



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

تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي لاوراق نبات الجنكة بيلوبا *Ginkgo biloba* على التلف الوظيفي والنسجي للجهاز العصبي المركزي الناتج من مادة كلوريد الالمنيوم في ذكور الجرذان البيض

رسالة مقدمة

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

كتبت بواسطة :

نور ماجد حسين جعفر الشعبي

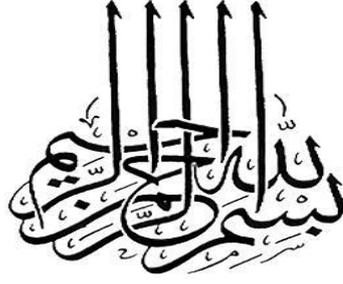
بكالوريوس كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء - علوم حياة 2011

بإشراف :

ا.م.د. هبه علوان عبد السلام السلامي

تشرين الاول / 2022 م

ربيع الاول / 1444 هـ



وَأَنْزَلَ اللَّهُ عَلَيْكَ الْكِتَابَ وَالْحِكْمَةَ وَعَلَّمَكَ مَا لَمْ تَكُن تَعْلَمُ وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا ۝۱۳

صدق الله العلي العظيم

سورة النساء

(الاية 113)

إقرار المشرف على الرسالة

أشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة (تقييم الدور الوقائي للممتلخص المائي لاوراق نبات الجنكة بيلوبا *Ginkgo biloba* على التلف الوظيفي والنسجي للجهاز العصبي المركزي الناتج من مادة كلوريد الألمنيوم في ذكور الجرذان البيض) قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

التوقيع :

المشرف : د. هبة علوان عبد السلام

اللقب العلمي: أستاذ مساعد دكتور

مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ / / 2022

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة الى الاقرار المبين من قبل المشرف على الرسالة ، أحيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة

لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع :

الأسم : د. نصير ميرزا حمزة

اللقب العلمي : استاذ مساعد

رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ / / 2022

إقرار المقوم اللغوي

أشهد إن هذه الرسالة الموسومة (تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي لأوراق نبات الجنكة ببلوبا *Ginkgo biloba* على التلف الوظيفي والنسجي للجهاز العصبي المركزي الناتج من مادة كلوريد الألمنيوم في ذكور الجرذان البيض) التي قدمتها طالبة الماجستير (نور ماجد حسين) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم: د. مسلم مالك الاستاذي

المرتبة العلمية: أستاذ

الكلية والجامعة: جامعة كربلاء – كلية العلوم الإسلامية

التاريخ: / / 2022

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة أدناه ، بإطلاعنا على الرسالة الموسومة (تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي لاوراق نبات الجنكة بيلوبا *Ginkgo biloba* على التلف الوظيفي والنسجي للجهاز العصبي المركزي الناتج من مادة كلوريد الألمنيوم في ذكور الجرذان البيض) وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وكل ما يتعلق بها ووجدنا إنها جديرة بالقبول بتقدير (امتياز) لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

عضو اللجنة

التوقيع :
الاسم : رشا عبد الأمير جواد
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة
التاريخ : / / 2022

رئيس اللجنة

التوقيع :
الاسم : حيدر صالح جفات
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : جامعة الكوفة / كلية العلوم
التاريخ : / / 2022

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :
الاسم : هبة علوان عبد السلام
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة
التاريخ : / / 2022

عضو اللجنة

التوقيع :
الاسم : نصير مرزا حمزه
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة
التاريخ : / / 2022

مصادقة عمادة كلية التربية

أصداق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع :
الاسم : حميدة عيدان الفتلاوي
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة
التاريخ : / / 2022

الإهداء

الى من حملتني وهنا على وهنالى من كان دعائها نوراً على دربي ..الى نور عيني
وجنة احلاميالى معلمتي الأولىامي الحبيبة

الى رمز التضحية والعطاءالى عزي وفخري في الدنيا ..الى النبي الذي اضحى في
الجنان مسكنه ... ابي العزيز رحمه الله واسكنه فسيح جناته

الى رمز الحب والوفاء ... الى شريك حياتي وسندي في الحياة .. زوجي الحبيب.. حمادي
الى من اشد بهم ازري في الحياة ..الى سندي وعونيالى ينبوع المحبة والوفاء ..اخي
سيف ..واختي رماح

الى قرة عيني ومهجة فؤادي .. ورفقاء دربي ..واستمرارية وجودي ..اولادي حسين ومريم
الى طوق نجاتي في زمن الطوفان ... استاذتي التي الهمتني بالعلم والمعرفة ..الى من كانت
عوناً لي واخت لي صديقتي و ملاكي الحارس .. دكتورة هبة

إلى كل من احبتهم واحبوني إلى كل يد امتدت لمساعدتي اهدي ثمرة جهدي

شكر وتقدير

حمدا لمن بيده زمام الأمور ، يصرفها على النحو الذي يريده . فهو الفعال لما يريد ، إذا أراد أمرا فإنما يقول له : كن فيكون . سبحانه قد برئ كلامه من لفظ وحرف . وتقدست أسماؤه . وجلت صفاته . وكانت أفعاله عيون الحكمة ، والصلاة والسلام على النبي العربي الأمي ، أفصح من نطق بالضاد : محمد عبده ورسوله ، وعلى اله وإخوانه من الرسل والأنبياء ، مصابيح الهدى ، وأعلام النجاة ، ومن نحا نحوهم واقتدى بهداهم .

وبعد - بعون الله تعالى - أطيب ما أتمناه ان أتقدم بوافر شكري وتقديري إلى الأستاذة الفاضلة الدكتورة هبة علوان السلامي لما كان لها الفضل في اختيار موضوع البحث وما أبدته لي من توجيهات سديدة وإشراف متواصل خلال مرحلة البحث والحرص على إنجازه بأفضل وأتم وجه ، دعائي لها من الله أن يمن عليها بالصحة والعافية والعمر المديد، كما أتقدم بالشكر والامتنان الى الطبيب الاستشاري في الامراض النسيجية الدكتور نزار جبار متعب (مستشفى الحسين العام) لمساعدته لي في تشخيص النتائج النسيجية و كما اوجه شكري الى أساتذة ومنتسبي قسم علوم الحياة كافة .

يشرفني ويسعدني ان اتقدم بالشكر الجزيل الى عائلتي العزيزة (امي ، حمادي ، صلاح ، حسين ، رحاب ، سيف ، رماح ، زهراء) لمساعدتهم لي في تسهيل الكثير من الصعوبات خلال ايام الدراسة والبحث

ووفاء مني أن أتقدم بوافر شكري وعرفاني إلى كل من مد لي يد العون في إنجاز هذا البحث. ولايفوتني أن أشكر كل من زملائي وزميلاتي من طلبة الدراسات العليا اهدي شكري وتقديري الى كل من غاب اسمه وحضر فضله وخير عمله وفقهم الله جميعا لما فيه خير وعافية

نور

الخلاصة

تهدف هذه الدراسة معرفة الدور الوقائي للمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا *Ginkgo biloba* (GB) ضد التلف الوظيفي والنسجي الحاصل في الجهاز العصبي المركزي والذي يشمل (المخ والمخيخ والحبل الشوكي) والمستحث بمادة كلوريد الالمنيوم Aluminum Chloride ($AlCl_3$) في ذكور الجرذان البيض

اجريت الدراسة في كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء و البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء للمدة من بداية شهر تشرين الثاني 2021 ولغاية شهر شباط 2022. تضمنت هذه الدراسة استخدام 90 جرذ من ذكور الجرذان البيض نوع *Rattus norvegicus* وتراوحت اعمارها بين 2-3 أشهر واوزانها ما بين 200-240 غرام ، تضمنت الدراسة تجربتين هدفت التجربة الاولى تحديد الجرعة المؤثرة النصفية (ED_{50}) للمستخلص المائي لنبات الجنكة من خلال دراسة منحنى الجرعة المؤثرة ، تم استخدام 50 من ذكور الجرذان والتي قسمت عشوائيا الى خمسة مجاميع متساوية (10 حيوان / مجموعة) وتم تجريعها فمويا اربع جرعات متزايدة من المستخلص المائي لنبات الجنكة يوميا (5، 10، 15 و 20 ملغم/كغم) ولمدة 30 يوم ، جمعت عينات الدم بعد نهاية التجربة لدراسة المعايير التالية : تركيز المالونالديهيد (MDA)، الكلوتاتيون المختزل (GSH) ، الكولسترول الكلي (TC) وتركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة (HDL) وكانت الجرعة المؤثرة النصفية للمستخلص تساوي (10 ملغم /كغم / و.ج).

هدفت التجربة الثانية دراسة الدور الوقائي للمستخلص المائي لنبات الجنكة ضد التأثير الضار في الجهاز العصبي والمستحث باستخدام كلوريد الالمنيوم ، تم استخدام 40 من ذكور الجرذان البالغة والتي قسمت عشوائيا الى اربعة مجاميع متساوية (10 حيوان / مجموعة) ، جرعت المجموعة الاولى (G1) 1 مل/ كغم من الماء المقطر وعدت كمجموعة سيطرة سالبة ، جرعت المجموعة الثانية (G2) 10 ملغم /كغم من $AlCl_3$ عدت مجموعة سيطرة موجبة، جرعت المجموعة الثالثة (G3) ب 10 ملغم /كغم من المستخلص المائي لنبات الجنكة ، اما حيوانات المجموعة الرابعة (G4) فقد تم تجريعها ب 10 ملغم /كغم من المستخلص المائي لنبات الجنكة وبعد اربع ساعات جرعت ب 10 ملغم / كغم من $AlCl_3$ يوميا ولمدة شهر .

جمعت عينات الدم بعد تجويع الحيوانات Fasting blood sample لمدة 8 ساعات بعد نهاية التجربة لدراسة المعايير التالية : تركيز انزيم الاستيل كولين استريز الذائب (G1) Acetylcholine esterase (AChE) ، الاستيل كولين المرتبط بالغشاء (G4)

Neuronal Mitochondrial ATPase ، تركيز انزيم Acetylcholine esterase (AChE) ، عامل النخر الورمي (Nmit ATPase) ، انزيم Cytochrome C oxidase (COX) ، الفالونالديهيد (MDA) ، Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) ، الكالسيوم (Ca⁺) ، الحديد ، Reduced Glutathion (GSH) المختزل ، Free iron (Fe⁺) الحر ، هرمون الكورتيزول Cortisol ، هرمون المحفز للقشرة الكظرية ، Adrenocorticotropin Hormone (ACTH) و هرمون النمو Growth hormone (GH)

اظهرت نتائج هذه التجربة ان التجريع الفموي ب AlCl₃ أدى الى حدوث ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز انزيم AChE (G1) ، Cortisol ، Fe⁺ ، Ca⁺ ، MDA ، TNF- α ، ACTH و انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل تركيز انزيم AChE (G4) ، Nmit ATPase ، COX ، GSH و GH مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

فيما اظهرت المجموعة المعاملة ب ED₅₀ للمستخلص المائي لنبات الجنكة حدوث ارتفاع معنوي (P<0.05) في تركيز في معدل تركيز Nmit ATPase ، COX و GSH مع حدوث انخفاض معنوي (P>0.05) في تركيز AChE (G1) ، Fe⁺ و عدم وجود فرق معنوي (P>0.05) في معدل تركيز انزيم AChE (G4) ، Cortisol ، Ca⁺ ، MDA ، TNF- α ، ACTH و GH مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

كما بينت التجربة ان التجريع الفموي ب AlCl₃ مع التجريع الفموي بال ED₅₀ من المستخلص المائي لنبات الجنكة أدى الى عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) في معدل تركيز AChE (G1) ، Cortisol ، Fe⁺ ، Ca⁺ ، GSH ، MDA ، TNF- α ، COX ، Nmit ATPase ، AChE(G4) ، ACTH و GH مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة.

اظهرت نتائج الفحص النسجي ان التجريع الفموي ب AlCl₃ ولمدة 30 يوم أدى الى حدوث تلف في الخلايا العصبية مع تغيرات تنكسية واضحة في النسيج العصبي بعد المعاملة بصبغة H&E ، في حين يظهر من معاملة النسيج العصبي بصبغة السلفر Silver Stain ظهور واضح للويحات البيتا امليويد A β منتشرة في نسيج المخ و المخيخ والحبل الشوكي ، كما يلاحظ التركيب الطبيعي للنسيج العصبي بصبغتي H&E بالنسبة للمجموعة التي جرعت فمويًا ب AlCl₃ مع التجريع الفموي بالمستخلص المائي لنبات الجنكة وانعدام ترسب البيتا امليويد A β في النسيج العصبي بعد التصبيغ بصبغة السلفر مقارنة مع مجموعة السيطرة .

يستنتج من الدراسة الحالية ان مادة كلوريد الالمنيوم ($AlCl_3$) تسبب تغيرات مرضية واضحة للجهاز العصبي المركزي وتؤكد ان المعاملة بالجرعة النصف مؤثرة للمستخلص المائي لنبات الجنكة (10 ملغم /كغم) لها دور الوقائي ضد التلف الحاصل في النسيج العصبي المستحث بمادة $AlCl_3$ في ذكور الجرذان البيض .

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
I	الخلاصة	
IV	المحتويات	
VIII	قائمة الجداول	
IX	قائمة الاشكال والصور	
XII	قائمة المختصرات	
الفصل الاول المقدمة		
1	المقدمة	
الفصل الثاني استعراض المراجع		
4	الالمنيوم (Al) Aluminum	1-2
4	خصائص الالمنيوم الفيزيائية والكيميائية و Physical & chemical properties of Aluminum	2-2
5	تأثير الالمنيوم على البيئة الاحيائية Effect of Aluminum in living environment	3-2
6	أستخدامات الالمنيوم Uses of Aluminum	4-2
7	الامتصاص والتاثير الخلوي للالمنيوم Absorption and cellular effect of aluminum	5-2
9	مركبات الالمنيوم Aluminum compounds	6-2
9	كلوريد الالمنيوم Chloride of aluminum	1-6-2
9	الخصائص السمية لكلوريد الالمنيوم Toxic properties of aluminum chloride	2-6-2
10	الجهاز العصبي المركزي Central Nervous system	7-2
11	التركيب النسيجي للدماغ Histological structure of the brain	8-2
11	قشرة المخ Cerebrum cortex	1-8-2
12	المخيخ Cerebellum	2-8-2
13	الحبل الشوكي Spinal Cord	3-8-2
13	التاثير السمي للالمنيوم على الجهاز العصبي Toxic effect of aluminum on the nervous system	9-2
14	امراض الجهاز العصبي Nervous system diseases	10-2
14	مرض الزهايمر Alzheimer's Disease	1-10-2
16	الببتا - امليويد β-Amyloid	11-2
19	الاستيل كولين و الاستيل كولين استريز Acetyl choline and acetyl choline esterase (AChE)	12-2
21	سايتوكروم Cytochrome C Oxidase (COX)	13-2
22	عامل التنخر الورمي الفا (TNF-α) Tumor necrosis factor-α	14-2
23	الهرومون المحفز لقشرة الغدة الكظرية (ACTH) Adrenocorticotropin Hormone	15-2
23	هرمون الكورتيزول Cortisol	16-2
25	هرمون النمو (GH) Growth hormone	17-2
25	النبات (الجنكة بيلوبا) Ginkgo biloba	18-2

26	Medical Importance of نبات الجنكة بيلوبا Ginkgo biloba(GB	19-2
28	Ginkgo biloba and مرض الزهايمر Alzheimer's disease	20-2
الفصل الثالث المواد وطرائق العمل		
30	Materials المواد	1-3
30	الاجهزة	1-1-3
31	الادوات	2-1-3
31	Chemical Materialeالمواد الكيميائية	3-1-3
33	حيوانات التجربة	2-3
33	جمع النباتات المستخدم وتحضير المستخلص plant used	3-3
35	تصميم التجربة	4-3
35	التجربة الاولى experiment 1	1-4-3
36	التجربة الثانية experiment 2	2-4-3
36	سحب الدم	3-4-3
37	قياس تركيز الانزيمات	5-3
38	قياس تركيز انزيم الاستيل كولين استريز Esterase (AChE) الذائب والمرتبطة بالغشاء Acetylcholine	1-5-3
38	المحاليل المستخدمة	1-1-5-3
39	تحضير النسيج	2-1-5-3
40	قياس تركيز انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase	2-5-3
41	قياس سايتوكروم Cytochrome C Oxidase	3-5-3
42	قياس عامل التنخر الورمي (TNF- α) factor alpha	4-5-3
42	تحضير معايير التخفيف Dilute standard	1-4-5-3
43	تحضير محلول Streptavidin –HRP	2-4-5-3
44	الفحوصات الكيموحيوية	6-3
44	تقدير تركيز المالونالديهيد في مصل الدم (MDA) Malondialdehyde	1-6-3
45	تقدير تركيز الكلوتاتيون المختزل في مصل الدم Reduced Glutathione (GSH) الدم	2-6-3
47	تقدير تركيز الكوليسترول الكلي في مصل الدم Cholesterol (TC) Total	3-6-3
48	تقدير تركيز الشحوم البروتينية العالية الكثافة في مصل الدم High Density Lipoprotein (HDL)	4-6-3
50	قياس تركيز الايونات	7-3
50	تقدير تركيز الكالسيوم في مصل الدم Serum Calcium	1-7-3
51	قياس تركيز الحديد الحر في المصل Serum Iron	2-7-3
53	قياس تركيز الهرمونات	8-3
53	قياس تركيز هرمون الكورتيزول Cortisol	1-8-3
54	قياس تركيز الهرمون المحفز لقشرة الغدة الكظرية Adrenocorticotropin Hormone (ACTH)	2-8-3
55	قياس تركيز هرمون النمو Growth hormone (GH)	3-8-3
55	التحضيرات النسجية Histological preparations	9-3
55	تحضر العينات للدراسة النسجية	1-9-3
56	الانكاز (Dehydration)	2-9-3
56	الترويق (Clearing)	3-9-3
56	التشريب والطمير (Infiltration and Embedding)	4-9-3

56	التشذيب والتقطيع (Trimming and cutting)	5-9-3
56	التصبيغ والتحميل Staining and Mounting	6-9-3
56	التصبيغ بصبغة هيماتوكسيلين-ايوسين Haematoxylin-Eosin stain	1-6-9-3
57	التصبيغ بصبغة الفلور Silver Stain	2-6-9-3
58	التصوير المجهرى Microphotography	10-3
58	التحليل الإحصائي Statistical Analysis	11-3
الفصل الرابع النتائج		
60	التجربة الأولى Experiment 1 تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا Determination of ED50 of aquatic biloba extract of Ginkgo biloba	1-4
60	تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على بعض المعايير الكيموحيوية	1-1-4
60	تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز المالنوالديهايد MDA في مصل ذكور الجرذان	1-1-1-4
61	تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الكلوتاتيون المختزل GSH في مصل ذكور الجرذان	2-1-1-4
61	تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الكوليستيرول الكلي TC في مصل ذكور الجرذان	3-1-1-4
62	تأثير الجرعة المختلفة من مادة للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C في مصل ذكور الجرذان	4-1-1-4
62	التجربة الثانية	2-4
62	تأثير كلوريد الألمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على المعايير الانزيمية	1-2-4
62	التغيرات في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز الذائب	1-1-2-4
63	التغيرات في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز المرتبط بالغشاء	2-1-2-4
64	التغيرات في معدل Nuronal mitochondrial ATPase تركيز انزيم	3-1-2-4
64	التغيرات في معدل تركيز سايتوكروم CYT c oxidase	4-1-2-4
64	التغيرات في معدل تركيز TNF- α	5-1-2-4
64	تأثير كلوريد الألمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز الكلوتاتيون المختزل GSH والمالنوالديهايد MDA	2-2-4
64	التغيرات في معدل تركيز الكلوتاتيون المختزل	1-2-2-4
65	التغيرات في معدل تركيز المالنوالديهايد	2-2-2-4
66	تأثير تأثير كلوريد الألمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز بعض الايونات	3-2-4
66	التغيرات في معدل تركيز الكالسيوم	1-3-2-4
67	التغيرات في معدل تركيز الحديد الحر في المصل	2-3-2-4
67	تأثير كلوريد الألمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز بعض الهرمونات	4-2-4
67	التغيرات في معدل تركيز هرمون الكورتزول	1-4-2-4
68	التغيرات في معدل تركيز الهرمون المحفز لقشرة الغدة الكظرية	2-4-2-4
67	التغيرات في معدل تركيز هرمون النمو	3-4-2-4
68	التغيرات النسيجية	5-2-4

68	تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والمستخلص المائي المعامل بمادة كلوريد الالمنيوم على نسيج المخ	1-5-2-4
73	تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والمستخلص المائي المعامل بمادة كلوريد الالمنيوم على نسيج المخ	2-5-2-4
78	تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والمستخلص المائي المعامل بمادة كلوريد الالمنيوم على نسيج الحبل الشوكي	3-5-2-4
الفصل الخامس المناقشة		
83	تأثير كلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الانزيمية (AchE (G1) , AchE (G4) , Nuroal mitochondrial) (TNF α و ATPase, CYT c oxidase (COX)	1-5
86	تأثير المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والدور الوقائي للمستخلص المعامل بمادة كلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الانزيمية (AchE (G1) , AchE (G4) , Nuroal) TNF α و mitochondrial ATPase, CYT c oxidase (COX)	2-5
88	تأثير كلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الكيموحيوية (الكولتاتيون المختزل GSH ، المالدنيهايد MDA)	3-5
89	تأثير المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والدور الوقائي للمستخلص المعامل بمادة كلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الكيموحيوية الكولتاتيون المختزل GSH ، المالدنيهايد MDA	4-5
90	تأثير كلوريد الالمنيوم على معدل تركيز بعض الايونات (الكالسيوم +Ca والحديد الحر + Fe)	5-5
92	تأثير المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والدور الوقائي للمستخلص المعامل بمادة كلوريد الالمنيوم على معدل تركيز بعض الايونات (الكالسيوم +Ca والحديد الحر +Fe)	6-5
93	تأثير كلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الهرمونية (Cortisol , ACTH وGH)	7-5
95	الدور الوقائي لمستخلص الجنكة بيلوبا تأثير المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والدور الوقائي للمستخلص المعامل بمادة كلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الهرمونية (Cortisol ، ACTH وGH)	8-5
97	تأثير كلوريد الالمنيوم على النسيج العصبي (المخ والمخيخ والحبل الشوكي)	9-5
98	الدور الوقائي لمستخلص الجنكة بيلوبا على النسيج العصبي (المخ والمخيخ والحبل الشوكي)	10-5
الفصل السادس الاستنتاجات والتوصيات		
100	الاستنتاجات	
101	التوصيات	
102	المصادر	
131	الخلاصة باللغة الإنكليزية	

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	التسلسل
30	جدول يبين الاجهزة المستخدمة حسب المنشأ والشركة المصنعة	1-3
31	جدول يبين الادوات الزجاجية والبلاستيكية حسب المنشأ والشركة المصنعة	2-3
31	جدول يبين المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة المصنعة	3-3
63	جدول يبين تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على المعايير الانزيمية في ذكور الجرذان البيض	1-4
65	جدول يبين تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH والمالونالديهيد MDA في ذكور الجرذان البيض	2-4
66	جدول يبين تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز بعض الايونات في ذكور الجرذان البيض	3-4
67	جدول يبين تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز بعض الهرمونات في ذكور الجرذان البيض	4-4

قائمة الاشكال والصور

الصفحة	العنوان	التسلسل
16	شكل يوضح الملامح المرضية الاساسية لمرض الزهايمر التي تتضمن انفلاق ال APP وتكوين β A، تكوين وترسب NFTs وخلل في وظيفة المشبك العصبي نتيجة تجمع β A	1-2
19	شكل يوضح مسارات تحلل وانشطار ال APP في خلايا الدماغ	2-2
26	صورة أوراق نبات الجنكة بيلوبا	1-2
28	شكل يوضح تولد الموارد والمسارات الرئيسية للأكسدة في الشخوخة	3-2
34	شكل تصميم التجربة	1-3
60	شكل يوضح تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز المالونالديهيد MDA بعد شهر	1-4
61	شكل يوضح تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH بعد شهر واحد	2-4
61	شكل يوضح تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الكوليسترول الكلي TC بعد شهر واحد	3-4
62	شكل يوضح تأثير الجرعة المختلفة من مادة للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL بعد شهر واحد	4-4
69	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور جرذان مجموعة السيطرة ولمدة شهر ، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للخلايا العصبية والخلايا الدبقية (H&E 400X)	1-4
70	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بمادة كلوريد الالمنيوم بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسية واضحة في نسيج المخ مع ظهور الفجوات في النسيج العصبي واحتقان دموي واضح في نسيج الدماغ مع انحلال انوية الخلايا العصبية (H&E 400X)	2-4
70	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر ، اذ يلاحظ حدوث التركيب الطبيعي للنسيج و الخلايا العصبية (H&E 400X)	3-4
71	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم مع التجريب ب مادة AIC3 بتركيز	4-4

	10 ملغم / كغم ولمدة شهر، اذ يلاحظ عودة التركيب الطبيعي لنسيج المخ ظهور القليل من الفجوات في النسيج (H&E 400X)	
71	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ولمدة شهر، اذ يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد BA (Silver Stain 400X)	5-4
72	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بمادة AlCl ₃ بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر، اذ يلاحظ ظهور واضح لويحات البيتا امليويد BA (Silver Stain 400X)	6-4
72	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر، يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد BA (Silver Stain 400X)	7-4
73	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز ب 10 ملغم / كغم مع التجريب ب مادة AlCl ₃ بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر، اذ يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد BA (Silver Stain 400X)	8-4
74	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة لمدة شهر، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج المخ والارتباط بين الطبقتين الحبيبية Granular layer (G) والطبقة الجزينية (M) Molecular layer (H&E 400X)	9-4
74	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في المجموعة المعاملة بمادة كلوريد الالمنيوم بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، يلاحظ فيها حدوث تغيرات تحطمية واضحة في نسيج المخ و فقدان الانوية وانحلالها اضافة الى فقدان الارتباط بين الطبقتين الحبيبية والجزينية (H&E 400X)	10-4
75	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي نبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، يلاحظ التركيب الطبيعي للطبقتين الحبيبية والجزينية (H&E 400X)	11-4
75	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي نبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم مع التجريب بمادة AlCl ₃ بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، يلاحظ التركيب الطبيعي للطبقتين الحبيبية والجزينية مع وجود فسحة بين الطبقتين (H&E 400X)	12-4
76	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ولمدة شهر، يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد BA (Silver Stain 400X)	13-4
76	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بمادة AlCl ₃ بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، اذ يلاحظ ظهور واضح للويحات البيتا امليويد BA (Silver Stain, 400X)	14-4
77	صورة تبين ت مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد BA (Silver Stain, 400X)	15-4
77	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز ب 10 ملغم / كغم مع التجريب ب مادة AlCl ₃ بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، اذ يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد BA (Silver Stain, 400X)	16-4
78	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ولمدة شهر، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج الحبل الشوكي مع ظهور واضح للخلايا النجمية (H&E 400X)	17-4
79	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بمادة كلوريد الالمنيوم بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسية في نسيج الحبل الشوكي مع ضمور و انحلال الخلايا العصبية و ظهور الفجوات في النسيج مع وجود احتقان دموي (H&E 400X)	18-4
79	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للنسيج والشكل النجمي الواضح للخلايا العصبية (H&E 400X)	19-4

80	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم مع التجريب بمادة AlCl3 بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج الحبل الشوكي (H&E 400X)	20-4
80	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ولمدة شهر ، يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد (Silver Stain BA 400X)	21-4
81	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بمادة AlCl3 بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، يلاحظ ظهور واضح للويحات البيتا امليويد (Silver Stain 400X) BA	22-4
81	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر ، يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد (Silver Stain 400X) BA	23-4
82	صورة تبين مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم مع التجريب بمادة AlCl3 بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، اذ يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد (Silver Stain 400X) BA	24-4

قائمة المختصرات

المختصرات	المصطلحات
ACH	Acetyl choline
AChE	Acetyl choline esterase
ACTH	Adrenocorticotropin Hormone
ACRH	Adrenocorticotropin releasing hormone
Al	Aluminum
AlCl3	Aluminum Chloride
AD	Alzheimer's disease
APP	Amyloid Precursor Protein
AICD	APP intercellular C-terminal domain
AVP	Arginin vasopressin
BaX	Bcl-2 Associated X
Bcl-xL	B-cell lymphoma-extra large
A β	Beta Amyloid
BBB	Blood brain barrier
Ca+	Calcium
CCL1	Chemokine (CC motif) 1
CRF	Corticotropin releasing factor
CDK	cyclin-dependent kinases
COX	Cytochrome C Oxidase
P-450 _{sc}	cytochrome P450 side-chain cleavage
Fe+	Free iron
GPCR	G protein coupled receptor
GB	Ginkgo biloba
GSH	Glutathion
GH	Growth Hormone
GHRH	Growth Hormone Releasing Hormone
GHSR	Growth Hormone Secretagogue Receptor
HDL	High Density Lipoprotein

High Performance Liquid Chromatography	HPLC
Hydrogen peroxide	H ₂ O ₂
Hydroxyl radical	OH ⁻
Hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis	HPA
Insulin like Growth Factor -1	IGF-1
Interleukin 6	IL-6
Lactoperoxidase	LPO
lipoprotein receptor related protein 1	LRP1
Malondialdehyde	MDA
mitochondrial permeability transition pore	mPTP
NeuroFibrillary Tangles	NFTs
Neurofibrillary Tangles	NFT
Neuronal Mitochondrial ATPase	Nmit ATPase
Nitric oxide	NO
Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B	NF-κB
Paired Helics Fibers	PHFs
peripheral benzodiazepine receptor	PBR
Peroxy nitrate	ONOO ⁻
platelet activating factor	PAF
protein kinase	PKA
Reactive nitrogen species	RNS
Reactive Oxygen Species	ROS
Senile Plaques	SP
Super oxide	O ₂ ⁻
Glycogen \ynthase kinase3 Beta	GSK-3β
Total Cholesterol	TC
Tumor Necrosis Factor-α	TNF-α
World Health Organization	WHO
β-galactosidase	β-GAL

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

المقدمة

Introduction

ان مشكلة التلوث البيئي هي من المشاكل الرئيسية التي ينصب عليها اهتمام البشر لما لها من انعكاسات على الأنشطة الاقتصادية والاجتماعية المختلفة ، اذ تتعرض البيئة لمختلف أنواع الملوثات مما يؤثر سلباً على العديد من الخصائص البيئية (Yadav *et al*, 2021) ، تعد المخلفات الصناعية من اهم مصادر التلوث وقد تم تسليط الضوء عليها من قبل العديد من الجمعيات الخاصة بحماية البيئة ومنظمة الصحة العالمية (WHO)، يعد الالمنيوم احد المعادن التي تساهم في تلوث البيئة وتشكل خطرا على صحة الانسان والحيوان والنبات (Rodríguez & Mandalunis, 2018; Artiola, 2019)

يستخدم الالمنيوم على نطاق واسع في مجال الصناعات الغذائية اذ يستخدم في صناعة العلب التي تستعمل لتعبئة المواد الغذائية والمشروبات الغازية ومواد التجميل والتنظيف والمستحضرات الدوائية (anti acid) ومعاجين الاسنان والأغذية الجاهزة والاولاني المنزلية ومؤخرا تم استبدال النحاس بالالمنيوم في صناعة الاسلاك الكهربائية بشكل كبير (Alasfar& Isaifan, 2021) ، كما تسهم المخلفات السائلة للمصانع في تلوث المياه الجوفية والتربة الصالحة للزراعة لذلك نجد ان الالمنيوم موجود في انسجة النباتات وجذورها مما يؤثر سلبا في نمو هذه النباتات (Mold *etal*, 2019) .

