziaei, M., Hosseini, S. V., Ghahramani, L., Bananzadeh, A. M., Ashraf, M. J., Amini, A., Amini, M., & Tanideh, N. (2011).** The effect of calendula officinalis in therapy of acetic acid induced ulcerative colitis in dog as an animal model. Iranian Red Crescent Medical Journal, 13(12), 884–890.

**Meister, A. and Tate, S. S. (1976).** Glutathione and related gamma-glutamyl compounds: biosynthesis and utilization. Annu. Rev. Biochem. 45: 559-604.

**Mohamed, A. A. H., Helal, E. G. E., & Abdelaziz, M. A. (2021).** Adverse effects of two kinds of food additives mixtures (Fast green + glycine, fast green+ sodium nitrate and sodium nitrate + glycine) on some physiological parameters in male albino rats. Egyptian Journal of Hospital Medicine, 83(1), 1259–1264.

**Mohd, M.H., (2010).** Diversity of Fusarium semitectum (berkeley and ravenel) associated with red-fleshed dragon fruit (Hylocereus polyrhizus [weber] britton and rose) in Malaysia, Universiti Sains Malaysia.

**Mousavi, S. E., Shahriari, A., Ahangarpour, A., Vatanpour, H., & Jolodar, A. (2012).** Effects of Teucrium polium ethyl acetate extract on serum, liver and muscle triglyceride content of sucrose-induced insulin resistance in rat. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11(1), 347–355.

**Movahedi, A., Basir, R., Rahmat, A., Charaffedine, M., & Othman, F. (2014).** Remarkable anticancer activity of Teucrium polium on hepatocellular carcinogenic rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014.

**Niem, M., Sbeih, M., Niem, M., & Sbeih, M. (2018).** Jerusalem – Palestine 1439 - 2018.

**Nosrati, N., Aghazadeh, S., & Yazdanparast, R. (2010).** Effects of Teucrium polium on Insulin Resistance in Nonalcoholic Steatohepatitis. JAMS Journal of Acupuncture and Meridian Studies, 3(2), 104–110.

**Oghenetekevwe, E., Oronne, A. J., & Bassey, E. E. (2019).** Effect of Oral Intake of Sodium Benzoate on Serum Cholesterol and Proinflammatory Cytokine (Tumor Necrosis Factor Alpha [TNF-α] and Interleukin-6 [IL-6]) Levels in the Heart Tissue of Wistar Rats. Asian Journal of Research in Biochemistry, 5(2), 1–8.

**Oladele, J. O., Oladele, O. T., Ademiluyi, A. O., Oyeleke, O. M., Awosanya, O. O., & Oyewole, O. I. (2020).** Chaya (Jatropha tanjorensis) leafs protect against sodium benzoate mediated renal dysfunction and hepatic damage in rats. Clinical Phytoscience, 6(1).

**Olofinnade, A. T., Onaolapo, A. Y., & Onaolapo, O. J. (2021).** Anxiogenic, memory-impairing, pro-oxidant and pro-inflammatory effects of sodium benzoate in the mouse brain. Dusunen Adam, 34(1), 14–22.

**Oyewole , O. ; Dere, F. and Okoro, O. (2012).** Sodium benzoate mediated hepatorenal toxicity in wistar rat: modulatory effects of Azadirachta indica (neem) leaf. Eur. J. Med .Plants . 2(1): 11-18.

**Panovska, T. K., Kulevanova, S., Gjorgoski, I., Bogdanova, M., & Petrushevska, G. (2007).** Hepatoprotective effect of the ethyl acetate extract of Teucrium polium L. against carbontetrachloride-induced hepatic injury in rats. Acta Pharmaceutica, 57(2), 241–248.

**Parcheta, M., Świsłocka, R., Orzechowska, S., Akimowicz, M., Choińska, R., & Lewandowski, W. (2021).** Recent

developments in effective antioxidants: The structure and antioxidant properties. Materials, 14(8), 1–24.