يدخل الالمنيوم الى الجسم عن طريق القناة الهضمية من خلال الغذاء ومياه الشرب او عن طريق الجهاز التنفسي وذلك باستنشاق غبار الالمنيوم مؤديا الى اضطرابات رئوية عديدة ، او عن طريق التلامس الجلدي لمستحضرات التجميل والأدوية التي تحتوي على هيدروكسيد الالمنيوم (Soni *et al* 2001) ، ويعد الدماغ ، الكبد والكلية اكثر الأعضاء تأثرا في تراكم هذا العنصر بالإضافة الى الاعضاء الأخرى بضمنها الخصى والرئتين (Wang *et al* 2020) ، فقد وجد ان التعرض الدائم للتراكيز العالية من الالمنيوم يؤدي الى الإصابة بالعديد من المشاكل الصحية اهمها ضمور الجهاز العصبي المركزي وفقدان الذاكرة وعدم القدرة على الانتباه وتليف وضمور خلايا الرئة وتلف وتحطم خلايا الكبد وفقر الدم وقد يرتبط التعرض الدائم للالمنيوم بخطر الإصابة بمرض الزهايمر (Missel *et al*, 2005) .

قدرت منظمة الصحة العالمية أن 80٪ من الناس في مختلف أنحاء العالم يعتمدون على الأدوية العشبية كجزء أساسي في صحتهم (Dekanski *et al* 2009) . ان العلاجات العشبية

لها خصائص طبية كمضادات للاكسدة ، ويعد نبات الجنكة بيلوبا من النباتات العشبية الطبية ذات الخصائص العلاجية المتنوعة ، اذ يعد من النباتات الغنية بمضادات الأكسدة فقد تم استخدام الجنكة بيلوبا في الطب الصيني التقليدي قبل اكثر من 5000 سنة ، ومن خلال الدراسات وجد ان نبات الجنكة يحتوي على مستويات عالية من مركبات الفلافونويد والتربينويدات ، وهي مركبات معروفة بتأثيراتها القوية المضادة للاكسدة ، لذا جاءت فكرة استخدام نبات الجنكة بيلوبا كمادة وقائية ضد الاعتلالات العصبية التي ممكن ان تسببها مادة كلوريد الالمنيوم نتيجة لامتلاكها العديد من الخواص العلاجية ، ومن الناحية الدوائية فان اهم المكونات الفعالة للجنكة بيلوبا هي الجيكولوسيدات والتربينات والفلافونويد والتي تعمل كمضادات للاكسدة وإزالة الجذور الحرة التي تمكنها من اكتساح انواع الاوكسجين التفاعلية ROS مما يمنحها تأثيرات مضادة للاكسدة التي بدورها تحمي الجسم من العديد من المشاكل الصحية المتسببة بفعل الجذور الحرة ، علاوة على ذلك تعمل على تقليل بيروكسيدية الدهون في غشاء الخلية العصبية وحماية الخلايا العصبية من الإجهاد التأكسدي (Oken,2022).هدفت الدراسة الحالية معرفة الدور الوقائي للعديد من مضادات الأكسدة الموجودة في نبات الجنكة في علاج الكثير من حالات الإجهاد التأكسدي ونظراً لقلّة الدراسات التي تناولت تأثير $AlCl_3$ على الجهاز العصبي في الجسم لاسيما الانزيمات الخاصة بالوظائف المعرفية ومنها انزيم الاستيل كولين استريز Acetylcholine esterase (AChE) و انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase لذا هدفت الدراسة الحالية الى :

الجانب الفسلجي ويتضمن :-

- 1- دراسة الدور الوقائي للمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا ضد الإجهاد التأكسدي المستحث بمادة $AlCl_3$
- 2- قياس مستوى الانزيمات (AChE) الذائب والمرتبط ، Nmit ATPase ، COX ، TNF- α)
- 3- قياس مستوى مؤشرات الاكسدة مضادات التأكسد (GSH,MDA)
- 4- قياس بعض الهرمونات (الكورتزول Cortisol ، ACTH و GH)
- 5- قياس مستوى بعض الايونات (Ca^{+} Fe^{+})

الجانب النسجي

- 1- دراسة التالف النسجي المتسبب عن $AlCl_3$ في نسيج المخ ، المخيخ والحبل الشوكي .

2- دراسة الدور الوقائي للمستخلص المائي لاوراق نبات الجنكة بيلوبا في نسيج المخ ، المخيخ والحبل الشوكي .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

استعراض المراجع

Literature Review

1-2 الألمنيوم (Al) Aluminum

الألمنيوم (Aluminum) هو عنصر يوجد بشكل ايون موجب الشحنة ثلاثي التكافؤ يوجد في معظم أنواع الأنسجة الحيوانية والنباتية وفي المياه الطبيعية، وقد عد العنصر الثالث الأكثر انتشاراً والأكثر وفرة في قشرة الأرض بعد الاوكسجين والسيليكون، ويمثل ما يقرب من 8 ٪ من إجمالي المكونات المعدنية هو كثير التفاعل في الحالة الطبيعية اذا لا يوجد بشكل حر بل يكون على هيئة مركبات أي يندمج مع مركبات اخرى مثل كلوريد، نترات، كبريتات فوسفات والسليكات (Olanrewaju, et al., 2018). ان مصدر الألمنيوم هو أوكسيد الألمنيوم Al_2O_3 الذي يستخرج من البوكسيت (هو الخام الطبيعي او الصخر الرسوبي الذي يصنع منه معظم الألمنيوم)، يعد هانز أورستد أول من اكتشف عنصر الألمنيوم عام 1825 والذي فاعل كلوريد الألومنيوم اللامائي مع ملغمة البوتاسيوم (الملغمة سبيكة أي معدن مع الزئبق)، مما أدى إلى الحصول على كتلة من فلز يشبه القصدير (Dobrzański, 2021) كما عد فريدرش فولر أول من وصف عنصر الألمنيوم بشكل علمي مفصل للخواص الفيزيائية له في عام 1845 (Hijmans, 2022)

2-2 خصائص الألمنيوم الفيزيائية والكيميائية: Physical & chemical properties of Aluminum

يعد عنصر الألمنيوم فلز خفيف مرن ذو لون ابيض فضي، يبلغ عدده الذري 13 ووزنه الذري 27 وكثافته 7.2 غم/سم³ ودرجة انصهار 660 م ودرجة غليانه 2467 م بالإضافة الى كونه غير قابل للذوبان في الماء (Meng et al, 2022)، كما يعد ال AL موصل جيد للحرارة والكهربائية ومقاوم جيد للصدأ (Varshney & Kumar, 2021).

ان توفر الألمنيوم حياتياً يعتمد بشكل مباشر على حالات الاكسدة للألمنيوم ثلاثي التكافؤ داخل الكائن الحي اذ يرتبط الألمنيوم في هذه الحالة بقوة مع الروابط الواهبة للأوكسجين مثل معقد الستريت الذي يغير مسار العديد من معقدات الألمنيوم عند التحلل المائي مكوناً مركبات متعددة الانوية وتعد هذه المحاليل من المحاليل الشحيحة لذلك وجب الاخذ بنظر الاعتبار التغيرات التي يحصل في استقراره مركبات الألمنيوم والذي يعود الى العديد من الروابط المهمة فالمعقد الكيميائي

المائي للألمنيوم يؤثر على سمية الألمنيوم (Harris, 2002; Berthon, 1996; *el al.*)، بالإضافة الى ذلك فإن الألمنيوم يوجد عادةً متحداً مع عناصر اخرى كالأوكسجين والسليكون واوكسيد الحديد (Epstein, 2006).

3-2 تأثير الألمنيوم على البيئة الاحيائية **Effect of Aluminum in living environment**

يعد الألمنيوم من أكثر العناصر انتشاراً، اذ لا تستطيع الاحياء تجنب التعرض له فهو يأتي من عدة مصادر لانه معدن متفاعل كيميائياً (Yokel *et al.*, 1996). يتواجد في البيئة اعتماداً على صيغته الكيميائية وصفات النظام البيئي المتواجد فيه ، كما يتواجد الألمنيوم بشكل رئيسي على شكل مركبات غير ذائبة عند pH اعلى من 5.5 لكن في حال تواجدت كميات كبيرة من المواد العضوية غير الذائبة في الماء او الاحماض الد'بالية humic (مادة عضوية متحللة لها خواص السماد) فإنها من الممكن ان تتحد مع الألمنيوم و تؤدي الى زيادة تركيزه في الجداول والبحيرات ومن العوامل الاخرى التي تؤثر على انتشار الألمنيوم في المحيط هو تنوع المركبات الكيميائية وسير حركة المياه ، وتركيب المعادن المتواجدة ضمن سطح الارض (ISO, 1996).

يرتبط الألمنيوم عادة ببعض الاحماض الد'بالية في مياه النهر (Chen *et al.*, 2022) وتكون سمية الألمنيوم للأسماك في المياه العذبة عند pH مقاربة ل 5.5 عالية جدا بينما تقل سمية الألمنيوم عندما يصل pH الى 6.5 وتظهر السمية فقط عند تكوين مركب هيدروكسيد الألمنيوم الذي يتواجد كمركب احادي ذائب غير عضوي (Sterling *et al.*, 2020)

على الرغم من تواجد الألمنيوم في كميات قليلة في الكائنات الحية لكنه يتواجد بكميات كبيرة في المحيط الخارجي وتكمن اهمية الألمنيوم بقدرته على دخول اجسام الكائنات الحية بواسطة الطعام ومياه الشرب فمن الممكن ملاحظة التأثيرات الضارة للألمنيوم على الاحياء التي تكون بتماس مع الماء مثل النبات (Zhao & Shen, R, 2018 ; Sarker *et al.*, 2019) من خلال تأثيره على مستوى امتصاص الفسفور من قبل النباتات التي تنمو في تربة حامضية ولها القابلية على التعايش بوجود الألمنيوم (Tang *et al.*, 2022).

علاوة على ذلك يحتوي الهواء على مركبات الألمنيوم المتكونة نتيجة لوجوده في التربة الجافة ، وفي رماد السجائر ومصادر احتراق الفحم (Amer, 2019) ، كما اوضحت دراسة تأثير الانبعاثات من المصانع الحاوية على مركبات الألمنيوم التي تقوم بعملية دمج معدن الألمنيوم مع

بعضه (اللحيم welding) على الأشخاص العاملين مما أدى الى إصابة العديد منهم بمرض ذات الرئة وكذلك وجود خلل في وظائف الرئة يصاحبه صعوبة في التنفس (Abidin *et al*,2020) فضلا عن تواجده في الادوات المنزلية ومحيط العمل على هيئة غبار اوكسيد الالمنيوم (Epstein,2006).

4-2 استخدامات الالمنيوم :Uses of Aluminum

تستخدم املاح الالمنيوم كمادة خاترة (coagulants) في معالجة المياه نتيجة لاختزال عدد الجزيئات الصغيرة ولتحسين لون الماء وفي حال أتمام المعالجة بشكلها الامثل فان نسبة الالمنيوم في الماء المعالج تكون اقل من نسبته في المياه الجوفية (Mold *et al*. 2019; Redgrove *et al*. 2019). فضلا عن استخدامه في صناعة الاوعية و مواد الطبخ وقد بينت دراسة أجريت لتحديد نسبة الالمنيوم المترشح من الأوعية المصنوعة من الالمنيوم وتأثيرها على المواد الغذائية اذا تم أخذ الاوعية من منشآت صنع مختلفة (مصر والهند) وعند استخدام اللحم المثلوم مع مياه الشرب ومياه الحنفية ، لوحظ ان استخدام مياه الحنفية ادى الى ترشيح للالمنيوم اكثر من مياه الشرب لكلا المنشأتين بالإضافة الى زيادة تركيزه عند اضافة كل من الملح وحامض الستريك الى مستخلص اللحم (Al Zubaidy *et al*., 2011; Alasfar & Isaifan ,2021) ومن المتعارف عليه ان اكثر من نصف اوعية الطبخ مصنوعة من الالمنيوم بسبب سعر بيعه المنخفض وسرعة تسخينه وقد ازداد الاهتمام بمعدن الالمنيوم نتيجة لدخوله في غذاء وجسم الانسان ، وتؤدي الأوساط الحامضية الى تآكل كميات كبيرة من الالمنيوم من اوعية الطبخ المصنوعة من الالمنيوم مثل صلصات الطماطم (Noemie *et al*., 2022 ; Alasfar & Isaifan,2021).

يتواجد الالمنيوم في الغذاء بشكل طبيعي او في مواد تغليف الطعام كذلك يتواجد في الغذاء المصنوع من البطاطا والسبانغ ومواد انتاج الحليب ومن المحتمل ان يحتوي غذاء الرضع على نسبة من الالمنيوم في حال اعتمد على الحليب الصناعي وخاصة حليب الصويا ،وقد تم حساب تركيز الالمنيوم في الطعام في الكثير من الدول الغربية ،وبشكل عام يهتم يدخل الالمنيوم جسم الانسان عن طريق الطعام وفي الأشخاص الذين يأخذون مضادات الحموضة وادوية الحساسية بشكل منتظم وسوائل الديلزة وبعض اللقاحات ، من الممكن ان يصل مستوى الالمنيوم عند هؤلاء الأشخاص الى 5 غم /يوم (WHO,1997; Crisponi *et al*. 2013; Rahimzadeh *et al*,2022). كما تعد العقاقير الصيدلانية المحتوية على الالمنيوم مصادر مهمة لدخول الالمنيوم الى الجسم مثل الهلاميات الرابطة للفوسفات phosphate-binding gels المحتوية على الالمنيوم ،فالأدوية المحتوية على هذا المعدن والتي تؤخذ عن طريق الفم من قبل المرضى

المصابين بالقصور الكلوي المزمن (chronic renal failure) هي عوامل مرتبطة بالفوسفات وتقوم بعمل مهم وهو السيطرة على فرط فوسفات الدم (Hyperphosphatemia) في هؤلاء المرضى (Ogata et al,2022)، يكون الاطفال والبالغين المصابين بأمراض الكلى من اكثر الاشخاص المعرضين للتسمم بالألومنيوم، ونتيجةً لذلك يكون هناك نمو مفاجئ للهيكـل العظمي skeleton ونمو غير كامل للدماغ (Advenier et al.2003). كما يستخدم هيدروكسيد الالمنيوم كدارئ (Buffer) مع عقار الاسبرين لغرض تقليل الاثارة المعديـة المتسببة من قبل هذا العقار وتستهمل املاح الالمنيوم بكميات قليلة نسبيا في تحضير بعض العقاقير مثل السموم الموهنة (toxoids) واللقاحات (vaccines) وادوية الحساسية (allergens). ومن المعروف إن مركبات الالمنيوم المتنوعة الماخوذة عن طريق الفم تمتص طبيعياً في القناة المعديـة –المعوية gastrointestinal tract، وبالتالي تطرح كميات قليلة منه مع البول (Epstein et al,2020; McFarland et al,2006).

5-2 الامتصاص والتاثير الخلوي للالمنيوم Absorption and cellular effect of aluminum

تعتمد الية امتصاص الالمنيوم على عدة عوامل مهمة كالعمر و الامراض المحتملة للكلى والامعاء، كما أن بعض العناصر لها القابلية على تغيير مستوى الالمنيوم في الجسم اذ عرف عن الفلورايد قدرته على زيادة مستوى الالمنيوم في بلازما الدم اكثر من الستريت في حين يقلل الالمنيوم من مستوى امتصاص الفلورايد في القناة المعديـة-المعوية (gastro-intestinal tract) (Berthon, 2002; Goullé & Grangeot-Keros, 2020) وقد يكون الالمنيوم احد العوامل التي تقلل من عملية امتصاص الكالسيوم والحديد " اذ يعدان من المعادن المساعدة في تنظيم فعالية الجسم " (Berthon 2002 ; Malluche ,2002 ; Xu et al,2018).

وكذلك اجريت العديد من التجارب لوصف تأثير السيلكون على امتصاص الالمنيوم وعملية التخلص منه بواسطة البراز اذ يعمل السيلكون على اختزال كمية الالمنيوم الممتصة في الأمعاء والتأثير على كميته المفترزة من قبل الكليتين نتيجة لزيادة نسبة الالمنيوم المرشحة في الدم بتكوين المركب هيدروكسي المنيوسيليكات الذي لا يمتص عبر الاغشية المعوية ولا عبر اغشية النبيبات الكلوية (Yokel et al. 1996; Exley et at.1996 ; Birchall et al.1996 ; Parry et al.1998).

يزداد افراز الالمنيوم بوجود الفسفور اذ يتكون مركب المنيوم-فسفور غير ذائب في القناة المعدية-المعوية ومن الممكن ان ينتج تسمم الالمنيوم عند استخدامه بكميات كبيرة كمضادات الحموضة نتيجة لتراكمه (Yokel, 2000). أشارت دراسة الى العلاقة بين سترات الالمنيوم ومركب الحديد ferritin في طحال الحصان اذ ان الترانسفيرين (transferrin)، وهو بروتين سكري ناقل للحديد Fe^{+3} ، وهو رابط قوي وحامل (carrier) اساسي للألمنيوم كذلك السترات عند وجودها في بلازما الدم والتي تكون عبارة عن روابط للألمنيوم (Martin,1986). ويكون ارتباط الالمنيوم بالترانسفيرين ذا كفاءة عالية بواسطة مستقبلات الترانسفيرين اذ تعمل على تقليل كفاءة ارتباط الحديد ترانسفيرين (Feinroth et al, 1982) كما ان تركيز الأألمنيوم يكون عالياً في قشرة الكلية لمرضى الفشل الكلوي الذين يعالجون بالديليزة (renal-dialysis) لانها مواقع غنية بمستقبلات الترانسفيرين اذ يدعم مجموعة ارتباط Al^{+3} -transferrin لذلك فان الالمنيوم قد يتداخل بنفس ميكانيكية Fe^{+3} بعملية receptor-mediated endocytosis لمعقد ترانسفيرين-معدن بعدها يتحرر المعدن من المعقد بواسطة مركبات حامضية (Alfery et al, 1980). تتواجد مترابطات صغيرة مثل الستريت من الممكن ان تساعد على انتقال الالمنيوم و يشترك مع مترابطات صغيرة واهبة للاوكسجين مثل الفوسفات والنيوكليوتيدات والكاربوهيدرات (Martin,1986) وقد بينت دراسة ان تأثير الالمنيوم على الخلية تتمثل في زيادة نسبة بيروكسيدات الدهون والذي يؤدي الى تكون الجذور الحرة التي تؤثر على ارتفاع مستوى مالون ثنائي الدهيد (MDA) Melanodialdehyde بينما يقل مستوى الكلوتاثايون (GSH) (Turgut et al.,2006). بالإضافة الى ذلك ان بيروكسيدات الدهون لها تأثيرات حادة على الوظائف الحياتية للخلية كانتقال السوائل والنفاذية الاختيارية وهذا بداية الاشارة لتغير MDA والذي اصبح من المقبول في الوقت الحاضر على انه علامة موثوق بها للبيروكسيدات (Sibmooth et al.,2000).

كما ترتبط مصطلح الاجهاد التأكسدي بالأألمنيوم في العديد من الدراسات ومن المعروف ان التأثير الضار للجذور الحرة في الخلية هو التحطيم التأكسدي لدهون الأغشية والحمض النووي (DNA) والبروتينات وأكسدة البروتينات الشحمية (Klatt & Lamas,2000) اذ أعطيت مرادفات للتغيرات الحاصلة نتيجة فعل الجذور الحرة كمصطلح جهد التأكسد الذي يشير الى حالة عدم التوازن بين المختزلات الخلوية والمؤكسدات، أو عدم الموازنة بين المؤكسدات ومضادات الأكسدة اذ انها تتغير بسبب فشل اليات عمل مضادات الأكسدة الحيوية (Smith et al.,1999).

2-6 مركبات الالمنيوم Aluminum compounds

2-6-1 كلوريد الالمنيوم

الاسم الكيميائي Aluminum Chloride ($AlCl_3$)

التسميات الأخرى , aluminumchloride , Aluminum trichloride , aluminumchloride (1: 3) and trichloroaluminum (ATSDR., 2006)

كلوريد الالمنيوم هو مركب كيميائي يوجد بشكل صلب مبلور ابيض الى اصفر اللون ، ويوجد على شكلين احدهما لا مائي (خالي من الماء) والشكل الاخر مائي مرتبط مع ست جزيئات من الماء (سداسي هيدرات كلوريد الالمنيوم $AlCl_3 \cdot 6H_2O$) ، وزنه الجزيئي 133.34 غم/مول (بلا ماء) ، 241.45 غم/مول (سداسي الهيدرات) ، الكثافة 2.44 غم /سم³ ، (Aggoun *et al*, 2020).

2-6-2 الخصائص السمية لكلوريد الالمنيوم Toxic properties of aluminum chloride

يعد كلوريد الالمنيوم احد املاح الالمنيوم غير العضوية الشائعة والمصنفة بان لها تأثيراً سميّاً على اللبائن بجانب املاح الالمنيوم الأخرى ككبريتات وكبريتات وفوسفات الالمنيوم عند استخدامها عن طريق الفم (WHO, 1996) وقد شاع استخدامه على نطاق واسع في صناعة البتروكيمياويات والادوية والمراهم والمواد الحافظة للاغذية والاصباغ والمطاط (Galatsis, 1999) ، وقد تم تحديد الجرعة النصف قاتلة LD_{50} من قبل منظمة الصحة العالمية في الكثير من مركبات الالومنيوم الملوثة للبيئة اذا تتراوح في كلوريد الالمنيوم 200 – 1000 ملغم /كغم من وزن الجسم في الجرذان (WHO, 1997) ، وكما اشارت ادراسة الى ان الاستخدام الحاد من كلوريد الالمنيوم للفئران يؤدي الى عيوب سلوكية ملحوظة ، كالعجز المعرفي والاضطرابات العصبية والنفسية في الفئران المحقونة اذ أظهرت الاختبارات حدوث اختلالات كولينية cholinergic ، سيروتونية serotonergic (هو أي مادة كيميائية تعدّل من تأثيرات السيروتونين على الجسم أو الدماغ) ودوبامينية dopaminergic اضافة الى تفتت الحمض النووي . كما لوحظت تغيرات مرضية في الانسجة في منطقة الذاكرة hippocampus وقشرة دماغ الفئران المحقونة بـ $AlCl_3$ (Liaquat *et al*, 2019)

7-2 الجهاز العصبي المركزي Central Nervous system

يتألف الجهاز العصبي المركزي (C.N.S) من الدماغ Brain و الحبل الشوكي Spinal Cord ، ويقوم الدماغ بالسيطرة على جميع وظائف الجسم الحيوية الإرادية منها والإرادية ، بما في ذلك الحواس والذاكرة والتفكير والحركة، فضلا على انه يتحكم في وظائف اعضاء الجسم الاخرى ، و بنقل المعلومات و خزنها ، يمثل الدماغ والحبل الشوكي الجزء الأكبر من النسيج العصبي لذا يسمى بالجهاز العصبي المركزي ويتكون من الخلايا العصبية Neurons ، الخلايا الدبقية Neuroglia والألياف العصبية Nerve fibers ، ان الخلايا العصبية تمثل اهم الخلايا المعقدة ذات الفعالية العالية في الجسم. اذ تكون حساسة جدا للضرر (Mescher , 2016) ، تقدر عدد الخلايا العصبية عند الرجل البالغ حوالي 86 بليون خلية ، اذ تبلغ عدد الخلايا الواقعة في قشرة الدماغ حوالي (16 بليون خلية عصبية 19%) ، و (69 بليون خلية عصبية 80%) واقعة في منطقة المخيخ ، و 1% من الخلايا العصبية واقعة في "بقية اجزاء الدماغ" (He & Wu, 2020) .

ان متوسط وزن الدماغ في الانسان يبلغ حوالي 1.3-1.4 كغم ، اذ يعادل حوالي 2% من وزن الجسم ، ان الخلايا العصبية تتجمع إما على شكل طبقات في قشرة المخ Cerebral cortex أو قشرة المخيخ Cerebellar cortex أو على شكل مجاميع غير منتظمة تعرف بالأنوية Nuclei. توجد القشرة أو المادة السنجابية Gray matter في المخ والمخيخ وتحتوي على طبقات عدة من العصبات والتشجرات ، بينما تحتوي المادة البيضاء White matter على الألياف العصبية فقط (Kristin et al, 2015) .

تكون الخلايا مؤلفة من جسم الخلية Cell body والتشجرات Dendrites التي هي عبارة عن تشعبات تنفرع من جسم الخلية إلى صفوف مختلفة وكذلك يوجد المحور Axon والذي يرتبط بجسم الخلية العصبية ويمتد لمسافات طويلة، فقد يتصل المحور بخلية عصبية أو بمحور آخر. كما يحتوي جسم الخلية على عدد من الحبيبات القاعدية Basophilic granules والتي تعرف بحبيبات نسل Nissl's granules . تتميز الخلايا العصبية بانها تعيش لسنوات عديدة وبعدم القابلية على التجدد Regeneration لكونها فقدت القابلية على الانقسام ولا يمكنها أن تحل محل الخلايا المتضررة، تعد الخلايا العصبية حساسة جداً للأذى اذ ان العلامات السريرية المرافقة لأذى هذه الخلايا تكون معتمدة على أعداد الخلايا المتأثرة ونمطها

(Kierszenbaum , 2016 ; Michael et al., 1997).

يعد الجهاز العصبي المركزي من " أهم الأجهزة" الحيوية في جسم الكائنات الحية، ويكون محاط من الخارج بأغشية تدعى ب السحايا Meninges وهي عبارة عن (ثلاثة أغشية) تعمل على حماية الدماغ وتتكون من غشاء خارجي يعرف ب الام الجافية (Duramater) والآخر داخلي يكون بتماس شديد مع الدماغ يعرف ب الام الحنون (Piamater) و يقع بينهما العنكبوتي (Arachnoid) (Mescher , 2016) .

يكون للجهاز العصبي اهمية خاصة اذ إنه يمثل حجر الأساس في توجيه وعمل بقية الأجهزة ، وان أي خلل في هذا الجهاز سيؤثر بالتأكيد على بقية أجهزة الجسم المختلفة وبالنتيجة فان المصاب بأي خلل في الجهاز العصبي المركزي يكون معرضاً للموت في أية لحظة (Kierszenbaum , 2016; Mescher , 2016 ; White *et al*,2000) .

8-2 التركيب النسيجي للدماغ Histological structure of the brain

1-8-2 قشرة المخ Cerebrum cortex :

قشرة المخ هي عبارة عن غشاء من النسيج العصبي يحيط بالمخ في دماغ اللبائن ويسمى بالمادة الرمادية gray matter لوجود العديد من الاعصاب المتداخلة والتي لا تكون معزولة عن بعضها البعض .

تعد قشرة المخ المكان الذي يحدث به انتقال المعلومات عن الوعي واللغة و الذاكرة والانتباه والادراك ويتالف من ستة طبقات اذ تختلف كل طبقة في تركيب الخلايا العصبية والنسيج الرابط بينها (Kandel *et al*,2000)

1- الطبقة الجزيئية molecular layer: وهي الطبقة السطحية الخارجية في القشرة التي تحتوي على القليل من الخلايا العصبية المبعثرة وتتالف بشكل رئيسي من ظفيرة من التفرعات القمية apical dendritic tuft العائدة للخلايا العصبية الهرمية ومحاورها بشكل افقي بالإضافة الى خلايا عصبية عقدية (Shipp,2007).

2- الطبقة الحبيبية الخارجية External granular layer: وهي الطبقة التي تحتوي على خلايا هرمية صغيرة وخلايا نجمية متعددة .

3- الطبقة الهرمية الخارجية External pyramidal layer: تتألف هذه الطبقة بشكل عام من خلايا عصبية ذات شكل هرمي وبأحجام صغيرة أو متوسطة بالإضافة إلى خلايا عصبية غير هرمية الشكل .

4- الطبقة الحبيبية الداخلية Internal granular layer : وهي الطبقة التي تحتوي على أنواع مختلفة من خلايا نجمية عصبية الشائعة أو التي توجد بكثرة في هذه المنطقة وخلايا حبيبية عصبية .

5- الطبقة الهرمية الداخلية Internal pyramidal layer : وهي الطبقة التي تحتوي على خلايا عصبية كبيرة الحجم هرمية الشكل مثل خلايا بتز Betz ' s cells في القشرة.

6- طبقة الخلايا متعددة الأشكال Multiform layer أو تسمى طبقة الخلايا المغزلية Fusiform cell layer: وهي الطبقة التي تحتوي على عدد كبير من الخلايا مغزلية الشكل السائدة ونجمية الشكل وخلايا عصبية متعددة الأشكال وعدد قليل من الخلايا الهرمية وترسل خلال هذه الطبقة الألياف الصادرة إلى المهاد مكونة ارتباطاً داخلياً واضحاً ومشاركاً بين المهاد وقشرة المخ (Lam & Sherman, 2010).

2-8-2 المخيخ Cerebellum :

المخيخ (Cerebellum) هو جزء من الدماغ الذي يؤدي دوراً مهماً بالسيطرة على حركة الجسم علاوة على وظائف الإدراك كتنظيم الاستجابة للحزن والفرح والانتباه واللغة (Wolf *et al.*, 2009) ، وخلال فحص مقطع عرضي لطيات المخيخ بالإمكان ملاحظة الخلايا العصبية الرئيسية المتنوعة وطريقة الارتباط فيما بينها في المحيط الدائري للمخيخ باذ من الممكن ملاحظة نوعين رئيسيين من الخلايا هما خلايا بركنجي (Purkinje cells) والخلايا الحبيبية (Granular cells) بالإضافة إلى وجود المحاور العصبية الثلاثة التي لها دور فعال في وظيفة المخيخ وهي الألياف المتسلقة (climbing fibers) والألياف الطحلبية (mossy fibers) والألياف المتوازية (parallel fibers) وهي المحاور العصبية للخلايا الحبيبية التي تنتهي هذه المحاور في الأنوية العميقة بالمخيخ وتحمل كل الألياف الواردة معلومات متخصصة (Llinás, 2014) . ان قشرة المخيخ تتألف من ثلاثة طبقات :

1- الطبقة الخارجية الجزيئية (External molecular layer): تحتوي التفرعات التشجيرية المسطحة لخلايا بركنجي مع الالياف المتوازية والتي تخترق طبقة بركنجي بزوايا قائمة وكذلك تحتوي هذه الطبقة على الخلايا النجمية (Stallete cells) والخلايا السلوية (basket cells).

2- الطبقة الوسطية بركنجي (Central purkinje layer): وهي عبارة عن طبقة ضيقة تحتوي على صف واحد من اجسام خلايا بركنجي الدائرية الشكل والتي تكون واضحة و كبيرة الحجم.

3- الطبقة الداخلية الحبيبية (Internal granular layer): وهي عبارة عن طبقة ثخينة ممثلة بخلايا حبيبية صغيرة الحجم مع خلايا عصبية تدعى خلايا كولجي (Golgi cells) (Marr,1969)

3-8-2 الحبل الشوكي Spinal Cord

الحبل الشوكي أو النخاع الشوكي هو احد اجزاء الجهاز العصبي المركزي وهو تركيب طويل أنبوبي الشكل، يبدأ عند نهاية جذع الدماغ ويستمر نزولاً إلى أسفل العمود الفقري تقريباً ، يتكون الحبل الشوكي من الأعصاب التي تحمل الرسائل الواردة والصادرة بين الدماغ وبقية اجزاء الجسم (Bazira ,2021). يُغطى الحبل الشوكي بثلاث طبقات من النسيج (السحايا) ، اذ يتكون الحبل الشوكي من مادة رمادية وأخرى بيضاء (Ko,2022) ، يتكون مركز الحبل الشبيه بشكل فراشة من مادة رمادية ، تحتوي "الأجنحة" الأمامية (التي يُطلق عليها القرون أيضاً) على خلايا عصبية حركية التي تقوم بنقل المعلومات من الدماغ أو الحبل الشوكي إلى العضلات، ممّا يحفّز الحركة وتحتوي القرون الخلفية على خلايا عصبية حسيّة تنقل المعلومات الحسيّة من أجزاء أخرى من الجسم إلى الدماغ ، أمّا المادّة البيضاء المحيطة فتحتوي على الألياف العصبية التي تحمل المعلومات الحسيّة إلى الدماغ من بقية الجسم و التي تحمل النبضات الحركية من الدماغ إلى العضلات (Bican et al, 2013)

9-2 التاثير السمي للالمنيوم على الجهاز العصبي Toxic effect of aluminum on the nervous system

تم إثبات السمية العصبية للالمنيوم في البشر والنماذج الحيوانية وفي الأنسجة وزراعة الخلايا (Bondy,2010). في حين أن السمية العصبية للالمنيوم أمر لا جدال فيه ، ففي السنوات الأخيرة ، اكتشف الباحثون محتوى مرتفعاً من الالمنيوم في أنسجة الدماغ لدى مرضى الزهايمر والتوحد

والصرع (Mold *et al.* 2019) ، لذا ارتبط التركيز العالي للألمنيوم الموجود في قشرة الدماغ بمرض الزهايمر Alzheimer's disease (AD) ومرض باركنسون Parkinson disease (Inan-Eroglu & Ayaz, 2018) بالإضافة الى ذلك ارتبطت الإصابة بمرض الزهايمر مع التعرض للألمنيوم من مياه الشرب في البلدان الصناعية المتقدمة لقد وجد ان معدل الزيادة في مرض الزهايمر ارتفع مع زيادة تركيز الألمنيوم في مياه الشرب (Russ *et al.*, 2020) ، كما يظهر ارتشاح الخلايا الالتهابية وفقدان الخلايا العصبية في دماغ الفئران المعالجة بمادة كلوريد الألمنيوم (Sadek *et al.*, 2019) وفي دراسة أُجريت لمعرفة العلاقة بين سمية الألمنيوم والاختلال الوظيفي للدماغ اذ تم معاملة مجاميع من الجرذان بالألمنيوم ادى الى ارتفاع نسبة الألمنيوم في مصل الدم ، و بينت الدراسة بعض النصائح التجريبية في تأثير ايونات الألمنيوم على تصنيع وايض الانزيمات الناقلة للكولين (Moshtaghi *et al.*, 1999)

في حين بينت دراسة أخرى ان المعاملة بمركبات الألمنيوم يؤدي الى الاضطراب في نشاط انزيم استيل كولين استريز acetyl cholinesterase (AChE) اذ ان الزيادة في هذا الانزيم تكون مؤشراً على حدوث اضطرابات في الناقل العصبي الكوليني cholinergic neurotransmission وينعكس مرض الزهايمر AD بشكل رئيسي من خلال انخفاض نشاط هذا الإنزيم. في النظام الكوليني cholinergic system ، تشمل المناطق المتأثرة بشكل خاص بمرض الزهايمر منطقة الذاكرة hippocampus والقشرة cortex (Chacko & Ittiyavirah, 2019)

10-2 امراض الجهاز العصبي Nervous system diseases

1-10-2 مرض الزهايمر Alzheimer's Disease

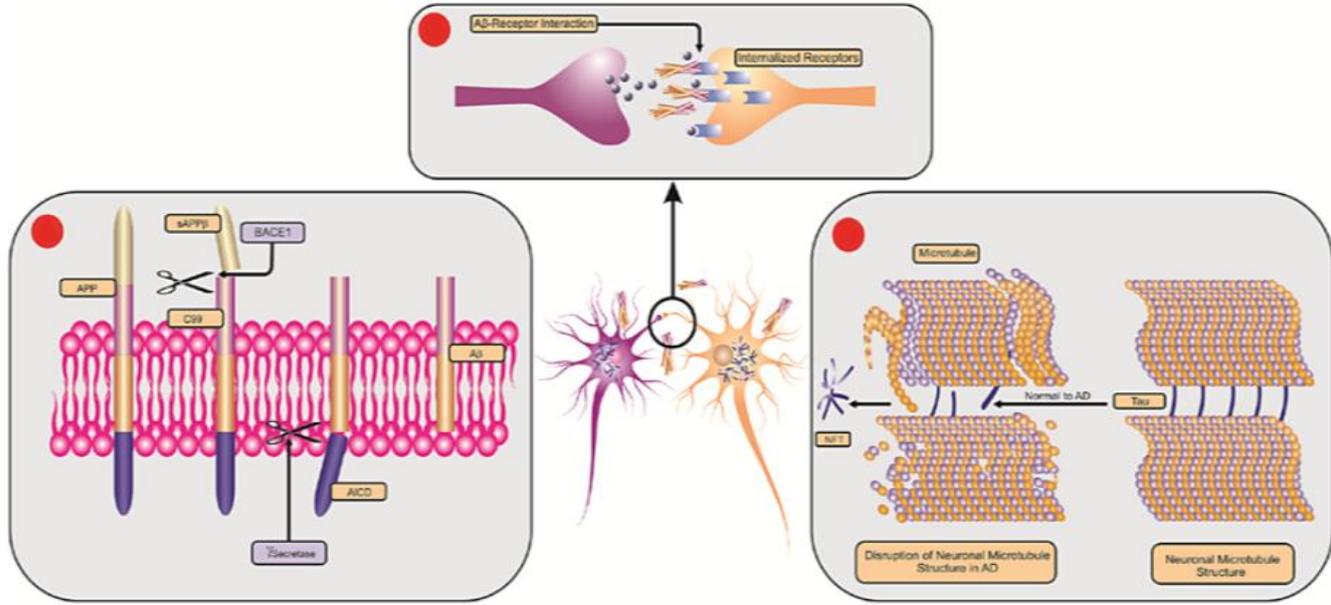
اكتشف مرض الزهايمر لأول مرة من قبل العالم الالمانى الويس الزهايمر Alois Alzheimer عام 1902 كما وصفه على انه اضطراب عصبي نفسي يصيب كبار السن (Alzheimer, 1906) ، وكما انه يعد من اكثر الاضطرابات العصبية الشائعة ويكون مسؤول عن 60-70 % من جميع حالات الخرف في انحاء العالم (Nedelec *et al.*, 2022) ، اذ يتأثر به حوالي 50 مليون شخص في جميع انحاء العالم ويتقدم العمر وازدياد حالات الشيخوخة تزداد هذه النسبة (Belloy *et al.*, 2019) ، وكما تشير دراسة ان مرض الزهايمر سوف يؤثر تقريبا على 106.8 مليون شخص في حلول عام 2050 (Tian *et al.*, 2019) ويرتبط هذا

المرض بالعديد من الاضطرابات العقلية والمعرفية مثل ضعف الذاكرة واضطراب الشخصية لدى الاشخاص الذين تزيد اعمارهم عن 65 سنة (Srivastava et al,2021)

يعد اول من شخص التغييرات النسجية في انسجة الدماغ المصاب هو العالم الألماني الويس الزهايمر Alois Alzheimer خلال السنة نفسها ، وذلك عند قيامه بفحص وتشريح دماغ سيدة تبلغ من العمر 51 سنة وقد توفيت بعد مرور 4 سنوات من تطور إصابتها بفقدان الذاكرة التدريجي مع عجز واضح في قابلية الدماغ الإدراكية (Oltmanns & Emery,2004) ، ونتيجة الفحص والتشريح لاحظ العالم Alzheimer ضمور الأعصاب في دماغ السيدة المتوفاة وذلك بسبب حدوث تلف حاد في الخلايا العصبية، وقد اثبت ان وجود تجمعات من الخلايا العصبية غير الطبيعية في دماغ السيدة المصابة التي كانت تعاني من حالة الخرف. واكتشف ان وجود كمية من البروتين الـ Amyloid حول الأعصاب سبباً لهذه التجمعات ، أطلق على هذه التجمعات بلويحات الشيخوخة (SP) Senile Plaques ، كما لاحظ وجود تجمع غير طبيعي لمجموعة من الألياف العصبية بشكل معقد ، وقد أشار إلى مثل هذه التجمعات بما يعرف تشابك الألياف العصبية (Fox et al , 1999) NeuroFibrillary Tangles (NFTs)

ان العلامات السريرية لمرض الزهايمر تشمل اعتلال واضطراب الاعصاب والذي يؤدي الى التدهور المعرفي وفقدان الذاكرة (Vanderstichele et al., 2019) ، فضلاً عن الاضطرابات المميزة لهذا المرض هي فقدان التناسق العقلي وتأثيره على الذاكرة، وضعف الاتصال العصبي بين الخلايا والارتعاش وبطء في أداء الحركة وتراجع الفكر وضعف او فقدان الذاكرة المعرفي وارتفاع معدلات الكآبة النفسية Depression و حدوث تغييرات في المزاج Mood مثل القلق والمعاناة الكثيرة (Shuster et al, 2008) .

تقدر نسبة الاصابة بمرض الزهايمر من 6-8 % للأشخاص الذين تزيد اعمارهم عن 65 سنة (Ferri et al,2005) ، وبالامكان تمييز ثلاث مؤشرات حيوية اساسية لتحديد الملامح المرضية لمرض الزهايمر وهي تجمع لويحات البيتا اميلويد $A\beta$ ، تشابك الألياف العصبية (NFTs) وتحطم المشبك العصبي (Revett et al, 2013)



شكل (1-2) يوضح الملامح المرضية الاساسية لمرض الزهايمر التي تتضمن انفلاق ال APP وتكوين $A\beta$ ، تكوين وترسب NFTs و خلل في وظيفة المشبك العصبي نتيجة تجمع $A\beta$ (Sadigh-Eteghad *et al* 2014 a)

ان مدة التقدم بالمرض تستغرق حوالي 10-15 سنة، وقد تقل الفترة لتصل إلى 4-5 سنوات أو تزداد لتصل إلى 25 سنة وذلك اعتماداً على عوامل عدة تشترك معا في تطور مرض الزهايمر (Clark & Trojanowski , 2000) .

2- 11 البيتا – امليويد β -Amyloid

البيتا امليويد $A\beta$ هي عبارة عن تجمعات بروتينية ليفية غير ذائبة ترافق اعتلال الخلايا العصبية في منطقة القشرة المخية Cerebral Cortex ، وهذه التجمعات يمكن ملاحظتها في أدمغة المسنين فوق عمر ال 75 سنة و في حالة مرضى الزهايمر (Fabian *et al*, 1998; Helisalmi, 1993) . وهو ببتيد يتكون من 39-43 حامض اميني ، ان هذه اللويحات تنشأ من انشطار البروتين السالف للامليويد Amyloid Precursor Protein (APP) بواسطة انزيم α, β, γ Secretase، يحدث الداء النشواني amyloidosis نتيجة لتراكم الليفات الاميلويدية التي تحدث بسبب تفاعل هذه البروتينات مع بعضها البعض ومع بروتينات اخرى في اعضاء خاصة والذي يعد صفة تشخيصية للعديد من الامراض مثل مرض الزهايمر ،

Familial amyloidosis ، داء السكري – النوع الثاني ، الداء النشواني الوراثي (Cárdenas-Aguayo *et al*, 2014) . وامراض عديدة اخرى .

ونتيجة التجمع الهائل وغير الطبيعي لبروتينات تاو ال Tau المفسفرة في داخل جسم الخلايا العصبية تتفاعل هذه البروتينات مع الكلوكونز امينو كلايكان، ينشأ نوع من التغيرات النسجية. وان جميع هذه التغيرات تتطور إلى كتلة كثيفة من الألياف الحلزونية المزدوجة Paired Helics Fibers (PHFs) بداخل الخلية العصبية وتكون بقطر 20 نانومتر (Graham & Lantos, 2002) .

ان تطور مرض الزهايمر الوراثي يحدث نتيجة الطفرات الوراثية التي تحدث لجين APP ، بالإضافة الى ان وجود نسخة خارجية لجين APP تؤدي الى ظهور مرض الزهايمر في العقد الخامس من العمر (Wiseman, 2015) ان إنتاج وازالة البيتا اميلويد تكون في حالة متوازنة في الدماغ السليم ، بينما يحدث اضطراب في تكوين لويحات البيتا اميلويد في حالة الشيخوخة وبعض الحالات المرضية كالاضطرابات الايضية (Xiang *et al*, 2015) ، وتوجد مسارات عديدة لتصفية البيتا اميلويد في الدماغ مثل تنشيط الانزيمات المحطمة activation of degenerating enzyme والتصفية الوعائية والخلوية عبر المستقبلات - receptor mediated cellular and vascular clearance (Kanekiyo *et al*, 2013 ; Wang *et al*, 2006) ، اذ تلعب بعض انواع المستقبلات مثل low density lipoprotein receptor related protein 1 (LRP1) دور مهم في المسار الثاني لتصفية البيتا اميلويد وأشارت دراسة ان تحطم مستقبلات LRP1 للفئران يزيد من مستويات البيتا اميلويد في قشرة الدماغ بشكل خاص (Kanekiyo *et al*, 2013) فضلاً عن ذلك وجد ان P-glycoprotein عند الحاجز الدماغي – الدموي (BBB) يعمل كمضخة تضخ البيتا اميلويد (Bello & Salerno, 2015) ، اذ بينت الدراسة التي اجريت على الفئران ، ان ترسب لويحات البيتا اميلويد يزداد عند ازالة P-glycoprotein في الدماغ (Cirrito *et al*, 2005) ، بالإضافة الى ذلك فقد وجد ان العديد من الانزيمات وبشكل خاص انزيم Neprilysin و insulin-degrading enzyme تؤدي الى تحطم لويحات البيتا اميلويد (Wang *et al*, 2006) .

يوجد مسارين لتحلل وانشطار APP وتجمعها في خلايا الدماغ الذي يعد السبب الرئيسي للإصابة بمرض الزهايمر :

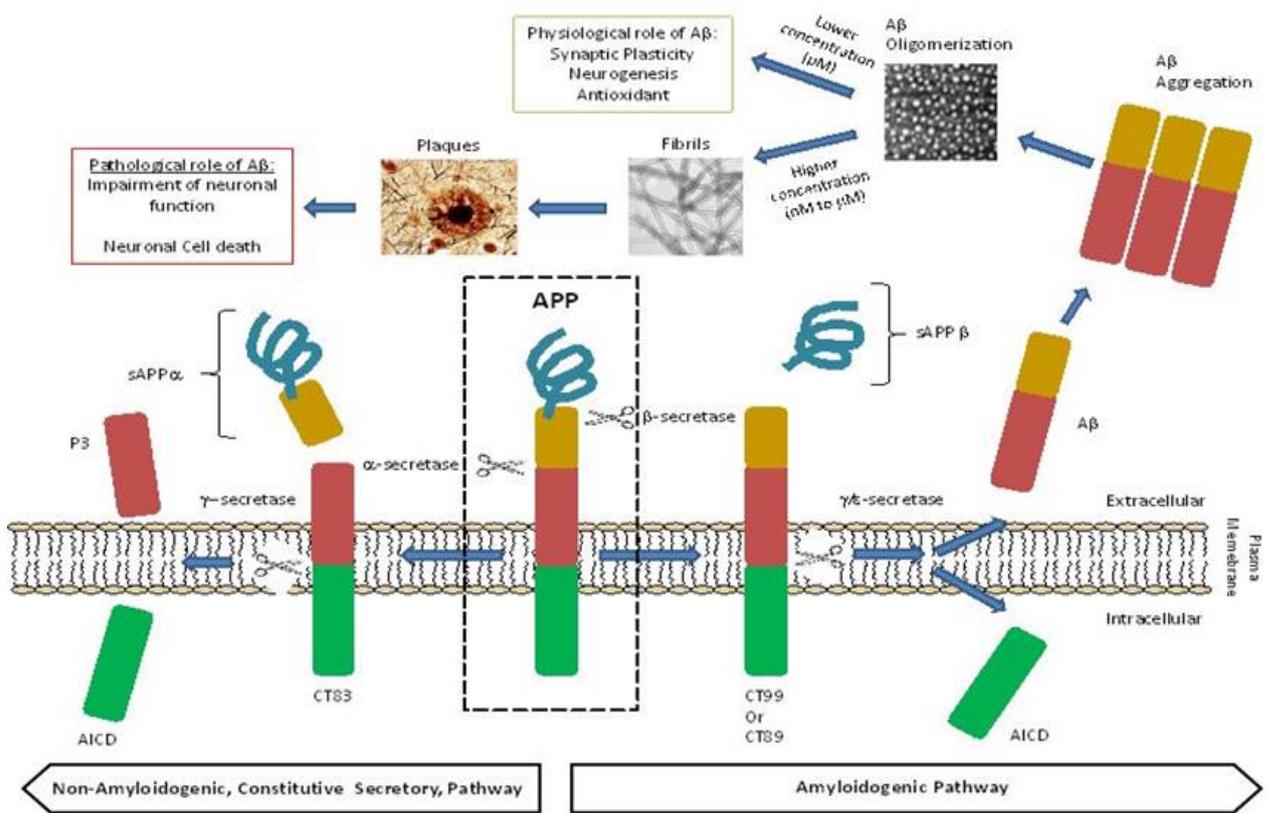
1 - المسار الاول Non -amyloidogenic Pathway

يحدث في هذا المسار تنشيط انزيم α -secretase الذي يؤدي الى انشطار ال APP محررة قطع من ال APP ذائبة خارج خلوية تدعى ب sAPP- α وهذا الناتج يسمى ب (Carlo , 2012) neurotrophic neuroprotective peptide بعد ذلك تتولد قطع من ال APP التي تعرف بال APP intercellular C-terminal domain (AICD) بفعل عمل انزيم γ -secretase الموجود في الغشاء البلازمي (Mehan *et al*, 2012) ، و تقدر كمية قطع APP التي تنتج من هذا المسار بنسبة % 30 (Hartman *et al*,2007) .

2 - المسار الثاني pathological amyloidogenic pathway:

يؤدي هذا المسار الى انشطار ال APP من خلال فعالية انزيم β - secretases (Grienberger *et al*; 2012 ; Khorrami *et al*, 2014)، وينتج نوعين من قطع ال APP وهي (N-terminal fragment) sAPP- β و CT99 او CT89 ، بعد ذلك ينشطر CT99 بواسطة معقدات ال γ -secretases (بضمنها Nicastrin ،Anterior pharynx defective 1 ، Presenilin enhancer 2 ، Presenilin1 و او Presenilin2) داخل الغشاء البلازمي ، اذ يعمل كلاهما (انشطار β - secretases و γ -secretases) على توليد الكثير من لويحات البيتا اميلويد والكثير من قطع ال AICD ، وتحتوي قطع ال AICD على الفعاليات الفسلجية والمرضية المتعددة خاصة في نقل الاشارات من الغشاء الى الانوية اثناء التعبير الجيني ، وكذلك عن طريق انزيم Caspase يتم معالجة قطع ال AICD داخل الخلية لتنتج العديد من قطع تدعى بال CT31 التي تعد من المحفزات الفعالة لبدء موت الخلية المبرمج-(Sadigh Eteghad *et al*; 2014b) apoptosis .

يتحرر (APP intracellular domain (AICD) في كلا المسارين الاول والثاني الى داخل سايتوبلازم الخلية والذي يشارك في الاستنساخ الجيني للمتغيرات في اطوال الأحماض الأمينية الرئيسية هي 40 و 42 والتي يطلق عليها $A\beta$ 1-40 و $A\beta$ 1-42 ، على التوالي . و ينتج AB من النوع (AB 40) بحوالي 90% تحت الظروف الطبيعية وهو من النوع الذائب في الدماغ والذي يتحول الى غير ذائب وهذا لا يمكن ان يطرح من الدماغ وعلى العكس فأن 10% من الببتيد $A\beta$ ناتج من $A\beta$ 42 وهو ليفي الشكل ويترسب ويعد دلالة اولية لظهور مرض الزهايمر (Pakaski & Kalman,2008).



شكل (2-2) يوضح مسارات تحلل وانشطار ال APP في خلايا الدماغ (Cárdenas-Aguayo *et al*, 2014)

12-2 الاستيل كولين و الاستيل كولين استريز Acetyl choline and acetyl choline esterase (AChE)

الاستيل كولين (ACH) هو ناقل عصبي يوجد عند الاتصال العصبي العضلي -neuro-muscular junctions وفي العقد العصبية الذاتية Changeux (2010) ، يعمل على حث الاثارة العصبية neuronal excitability ، ويؤثر على انتقال الاشارات العصبية عبر المشبك العصبي synaptic transmission ، كما انه يزيد من مرونة المشابك العصبية synaptic plasticity وينسق اثاره العديد من الخلايا العصبية وبذلك يعمل على تغيير الحالة العصبية للدماغ ويحور استجابته للعديد من الاشارات الداخلية والخارجية (Picciotto *et al*, 2012).

يعرف الاستيل كولين استريز (AChE) بال Acetyl hydrolase ايضا ، وهو انزيم ينتمي الى عائلة انزيمات الكربوكسليستريز family Carboxylsterase يوجد في المشابك العصبية الكولينية Cholinergic Synapses والاتصالات العصبية العضلية -neuro-

muscular junctions ، ان الدور الاساسي الذي يؤديه هو في تحطيم مادة الاستيل كولين Acetyl choline (ACh) وبعض استرات الكولين الاخرى التي تعمل كنواقل عصبية Neurotransmitters ، ان هذا الانزيم يمكن تثبيطه بواسطة العديد من المركبات الفوسفاتية مثل بعض الادوية العصبية والسموم (Kocabaş & Peksel 2021).

ان كل جزيئة من AChE تحطم حوالي 25000 جزيئة ACh في الثانية الواحدة لان ال AChE يمتلك قدرة عالية على تحطيم وتحليل ال ACh (Hrvat *et al*, 2020)، اذ يتضمن الموقع الفعال لل AChE على اثنين من المواقع الثانوية وهي anionic subsite و esteratic subsite وان الية عمل AChE تاتي من التركيب البلوري للانزيم (Sussman *et al*, 1993) ، اذ يتحلل الاستيل كولين ACh عند الموقع الثانوي esteratic subsite لتكوين الكولين الذي يحتوي على ثلاثة احماض امينية هي السيرين serine ، الهستيدين histidine و الغلوتاميت glutamate ، ويؤدي التحلل المائي لل carboxyl ester الى تكوين acyl-enzyme والكولين الحر free choline بعدها يتم مهاجمة ال acyl-enzyme بواسطة جزيئة ماء من الهستيدين مؤدية الى تحرير ال acetic acid وتوليد الانزيم الحر (Pohanka , 2012; Pohanka , 2011).

يتحرر الاستيل كولين من الخلايا العصبية الى المشبك العصبي اثناء انتقال الايعازات العصبية فيرتبط بمستقبلاته الخاصة الموجودة في اغشية الخلايا العصبية بعد المشبكية post synaptic neuron ويعمل على نقل الاشارة العصبية، بعدها يعمل انزيم الاستيل كولين استريز AChE الموجود ايضا على اغشية الخلايا العصبية بعد المشبكية على انهاء اوصول هذه الاشارات الى الخلايا العصبية من خلال تحليله لل Ach الى الكولين choline والاسيتات acetate ، وتقوم الخلايا العصبية قبل المشبكية pre-synaptic neuron بأخذ الكولين المتحرر مرة اخرى لتستخدمه في بناء الاستيل كولين بعد اضافة ال acetyl CoA عن طريق انزيم (Pohanka , 2012; Purves *et al*, 2008) Choline acetyltransferase .

اشارت العديد من الدراسات الى وجود علاقة بين انزيم الاستيل كولين استريز ومرض الزهايمر وعلى الرغم من وجود هذه العلاقة تبقى الالية التي يؤثر بها هذا الانزيم على ظهور العلامات المرضية لمرض الزهايمر غير مفهومة بشكل واضح لحد الان ، اذ يوجد الاستيل كولين استريز في الدماغ باشكال جزيئية مختلفة يعبر عنها بطرق مختلفة في العديد من انواع الخلايا العصبية (García-Ayllón *et al*, 2011) ، ويعكس التوزيع الخلوي لكل نوع الوظائف الفسلجية

المختلفة الخاصة به ، فقد بينت العديد من الدراسات ان انزيم AChE يمتلك وظائف اخرى غير معروفة لحد الان (García-Ayllón *et al*, 2011; Soreq& Seidman 2001)، اذ يوجد انزيم AChE في المناطق الكولينية وغير الكولينية للدماغ - Cholinergic and non - cholinergic areas وتبقى الاهمية الوظيفية للاستيل كولين استريز غير الكولينية غير مفهومة لحد الان ، اذ عزي انخفاض فعالية ال AChE في مرض الزهايمر لنفاذ الالياف الكولينية (الغنية بالكولين) والالياف غير الكولينية في منطقة قشرة الدماغ لمرضى الزهايمر ، لكن هذا النقصان في الالياف العصبية لا يرتبط مع عدد الخلايا العصبية الكولينية مما يدل على ان التغيرات في مستوى ال AChE لا تعكس التغيرات في الانتقال العصبي الكوليني (Heckers *et al*, 1992) (García-Ayllón *et al*, 2011) . ولا تتاثر الاشكال الجزئية المختلفة لل AChE بشكل متساوي في ادمغة الاشخاص المصابين بالزهايمر فقد بينت الدراسات وجود شكلين رئيسيين لانزيم AChE وهي الشكل الرباعي Tetramer ويرمز له G4 وهو يمثل الانواع الكولينية للانزيم ، والشكل الاحادي Monmer الذي يشمل G1 و G2 (Massoulie *et al*, 1993) ، ففي حالة مرض الزهايمر وجد انخفاض في معدل الشكل الرباعي (G4) لانزيم AChE بينما تبقى الاشكال الاحادية محافظة على نسبتها او تزداد في بعض الحالات المتقدمة من مرض الزهايمر اذ يعتقد بوجود علاقة بين وجود الاشكال الاحادية و تكوين لويحات ال $A\beta$ وتكوين التشابكات الليفية العصبية Neurofibrillary Tangles (NFT) فضلا عن الفسفرة غير الطبيعية لبروتين التايو tau (García-Ayllón , 2010 ; García-Ayllón *et al*, 2011) .

13-2 سايتوكروم c اوكسيداز Cytochrome C Oxidase (COX)

ان السايتوكرومات هي بروتينات نشطة لها القدرة على الاكسدة والاختزال يوجد في نواتها ذرة حديد مركزية ويتم التعبير عنه في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا ، يوجد اربع اصناف من السايتوكروم تصنف حسب نوع الهيم وطريقة ربطه وهي سايتوكروم a ، سايتوكروم b ، سايتوكروم c ، و سايتوكروم d (Deng,2020) ، يعد السايتوكروم c اوكسيداز COX الإنزيم النهائي في السلسلة التنفسية للميتوكوندريا mitochondrial respiratory chain ، يحفز تقليل الأوكسجين الجزيئي لتكوين الماء مما يسمح بانتاج ال ATP ويتكون من 13 وحدة فرعية ، 10 منها مشفرة بواسطة الجينات النووية ويعتمد تجميع مركب اوكسيداز النشط على إدخال ثلاثة أيونات من النحاس ، جنباً إلى جنب مع اثنين من الهيم وأيونات مفردة من الزنك ، والمغنيسيوم

والصوديوم. (Shoubridge,2001; Collins ,2016) ، يعد COX المفتاح الرئيسي في انجاز العديد من العمليات الضرورية للكائن الحي مثل عملية الفسفرة التأكسدية (Oxidative phosphorylation) والتي تتضمن جمع و تخزين الطاقة خلال عملية تكوين الـ ATP، وفي عملية تكوين غمد الـ myelin حول المحاور العصبية ، وفي دراسة وصفت انخفاض نشاط (COX) في الصفائح الدموية لخمسة من كل ستة مرضى مصابين بمرض الزهايمر وجد ان السيتوكروم أوكسيداز يؤدي دورًا أساسيًا في تحرير الطاقة في الميتوكوندريا فهو مفيد للخلايا العصبية ، نظرًا لأن الجهاز العصبي يعتمد بشكل كبير على التمثيل الغذائي لتزويده بالطاقة (Swerdlow,2018 ;Collins ,2016)

14-2 عامل التنخر الورمي الفان (TNF- α) Tumor necrosis factor-

يعد عامل التنخر الورمي احد اهم السيتوكينات الالتهابية حدد لأول مرة على انه عامل مضاد للاورام يسبب تنخر الورم ويعد وسيط مركزي للالتهابات المزمنة وتطور الأورام الخبيثة (Tan et al., 2019) ، اذ تعد السيتوكينات Cytokines جزيئات بروتينية صغيرة تفرزها الخلايا التي تعمل كمرسل بين الخلايا المناعية ، ان عامل نخر الورم TNF هو أحد هذه السيتوكينات متعددة الاتجاهات التي لها العديد من الأدوار المتميزة بما في ذلك التوسط في الاستجابات الالتهابية ، وتمايز الخلايا cell differentiation وتكوين الأعضاء organogenesis (Santello & Volterra, 2012) ، يتم نسخ TNF على أنه بروتين أحادي الغشاء transmembrane pro-protein يمكن أن يرسل إشارة مباشرة في شكله المرتبط بالغشاء ، و يعمل الجهاز العصبي المركزي على انتاج TNF أثناء حدوث مجموعة متنوعة من الأمراض الالتهابية نتيجة التعرض للبروتينات البكتيرية والفيروسية bacterial and viral proteins ، يزداد افرازه في أمراض مثل التصلب المتعدد multiple sclerosis ، ومرض الزهايمر Alzheimer's disease ومرض باركنسون Parkinson's disease (Heir &Stellwagen ,2020) وقد بينت دراسة أن عامل نخر الورم يمكن أن يمنع موت الخلايا المبرمج للخلايا العصبية من خلال آلية تتضمن تنشيط عامل النسخ NF- κ B الذي يحفز التعبير عن إنزيمات مضادات الأكسدة و B-cell 2 التي تعد بروتينات منظمة تعمل على تنظيم موت الخلايا المبرمج (Mattson & Meffert ,2006)

15-2 الهرمون المحفز لقشرة الغدة الكظرية Adrenocorticotropin Hormone (ACTH)

ان هرمون المحفز لقشرة الغدة الكظرية ACTH يسمى أيضا كورتيكوتروبين corticotropin او قشر الكظر adrenocorticotropin ، هو هرمون متعدد الببتيد polypeptide يتراوح عمر النصف له بين 7 الى 15 دقيقة يتالف من سلسلة واحدة من تسع و ثلاثون حامض اميني ، يتم تصنيعه بواسطة الخلايا القشرية للغدة النخامية الامامية ، يعمل على تحفيز الكورتيسيرويد corticosteroid بواسطة الغدة الكظرية وأيضا يقوم بتعزيز اطلاقه من الغدة لانه يزيد من تخليق البروتين الكلي ، كما انه يعمل على تخليق الستيرويد steroid من الكوليسترول ، ان حالات زيادة إفراز ACTH قد تكون نتيجة ورم القشرة الكظرية corticotroph tumour أو تضخمها corticotroph hypertrophy الذي يحدث نتيجة فرط وظائف قشرة الكظر ، والذي بدوره يسبب العديد من الأعراض والعلامات المرضية والتي تسمى متلازمة كوشينغ Cushing syndrome التي هي عبارة اضطراب ناجم عن فرط نشاط قشرة الغدة الكظرية تسبب زيادة في إفراز الهرمون، وتتمثل أعراضها في زيادة الوزن في الأجزاء العلوية من الجسم كالوجه والرقبة، ارتفاع ضغط الدم، ارتفاع مستوى سكر الدم، كما انه يسبب واضطرابات الدورة الشهرية في النساء. إضافة الى العديد من الاعتلالات الاخرى التي يمكن أن تسبب نقص هرمون ACTH منها متلازمة نقص هرمون الغدة النخامية المتعددة panhypopituitarism (Britannica ,2021; Britannica, 2014)

16-2 هرمون الكورتيزول Cortisol

ان هرمون الكورتيزول هو هرمون تنتجه الغدة الكظرية adrenal glands يتم افرازه بشكل أساسي في الطبقة الوسطى او الحزمية Zona fasciculata بمساهمة من الطبقة الشبكية من قشرة الغدة الكظرية ، هو احد أنواع الهرمونات التابعة لصنف سكريات القشرة الكظرية Glucocorticoids ، يمثل هرمون الكورتيزول نسبة 95% من الهرمونات المفرزة من نفس المنطقة، اذ يتم إفراز (10-20 mg) يوميا، وذلك للمحافظة على نسبته الطبيعية في جسم الإنسان، والتي تبلغ 12 ميكرو جرام- ديسي لتر، يتحكم في عملية إفراز هرمون الكورتيزول عدة هرمونات تفرزها الغدة النخامية pituitary gland أو من تحت المهاد (hypothalamus) (Kay, 2018) ، ان جميع الهرمونات التي يتم إفرازها من قشرة الغدة الكظرية هي (Lopes & Egan, 2021 ;)

من الهرمونات الستيرويدية، وهي مركبات مشتقة من الكوليستيرول، يتم إفراز هذه الهرمونات مباشرة إلى مجرى الدم، إذ تستمر بالدوران في الدورة الدموية وصولاً لمستقبلاتها الخاصة الموجودة على أجزاء مختلفة من الجسم (Holst et al, 2004). يتم إفراز هذه الهرمونات مباشرة إلى مجرى الدم، وتستبدل الدوران في الدورة الدموية وصولاً لمستقبلاتها الخاصة الموجودة على أجزاء مختلفة من الجسم.