**Patton, C. J., & Crouh, S. R. (1977).** Urea colorimetric endpoint determination urease-Berthelot reaction. Annal. Chem, 49, 464–469.

**Paulusma, C. C., Lamers, W. H., Broer, S., & van de Graaf, S. F. J. (2022).** Amino acid metabolism, transport and signalling in the liver revisited. Biochemical Pharmacology, 201(April), 115074.

**Pizzorno, J. (2015).** The kidney dysfunction epidemic, part 1: Causes. Integrative Medicine (Boulder), 14(6), 8–13.

**Pompella, A. ; Visvikis, A .; Paolicchi, A. ; Tata, V. and Casini, A. F. (2003).** The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. Biochemical Pharmacology, 66(8): 1499–1503.

**Priya, R.J.; Sridhar, R.; Balachandran, C. and Manohar, B.M.(2010)** Effect of sodium benzoate treatment on body weight of wistar rats.Indian Vet. J., 87:303-304.

**Radwan, E. H., Elghazaly, M. M., Hussein, H. K., Kamel, K., Aziz, A., & Barakat, A. I. (2020).** https://doi.org/10.24297/jab.v13i.8555. 13, 1–13.

**Raidal, S., & Echols, S. (2007).** The Advantages and Disadvantages of Excreting Uric Acid. Annual Conference, 87–100.

**Regulation, E. U., Regulation, W. E. U., Regulation, C., Ii, A., Ireland, N., Ireland, N., Protocol, N. I., Regulation, C., Ii,**

**A., Curcumin, A., & Quinoline, T. (2022).** Approved additives and E numbers.

**Reiter, R. J., Tan, D. X., Rosales-Corral, S., Galano, A., Zhou, X. J., & Xu, B. (2018).** Mitochondria: Central organelles for melatonins antioxidant and anti-Aging actions. Molecules, 23(2), 1–25.

**Robelius, F. (2007).** Acta universitatis upsaliensis. In Matrix (Issue 125).

**Salehi, B., Martorell, M., Arbiser, J. L., Sureda, A., Martins, N., Maurya, P. K., Sharifi-Rad, M., Kumar, P., & Sharifi-Rad, J. (2018).** Antioxidants: Positive or negative actors? Biomolecules, 8(4), 1–11.

**Salimnejad, R., Sazegar, G., Borujeni, M. J. S., Mousavi, S. M., Salehi, F., & Ghorbani, F. (2017).** Protective effect of hydroalcoholic extract of Teucrium polium on diabetes-induced testicular damage and serum testosterone concentration. International Journal of Reproductive BioMedicine, 15(4).

**Salmerón-Manzano, E., Garrido-Cardenas, J. A., & Manzano-Agugliaro, F. (2020).** Worldwide research trends on medicinal plants. International Journal of Environmental Research and Public Health, 17(10).

**Šantić, Ž., Pravdić, N., Bevanda, M., & Galić, K. (2017).** The historical use of medicinal plants in traditional and scientific medicine. Psychiatria Danubina, 29(1), 787–792.

**Sarac, H., & Sari, M. (2019).** Determination of the effects of food preservatives benzoic acid and sodium nitrate on lifespan, fertility and physical growth in Caenorhabditis elegans. Journal of Survey in Fisheries Sciences, 6(1), 49–63.

**SAS .( 2012).** Statistical Analysis System, User,s Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Institute Incorporated Cary. N.C. USA

**Savvidou, S., Goulis, J., Giavazis, I., Patsiaoura, K., Hytiroglou, P., & Arvanitakis, C. (2007).** Herb-induced hepatitis by Teucrium polium L.: Report of two cases and review of the literature. European Journal of Gastroenterology and Hepatology, 19(6), 507–511.

**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.

**Seekles, S. J., van Dam, J., Arentshorst, M., & Ram, A. F. J. (2022).** Natural Variation and the Role of Zn2 Cys6 Transcription Factors SdrA, WarA and WarB in Sorbic Acid Resistance of Aspergillus niger. Microorganisms, 10(2).