يتم إنتاج 90% من إجمالي كمية الهرمون المفرزة تكون محمولة على البروتينات، والباقي يكون حرًا في الدم، يتم تكسير هرمون الكورتيزول في الكبد بعدة عمليات أيضية، ومن ثم تُفرز معظم نواتج العملية في البول وجزء منها في البراز مع العصارة الصفراوية (Gulfo et al, 2019)، يعمل هرمون الكورتيزول على تنظيم سكر الدم، إذ يقوم بتحفيز عملية تصنيع الجلوكوز في الكبد، وذلك باستخدام الأحماض الأمينية والدهنية، يقوم الكورتيزول بتقليل مخزون الجسم من البروتينات باستثناء الكبد، وذلك باستهلاك الأحماض الأمينية المستخدمة في تصنيعها، بالإضافة إلى تكسير بروتينات العضلات الموجودة (Rahimi et al, 2020).

يعمل الكورتيزول على تقليل المناعة بشكل كبير، إذ يعمل على تثبيط عمل الأجسام الحالة Lysosome وتقليل نسبة البروتينات الهاضمة كذلك تقليل إنتاج خلايا الدم البيضاء ونسبتها، ومعدل استقطابها لأماكن الالتهابات، كما يعمل على تقليل نفاذية الأوعية الدموية وبالتالي تقليل كمية السائل البييني وتنظيم الساعة البيولوجية من خلال إكساب الجسم النشاط والحيوية صباحًا وذلك عند وصوله لذروته الصباحية ويلعب دورًا في المزاج والانفعالات والخوف والقلق والألم، يتأثر إفراز هرمون الكورتيزول على عدة مستويات، إما على مستوى الغدة الكظرية، أو على مستوى الدماغ والهرمونات المنظمة له، كما ويتم تقسيم الخلل إلى زيادة أو نقصان في عملية إفراز الهرمون أو في الاستجابة له مما يسبب امراض متعددة منها متلازمة كوشينغ (Cushing's Syndrome) ومرض أديسون (Addison's disease) Christensen & (Gomila, 2018 ; Ceccato et al, 2018)

17-2 هرمون النمو (GH) Growth hormone

هرمون النمو GH و يسمى أيضا سوماتوتروبين somatotropin هو الهرمون المسؤول عن النمو الجسدي ، يتم افرازه من الفص الامامي للغدة النخامية ، يحفز افراز هذا الهرمون عن طريق هرمون اخر يدعى الهرمون المحفز لهرمون النمو Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH) الذي يفرز من تحت المهاد ، ان هرمون النمو يعمل على تحفيز نمو جميع انسجة الجسم بما في ذلك العظام ويحفز تخليق وإطلاق عامل نمو الشبيه بالأنسولين Insulin like Growth Factor -1 (IGF-1) من الكبد وبعض الأنسجة الاخرى (وهو هرمون مماثل في التركيب الجزيئي للأنسولين، لكن وظيفته الأساسية هي محاكاة هرمون النمو) (Le Roith et al,2001) ، ترتفع مستويات إفراز ال GH تدريجيًا خلال مرحلة الطفولة وتصل ذروتها خلال فترة النمو التي تحدث في سن البلوغ ويعمل على زيادة الطول عند الأطفال والمراهقين من خلال تأثيره البنائي على الخلايا، كما يزود الانسجة بالطاقة اللازمة للبناء اذ يعمل بطريقة معاكسة للانسولين ، وبالإضافة الى ذلك يحفز عمل البروتينات ، يحفز تكسير الدهون ، يزيد كتلة العضلات ، ويحفز الجهاز المناعي ويساهم في تنظيم انتاج خلايا الدم الحمر ، يفرز هرمون النمو على شكل دفعات كل 3 الى 5 ساعات ، تزداد مستويات افراز هذا الهرمون عند النوم ، ممارسة الرياضة ، الاجهاد ، وعند انخفاض مستوى الكلوكوز في الدم ، كما يزداد افرازه في مرحلة البلوغ أيضا وعندما ترتفع نسب إفرازه في الدم يقوم هرمون السوماتوستاتين Somatostatin بتثبيط إفرازه (Ceccato et al,2018)

18-2 النبات (الجنكة بيلوبا)

الاسم الانكليزي : Ginkgo

الاسم العلمي : *Ginkgo biloba*

وتم تصنيف النبات كالاتي :

Division: Ginkgophyta

Class: Ginkgoopsida

Order: Ginkgoales

Family: Ginkgoaceae

Genus: *Ginkgo*

Species: *Ginkgo biloba* (Townsend et al,1966)

الجزء المستخدم من النبات : الاوراق Leaves



صورة (1-2) أوراق نبات الجنكة بيلوبا (Hill, 2018)

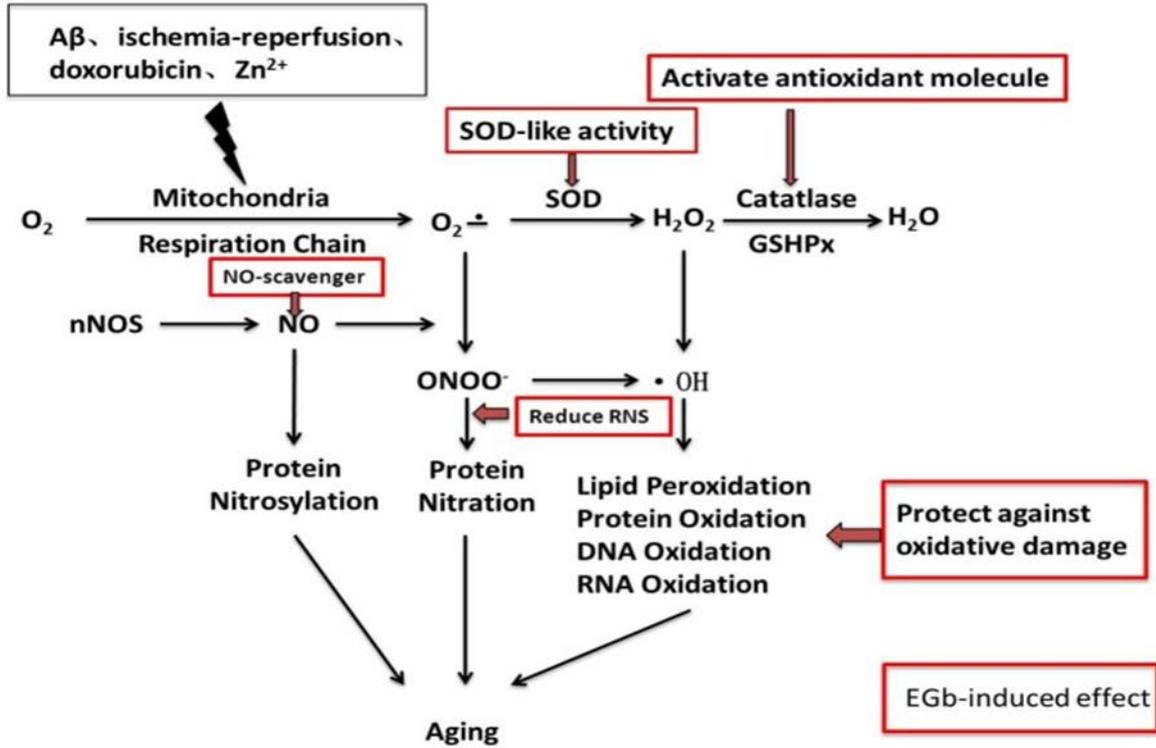
19-2 الأهمية الطبية لنبات الجنكة بيلوبا Medical Importance of

Ginkgo biloba(GB)

يشير الاصل اللغوي لنبات الجنكة بيلوبا الى ان الجنكة (مشتق من الصينية بين شينغ yin-hsing، وتعني "المشمش الفضي") ، بيلوبا (تشير إلى أوراقها ذات الفصين ، على شكل مروحة) وتسمى أيضا شجرة كزبرة البئر، يعود اصلها الى الصين ، وقد تمت زراعتها في جميع أنحاء كوريا ،اليابان ،أوروبا والولايات المتحدة الأمريكية . توصف شجرة الجنكة بيلوبا بأنها "أحفورة حية" لأنها تمثل الأنواع الوحيدة الباقية من رتبة Ginkgoales (صنف عاريات البذور Gymnospermae) وهي شجرة نفضية التي كانت موجودة منذ أكثر من 200 مليون سنة ،

ويعد *Ginkgo biloba* من النباتات العشبية الطبية التقليدية ذات خصائص علاجية متنوعة ،تحتوي الجنكة على العديد من المركبات العضوية هي تربينويد terpenoids ، فلافونويد flavonoids ،بيفلافونويدس biflavonoids ،أحماض عضوية organic acids ،بوليبيرينول polyprenols وغيرها ، و يعود الاهتمام بالخصائص الطبية لـ GB إلى حوالي 5000 عام إلى الصين القديمة ، اذ وصف المعالج (Chen Nounng 2687-2767 ق . م.) الخصائص الطبية للنبات في أول كتاب للأدوية المسمى Chen Nounng Pen T'sao ، وشملت المؤشرات أمراض القلب والرئتين مع ملاحظة أن استنشاق بخارها وشرب الشاي كان مسكنا لكل من الربو والتهاب الشعب الهوائية (Charm & Chang ,1997; Eisvand et al,2020 ;) ، يستخدم نبات ال GB على نطاق واسع في علاج أنواع مختلفة من الاضطرابات ، بما في ذلك الاختلالات المعرفية ، الصداع ، طنين الأذن (الناجم عن مشكلة في الاوعية الدموية) ، الدوار ، عدم الانتباه ، اضطرابات المزاج ، أمراض القلب والأوعية الدموية ، أمراض القلب التاجية ، (Sierpina et al, 2003 ; Wan et al, 2016) ، وتشير الدراسات الى دور GB الفعال في علاج المرحلة المبكرة من مرض الزهايمر ،الخرف الوعائي (ضعف في الوظيفة الذهنية الناجم عن تخريب نسيج الدماغ بسبب ضعف او انقطاع التروية الدموية) والصرع epilepsy ،أمراض الاوعية الدموية الدماغية cerebrovascular illness ،السكتة الدماغية stroke وأمراض الاوعية الدموية المحيطية (Das et al,2022)

تعد الجنكة بيلوبا من مضادات الاكسدة القوية وهي معروفة بقوتها وقدرتها على تنشيط الدورة الدموية و يمكنها الوصول لأضيق الأوعية الدموية من أجل تزويد الأكسجين للقلب والمخ وجميع أجزاء الجسم الأخرى وهذا يساعد على تحسين أداء الوظائف الذهنية ، اذ يحتوي نبات الجنكة على مستويات عالية من مركبات الفلافونويد والتربينويدات ، وهي مركبات معروفة بتأثيراتها القوية المضادة للاكسدة (اذ تقاوم مضادات الأكسدة الجذور الحرة او تقلل من اثارها) وهي عبارة عن جزيئات شديدة التفاعل يتم إنتاجها في الجسم أثناء وظائف التمثيل الغذائي العادية ، مثل تحويل الطعام إلى طاقه أو إزاله السموم. ومع ذلك ، فإن لديها أيضًا القدرة على إتلاف الأنسجة السليمة ، مما يساهم في تسريع الشيخوخة وتطور المرض (Hill, 2018; Dziwenka & Coppock, 2021)



الشكل (3-2) تولد الموارد والمسارات الرئيسية للأكسدة في الشيخوخة (Zuo et al., 2017)

20-2 الجنكة بيلوبا ومرض الزهايمر *Ginkgo biloba* and Alzheimer's disease

ان الذاكرة هي جانب أساسي من جوانب الادراك البشري ويرتبط الانخفاض في الذاكرة ارتباطا وثيقا بمرض الزهايمر (Helmi et al 2021) ، يعتقد ان منطقة الذاكرة Hippocampus تؤدي دوراً مهماً في الادراك وهي مركز معالجة الذاكرة واللدونة التشابكية (قدرة المشابك على تعزيز تقويتها أو إضعافها بمرور الوقت، استجابة لزيادة نشاطها أو انخفاضه) ، وقد اوجدت دراسة أن مستخلص الجنكة بيلوبا له تأثيرات واقية للأعصاب ، اذ ان مرض الزهايمر يؤدي إلى تنكس الأعصاب بسبب حدوث الالتهابات inflammation ، الإجهاد التأكسدي oxidative stress وموت الخلايا المبرمج للخلايا العصبية neuronal apoptosis ، وتركز هذه الدراسة على الوقاية منها او علاجها ، فقد وجد ان استخدام الجنكة بيلوبا يقلل بشكل ملحوظ من فقدان الادراك وضعف الذاكرة اللذان يتسببان في مرض الزهايمر (Arunima et al, 2021). ويعمل الجينكجوليد ginkgolides احد مكونات الجنكة بيلوبا

كمضاد لعامل تنشيط الصفائح الدموية (platelet activating factor (PAF) اذ يعمل على الحد من ارتباط عامل تنشيط الصفائح الدموية بمستقبل بروتين G protein coupled receptor (GPCR) من خلال سلسلة إشارات ، اذ يحدث الالتهاب نتيجة لارتباط PAF بمستقبله مما يؤدي الى تخليق وسائط التهابية مثل اللوكوترايينات leukotrienes والمواد الكيميائية المحرزة للالتهابات pro-inflammatory chemicals مثل الساييتوكينات cytokine ، كما يعمل الجينكجوليد على تقليل الالتهابات التي تسبب الزهايمر من خلال منع ارتباط PAF بمستقبله ، و يعمل عنصر الفلافونيد flavonoid على كسح الجذور الحرة و يثبط مركبات الاوكسجين التفاعلية (Reactive Oxygen Species (ROS) ، ويمنع استقرارها في الدماغ (Punzalan *et al*, 2019) ، وقد اشارت دراسة الى ان لويحات البيتا أميلويد تنجذب إلى المشبك بواسطة أيونات الزنك والنحاس ، ويُفترض أن تقاربها مع مثل هذه الأيونات المعدنية عند المشبك العصبي هو المسؤول عن سميتها في مواقع المستقبلات العصبية (Masuoka *et al*, 2021) ، وفقا لذلك اقترحت العديد من العلاجات الدوائية والعلاجات المناعية التي استهدفت هذه اللويحات (Lambracht-Washington & Rosenberg, 2013) ، ومثل هذه العلاجات يمتلك مستخلص الجنكة بيلوبا القدرة على تثبيط تكوين لويحات البيتا امليويد $A\beta$ فقد وجد ان معاملة الفئران المحورة جينيا APP/ PS1 (تحويل جيني لبروتين APP لاستحداث مرض الزهايمر AD) بجرعات من المستخلص أدت الى انخفاض مستويات البيتا امليويد $A\beta$ (Zuo *et al*, 2017) ، وبينت دراسات أخرى ان التجريع بمستخلص الجنكة التجاري يؤدي الى انخفاض مستويات البيتا امليويد الغير قابلة للذوبان $A\beta$ insoluble والساييتوكينات الالتهابية inflammatory cytokines مثل (أوكسيد النتريك المحرض للالتهابات nitric oxide synthase) (Wan *et al*, 2016)

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1-3 المواد Materials

1-1-3 الاجهزة

استخدمت في التجربة الحالية الاجهزة المذكورة في الجدول (1-3)

جدول (1-3) يبين الاجهزة المستخدمة في الدراسة حسب المنشأ والشركة المصنعة

التسلسل	الاجهزة	المنشأ	الشركة
1	Refrigerator ثلاجة	USA	LG
2	Centerfuge جهاز الطرد المركزي	Germany	Hermile
3	جهاز الكروماتوغرافي عالي الاداء (HPLC)	Japan	Shimadzu
4	Rotary Laborata جهاز	Germany	Heidolph
5	Digital Incubator حاضنة	Korea	Daihan Labtech
6	Digital Water حمام مائي bath	Korea	Daihan Labtech
7	Hot plate صفيحة ساخنة	Germany	Mettle
8	blender طاحونة	USA	Osterizer
9	Camera Digital كاميرا رقمية	Japan	PMPHD 60 f
10	Vortex هزاز	Italy	Roma
11	Rotary مايكروتوم دوار Microtome	U.S.A	Unico , TM
12	Light microscope مجهر ضوئي	Italy	Genex
13	spectrophotometer مطياف ضوئي	Japan	Apple 203
14	Sensitive balance ميزان حساس	Germany	Sartorius

2-1-3 الأدوات

جدول (2-3) يبين الادوات الزجاجية والبلاستيكية حسب المنشأ والشركة المصنعة

الشركة	المنشأ	الادوات الزجاجية والبلاستيكية	التسلسل
Nunclon	Denmark	ادوات بلاستيكية مختلفة الاحجام	1
Gold star	Jordan	انابيب غير حاوية على مادة مانعة للتخثر	2
Volac	Englang	زجاجيات مختلفة الاحجام Pyrex	3
China MHECO	China	شرائح زجاجية Glass Slides	4
S.I.E.	Pakistan	عدة تشريح Dissecting Set	5
Medical ject	S.A.R.	محاقن طبية Disposable syringes	6
Roma	Italy	مجرة فموية stomak tube	7
Supelco	U.S.A	مرشحة بلاستيكية	8

3-1-3 المواد الكيميائية Chemical Materiale

جدول (3-3) المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة المصنعة

الشركة	المنشأ	المادة	التسلسل
BDH	England	امونيا Ammonia	1
BDH	England	حامض الستريك Citric acid	2
BDH	England	حامض النتريك Nitric acid	3
BDH	England	كلوريد الالمنيوم	4
BDH	England	زايلين Xylene	5
Merck	Germany	شمع البرافين Paraffin Wax	6

BDH	England	Giemsa Stain صبغة كمزا	7
BDH	England	Hemotoxyline صبغة هيماتوكسين	8
BDH	England	Eosin الايوسين	9
Atlas	U.S.A	TC عدة تقدير الكولسترول	10
Atlas	U.S.A	عدة تقدير الشحوم البروتيني عالية الكثافة HDL-C	11
MyBioSource	USA	عدة تقدير انزيم الاستيل كولين استريز Acetylcholine esterase (AchE)	12
Kono bioech	Japan	عدة تقدير انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase	13
Kono bioech	Japan	عدة تقدير انزيم سايتوكروم C اوكسيديز	14
Kono bioech	Japan	عدة تقدير TNF- α	15
Eagle biosciences	Austria	عدة تقدير هرمون ACTH	16
Eagle biosciences	Austria	عدة تقدير هرمون الكورتيزول	17
Kono bioech	Japan	عدة تقدير هرمون GH	18
BDH	England	Formalin فورمالين	19
BDH	England	Ethanol كحول ايثيلي	20
BDH	England	Chloroform كلوروفورم	21
BDH	England	Canada balsam كندا بلسم	22
BDH	England	Methanol ميثانول	23
BDH	England	Silver nitrate نترات الفضة	24
Fucon	Germany	Hexane هكسان	25
BDH	England	Ammonium هيدروكسيد الامونيا hydroxide	26

2-3 حيوانات التجربة

استخدمت في هذه التجربة 90 من ذكور الجرذان البيض نوع *Rattus norvegicus* وتراوحت اعمارها بين 2-3 أشهر واوزانها ما بين 200 -240 غرام تم شرائها من البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري / جامعة تكريت ووضعت في اقفاص بلاستيكية معدة لهذا الغرض في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء ، اخضعت هذه الحيوانات لظروف مختبرية خاصة بدرجة حرارة 25 درجة مئوية ، ومدة الإضاءة (12 ضوء -12 ساعة ظلام) ، زودت الحيوانات بالماء والعليقة القياسية بصورة حرة طيلة مدة البحث ، وتركت الحيوانات لمدة اسبوعين للتكيف مع الظروف قبل اجراء التجربة وللتأكد من خلوها من الامراض. وتكونت العليقة امن حليب مجفف كامل الدسم 20% ، جريش الحنطة 17% ، دقيق الحنطة 17% ، جريش الشعير 20% ، جريش الذرة 25.5% ، ملح الطعام 1% (Clarke *et al*, 1977).

3-3 جمع النبات المستخدم وتحضير المستخلص

تم شراء اوراق نبات الجنكة بيلوبا الجافة من الاسواق المحلية في مدينة كربلاء المقدسة - العراق، تم طحنها بالمطحنة الكهربائية للحصول على مسحوق ناعم يستخدم في الاستخلاص. تم تحضير المستخلص المائي للنبات بنقع 50 غم من مسحوق اوراق الجنكة بيلوبا المطحونة في 500 مل من الماء المقطر لمدة 24 ساعة ومع تحريك المنقوع باعواد خشبية بين الحين والآخر بعدها صببت في اواني زجاجية ثم جففت في فرن عند 40 درجة مئوية وتم قشط المادة الجافة للحصول على المستخلص (باودر اخضر اللون) تم حفظه في عبوة زجاجية في الثلاجة . بعدها اعطي المستخلص عن طريق الفم باستخدام مجرعة فموية معدة لهذا الغرض. (Bako *et al*, 2010)

التجربة الاولى Experiment 1

تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا

التجربة الثانية Experiment 2

G1(Control)

1مل ماء مقطر لمدة شهر

G2 (AlCl₃)

10ملغم/كغم لمدة شهر

G3 (Ginkgo)

10ملغم / كغم لمدة

G4 (Ginkgo+AlCl₃)

10 ملغم / كغم لمدة شهر

بعد انتهاء فترة التجربة والبالغة شهر واحد تم التضحية بالحيوانات لدراسة

الجانب النسجي
تقطيع نسجيالجانب الفسلجي
سحب الدم

المخ

المخيخ

الحبل
الشوكي

ايونات

Ca+

Fe+

الهormونات

ACTH

GH

cortisol

انزيمات

AchE

M AchE

TNF α

N Mit

ATPas

COX

مؤشرات
الاجهاد
التأكسدي

GSH

MDA

شكل (1-3) تصميم التجربة

4-3 تصميم التجربة**1-4-3 التجربة الاولى experiment 1**

صممت هذه التجربة لإيجاد الجرعة المؤثرة ED₅₀ للمستخلص المائي لجنكة بيلوبا على بعض المعايير الحيوية لذكور الجرذ الابيض ، اذ استخدمت جرع تصاعديّة مختلفة من الجنكة بيلوبا باستخدام جرعة فموية للإعطاء الفموي لذكور الجرذان .

قسمت عشوائيا 50 من ذكور الجرذ الابيض الى 5 مجاميع وبواقع 10 جرذان لكل مجموعة وجرعت يوميا لمدة 30 يوم وعلى النحو الاتي:

- 1- المجموعة الاولى تم اعطائها فمويا 1مل/كغم من الماء المقطر واستخدمت كمجموعة سيطرة G1
- 2- المجموعة الثانية G2 تم اعطائها فمويا 5 ملغم/ كغم من المستخلص المائي لاوراق نبات الجنكة بيلوبا .
- 3- المجموعة الثالثة G3 تم اعطائها فمويا 10 ملغم/ كغم من المستخلص المائي لاوراق نبات الجنكة بيلوبا .
- 4- المجموعة الرابعة G4 تم اعطائها فمويا 15 ملغم/ كغم من المستخلص المائي لاوراق نبات الجنكة بيلوبا .
- 5- المجموعة الخامسة G5 تم اعطائها فمويا 20 ملغم/ كغم من المستخلص المائي لاوراق نبات الجنكة بيلوبا .

تم سحب عينات الدم وذلك بعد انقضاء فترة التجربة بعد 30 يوما بعد تجويع الحيوانات طول الليل ووضع الدم بعد ذلك في انابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة لقياس المعايير التالية:

- 1- تركيز الكلوتاثيون المختزل (Reduced Glutathion (GSH).
- 2- تركيز المالونالديهايد (Malondialdehyde (MDA).
- 3- تركيز الكوليستيرول الكلي (Total Cholesterol (TC).

4- تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة (HDL) High Density Lipoprotein .

2-4-3 التجربة الثانية experiment 2

قسمت 40 من ذكور الجرذ الابيض عشوائيا الى اربعة مجاميع بواقع 10 جرذان لكل مجموعة :

تم تجريع المجموعة الاولى (G1) فمويا 1 مل/ كغم ماء مقطر لمدة شهر واحد يوميا و عدت مجموعة سيطرة سالبة .

تم تجريع المجموعة الثانية (G2) فمويا (10 ملغم /كغم) من مادة كلوريد الالمنيوم $AlCl_3$ ولمدة شهر يوميا و عدت مجموعة سيطرة موجبة

تم تجريع المجموعة الثالثة (G3) فمويا بالجرعة المؤثرة ED_{50} (10 ملغم /كغم) من المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا التي تم استخراجها من التجربة الثانية ولمدة شهر واحد يوميا

تم تجريع المجموعة الرابعة (G4) فمويا بالجرعة المؤثرة ED_{50} (10 ملغم / كغم) من مادة الجنكة بيلوبا قبل 4 ساعات من تجريعها الفموي ب(10 ملغم /كغم) من مادة كلوريد الالمنيوم ولمدة (شهر واحد) يوميا.

3-4-3 سحب الدم

تم سحب عينات الدم بعد انتهاء فترة التجربة البالغة 30 يوماً بعد تجويع الحيوانات طول الليل ، وبعدها جلبت الحيوانات الى المختبر ومن ثم خدرت باستعمال الطريقة المغلقة (Closed-method) والتي تتضمن وضع الحيوان في علبة شفافة ذا غطاء محكم توضع في داخلها قطنة مشبعة بمادة الكلوروفورم وبعد مرور (1-3) دقائق خدرت الحيوانات وتم استخراجها ووضعها داخل طبق التشريح عن طريق التحكم بالحيوان مستلقي على ظهره وسحب منه الدم من القلب مباشرة باستخدام محاقن طبية معقمة سعة 5 مل بعد ذلك وضع الدم في انابيب اختبار زجاجية Gel-tubes غير حاوية على مادة المانعة لتخثر الدم ومن ثم دورت الانابيب بجهاز الطرد المركزي بواقع 3000 دورة/دقيقة ولمدة 15 دقيقة بعدها تم سحب مصل الدم Serum بواسطة ماصة دقيقة ووضع المصل في انابيب بلاستيكية صغيرة الحجم (Ebendrore tube) ومن ثم تم حفظها في التجميد عند درجة حرارة منخفضة 18- مئوية لحين قياس المعايير الفسلجية التالية .

1. المعايير الانزيمية

- تركيز انزيم الاستيل كولين استريز الذائب (Soluble AchE (G1)
- تركيز انزيم الاستيل كولين المرتبط بالغشاء (Membrane-bound AChE (G4)
- تركيز انزيم NMit ATPase
- تركيز انزيم (COX)
- تركيز عامل النخر الورمي الفا (TNF- α)

2. المعايير الكيموحيوية

- تركيز المالونالديهيد (MDA).
- تركيز الكلوتاثيون المختزل (Reduced (GSH)

3. تركيز بعض الايونات

- تركيز الكالسيوم (Ca^{+})
- تركيز الحديد الحر (Fe^{+})

4. تركيز بعض الهرمونات

- تركيز الهرمون المحفز للقشرة الكظرية (ACTH)
- تركيز هرمون الكورتيزول Cortisol
- تركيز هرمون النمو (GH)

3-5 قياس تركيز الانزيمات

تم قياس تركيز الانزيمات باستخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة لكل إنزيم بناءً على الطريقة المناعية المعروفة (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الالمانى المنشأ. تم اتخاذ اجراء الخطوات اللازمة لقياس كل إنزيم بناءً على الخطوات المصاحبة لكل طقم على النحو التالي:-

1-5-3 قياس تركيز انزيم الاستيل كولين استريز Acetylcholine Esterase (AChE) الذائب والمرتبط بالغشاء

1-1-5-3 المحاليل المستخدمة

1- محلول دارى فوسفات الصوديوم Sodium Phosphate Buffer (PB) بعيارية 12.5Mm ودرجة حامضية PH=7.2 (محلول 1)

تم تحضير هذا المحلول باستخدام محلولين وكالاتي:

محلول A : حضر باذابة 1.1125 غم من $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ في كمية معينة من الماء المقطر بعدها اكمل الحجم الى 500 مل من الماء المقطر.

محلول B : حضر باذابة 0.975 غم من $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ في كمية معينة من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى 500 مل من الماء المقطر.

بعد انتهاء تحضير المحاليل تم مزج 360 مل من المحلول A و 140 مل من المحلول B واصبح جاهز للاستخدام .

2- محلول ملح دارى فوسفات الصوديوم Sodium Phosphate Buffer Saline (PBS) بعيارية 12.5Mm ودرجة حامضية PH=7.2 (محلول 2)

حضر هذا المحلول باذابة 5.84 غم من NaCl بعيارية 0.4 M مع 250 مل من المحلول 1

3- محلول دارى فوسفات الصوديوم Sodium Phosphate Buffer (PB) بعيارية 13.75Mm ودرجة حامضية PH=7.2 (محلول 3)

حضر هذا المحلول باستخدام محلولين وعلى النحو الاتي :

محلول A : حضر باذابة 1.1124 غم من $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ في كمية معينة من الماء المقطر بعدها اكمل الحجم الى 500 مل من الماء المقطر.

محلول B : حضر باذابة 0.073 غم من $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ في كمية معينة من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى 500 مل من الماء المقطر.

بعد انتهاء تحضير المحاليل تم مزج 360 مل من المحلول A و 140 مل من المحلول B واصبح جاهز للاستخدام.

4- محلول ملح دارى فوسفات الصوديوم (PBS) بعيارية 13.5Mm ودرجة حامضية PH=7.2 (محلول 4)

حضر هذا المحلول باذابة 5.84 غم من NaCl بعيارية 0.4 M و 1.375 مل من Triton X-100 في 250 مل من المحلول 3 ، حفظت جميع المحاليل مبردة لحين الاستخدام .

3-5-1-2 تحضير النسيج

بعد التضحية بالحيوانات واستخراج ادمغتها من الجمجمة ، تم هرس (10 غرام) من كل دماغ في جفنة خزفية تحتوي على 30 مل من المحلول الدارى (محلول 2) في حمام ثلجي لمدة 15 دقيقة ، بعد ذلك تم وضع العينة في جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 X غم في درجة حرارة 4- درجة مئوية لمدة 20 دقيقة ، حيث جمعت المادة الطافية (S1) ،بالاضافة الى ذلك ان الخلايا المتبقية اعيد سحقها مع 30 مل من المحلول 4 لمدة 30 دقيقة بعد ذلك وضعت العينة في جهاز الطرد المركزي بدرجة X 2000 غم بدرجة حرارة 4 C⁰ لمدة 20 دقيقة جمعت المادة الطافية (S2) ،تم استخدم (S1) كمصدر لقياس انزيم AChE الذائب (G1) و (S2) استخدم كمصدر لقياس انزيم AChE المرتبط بالغشاء (G4) (Rakonczay,2003) .

طريقة العمل

- 1- وضع 100µl من المادة القياسية والعينات في الأوعية المخصصة لها .
- 2- اضيف 50 µl من المادة الكاشفة Enzyme Conjugate الى الاوعية ومزجت جيدا ، بعدها غطيت جميع الاوعية وحضنت بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة ساعة واحدة.
- 3- تم التخلص من محتويات الاوعية وذلك بقلب محتوياتها في سلة المهملات .
- 4- ملئت جميع الاوعية بمحلول الغسل ورجت لمدة 30 ثانية ، كررت عملية الغسل خمس مرات بعدها جففت الاوعية بقلبها على ورق ترشيع .

- 5- اضيف $50 \mu\text{l}$ من المحلول المظهر للون A و $50 \mu\text{l}$ من المحلول المظهر للون B على التوالي ، غطيت جميع الاوعية ووضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 20-25 درجة مئوية لمدة 10 دقائق.
- 6- اضيف $50 \mu\text{l}$ من محلول الايقاف لكل وعاء ومزج جيدا .
- 7- تمت قراءة الكثافة البصرية باستخدام القاري الخاص بجهاز الاليزا وبطول موجي 450 نانوميتر .

2-5-3 قياس تركيز انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase

تم قياس تركيز الانزيم في المصل باتباع الخطوات الآتية:

- 1- تم وضع $50 \mu\text{l}$ من المادة القياسية في الأوعية المخصصة لها .
- 2- اضيف $40 \mu\text{l}$ من محلول التخفيف الخاص Special diluent (الموجود ضمن عدة القياس) الى الاوعية الخاصة لقياس العينات ، بعدها اضيف $10 \mu\text{l}$ من العينة لكل وعاء .
- 3- اضيف $50 \mu\text{l}$ من كاشف horseradish peroxidase (HRP) الى كل وعاء ، بعدها سدت الاوعية وتم رجها بلطف و تم حضن الخليط بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 60 دقيقة .
- 4- تم إزالة الخليط الفائض عن طريق قلب محتويات الاوعية في سلة المهملات ، جففت وبعدها تم ملئ الاوعية بمحلول الغسل .
- 5- تم غسل أوعية التعبير خمس مرات بالماء المقطر ثم جرى تنشيف الأوعية بورق الامتصاص لإزالة جميع قطرات الماء.
- 6- تم اضافة $50 \mu\text{l}$ من المحلول مظهر اللون A ، بعدها اضيف $50 \mu\text{l}$ من المحلول مظهر اللون B على جدران الاوعية ورج برفق وتم حضانة الاوعية بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 10 دقائق .
- 7- تم إضافة $50 \mu\text{l}$ من محلول الايقاف على جدران الاوعية لايقاف التفاعل (لوحظ تغير اللون الازرق الى اللون الاصفر في الحال) .
- 8- جرى قراءة الكثافة البصرية باستخدام القاري الخاص بجهاز الاليزا وبطول موجي 450 نانوميتر بعد 15 ثانية من اضافة محلول الايقاف .

3-5-3 قياس ساييتوكروم Cytochrome C Oxidase

المحاليل المستخدمة :

- 1- محلول القياس Assay Buffer : ويتكون من 10 Mm حامض Tris-HCl عند الاس الهيدروجيني pH=7 ويحتوي على 120 mM من KCL
- 2- محلول التخفيف 1 Enzyme Dilution Buffer : ويتكون من 10 Mm حامض HCl عند الاس الهيدروجيني pH=7 والحاوي على 250 mM من sucrose
- 3- محلول 2 Enzyme Dilution Buffer : يتكون من 1 mM n-Dodecyl β -D-maltoside
- 4- محلول Dithiothreitol (DTT) Solution بتركيز 0.1M
- 5- محلول Ferrocycochrome c Substrate Solution بتركيز 0.22 Mm

طريقة العمل :

- 1- تم اضافة 0.95 ml من محلول القياس Assay Buffer الى الاوعية وتم تصفير جهاز المطياف الضوئي
- 2- اضيف حجم مناسب من محلول 1 Enzyme Dilution Buffer الى الاوعية ، ثم اضيف 1.05 مل من محلول التخفيف 2 Enzyme Dilution Buffer بعدها تم مزج المحتويات الاوعية جيدا .
- 3- تم اضافة 50 ميكرو لتر محلول Ferrocycochrome c Substrate Solution لبدأ التفاعل بعدها خلط جيدا عن طريق قلب محتويات الاوعية .
- 4- تم قراءة الامتصاصية عند الطول الموجي قرأ 550 نانوميتر .

الحسابات :

تم حساب النتائج باستعمال المعادلة التالية:

$$\text{units/ml} = \frac{\Delta A/\text{min} \times \text{dil} \times 1.1}{(\text{vol of enzyme}) \times 21.84}$$

اذ ان :

$\Delta A/\text{min} = \text{امتصاصية العينة} - \text{امتصاصية الكفئ}$

$\text{dil} = \text{عامل تخفيف الانزيم او العينة}$.

$\text{vol of enzyme} = \text{كمية الانزيم او العينة لكل مل}$.

4-5-3 قياس عامل التنخر الورمي (TNF- α)

1-4-5-3 تحضير معايير التخفيف Dilute standard :

تم إعادة تكوين معيار TNF- α الى 2000 بيكوغرام /مل باستخدام منظم التخفيف القياسي standard dilution buffer ومزج بلطف وتركت المحتويات لمدة 10 دقائق لضمان إعادة التركيب الكامل حدد 2000 جزء من الغرام /مل من TNF- α واستخدم المعيار في غضون ساعة واحدة من إعادة التكو .

اضيف 300 ميكرو لتر من المعايير المعاد تكوينها الى أنبوب واحد يحتوي على 300 ميكرو لتر من وعاء منظم التخفيف القياسي Standard Dilution Buffer وتم خلطه ، حدد 1000 جزء من الغرام / مل من TNF- α . ثم اضيف 300 ميكرو ليتر من منظم التخفيف القياسي الى كل من الانابيب السبعة المحددة كالاتي : 500 ، 250 ، 125 ، 62.5 ، 31.2 ، 15.6 و 0 بيكوغرام /مل من TNF- α . تم عمل تخفيفات متسلسلة للمعيار standard .

Dilute Vol ume	300 ml	300 μ L	300 μ L	300 μ L	300 μ L	300 μ L	300 μ L	300 μ L
2000 pg/ml	Std 1	Std 2	Std 3	Std 4	Std 5	Std 6	Std 7	Std 0
	1000 pg/ml	500 Pg/ml	250 Pg/ml	125 Pg/ml	62.5 Pg/ml	31.2 Pg/ml	15.6 Pg/ml	0 Pg/ml

2-4-5-3 تحضير محلول HRP - Streptavidin

تم تحضيره قبل الاستخدام ب 15 دقيقة

في كل شريط مكون من 8 حفر مستخدمة في الفحص ، تم امتصاص 10 ميكرو لتر من Streptavidin - HRP (100x) ثم تم مسح الماصة بورق ماص نظيف لضمان إزالة أي محلول زائد ، تم تصريف المحلول في أنبوب يحتوي على 1 مل من محلول تخفيف Streptavidin - HRP و خلط جيدا . ثم اعيد المحلول غير المستخدم من Streptavidin - HRP الى الثلجة .

طريقة العمل :

1- ربط المستضد Bind antigen

تم إضافة 50 مايكرو لتر من Incubation Buffer الى حفر عينات المصل تركت الحفر لفراغات الكروموجين chromogen blank فارغة . تم إضافة 100 مليلتر من المعايير الى الحفر وتركت الحفر لفراغات الكروموجين chromogen blank فارغة ثم تم الضغط على جانب اللوحة للمزج وتم تغطيتها بغطاء اللوحة وحضنت لمدة ساعتين في درجة حرارة الغرفة ثم سحب المحلول جيدا وغسلت الحفر 4 مرات باستخدام wash buffer (1x) .

2- إضافة البيوتين المترافق Biotin Conjugate

اضيف 100 مايكرو لتر TNF- α محلول البيوتين المترافق الى كل حفرة باستثناء فراغات الكروموجين chromogen blank ثم تم تغطية اللوحة بغطاء خاص بها وحضنت لمدة ساعة واحدة في درجة حرارة الغرفة وسحب المحلول جيدا وغسلت الحفر 4 مرات باستخدام Wash Buffer .

3- إضافة Streptavidin-HRP

اضيف 100 مايكرو لتر من محلول Streptavidin-HRP (1x) في كل حفرة باستثناء فراغات الكروموجين و غطيت اللوحة بالغطاء الخاص بها وحضنت لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة ثم سحب المحلول جيدا وغسلت الحفر 4 مرات باستخدام wash buffer .

4- إضافة الكروموجين المستقر Stabilized Chromogen

تم إضافة 100 ميكرو لتر من الكروموجين المستقر الى كل حفرة حتى بدأ محلول المادة الأساس Substrate بالتحول الى اللون الأزرق ثم تم التحضين لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة في الظلام .

5- إضافة محلول التوقف Stop Solution

تم إضافة 100 ميكرو لتر من محلول التوقف لكل حفرة ثم تم الضغط على جانب اللوحة للمزج ، يتغير المحلول في الحفر من الأزرق الى الأصفر .

الحسابات :

تم قراءة اللوحة بعد ساعتين من إضافة محلول التوقف ، قرأت الامتصاصية عند 450 نانومتر .

3-6 الفحوصات الكيموحيوية

3-6-1 تقدير تركيز المالنوالديهايد في مصم الدم (MDA) Malondialdehyde

تم استخدام طريقة تفاعل حامض الثايوباربيتوريك (Thiobarbituric acid (TBA باستخدام جهاز المطياف الضوئي وحسب هذه الطريقة، تم قياس تركيز المالنوالديهايد (MDA) Malondialdehyde الذي يمثل احد النواتج الرئيسية لعملية اكسدة الدهون ويعد مستواه مؤشرا لهذه العملية، اذ يعتمد القياس على التفاعل بين المالنوالديهايد مع (TBA) (Muslih, et al , 2001).

المحاليل المستخدمة

1- محلول الثايوباربيتوريك (TBA- solution)

حضر بإذابة 0.6 غم من مادة الـ TBA في 100 مللتر من الصودا الكاوية بتركيز 0.05 مولالي باستخدام القليل من التسخين، ويحضر هذا المحلول عند الاستعمال.

2- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور (TCA-solution) Trichloro Acetic Acid

حضر هذا المحلول بتركيزين، التركيز الاول 17.5% حضر بإذابة 17.5 غم من مادة TCA في 100 مللتر من الماء المقطر، والتركيز الثاني 70% حضر بإذابة 70 غم من المادة نفسها في 100 مللتر من الماء المقطر، وحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام.

طريقة العمل

- 1- تم سحب 150 مايكروليتر من مصل الدم و اليه 1 مل من محلول TCA بتركيز 17.5%، واضيف 1 مللتر من محلول TBA الى المزيج، ورج جيدا و ثم حضنت الانابيب في ماء مغلي لمدة 15 دقيقة.
- 2- تم تبريد العينات و اضيف اليها 1 مللتر من محلول TCA بتركيز 70 % و ترك المزيج بدرجة 37 مئوية لمدة 20 دقيقة.
- 3- تم فصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/دقيقة ولمدة 5 دقائق.
- 4- تم قراءة الإمتصاصية عند الطول الموجي 532 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي تم حساب مستوى MDA حسب المعادلة الآتية:

$$\text{تركيز المالونالديهيد (ميكرومول/مول)} = \text{امتصاصية العينة عند 532 نانوميتر} / \text{Eo} \times \text{L} \times \text{معامل التخفيف}$$

اذ ان :

$$L = \text{light path (1 cm).}$$

$$\text{Eo} = \text{extinction coefficient } 1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

/

$$\text{معامل التخفيف} = 0.151 \text{ ml vol. Used in Ref } = 6.7$$

2-6-3 تقدير تركيز الكلوتاثيون المختزل في مصل الدم Reduced Glutathione (GSH)

تم قياس تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم باستخدام طريقة كاشف المان Ellmans المتبعة من قبل (AL- Zamely, et al , 2001).

المحاليل المستخدمة

1- محلول حامض السلفوساليسيليك sulfosalicylic acid solution

حضر بإذابة 4 غم من حامض السلفوساليسيليك في 100 مليلتر من الماء المقطر وحفظ في الثلاجة.

2- محلول دارى الفوسفات phosphate buffer solution

حضر بمزج (0.6 M KH_2PO_4) و (0.08 M Na_2HPO_4)، وتم ضبط الاس الهيدروجيني عند

.8

3- محلول كاشف المان Ellmans

حضر بتركيز 0.1 ملي مول بإذابة 0.00396 غم من مادة
5-5 dithio bis 2- nitrobenzoic acid (DTNB) في 100 مليلتر من المحلول المنظم وحفظ
الكاشف في الثلاجة.

طريقة العمل

1- مزج حجم متساوي (150) مايكروليتر من مصل الدم ومحلول حامض Sulfosalicylic acid بتركيز 4%.

2- فصل الراشح بإستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة /دقيقة لمدة 5 دقائق.

3- سحب 150 مايكروليتر من الراشح الى انبوبة اختبار، واضيف اليها 4.5 مللتر من كاشف المان Ellmans 0.1 ملي مول، وتترك لمدة 5 دقائق.

4- قرأت الامتصاصية للمحلول باستخدام جهاز الطيف الضوئي عند الطول الموجي 412 نانوميتر.

تم حساب تركيز الكلوتاتايون في مصل الدم باستخدام المعادلة الاتية :

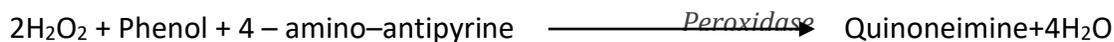
تركيز الكلوتاتايون (ميكرومول/مول) = العينة عند 412 نانوميتر / $E_o \times L$

حيث ان : $E_o = 13600 M^{-1} CM^{-1}$

L =light path (Cm)

3-6-3 تقدير تركيز الكوليسترول الكلي في مصل الدم (Total Cholesterol (TC)

تم تقدير تركيز الكوليستيرول في مصل الدم بالطريقة الانزيمية وفقا لطريقة (Allain,1974) اذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل Cholesterol Esterase بوجود الاوكسجين (O_2) وانزيم Cholesterol Oxidase ، اللذان يعملان على اكسدة الكوليسترول الحر المتكون نتيجة التفاعل الاول الى (Cholest -4en-3one) و (Hydrogen Peroxidase) وهذا الاخير يتفاعل مع الفينول Phenol و 4- Aminoantipyrinel وبوجود انزيم Peroxidase ليكون كيتون امين quinoneimine وردي اللون وكما موضح في المعادلات الاتية :



طريقة العمل

تم استخدام ثلاث انابيب اختبار هي العينة sample ، المحلول القياسي standard والكفى blank (وحسب الجدول التالي :

المحالي	Blank	Sample	Standard
Sample		10 μ	
Standard			10 μ

Blank	10 μ		
Reagent (a)	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

بعدها اضيف 1.0 ml من reagent a الى العينة والمحلول القياسي والكفى ومزجت المحاليل جيدا وتركت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة 37 مئوية ، وبعدها تم قراءة الامتصاصية لها بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 510 نانوميتر وذلك بعد تصفير الجهاز بواسطة الكفى .

الحسابات

تم حساب تركيز الكوليسترول الكلي وفقا للقانون الاتي :

$$\text{Total Cholesterol Mg/dl} = \frac{\text{sample}}{\text{standard}} \times n$$

اذ ان :

$200 = N$ وهو تركيز المحلول القياسي.

$\text{Sample} =$ الامتصاصية الضوئية لعينة المصل .

$\text{Standard} =$ الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

3-6-4 تقدير تركيز الشحوم البروتينية العالية الكثافة في مصل الدم High Density

Lipoprotein (HDL)

تم تقدير تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL cholesterol بالطريقة الانزيمية وفقا لطريقة

(Burstein ,1970) وتعتمد هذه الطريقة على ترسيب دقائق الاستحلاب (الكيلوسية) و LDL و VLDL

والموجودة في مصل الدم ويتم ذلك باضافة معامل الترسيب Precipitating reagent الى مصل العينات وبعد الانتهاء من هذه العملية وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي علما ان المحلول الناتج بعد عملية الترسيب يكون رائق ويحوي على HDL والذي يمكن قياس مستوى الكوليسترول فيه باستخدام الكاشف Reagent A من العدة الخاصة بتقدير مستوى الكوليسترول .

طريقة العمل

تتضمن طريقة العمل في تقدير مستوى HDL cholesterol خطوتين هما :

1- الترسيب

استخدمت هذه الخطوة لتحضير الراشح (الرائق) وذلك باضافة 0.5 مل من محلول الترسيب Reagent1 الى 0.5 مل من مصل الدم ويمزج جيدا ويترك 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

قسم العمل على ثلاثة انابيب اختبار هي (العينة ، المحلول القياسي ، الكفى)

المحاليل	Blank	Sample	Standard
sample محلول رائق من		μ 0.5	
Standard			μ 0.5
Blank	μ 0.5		
Working reagent	2.0 ml	2.0 ml	2.0 ml

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

الحسابات

تم حساب تركيز HDL cholesterol من القانون الاتي :

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

اذ ان:

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

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

7-3 قياس تركيز الايونات

1-7-3 تقدير تركيز الكالسيوم في مصلى الدم Serum Calcium

استخدمت طريقة (Young , 2000) لتقدير تركيز الكالسيوم في المصل ، اذ يتفاعل محلول Cresolftatein comlexone (OCC) والكالسيوم في وسط قاعدي وينتج بنقل الطول الموجي للمعقد المتكون ، و يدل اللون المتكون على تركيز الكالسيوم في العينة الذي يمكن قياسه لونياً على طول موجي 570 نانومتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer.

المحاليل والكواشف المستخدمة

1 الكاشف الاول (R1) : يتكون من o-Cresolphtalein complexone بتركيز 0.16

mmol/L ، HCL بتركيز 60 mmol/L و 8-quinolinol بتركيز 7 mmol/L .

2 الكاشف الثاني (R2) : يتكون من AMP بتركيز 0.35 mmol/L و PH=10.7

3 محلول الكالسيوم القياسي : يتكون من كالسيوم 10 mg/dL (2.5mmol /L) ويستخدم في

تقدير النتائج .

التحضير والثبات

حضر محلول Cresolftatein comlexone (OCC) بمزج عبوة الكاشف الاول (R1) وعبوة الكاشف الثاني (R2) ، ويبقى هذا الكاشف ثابتاً لفترة خمسة ايام عند درجة حرارة 2-8 C⁰.

طريقة العمل

اجريت طريقة العمل كما هو موضح بالجدول الاتي :

Tubes	Blank	Sample	Standard
sample		10µl	
Standard			10µl
Working reagent	1ml	1ml	1ml

تم حساب تركيز الكالسيوم في العينة وفق القانون الآتي:

$$\frac{A \text{ Sample}}{A \text{ Standard}} \times C \text{ Standard} = \text{mg/dl total calcium}$$

2-7-3 قياس تركيز الحديد الحر في المصل

تم تقدير تركيز الحديد الحر في المصل باستعمال عدة قياس حديد المصل (Serum Iron Kit)، الحديد الموجود في عينة المصل التي يجب ان يكون خالي من التحلل الدموي Hemolysis ينفصل الحديد من معقد حديد- ترانسفيرين بواسطة محلول الكواندين استيت acetate Guanidine المضاف ثم يختزل بواسطة حامض الاسكوربيك Ascorbic acid ويتفاعل مع الـ Ferrozine ليعطي معقد وردي اللون.

الكواشف المستخدمة

- 1- الكاشف الاول R1 ويتكون من Guanidine و HCl و Actete buffer بتركيز 4.5 ملي مول/لتر.
- 2- الكاشف الثاني R2 وهو Ascorbic acid.
- 3- الكاشف الثالث R3 وهو Ferrozine بتركيز 40 ملي مول/لتر.
- 4- الكاشف الرابع R4 وهو المحلول القياسي Standard Iron بتركيز 100 مايكروغرام/ديسيلتر.

طريقة العمل

تم تحضير الكواشف الآتية:

- 1- الكاشف A يحضر من اضافة 250 ملغم من الكاشف الثاني R2 مع 50 مل من الكاشف الاول R1.
 - 2- الكاشف B: يحضر من اضافة حجم واحد من الكاشف الثالث R3 مع 25 حجماً من الكاشف A.
- تم أخذ أربعة انابيب بلاستيكية وصنفت الى انبوبة تصفير الكاشف وانبوبة المحلول القياسي وانبوبة تصفير العينة وانبوبة الاختبار.

وضع في كل من انبوبة تصفير الكاشف وانبوبة المحلول القياسي وانبوبة الاختبار 1 مل من الكاشف B ثم اضيف 0.2 مل من الماء المقطر الى انبوبة تصفير الكاشف و 0.2 مل من المحلول القياسي R4 الى انبوبة المحلول القياسي و 0.2 مل من مصل العينة المراد حساب تركيز الحديد فيها الى انبوبة الاختبار، أما انبوبة تصفير العينة فوضع فيها 1 مل من الكاشف A و 0.2 مل من مصل العينة المراد حساب تركيز الحديد فيها.

مزجت تلك الانابيب جيداً وتركت لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة بعدها قيست الكثافة الضوئية للمحاليل السابقة بعد معايرة الجهاز بوساطة محلول تصفير الكاشف وعلى طول موجي 562 نانوميتر وتم حساب تركيز الحديد في المصل بتطبيق المعادلة الآتية:

$$\frac{\text{OD sample}-\text{OD sample blank}}{\text{OD standard}} \times \text{Con. Standard} = \mu\text{g/dl}$$

3-8 قياس تركيز الهرمونات

تم قياس تراكيز الهرمونات باستخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة بكل هرمون بالاعتماد على الطريقة المناعية المعروفة (ELISA) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الالمانى المنشأ واجريت الخطوات لقياس كل هرمون بالاعتماد على الخطوات المرفقة لكل طقم وكما يأتي :-

3-8-1 قياس تركيز هرمون الكورتيزول Cortisol

تم قياس تركيز هرمون الكورتيزول باتباع الخطوات الآتية:

- 1- وضع 50 µl من عينات الاختبار ، المنظمات والمادة القياسية في الأوعية المخصصة لكل منها.
- 2- اضيف 100 µl من الكاشف المرتبط بالأنزيم إلى كل وعاء.
- 3- رج المزيج لمدة 30 ثانية بواسطة جهاز Shaker.
- 4- تمت عملية حضانة الخليط في درجة حرارة الغرفة 18-25 درجة مئوية ولمدة 45 دقيقة.
- 5- تم إزالة الخليط عن طريق قلب محتويات الصفيحة في سلة المهملات
- 6- غسلت الأوعية خمس مرات بالماء المقطر ثم تم تنشيف الأوعية بورق الامتصاص للتخلص من قطرات الماء المتبقية .
- 7- اضيف 100 µl من كاشف TMB إلى كل وعاء بعدها تم المزج من خلال رج الخليط لمدة 10 ثواني.
- 8- تمت حضانة الخليط في درجة حرارة الغرفة في الظلام لمدة 20 دقيقة.
- 9- اضيف 100 µl من محلول الإيقاف لكل وعاء لغرض إيقاف التفاعل .

- 10- ترك المزيج لمدة 30 ثانية اذ تم تغيير اللون الأزرق إلى اللون الأصفر وبصورة كاملة.
- 11- تم قراءة الكثافة البصرية باستخدام القاري الخاص بجهاز الاليزا وبطول موجي 450 نانوميتر

2-8-3 قياس تركيز الهرمون المحفز لقشرة الغدة الكظرية

Adrenocorticotropin Hormone (ACTH)

طريقة العمل:

- 1- تم تثبيت العدد المناسب من الحفر Wells على الحامل الخاص بها والمجهز مع طقم الهرمون .
- 2- تم سحب 25 µl من المصل الدم و المادة القياسية Standard ثم وضعت في الحفر المهيأة لها.
- 3- تم اضافة 100 µl من كاشف ACTH- HRP لكل حفرة
- 4- تم مزج محتويات الحفر مزجاً جيداً وتركت لمدة نصف دقيقة ، ثم تم حضنها بدرجة حرارة 37c لمدة 60 دقيقة.
- 5- تم غسل الحفر بقلب محتوياتها برفق واضيف 300 µl من محلول الغسل وكررت عملية الغسل خمس مرات.
- 6- اضيف 100 µl من كاشف TMB الى كل حفرة ، ومزجت برفق لمدة 10 ثانية.
- 7- تم حضن محتويات المزيج داخل الحفر بدرجة حرارة الغرفة (25 – 18) درجة مئوية لمدة 20 -30 دقيقة .
- 8- تم إضافة 150 µl من المحلول الموقف للتفاعل Stop solution لكل حفره .
- 9- تم مزج المحتويات برفق وتركت لمدة 10 ثواني
- 10- تمت قرأت الامتصاصية Absorbance عند الطول الموجي 450 nm بواسطة جهاز Reader . ELISA

3-8-3 قياس تركيز هرمون النمو (GH) Growth hormone

طريقة العمل

- 1- تم تثبيت العدد المناسب من الحفر المغطاة بالاجسام المضادة على الحامل او المسند الخاص بها والمجهز مع طقم الهرمون
- 2- تم اضافة 100 µl من العينة و المحاليل القياسية ووضعت في الحفر المهيأة لها .
- 3- تم اضافة 100 µl من الكاشف المرتبط بالانزيم الى الاوعية ومزجت جيدا لمدة 30 دقيقة
- 4- تم حضانة الحفر عند درجة حرارة الغرفة (25-18) درجة مئوية مع الرج بالجهاز الخاص بسرعة 180 RPM لمدة 120 دقيقة
- 5- ازيلت محتويات الحفر وذلك عن طريق قلبها وتفريغها في سلة المهملات .
- 6- غسلت الاوعية 5 مرات بالماء المقطر
- 7- تم تجفيف الاوعية عن طريق قلبها على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية.
- 8- تم اضافة 100 µl من كاشف TMP الى كل وعاء ومزج بلطف لمدة 10 دقائق
- 9- تم حضانة الاوعية عند درجة حرارة الغرفة وفي الظلام وتركت مدة 20 دقيقة
- 10- تم اضافة 100 µl من محلول الايقاف الى كل وعاء لغرض ايقاف التفاعل وبعدها تم مزجه بلطف لمدة 30 ثانية ولوحت تغير اللون من الازرق الى اللون الاصفر .
- 11- تم قراءة الامتصاصية بجهاز Microtiter well reader عند الطول الموجي 450 نانوميتر

9-3 التحضيرات النسجية Histological preprations

1-9-3 تحضير العينات للدراسة النسجية

تم حفظ العينة (المخ ، المخيخ والحبل الشوكي) في البداية بعد استئصالها من الحيوان في محلول الفورمالين بتركيز 10 % وبعد 4-5 ايام استخرجت من الفورمالين وغسلت عدة مرات بالكحول الايثيلي بتركيز 70% بعدها اجريت عليها سلسلة من العمليات اعتماداً على الطريقة الموصوفة في (Bancroft and Stevens, 1982).

2-9-3 الإنكاز (Dehydration)

مررت النماذج بعد الغسل بسلسلة تصاعديّة من الكحول الأثيلي بدءاً بتركيز (70%، 80%، 90%، 100%، 100%) ولمدة ساعة ونصف لكل تركيز .

3-9-3 الترويق (Clearing)

روقت العينات بالزايلين ولمدة (5) دقائق.