**Shafiee-Nick, R., Ghorbani, A., Vafaee Bagheri, F., & Rakhshandeh, H. (2012).** Chronic administration of a combination of six herbs inhibits the progression of hyperglycemia and decreases serum lipids and aspartate amino transferase activity in diabetic rats. Advances in Pharmacological Sciences, 2012.

**Shahat, A. A. file:///C:/Users/DELL/Desktop/ .pd., Alsaid, M. S., Kotob, S. E., Husseiny, H. A., Al-Ghamdi, A. A. M., & Ahmed, H. H. (2016).** Biochemical and histological evidences for the antitumor potential of Teucrium oliverianum and Rhazya stricta in chemically-induced hepatocellular carcinoma. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 13(1), 62–70.

**Shahmohammadi, M., Javadi, M., & Nassiri-Asl, M. (2016).** An Overview on the Effects of Sodium Benzoate as a Preservative in Food Products. Biotechnology and Health Sciences, 3(3).

**Shahraki, M. R., Arab, M. R., Mirimokaddam, E., & Palan, M. J. (2007).** The effect of Teucrium polium (Calpoureh) on liver function, serum lipids and glucose in diabetic male rats. Iranian Biomedical Journal, 11(1), 65–68.

**Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. El, Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., … Sharifi-Rad, J. (2020).** Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. Frontiers in Physiology, 11(July), 1–21.

**Sharma, A., Khanna, S., Kaur, G., & Singh, I. (2021).** Medicinal plants and their components for wound healing applications. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 7(1).

**Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019).** Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. Molecules, 24(8), 1–20.

**Sinha, R. and D'Souza, D.( 2006).** Effects of sodium benzoate on haematological and biochemical parameters in Swiss albino mice, Mus musculus. Bulletin of Pure & Applied Sciences-Zoology. 25A(1): 31-37.

**Sinha, R. and D'Souza, D.(2010).** Liver cell damage caused due to sodium benzoate toxicity in mice. Int. J. Biotech. Biochem. 6:549-554.

**Sokołowska, B., Połaska, M., Dekowska, A., Woźniak, Ł., & Roszko, M. (2020).** Degradation of preservatives with the formation of off-odor volatile compounds—the case of strawberry-flavored bottled water. Beverages, 6(4), 1–8.

**Tawfek, N. S., Amin, H. M., Abdalla, A. A., & Fargali, S. H. M. (2015).** Adverse Effects of Some Food Additives in Adult Male Albino Rats. Current Science International, 04(04), 525–537.

**Vågsholm, I., Arzoomand, N. S., & Boqvist, S. (2020).** Food Security, Safety, and Sustainability—Getting the Trade-Offs Right. Frontiers in Sustainable Food Systems, 4(February), 1–14. https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00016

**Vahidi, A. R., Dashti-rahmatabadi, M. H., & Bagheri, S. M. (2010).** The Effect of Teucrium Polium Boiled Extract in Diabetic Rats. Iranian Journal of Diabetes and Obesity, 2(2), 27–32.

**van Andel, T., & Fundiko, M. C. C. (2016).** The Trade in African Medicinal Plants in Matonge-Ixelles, Brussels (Belgium). Economic Botany, 70(4), 405–415.

**Venditti, A., Frezza, C., Zadeh, S. M. M., Foddai, S., Serafini, M., & Bianco, A. (2017).** Secondary metabolites from Teucrium polium L. collected in Southern Iran. Arabian Journal of Medicinal & Aromatic Plants, 3(2), 108–123

**Version, D. (2020).** Food code 2020. March.

**Walczak-Nowicka, Ł. J., & Herbet, M. (2022).** Sodium Benzoate—Harmfulness and Potential Use in Therapies for Disorders Related to the Nervous System: A Review. Nutrients, 14(7).

**WHO. (2000).** World health Organization. Concise International Chemical Assesment document . Benzoic acid and sodium benzoate

**Widhalm, J. R., & Dudareva, N. (2015).** A familiar ring to it: Biosynthesis of plant benzoic acids. Molecular Plant, 8(1), 83–97.