4-9-3 التشريب والظمر (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 درجة مئوية، بواقع تبدلين بعد ذلك تم ظمر العينات بالشمع نفسه اذ وضع في قوالب مصنوعة من الحديد وبشكل حرف (L) يتم وضعها بشكل متقابل للحصول على شكل مربع مع مراعاة أسلوب وضع العينة دخل المقطع من اجل الحصول على مقطع عمودي (طولي) او عرضي

5-9-3 التشذيب والتقطيع (Trimming and cutting)

شدبت قوالب الشمع الحاوية على النماذج بعد ان ثبتت على حامل خشبي وقطعت النماذج باستخدام المشراح الدوار (Micro tome) بسمك (5 µ) ، ثم نقلت المقاطع إلى حمام مائي بدرجة (38 درجة مئوية) لغرض تسطيح النسيج ، ووضعت الأشرطة على شرائح زجاجية

6-9-3 التصبغ والتحميل Staining and Mounting

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

1-6-9-3 التصبغ بصبغة هيماطوكسلين - ايوسين Haematoxylin-Eosin stain

تم صبغ المقاطع النسجية باستخدام صبغة هيماطوكسلين - ايوسين اذ تم وضع الشرائح في الزايلين وتركت لمدة 5 دقائق لغرض التخلص من الشمع بعدها تم تمريرها بسلسلة تراكيز تنازلية من الكحول الاثيلي

(100%، 100%، 90%، 80%، 70%، 50%) لمدة دقيقتين في كل تركيز بعدها صبغت بصبغة الهيماتوكسلين لمدة دقيقة واحدة بعدها تم غسلها بالماء المقطر لمدة دقيقتين ثم غطت بالكحول الحامضي لمرتين او ثلاث مرات لازالة الصبغة الزائدة بعدها صبغت بصبغة الايوسين لمدة ربع دقيقة بعدها تم تمريرها بسلسلة تصاعدية من الكحول الايثيلي (50%، 70%، 80%، 90%، 100%، 100%) ولمدة دقيقتين في كل تركيز ما عدا التركيز الاخير وضعت فيه لمدة 5 دقائق وجرت عملية الترويق باستخدام الزايلين بمرحلتين في كل مرحلة لمدة 10 دقائق بعدها اجريت عليها عملية التحميل باستخدام بلسم كندا Canada Balsam لغرض تثبيت غطاء الشريحة بعدها تركت على صفيحة ساخنة لتجف لمدة 8 ساعات لتكون جاهزة للفحص المجهرى.

3-9-6-2 التصبيغ بصبغة السلفر Silver Stain

استخدمت طريقة (Mirra et al , 1993) في عملية التصبيغ بصبغة السلفر لتشخيص مرض

الزهايمر .

الكواشف

1- محلول نترات الفضة 20% 20% Silver Nitrate

حضر باذابة 10 غم من نترات الفضة في 50 مل من الماء المقطر

2- محلول الفضة الامونياكي Ammoniacal Silver Solution

حضر باستخدام 50 مل من محلول نترات الفضة 20% مع اضافة قطرات من الامونيا لحين ظهور الراسب.

3- المحلول المظهر للون Developer

A- محلول Stock solution: حضر بإضافة 20 مل من الفورمالديهايد (37-40%) الى 0,5 غم من حامض الستريك citric acid و قطرتين من حامض النتريك nitric acid مع 100 مل من الماء المقطر

B- محلول Working solution: حضر بإضافة 8 قطرات من هيدروكسيد الامونيا و 8 قطرات من محلول Stock solution الى 50 مل من الماء المقطر

4- ماء الامونيا: حضر بإضافة 8 قطرات من هيدروكسيد الامونيا الى 50 مل من الماء المقطر

طريقة العمل

تم وضع محلول نترات الفضة 20% في جارة التصبيغ وتركت في المايكرووفيف بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 35 ثانية ، بعدها اضيفت السلايدات الزجاجية الى محلول نترات الفضة 20% في المايكرووفيف وتركت لمدة 15 دقيقة ، غسلت جميع السلايدات بالماء المقطر وكررت العملية 3 مرات ، وضعت السلايدات في محلول الفضة الامونياكي لمدة 10 دقائق في المايكرووفيف بدرجة 37 درجة مئوية ، ثم وضعت في محلول Working solution لمدة 1-5 دقائق ، غسلت السلايدات بماء الامونيا ثم بالماء المقطر 3 مرات ، بعدها وضعت في محلول 5% Hypo لمدة دقيقتين وغسلت بالماء المقطر 3 مرات ثم جففت السلايدات و اجريت عليها عملية التحميل باستخدام بلسم كندا وثبت غطاء الشريحة و تركت على صفيحة ساخنة لتجف لمدة 8 ساعات لتكون جاهزة للفحص المجهرى .

10-3 التصوير المجهرى Microphotography

صورت الشرائح المجهرية تحت القوى 400 باستخدام المجهر الضوئي نوع (Meiji) مزود بكاميرا تصوير نوع (Canon) لتصوير التراكيب النسجية الخاصة بالمخ والمخيخ والحبل الشوكي في الحيوانات قيد الدراسة.

11-3 التحليل الأحصائي Statistical Analysis

حللت جميع النتائج للمعايير الفسلجية من خلال الاستعانة بالبرنامج الجاهز SAS وقورنت النتائج باستخدام قيمة اقل فرق معنوي (LSD) Least Significant difference على مستوى احتمالية $P < 0.05$ وقدر معامل الارتباط البسيط بين بعض المعايير الكيموحيوية والجرع التصاعدية لمستخلص نبات الجنكة بيلوبا وإيجاد معادلة الخط المستقيم للمعايير الكيموحيوية على هذه الجرع التصاعدية وذلك بيان تأثير الجرعة المؤثرة ED₅₀ على هذه المعايير ، معادلة الخط المستقيم هي :

$$Y = a + bx$$

$Y =$ المتغير التابع (المعايير الكيموحيوية)

$a =$ نقطة تقاطع خط الانحدار مع المحور الصادي

$b =$ معامل انحدار المتغير التابع على المتغير المستقل

$x =$ قيمة المتغير المستقل (جرعة المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا)

تم اختبار معنوية معامل الارتباط من خلال تحليل وذلك وفق التصميم العشوائي الكامل Compleat randomized design (CRD) كما تم استخدام تحليل التباين Anova table وفق التصميم العشوائي الكامل لتحليل بيانات التجربة الثالثة و استخدم أيضا اختبار اقل فرق معنوي Least Significant difference (L.S.D) لظهار معنوية النتائج تحت مستوى احتمالية $P < 0.05$ (SAS, 2012) .

الفصل الرابع

النتائج

Results

النتائج

Results

1-4 التجربة الأولى Experiment 1 تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا Determination of ED₅₀ of aquatic extract of *Ginkgo biloba*

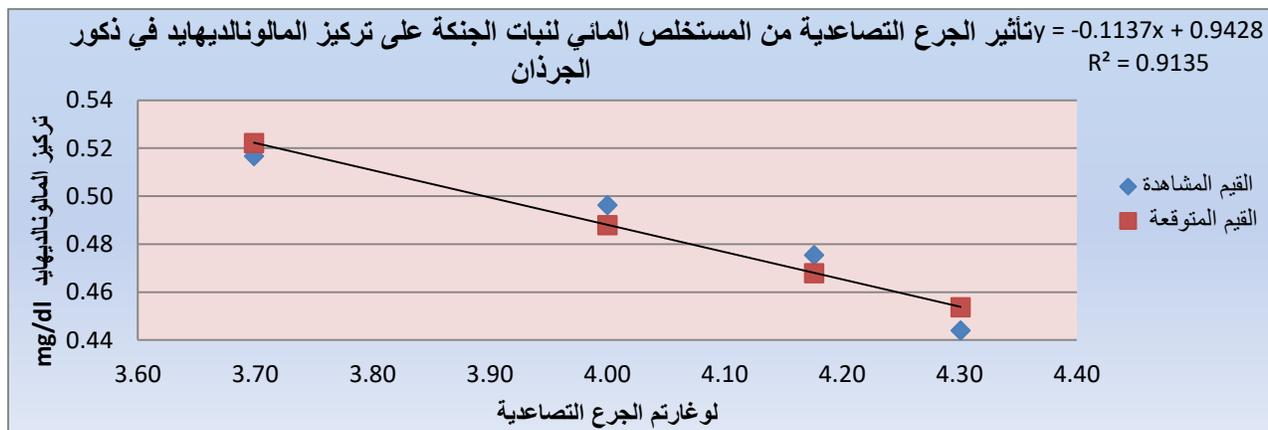
1-1-4 تأثير الجرع المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على بعض المعايير الكيموحيوية

تم قياس الجرعة المؤثرة ED₅₀ من خلال دراسة منحنى الاستجابة للجرع المختلفة Dose response curve ، وقد تم استخدام 4 جرع تصاعدية مختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا لتحديد الجرعة المؤثرة له لدراسة تأثيراته على بعض المعايير الوظيفية مثل المالونالديهيد (MDA) ، الكلوتاثيون المختزل (GSH) ، الكولسترول الكلي (TC) و الشحوم البروتينية عالية الكثافة (HDL) ، لقد بينت النتائج ان هناك تأثير معنوي للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على المعايير السابقة عند مستوى معنوية ($p < 0.05$) .

تم استخدام النتائج التي تم الحصول عليها لتقدير الجرعة المؤثرة النصفية (ED₅₀) من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على النحو الاتي:

1-1-1-4 تأثير الجرع المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز المالونالديهيد MDA في مصل ذكور الجرذان

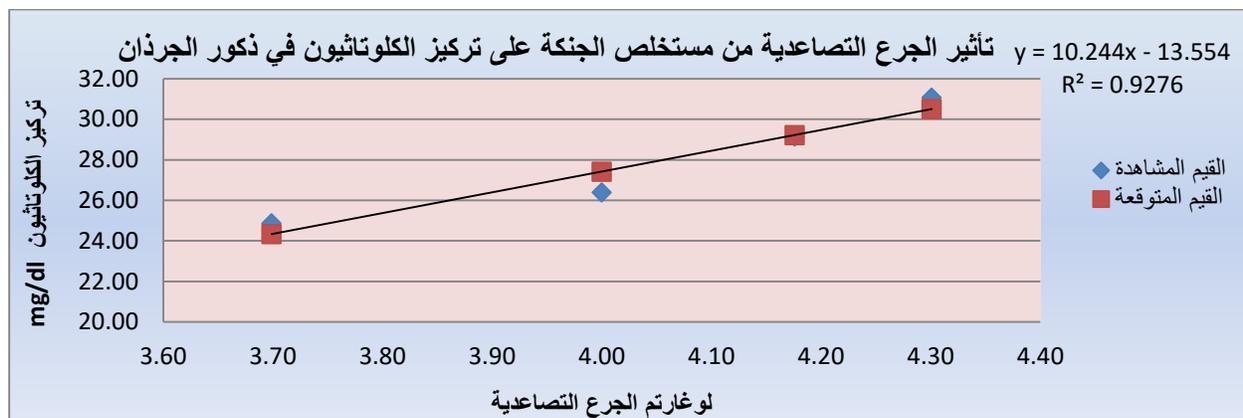
يبين الشكل (1-4) وجود علاقة خطية عكسية بين تركيز للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا وتركيز المالونالديهيد MDA اذ وجد ان مقدار الجرعة المؤثرة بلغت 11.05 ملغم / كغم



شكل (1-4) تأثير الجرع المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز المالونالديهيد MDA بعد شهر واحد ، n = 10
ED₅₀ = 11.05 mg/kg

2-1-1-4 تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH في مصل ذكور الجرذان

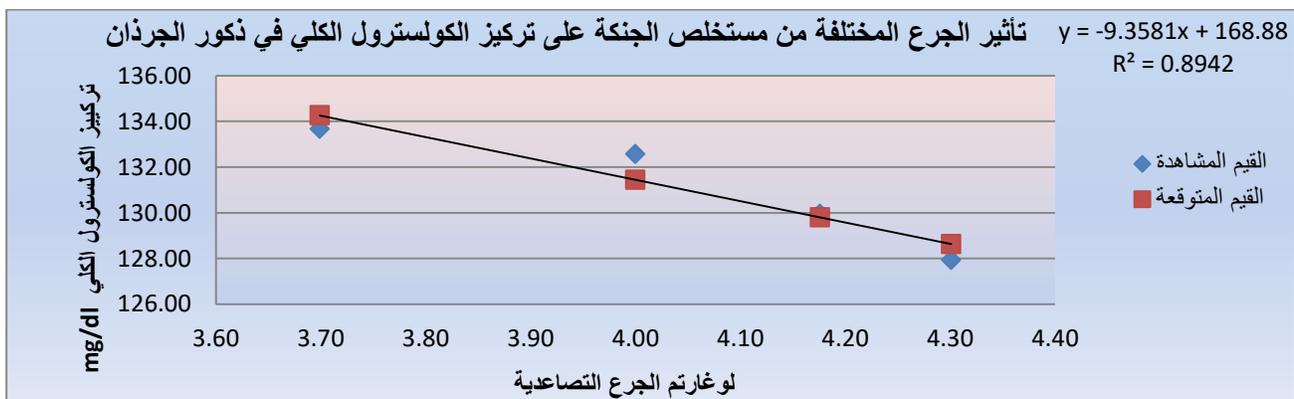
من الشكل (3-4) يلاحظ وجود علاقة خطية طردية بين الجرعة التصاعدية من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا ومستوى تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH في مصل ذكور الجرذان ، كما وجد من خلال هذا الشكل ان الجرعة المؤثرة ED50 بلغت 10.72 ملغم / كغم



شكل (2-4) تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH بعد شهر واحد n= 10
ED50=10.72 mg/kg ، 10

3-1-1-4 تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الكوليستيرول الكلي TC في مصل ذكور الجرذان

يلاحظ من الشكل (3-4) وجود علاقة خطية عكسية بين الجرعة التصاعدية المختلفة للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا ومستوى تركيز الكوليستيرول الكلي TC ومن المعادلة الخطية وجد ان الجرعة المؤثرة ED50 بلغت 10.15 ملغم / كغم

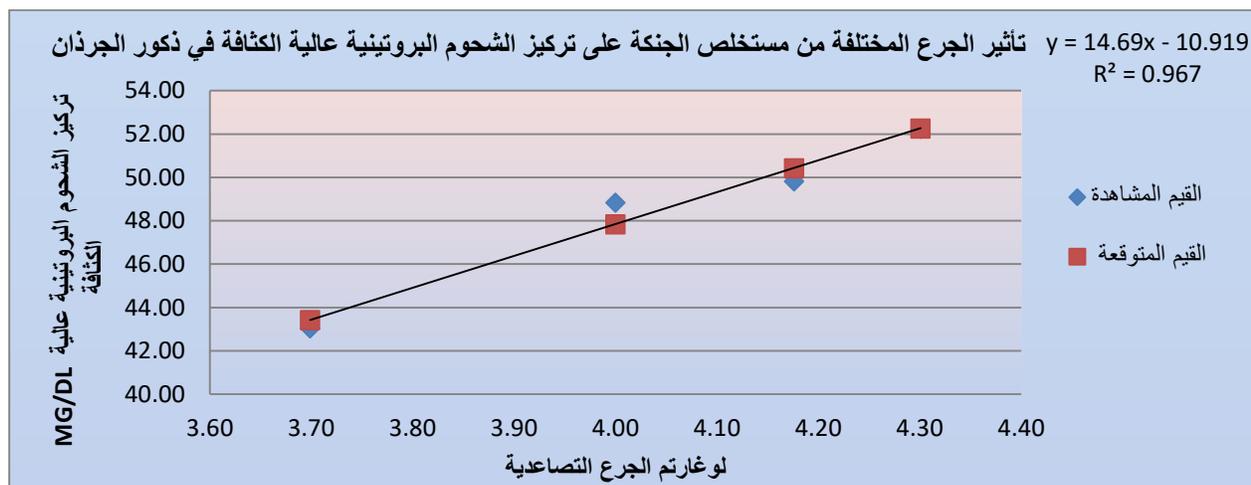


شكل (3-4) تأثير الجرعة المختلفة من للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الكوليستيرول الكلي TC بعد شهر واحد n= 10
ED50= 10.15 mg/kg ، n= 10

4-1-1-4 تأثير الجرعة المختلفة من مادة للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C في مصلى ذكور الجرذان

يبين الشكل (4-5) وجود علاقة خطية طردية بين الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي للجنكة بيلوبا ومستوى تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL ومن خلال استخدام المعادلة الخطية لوحظ ان مقدار ED₅₀ بلغت 9.01 ملغم / كغم .

من خلال قيم الجرعة المؤثرة ED₅₀ للمعايير الاربعة السابقة (TC ,MDA , GSH , HDL) تم حساب معدل الجرعة المؤثرة الكلية للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا اذ بلغت 10 ملغم /كغم / و.ج.



شكل (4-4) تأثير الجرعة المختلفة من مادة للمستخلص المائي للجنكة بيلوبا على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL بعد شهر واحد ، n= 10 ، ED₅₀= 9.01 mg/kg ملغم /كغم

2-4 التجربة الثانية Experiment

1-2-4 تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على المعايير الانزيمية

1-1-2-4 التغيرات في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز الذائب (G1) AchE

يشير الجدول (1-4) الى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز الذائب في مصلى ذكور الجرذان الجرعة ب 10 ملغم /كغم (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1). في حين يلاحظ من الجدول ان التجريب الفموي بالجرعة المؤثرة من المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا (10ملغم /كغم) في المجموعة G3 ادى الى حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز

انزيم AChE(G1) الذائب مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما ان المعاملة ب 10 ملغم / كغم من $AlCl_3$ في المجموعة G4 والمجرعة فمويًا ب 10 ملغم/كغم من المستخلص المائي لنبات الجنكة لم تسجل حدوث فرق معنوي في معدل تركيز انزيم AChE (G1) الذائب ($P>0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما لم يلاحظ وجود فرق معنوي ($P>0.05$) بين المجموعتين G3 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (1-4) تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على المعايير الانزيمية في ذكور الجرذان البيض

TNF α mg/dl	CYT c oxidase units/ml	NMiT ATPase ng/ml	AChE(G4) المرتبط بالغشاء Unit/ml	AchE (G1) الذائب Unit/ml	المعايير المدروسة المجاميع
2.67 \pm 0.15 A	220.63 \pm 0.57 A	20.35 \pm 0.41 A	8.96 A \pm 0.15	9.21 \pm 0.16 AC	G1 (1 مل ماء مقطر)
4.68 \pm 0.39 B	192.83 \pm 0.68 B	8.12 B \pm 0.49	5.83 \pm 0.26 B	10.04 B \pm 0.16	G2 (10 ملغم/كغم كلوريد الالمنيوم)
2.67 \pm 0.12 A	223.02 \pm 0.44 C	21.69 \pm 0.36 C	9.06 A \pm 0.17	8.84 \pm C 0.14	G3 (10 ملغم /كغم مستخلص الجنكة)
2.87 \pm 0.14 A	218.91 \pm 0.43 A	19.22 \pm 0.37 A	8.66 \pm 0.15 A	8.64 \pm C 0.14	G4 (10 ملغم/كغم مستخلص الجنكة + 10 ملغم /كغم كلوريد الالمنيوم)
0.6728	1.5579	1.1978	0.5449	0.4479	LSD

المعدل \pm الخطأ القياسي ، n = 10/مجموعة . الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P<0.05$

2-1-2-4-4 التغيرات في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز المرتبط بالغشاء AChE Unit/ml (G4)

يشير الجدول (1-4) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز المرتبط بالغشاء في المجموعة G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، ويشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED_{50} من المستخلص المائي لنبات الجنكة (G3) ادى الى عدم وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في معدل تركيز الانزيم المرتبط بالغشاء كما لم يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين (G4) و (G1) و بين المجموعتين G3 و G4 .

3-1-2-4 التغيرات في معدل تركيز انزيم Nmit ATPase

يلاحظ من الجدول (1-4) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز انزيم Nmit ATPase في المجموعة المعرضة لكوريد الالمنيوم (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان المعاملة بالجرعة المؤثرة ED_{50} من مستخلص نبات الجنكة بيلوبا في المجموعة (G3) ادى الى ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز هذا الانزيم مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، اما في المجموعة G4 فيلاحظ عدم وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في معدل تركيز انزيم Nmit ATPase بينها وبين مجموعة السيطرة (G1). كما يشير الجدول الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المجموعتين (G4) و (G1) .

4-1-2-4 التغيرات في معدل تركيز سايتوكروم CYT c oxidase

يشير الجدول (1-4) الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز CYT c oxidase في مصلى ذكور الجرذان في المجموعة (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) . في حين يلاحظ من الجدول ان التجريب الفموي بجرعة (10 ملغم /كغم) من المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا في المجموعة G3 ادى الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل CYT c oxidase مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)، كما ان المعاملة بمادة $AlCl_3$ في المجموعة G4 والمجرعة فمويا بالمستخلص المائي لنبات الجنكة لم تؤدي الى حدوث فرق معنوي ($P>0.05$) في معدل تركيز CYT c oxidase مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

5-1-2-4 التغيرات في معدل تركيز $TNF-\alpha$

تشير البيانات الموجودة في الجدول (1-4) الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز $TNF-\alpha$ في مصلى ذكور الجرذان المجرعة ب 10 ملغم /كغم $AlCl_3$ (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1). اما المجموعة G3 لم يلاحظ وجود فرق معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز $TNF-\alpha$ بالمقارنة مع (G1) ، كما لم يلاحظ وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجموعتين (G1 و G4) و بين المجموعتين G3 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

2-2-4 تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH والمالونالديهيد MDA

1-2-2-4 التغيرات في معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH

يلاحظ من الجدول (2-4) ان التجريب الفموي بمادة $AlCl_3$ بجرعة 10 ملغم / كغم (G2) ادى الى انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ من هذا الجدول ان مجموعة ذكور الجرذان البيض التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (ED_{50}) من المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا (G3) ادت الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز GSH مقارنة مع المجموعة (G2) ومجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريب الفموي

بالجرعة المؤثرة (ED_{50}) للمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا (10 ملغم / كغم) لذكور الجرذان المجرعة فمويا ب $AlCl_3$ في المجموعة G4 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في ($P > 0.05$) معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH بينها وبين مجموعة السيطرة (G1) .

جدول (2-4) تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH والمالونالديهيد MDA في ذكور الجرذان البيض

MDA mg/dl	GSH Mmol/dl	المعايير المدروسة المجاميع
0.36 ± 0.01 A	18.88 ± 0.23 A	G1 (1مل ماء مقطر)
0.80 ± 0.04 B	10.62 ± 0.76 B	G2 (10 ملغم/كغم كلوريد الالمنيوم)
0.31 ± 0.01 A	21.68 ± 0.64 C	G3 (10 ملغم /كغم مستخلص الجنكة)
0.37 ± 0.01 A	19.80 ± 0.49 A	G4 (10 ملغم/كغم مستخلص الجنكة+ 10 ملغم /كغم كلوريد الالمنيوم)
0.0776	1.6408	LSD

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 10/ مجموعة . الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P < 0.05$

2-2-2-4 التغيرات في معدل تركيز المالونالديهيد (MDA)

يشير الجدول (2-4) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز المالونالديهيد في المجموعة المجرعة فمويا ب 10 ملغم / كغم من $AlCl_3$ (G2) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريب الفموي بجرعة 10 ملغم / كغم من المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا ادى الى حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز المالونالديهيد في المجموعة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

اما المجموعة G4 التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED_{50} من مستخلص نبات الجنكة مع 10 ملغم / كغم من $AlCl_3$ لم يؤدي الى حدوث فرق معنوي ($P > 0.05$) في معدل تركيز المالونالديهيد في نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

3-2-4 تأثير تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز بعض الايونات

1-3-2-4 التغيرات في معدل تركيز الكالسيوم

يلاحظ من الجدول (3-4) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز الكالسيوم في مصل حيوانات المجموعة المعرضة لـ $AlCl_3$ (G2) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (ED_{50}) من مستخلص نبات الجنكة في المجموعة G3 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) في تركيز كالسيوم المصل حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ويلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G2 و G3 . كذلك لم يلاحظ وجود اي فرق معنوي ($P > 0.05$) في المجموعة المعاملة بكلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة (G4) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)

جدول (4- 3) تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز بعض الايونات في ذكور الجرذان البيض

Fe ⁺ µg/100 ml	Ca ⁺ mg/dl	المعايير المدروسة المجاميع
95.41 ±0.51 AC	9.03 ± 0.11 A	(G1) (1 مل ماء مقطر)
115.86 ± 0.95 B	11.06 ± 0.46 B	G2 (10 ملغم/كغم كلوريد الالمنيوم)
93.35 ±0.85 C	8.99 ± 0.11 A	G3 (10 ملغم /كغم مستخلص الجنكة)
96.41 ± 1.08 A	9.55 ± 0.17 A	G4 (10 ملغم/كغم مستخلص الجنكة + 10 ملغم /كغم كلوريد الالمنيوم)
2.5212	0.7464	LSD

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 10 / مجموعة . الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P < 0.05$

4-2-3-2-4 التغيرات في معدل تركيز الحديد الحر في المصل

توضح النتائج وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز الحديد الحر في مصل حيوانات المجموعة المعرضة لـ $AlCl_3$ (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1). في حين ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED_{50} من المستخلص المائي لنبات الجنكة في المجموعة G3 ادى الى وجود انخفاض معنوي في معدل تركيز الحديد الحر مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1). كما تشير النتائج الى عدم وجود اي فرق معنوي ($P > 0.05$) في معدل تركيز الحديد الحر في المجموعة التي جرعت فمويًا بالجرعة المؤثرة (10 ملغم/كغم) من المستخلص والمعرضة لـ $AlCl_3$ (G4) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

4-2-4 تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز بعض الهرمونات

4-2-4-1 التغيرات في على معدل تركيز هرمون الكورتيزول Cortisol

يلاحظ من الجدول (4-4) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز هرمون الكورتيزول في المجموعة التي جرعت فمويًا بـ 10 ملغم / كغم من $AlCl_3$ (G2) نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (10 ملغم/كغم) من المستخلص المائي لنبات الجنكة في المجموعة (G3) لم يؤدي الى وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) في معدل مستويات الكورتيزول على مدى فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (ED_{50}) من المستخلص مع التجريع الفموي بكلوريد الالمنيوم في المجموعة (G4) لم يؤدي الى حدوث فرق معنوي ($P > 0.05$) في معدل مستويات هرمون الكورتيزول مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

جدول (4-4) تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا على معدل تركيز بعض الهرمونات في ذكور الجرذان البيض

GH mIU/ml	ACTH mIU/ml	Cortisol mIU/ml	المعايير المدروسة المجاميع
1.97 ± 0.18 A	22.07 ± 0.56 A	15.90 ± 0.26 AC	G1 (1مل ماء مقطر)
0.71 ± 0.21	25.70 ± 1.12	19.78 ± 0.47	G2

B	B	B	(10 ملغم/كغم كلوريد الالمنيوم)
1.99 ± 0.11 A	21.23 ± 0.36 A	15.10 ± 0.29 C	G3 (10 ملغم/كغم مستخلص الجنكة)
1.71 ± 0.15 A	23.04 ± 0.43 A	16.17 ± 0.34 A	G4 (10 ملغم/كغم مستخلص الجنكة + 10 ملغم/كغم كلوريد الالمنيوم)
0.4278	1.9886	1.0199	LSD

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 10 / مجموعة ، الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال (P < 0.05)

2-4-2-4 التغيرات في على معدل تركيز الهرمون المحفز لقشرة الغدة الكظرية Adrenocorticotropin Hormone (ACTH)

يلاحظ من الجدول (4-4) وجود ارتفاع معنوي (P < 0.05) في معدل مستويات هرمون ACTH في المجموعة المعاملة ب 10 ملغم / كغم من AlCl₃ (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1). كما يلاحظ عدم وجود فرق معنوي (P > 0.05) في معدل تركيز هرمون ACTH في المجموعة التي جرعت فمويا بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا (G3) طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)، كما لم يلاحظ وجود فروق معنوية (P > 0.05) في المجموعة G4 والمجموعة G1 .

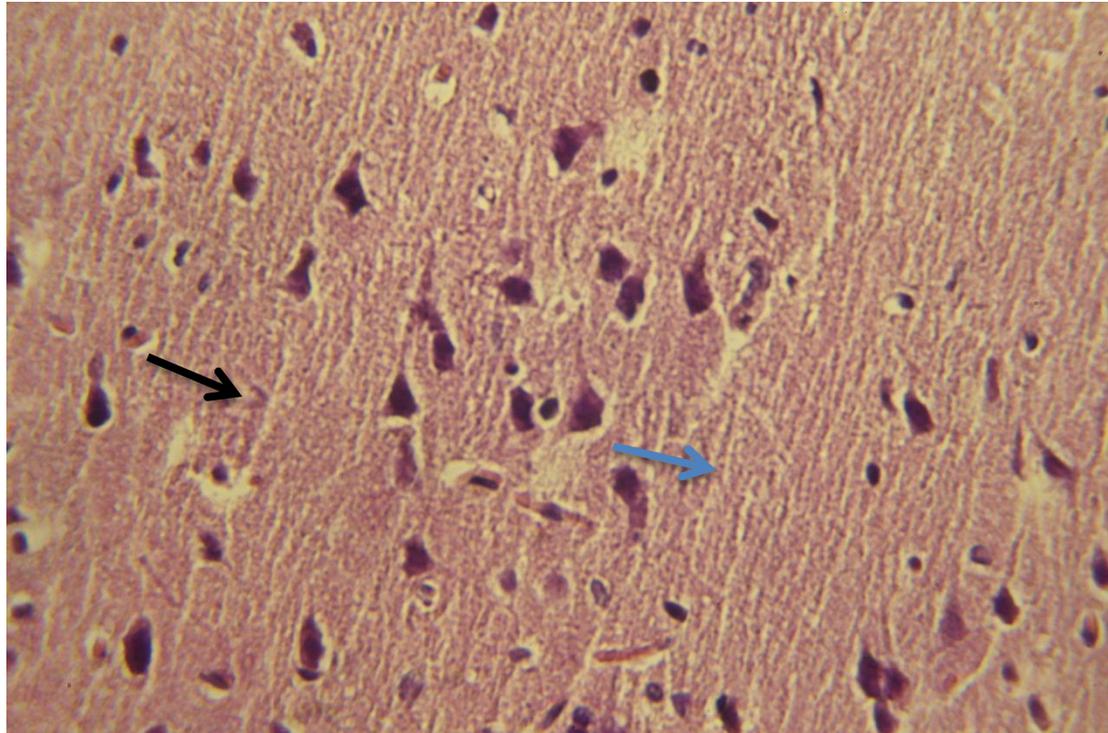
3-4-2-4 التغيرات في على معدل تركيز هرمون النمو Growth hormone (GH)

يلاحظ من الجدول (4-4) ان التجريع الفموي بمادة AlCl₃ بجرعة 10 ملغم / كغم ادى الى انخفاض معنوي (P < 0.05) في معدل تركيز هرمون النمو في المجموعة (G2) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)، كما يلاحظ من هذا الجدول ان مجموعة ذكور الجرذان البيض التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (ED₅₀) من المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا (G3) لم تسجل اي فرق معنوي (P < 0.05) في معدل تركيز هرمون ال GH مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (ED₅₀) للمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا (10 ملغم / كغم) لذكور الجرذان المجرعة فمويا بكلوريد الالمنيوم في المجموعة G4 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية (P > 0.05) في معدل تركيز هرمون النمو بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1

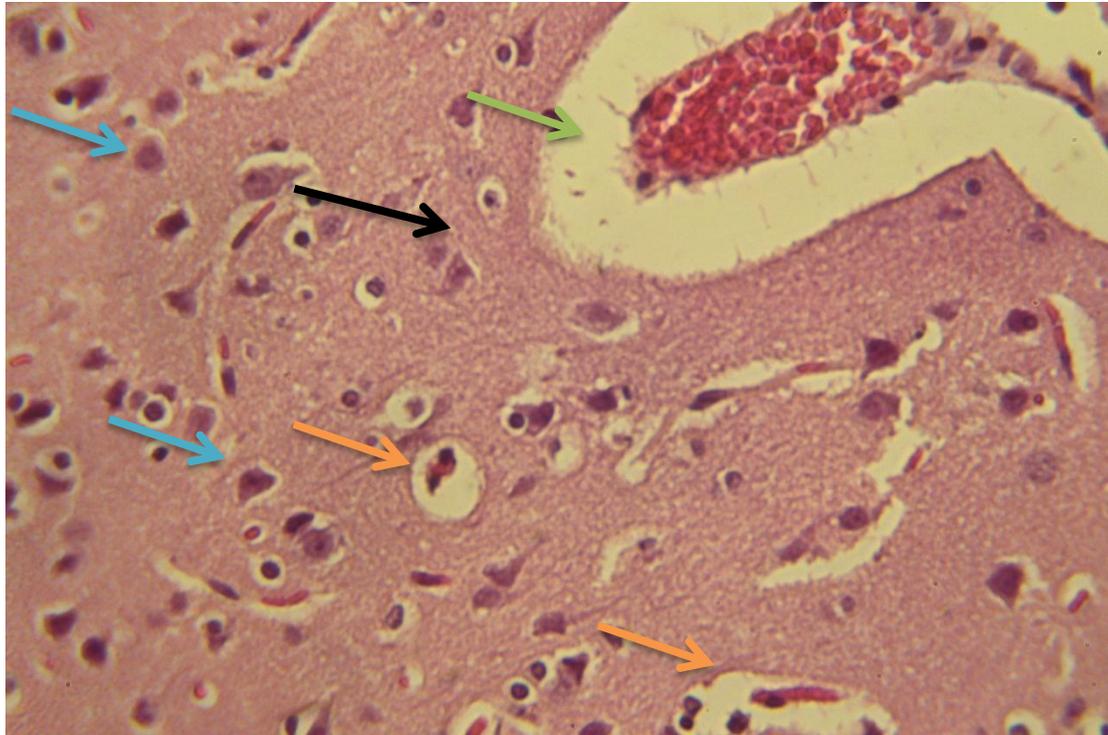
5-2-4 التغيرات النسجية

1-5-2-4 تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والمستخلص المائي المعامل بمادة كلوريد الالمنيوم على نسيج المخ

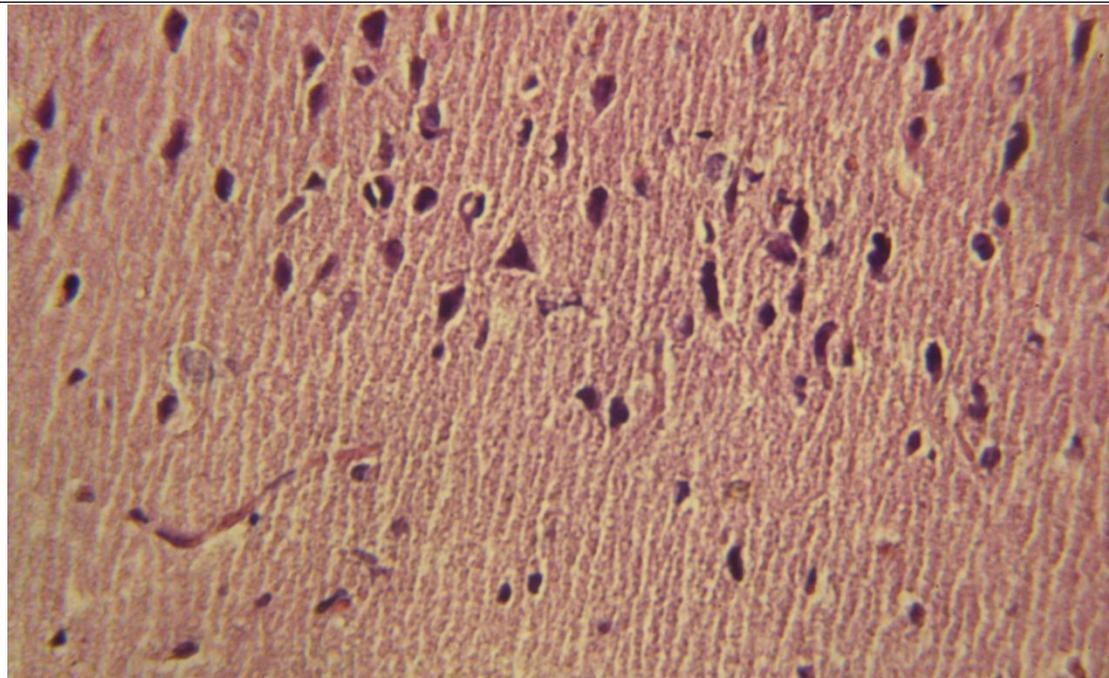
يظهر في الصورة (1-4) التركيب الطبيعي للخلايا العصبية والخلايا الدبقية لنسيج المخ لذكور الجرذان في مجموعة السيطرة، يلاحظ من الصورة (2-4) تأثير التجريع الفموي ب 10 ملغم / كغم من $AlCl_3$ ولمدة شهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E) اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسيه واضحة في نسيج المخ مع ظهور الفجوات في النسيج العصبي مع وجود احتقان دموي واضح في نسيج الدماغ مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4-1) ، في حين يلاحظ من معاملة نسيج الدماغ بصبغة السلفر Silver stain صورة (صورة 4-6) ظهور واضح للويحات البيتا املويد $A\beta$ منتشرة في نسيج المخ مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4-5) .



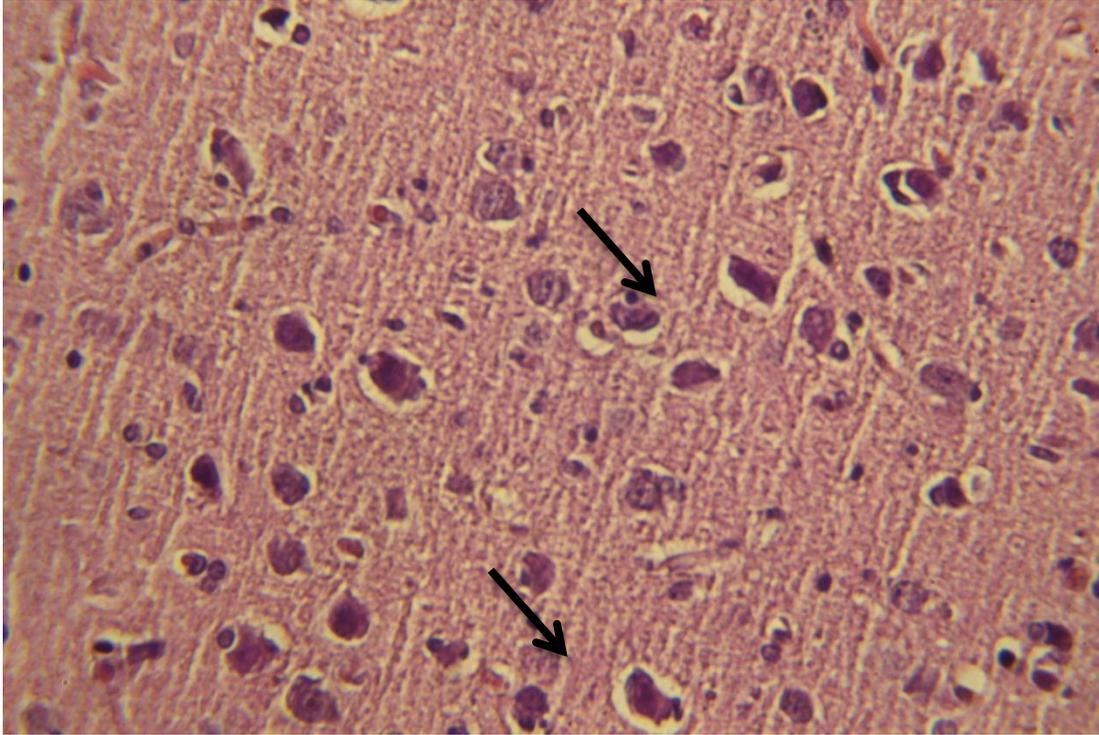
صورة (1-4) مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور جرذان مجموعة السيطرة ولمدة شهر ، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للخلايا العصبية → والخلايا الدبقية → (H&E 400X)



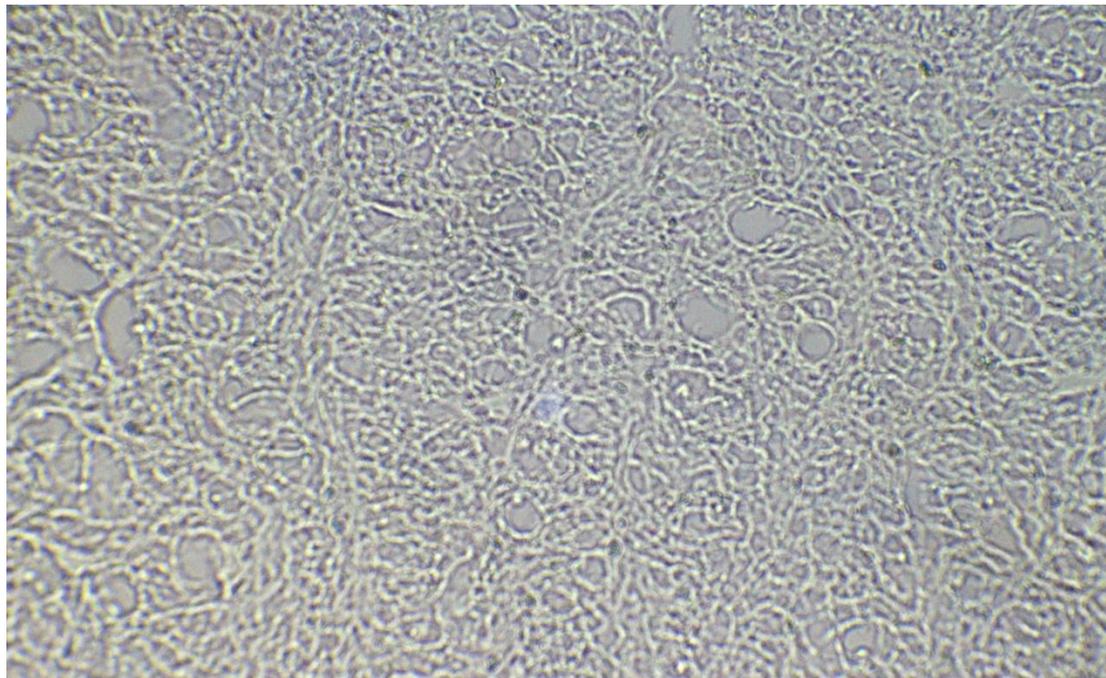
صورة (2-4) مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بمادة كلوريد الالمنيوم بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسيه واضحة في نسيج المخ → مع ظهور الفجوات في النسيج العصبي → احتقان دموي واضح في نسيج الدماغ → مع انحلال انوية الخلايا العصبية (H&E 400X)



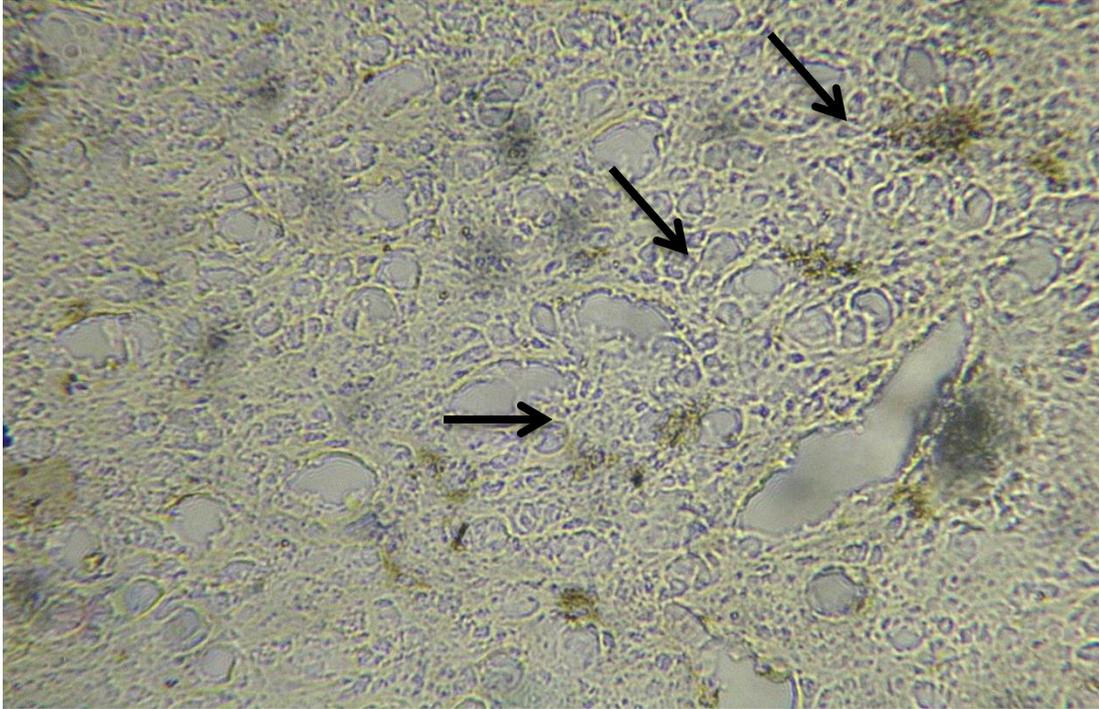
صورة (3-4) مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر ، اذ يلاحظ حدوث التركيب الطبيعي النسيج و الخلايا العصبية (H&E 400X)



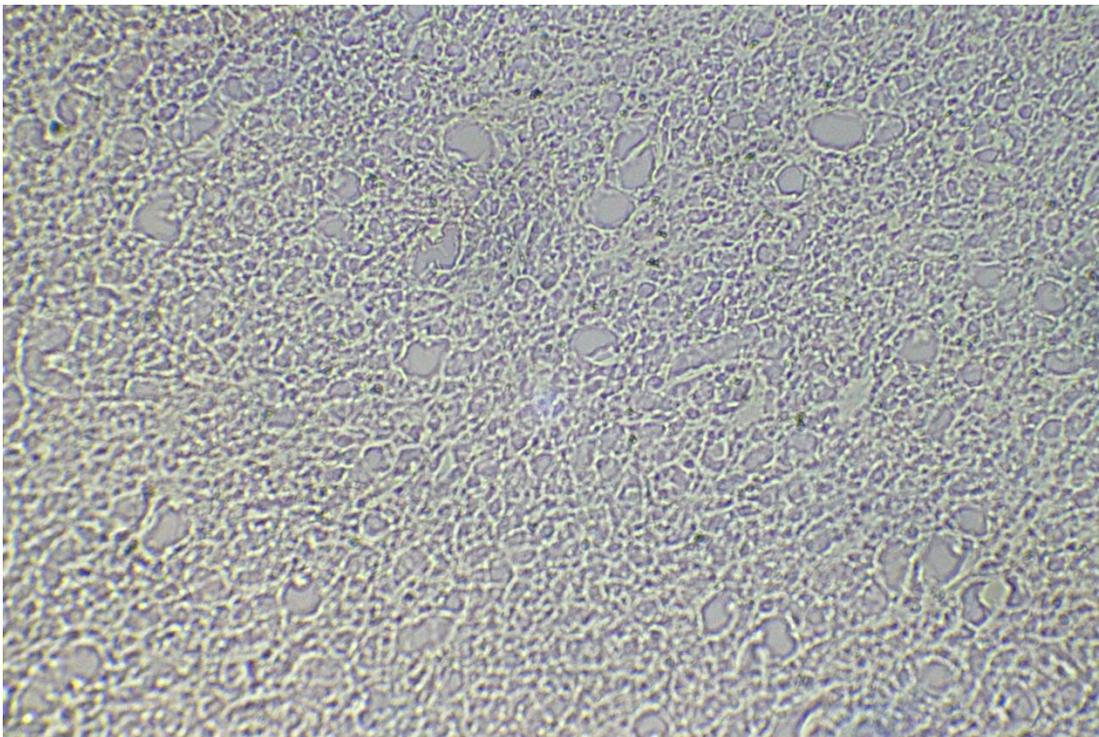
صورة (4-4) مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لجذبة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم مع التجريع ب مادة $AlCl_3$ بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، اذ يلاحظ عودة التركيب الطبيعي لنسيج المخ ظهور القليل من الفجوات في النسيج (H&E 400X) →



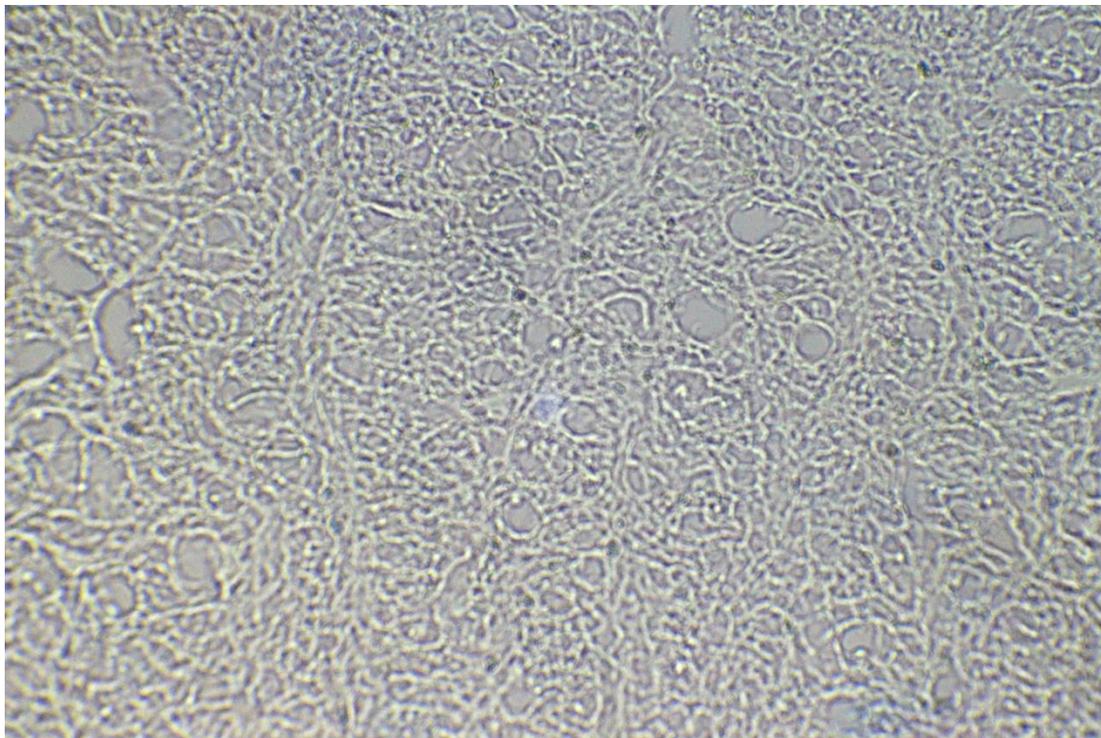
صورة (5-4) مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ولمدة شهر ، اذ يلاحظ انعدام ظهور لويحات الببتا املويد BA (Silver Stain 400X)



صورة (4-6) مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بمادة AIC3 بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر ، اذ يلاحظ ظهور واضح لويحات البيتا املويد BA (Silver Stain 400X) →



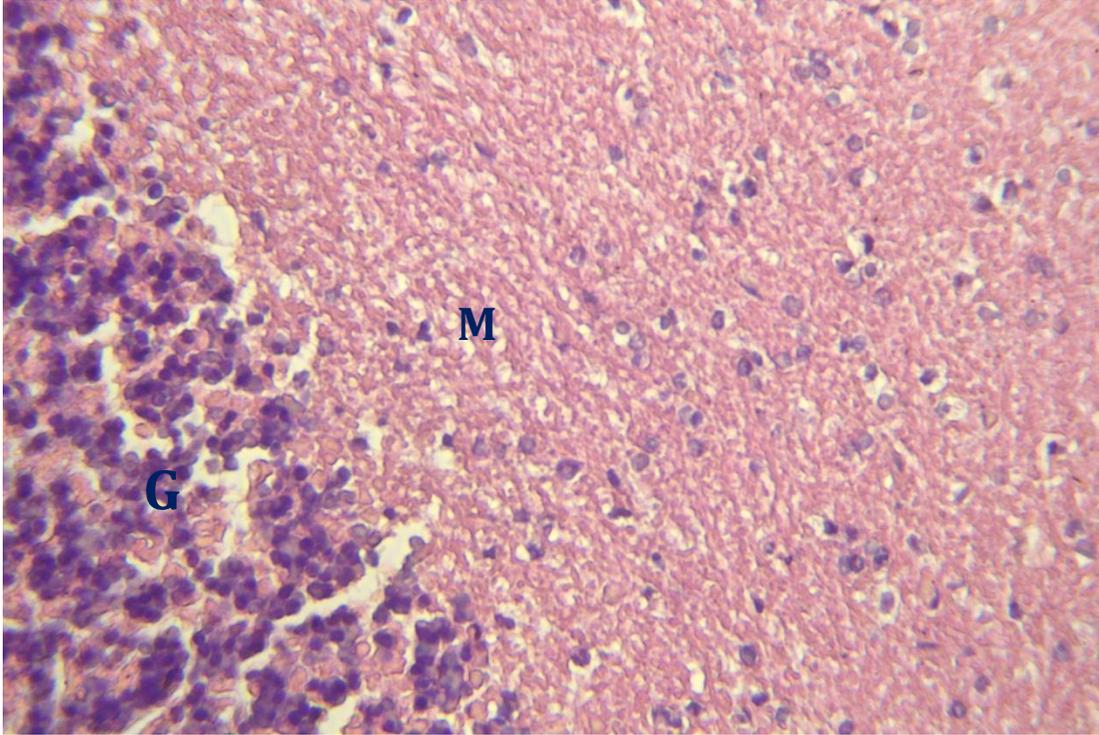
صورة (4-7) مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر، يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا املويد BA (Silver Stain 400X)



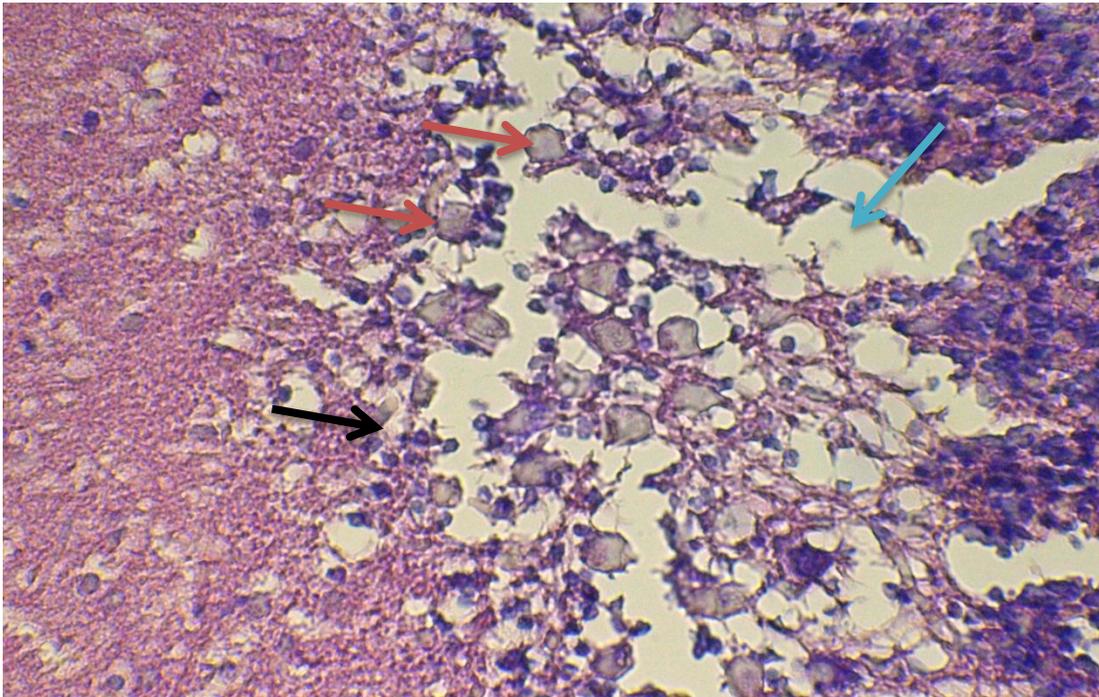
صورة (8-4) مقطع عرضي لنسيج المخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز ب 10 ملغم / كغم مع التجريع ب مادة $AlCl_3$ بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر، اذ يلاحظ انعدام ظهور لويحات الببتا امليويد BA (Silver Stain 400X)

2-5-2-4 تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والمستخلص المائي المعامل بمادة كلوريد الالمنيوم على نسيج المخ

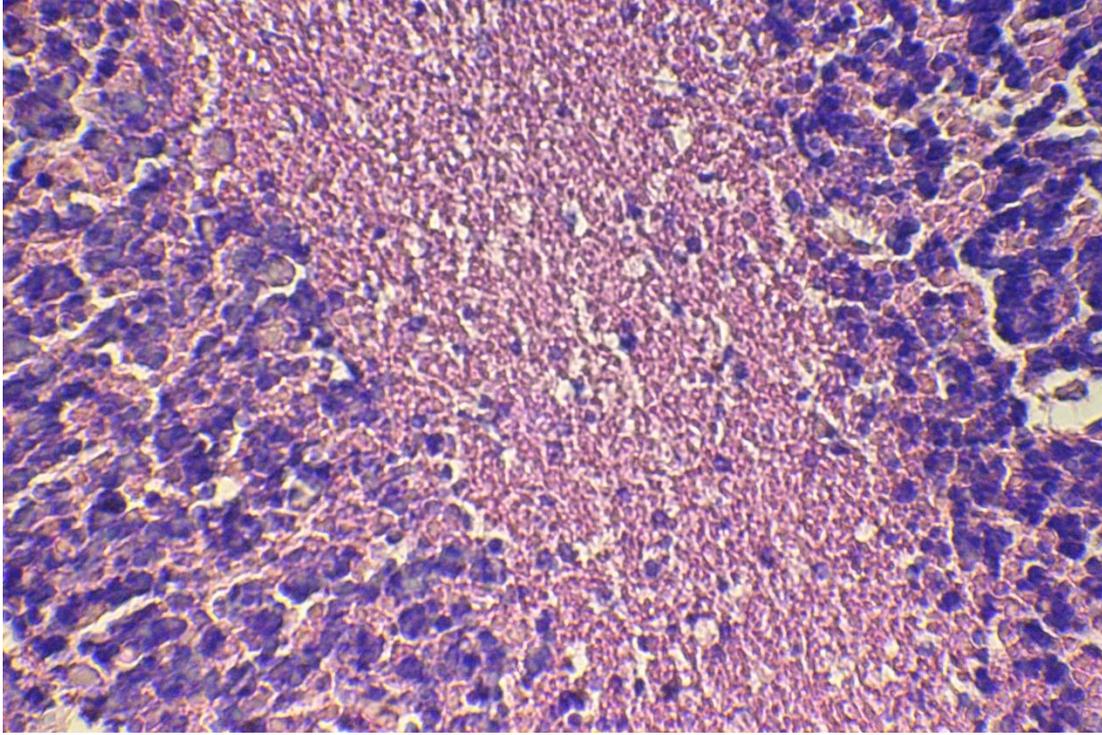
يلاحظ من الصورة (10-4) تأثير التجريع الفموي ب 10 ملغم / كغم من $AlCl_3$ ولمدة شهر بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E)، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تحطمية واضحة في نسيج المخ وفقدان الانوية وانحلالها اضافة الى فقدان الارتباط بين الطبقتين الحبيبية و الجزيئية مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 9-4)، في حين يلاحظ ظهور واضح للويحات الببتا امليويد $A\beta$ في نسيج المخ بصبغة السلفر (Silver stain) (صورة 14-4) مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4-13)



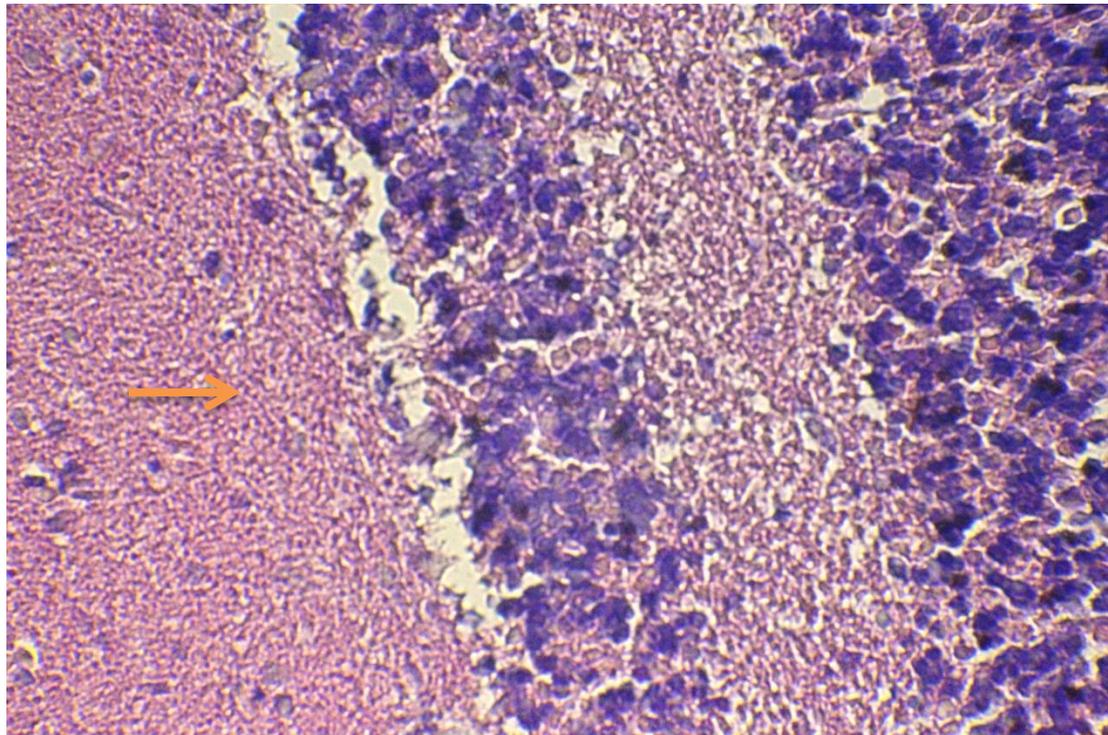
صورة (9-4) مقطع عرضي لنسيج المخيخ في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة لمدة شهر ، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج المخيخ والارتباط بين الطبقتين الحبيبية Granular layer (G) والطبقة الجزيئية (Molecular layer (M) (H&E 400X)