**World, T. (2012).** Anatomy of Iranian species. 1(2), 48–52.

**Wu, A.H., 2006.** Tietz clinical guide to laboratory tests-E-book. Elsevier Health Sciences.

**Xue, L., Chen, L., Dong, J., Cai, L., Wang, Y., & Chen, X. (2020).** Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with surface enhanced Raman scattering for the rapid detection of sodium benzoate. Talanta, 208(June 2019), 120360.

**Yadav, M., Lomash, A., Kapoor, S., Pandey, R., & Chauhan, N. S. (2021).** Mapping of the benzoate metabolism by human gut microbiome indicates food-derived metagenome evolution. Scientific Reports, 11(1), 1–11.

**Yazdanparast, R. (2013).** SUPPRESSIVE EFFECT OF TEUCRIUM POLIUM ON OXIDATIVE DAMAGES AMONG EXPERIMENTAL STEATOHEPATITIS Safiyeh Aghazadeh and Razieh Yazdanparast* Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, P. O. Box 13145 – 1384, Tehran, Iran. 4(5), 1747–1756.

**Yetuk, G. ; Pandir, D. and Bas, H.(2014).** Protective role of catechin and quercetin in sodium benzoate-induced lipid peroxidation and the antioxidant system in human erythrocytes in vitro.The Scientific World Journal , 2014: 1-6.

**Zamani Mazdeh, F., Sasanfar, S., Chalipour, A., Pirhadi, E., Yahyapour, G., Mohammadi, A., Rostami, A., Amini, M., & Hajimahmoodi, M. (2017).** Simultaneous determination of preservatives in dairy products by HPLC and chemometric analysis. International Journal of Analytical Chemistry, 2017.

**Zeghib, K., & Boutlelis, D. A. (2021).** Food Additive (Sodium benzoate)-induced Damage on Renal Function and Glomerular Cells in Rats; Modulating Effect of Aqueous Extract of Atriplex halimus L. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 20(1), 296–306.

**Zhang, R., Shen, J., Xie, H.-B., Chen, J., & Elm, J. (2021).** The Role of Organic Acids in New Particle Formation from Methanesulfonic Acid and Methylamine. Atmospheric Chemistry and Physics Discussions, October, 1–18.

**Zhang, W. H. ; Jiang, Y. ; Zhu, Q. F. ; Gao, F. ; Dai; S. F. ; Chen, J. and Zhou, G. H.( 2011).** Sodium butyrate maintains growth performance through regulating immune response in broiler chickens. Br. Poult. Sci. 52(3): 292–301.

## Abstract

The current study aimed to find out the protective effect of the aqueous extract of *Teucruim Polium* plant to reduce the effect of liver damage caused by the preservative sodium benzoate C6H5OONa in male rabbits *Oryctolagus cuniculus* by studying some biochemical parameters and some physiological changes The study was conducted in the animal house of the College of Pharmacy / University of Karbala for the period from the first of October 2021 until the first of December 2021, 40 male rabbits were used, whose weights ranged from (1000-1500) grams and their ages ranged between (5-11) Approximately a month ago, it was divided into eight groups comprising (5 animals for each group), the first group G1 was considered as a negative control group without treatment and the second group G2 was orally dosed with sodium benzoate at a concentration of 250 (mg/kg) of body weight for 30 days The third groups G3, the fourth G5 and the fifth G6 were dosed orally with aqueous extract of *Teucruim Polium* at a concentration (mg/kg) 150, 200 and 250 respectively daily for 30 days, while the sixth groups G6, seventh G7 and eighth G8 were orally dosed with aqueous extract of *Teucruim Polium* at a concentration of (mg/kg). 150, 200, and 250 respectively, then she was dosed with sodium benzoate at a concentration of 250 (mg/kg) during the same day

Blood samples were collected in the eight groups one month after dosing to measure the following parameters: levels of liver enzymes aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), alkalinephosphatase (ALP), urea (urea), creatinine and blood electrolytes that contained the sodium ion ( Na), Calisum ion (Ca), K)

Potassium ion, Catalase enzyme (CAT) antioxidants and GSH glutathione. The parameters of total cholestrol (TC), total triglyceride (TG), high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL) and weight changes were measured, as well as liver tissue sections were taken for the purpose of studying histological changes, and we obtained the following results:

Oral administration to experimental animals with sodium benzoate daily for 30 days, both functionally and histologically, resulted in:

There was a significant increase at the probability ($P<0.05$) in ALP, AST, ALT, urea, creatinine, cholesterol, TG and HDL, and a significant decrease at the probability level ($P<0.05$) in each of GSH, CAT, sodium, potassium, calcium and HDL when compared with the negative control group.

Histological changes in the liver tissue were represented by the occurrence of degeneration and necrosis of hepatocytes, severe expansion of the sinusoids, congestion and expansion of the central vein and irregularity of the hepatic cords, infiltration of some hepatocytes compared with the negative control group.

As for the oral administration of experimental animals with aqueous extract of *Teucruim Polium* for 30 days in the extract groups, it showed that there was a significant increase at the probability level ($P<0.05$) in the level of each of GSH, CAT, calcium, LDL and HDL, and no significant difference in the concentration of liver enzymes ALT, AST, urea and creatinine And there was a significant decrease at the probability level ($P<0.05$) in the concentration of TG, Cholestrol and ALP when compared with the negative control group.

## Abstract

Treatment with aqueous extract of *Teucruim Polium* plant at a concentration of (200,150) mg/kg of body weight for 30 days caused a slight expansion of the central vein, while hepatocytes appeared normally free of any damage, while some liver cords appeared regularly, and the sinusoids appeared normally, while Concentration (250) mg / kg of body weight showed liver tissue closer to its normal shape, the central vein and hepatocytes appeared closer to normal, and some liver cords were regular And sinusoids naturally

The results of the functional criteria of the protective groups showed a significant increase ($P<0.05$) in the concentration of GSH, CAT, sodium, potassium, calcium and HDL, and a significant decrease at the probability level ($P<0.05$) in the concentration of liver enzymes (ALP, AST, ALT), urea, creatine, TG, Cholestrol and LDL. When compared with the positive control group.

The results of the histological examination of the liver tissue in the protective groups treated with aqueous extract of *Teucruim Polium* plant showed that the liver tissue in the protective group with a concentration of (150) mg / kg of body weight showed a slightly enlarged central vein in addition to the irregularity of some liver cords and a slight expansion in the sinusoids. While hepatocytes and their nuclei appeared normally When the liver tissue, upon microscopic examination, showed the protective aggregates with a concentration of (250,200) mg / kg body weight, the central vein was normal and the hepatic cords were regular, in addition to the appearance of hepatocytes, nuclei and sinusoids closer to normal, which made the tissue under study as close as possible to the normal state except It did not prevent the occurrence of some toxic effects of sodium benzoate in the body

The results on weights also showed a decrease in the body weights of animals in the group dosed with sodium benzoate, while the results showed a slight increase in the weights of the extract groups that were dosed with aqueous extract of *Teucruim Polium* in addition to the protective groups that were dosed with aqueous extract of *Teucruim Polium* in addition to sodium benzoate

We conclude from the current study the extent of the effectiveness of the aqueous extract of *Teucruim Polium* plant in curbing the activity of free radicals and neutralizing the oxidative stress induced by the preservative sodium benzoate in liver tissue and some functional parameters in male rabbits.

**Republic of Iraq Ministry of Higher Education &Scientific Research**

**Research\ University of Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Biology**

# Evaluation of the biological efficacy and protective role of Teucruim Polium in Oryctolagus cuniculus male rabbits treated with sodium benzoate .

By

**Israa Khalaf Abdulkareem**

Biology - University of Karbala / 2016.

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**

2022A.D. 1444 A.H