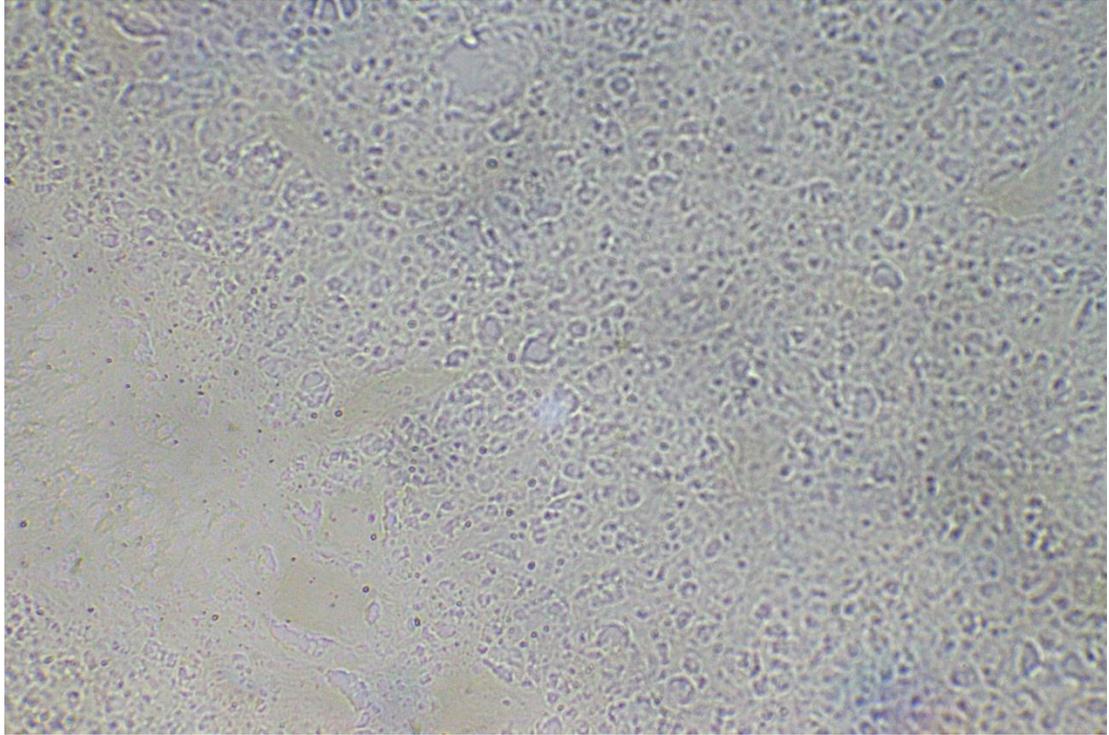
صورة (10-4) مقطع عرضي لنسيج المخيخ في المجموعة المعاملة بمادة كلوريد الالمنيوم بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر ، يلاحظ فيها حدوث تغيرات تحطمية واضحة في نسيج المخيخ و فقدان الانوية وانحلالها إضافة الى فقدان الارتباط بين الطبقتين الحبيبية والجزيئية (H&E 400X)



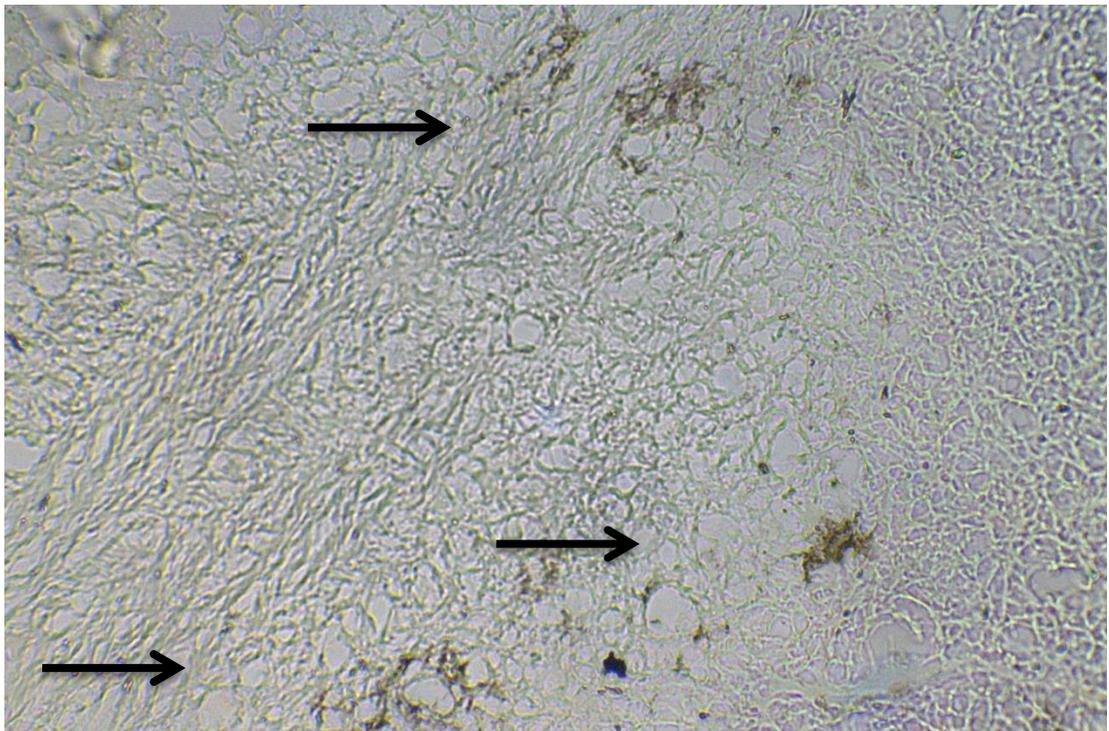
صورة (11-4) مقطع عرضي لنسيج المخيخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي نبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر ، يلاحظ التركيب الطبيعي للطبقتين الحبيبية والجزئية (H&E 400X)



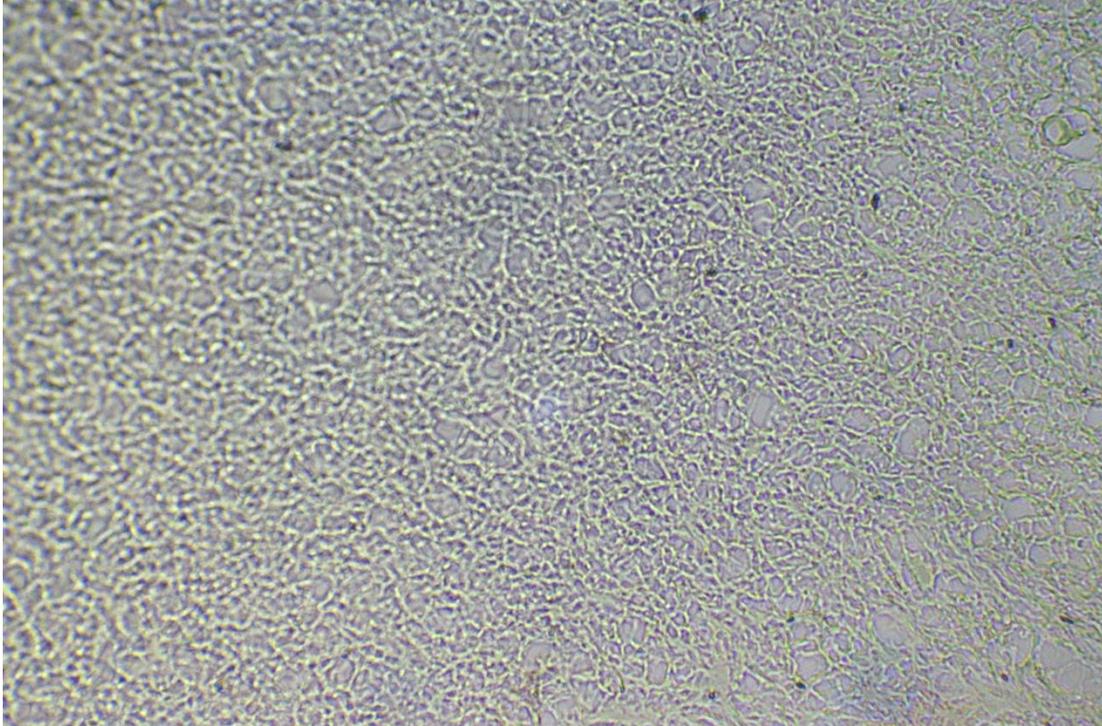
صورة (12-4) مقطع عرضي لنسيج المخيخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي نبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم مع التجريع بمادة $AlCl_3$ بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر ، يلاحظ التركيب الطبيعي للطبقتين الحبيبية والجزئية مع وجود فسحة بين الطبقتين (H&E 400X) →



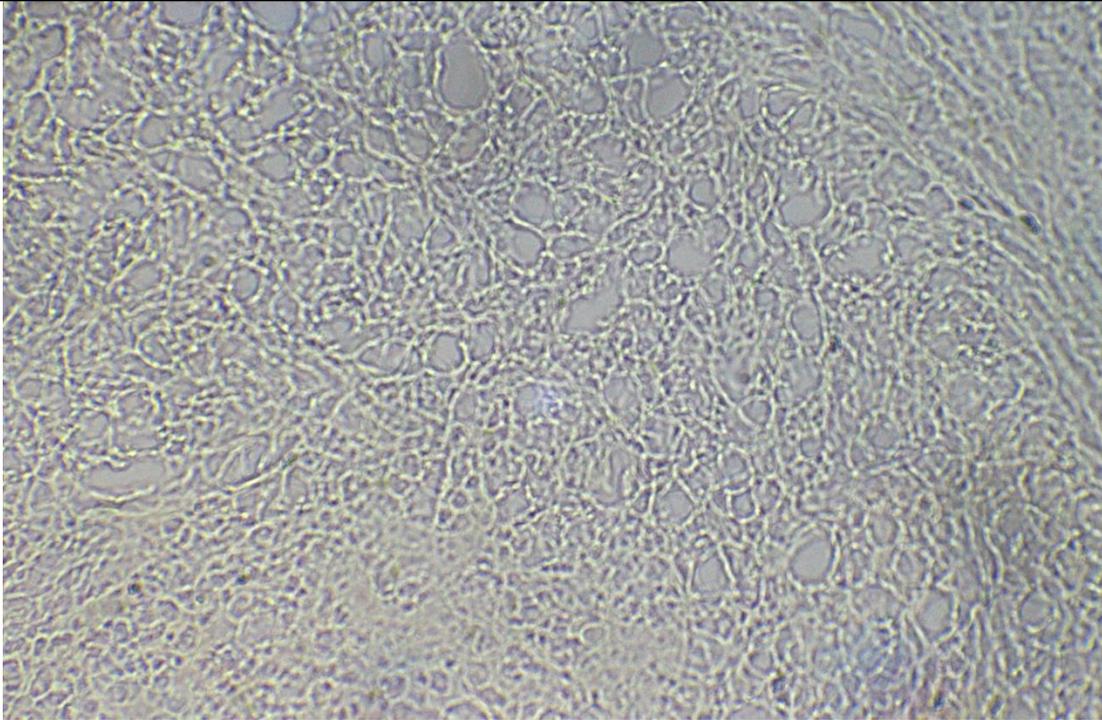
صورة (4-13) مقطع عرضي لنسيج المخيخ في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ولمدة شهر، يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا املويد BA (Silver Stain 400X)



صورة (4-14) مقطع عرضي لنسيج المخيخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بمادة AIC3 بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، اذ يلاحظ ظهور واضح للويحات البيتا املويد BA (Silver Stain, 400X) →



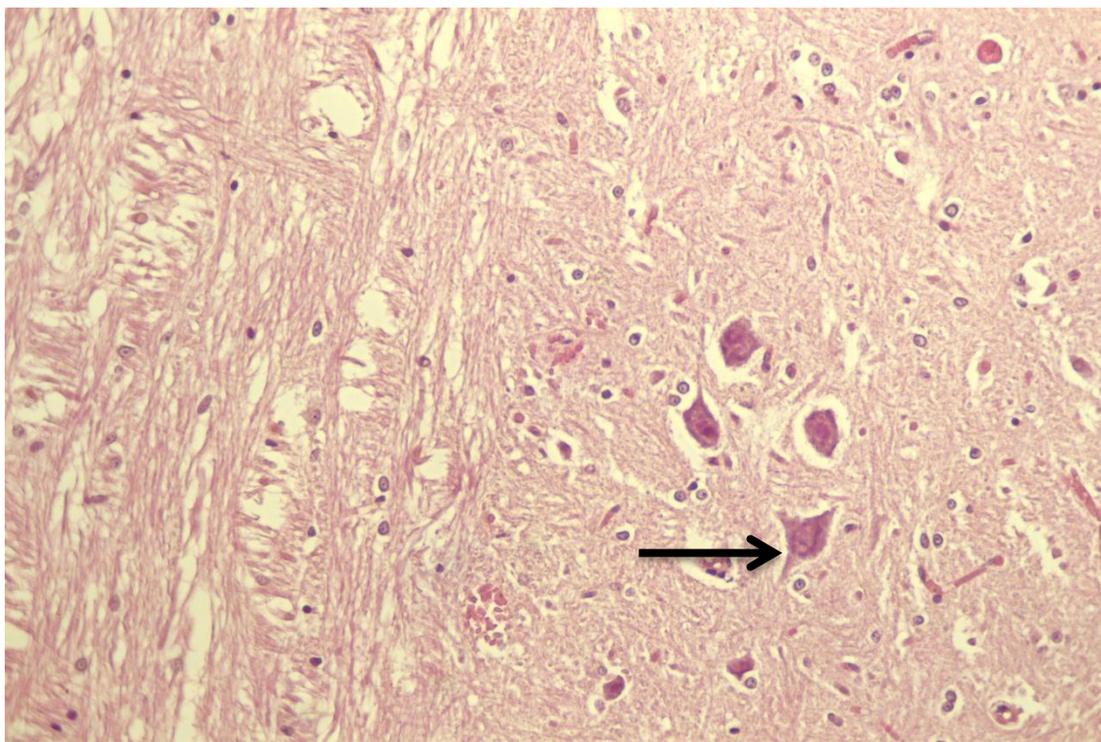
صورة (4-15) مقطع عرضي لنسيج المخيخ في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر ، يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا املويد BA (Silver Stain, 400X)



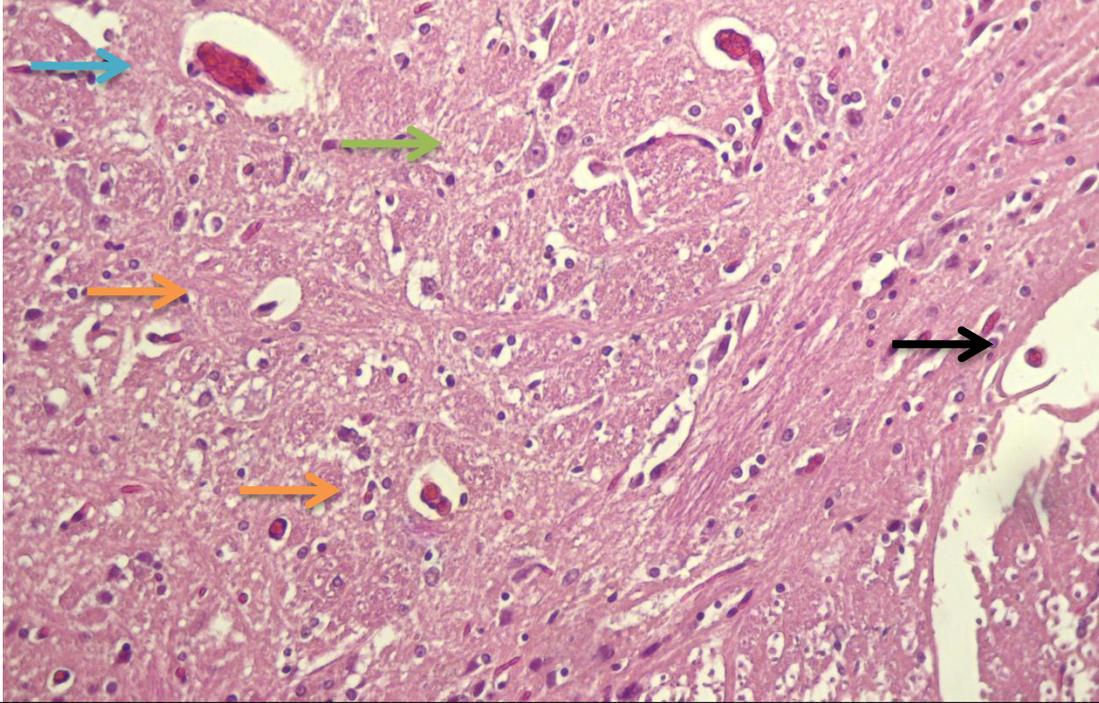
صورة (4-16) مقطع عرضي لنسيج المخيخ في ذكور الجرذان البيض المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز ب 10 ملغم / كغم مع التجريب ب مادة $AlCl_3$ بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر ، اذ يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا املويد BA (Silver Stain, 400X)

4-2-5-3 تأثير كلوريد الالمنيوم والمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والمستخلص المائي المعامل بمادة كلوريد الالمنيوم على نسيج الحبل الشوكي

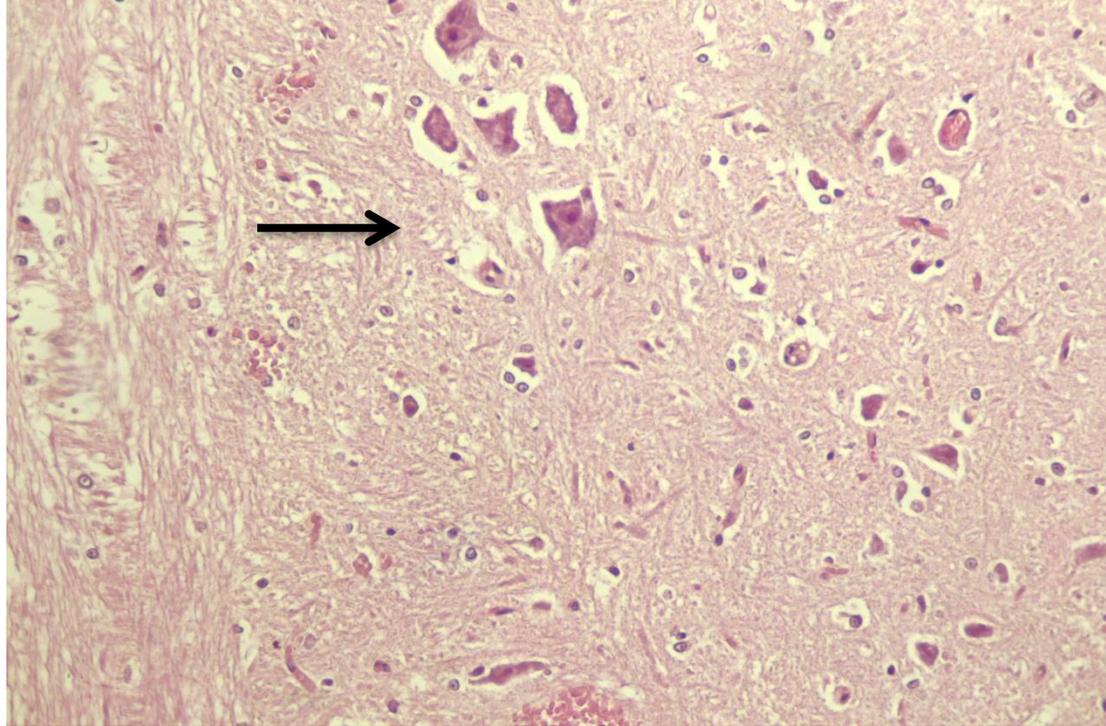
يلاحظ من الصورة (4-18) تأثير التجريع الفموي ب 10ملغم / كغم من $AlCl_3$ ولمدة شهر المعاملة بصبغة الهيماتوكسليين والايوسين (H&E) ، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسيه في نسيج الحبل الشوكي و انحلال الخلايا العصبية ، و ظهور الفجوات في نسيج الحبل الشوكي مع وجود احتقان دموي مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4-17) ، في حين يظهر من معاملة نسيج الحبل الشوكي بصبغة السلفر Silver stain صورة (4-22) ظهور واضح للويحات البيتا امليويد $A\beta$ منتشرة على القرنين الخلفيين للحبل الشوكي مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4-21) .



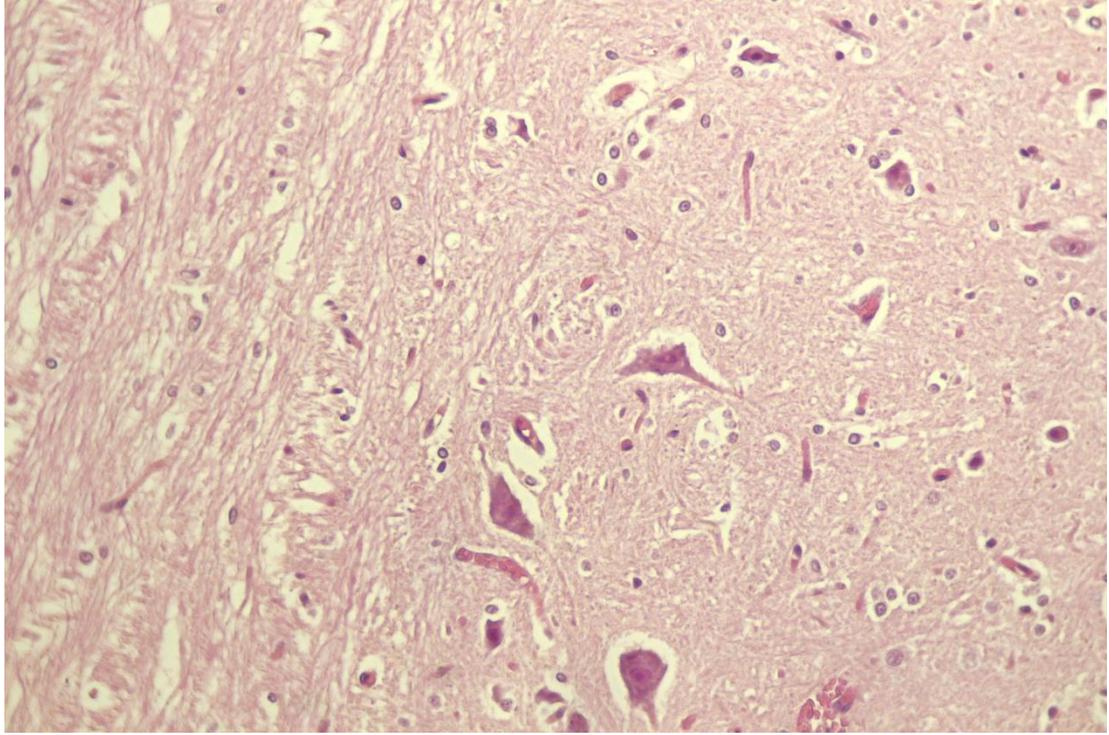
صورة (4-17) مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ولمدة شهر ، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج الحبل الشوكي مع ظهور واضح للخلايا النجمية (H&E 400X) →



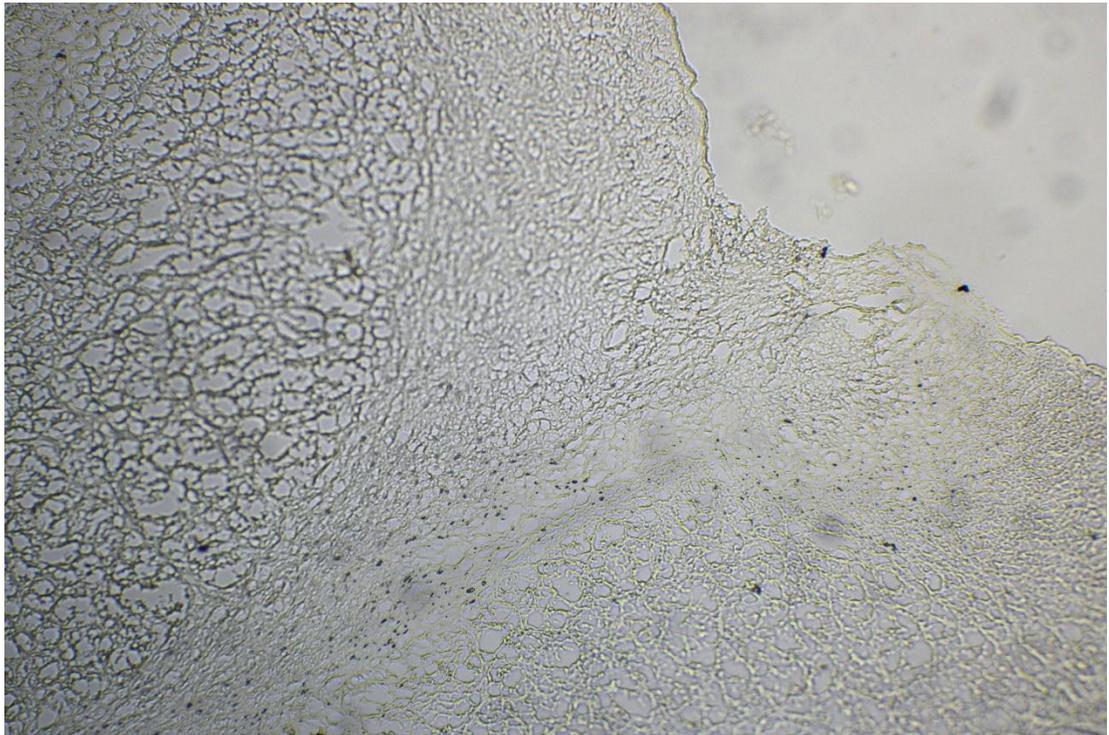
صورة (4-18) مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض المجموعة المعاملة بمادة كلوريد الالمنيوم بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسية في نسيج الحبل الشوكي مع ضمور و انحلال الخلايا العصبية → ظهور الفجوات في النسيج → مع وجود احتقان دموي → (H&E 400X)



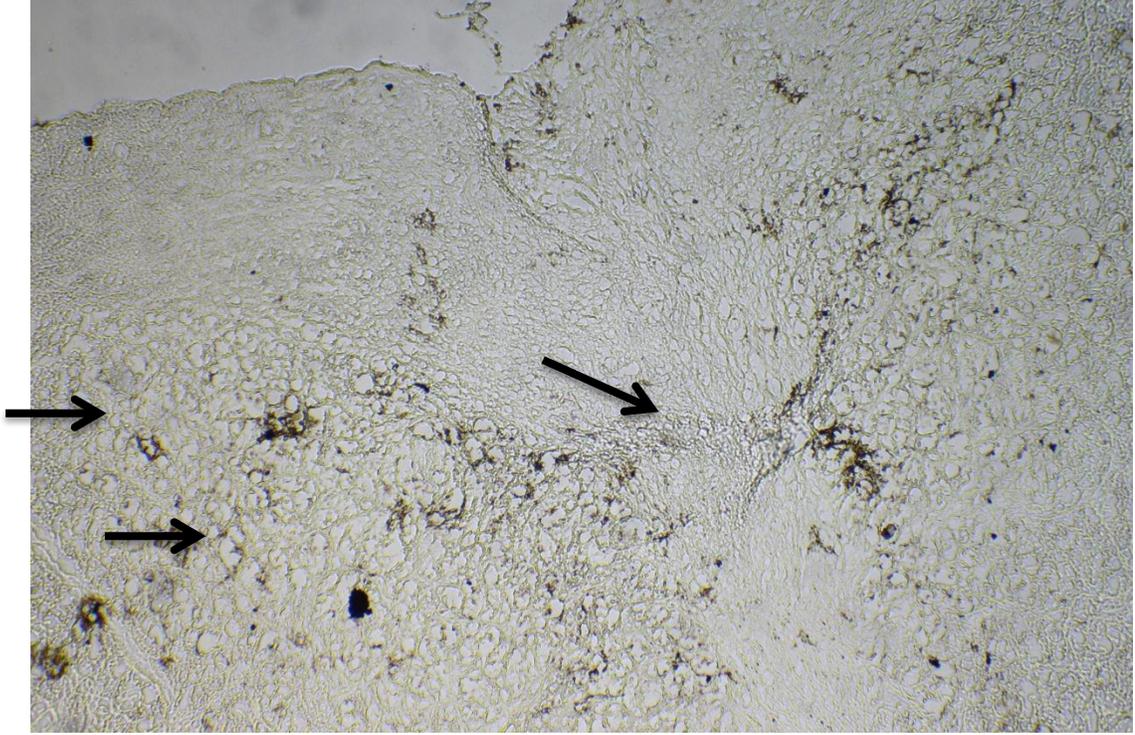
صورة (4-19) مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للنسيج والشكل النجمي الواضح للخلايا العصبية → (H&E 400X)



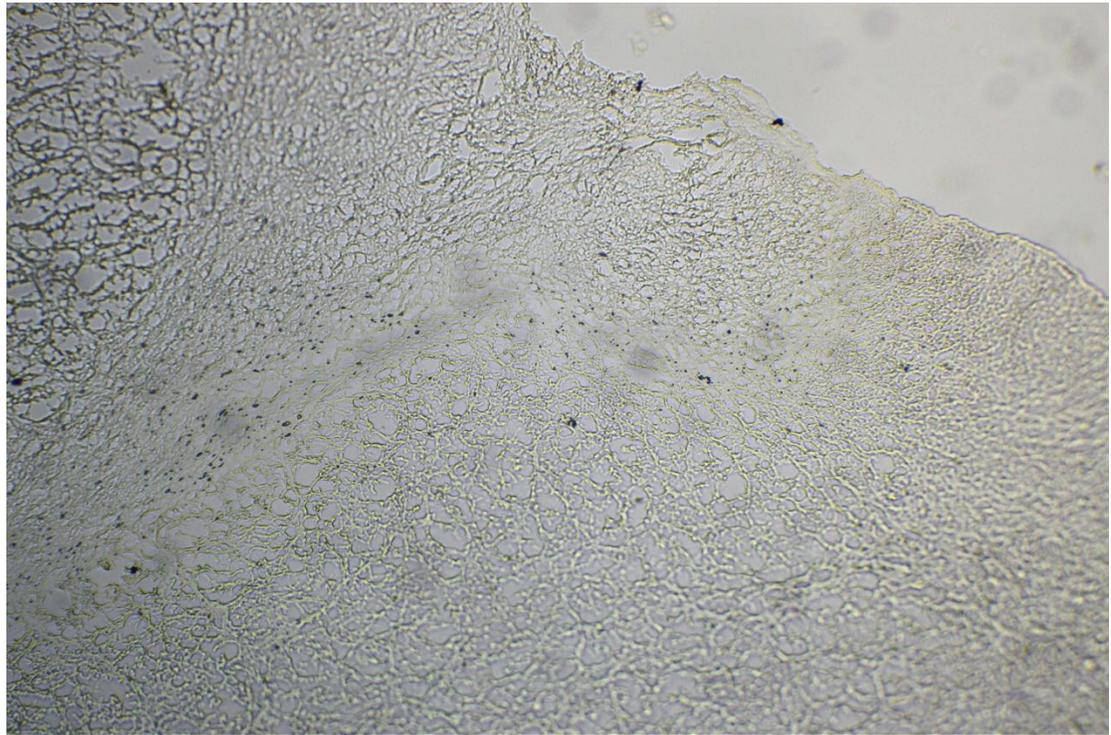
صورة (4-20) مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم مع التجريع بمادة $AlCl_3$ بتركيز 10 ملغم / كغم لمدة شهر ، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج الحبل الشوكي (H&E 400X)



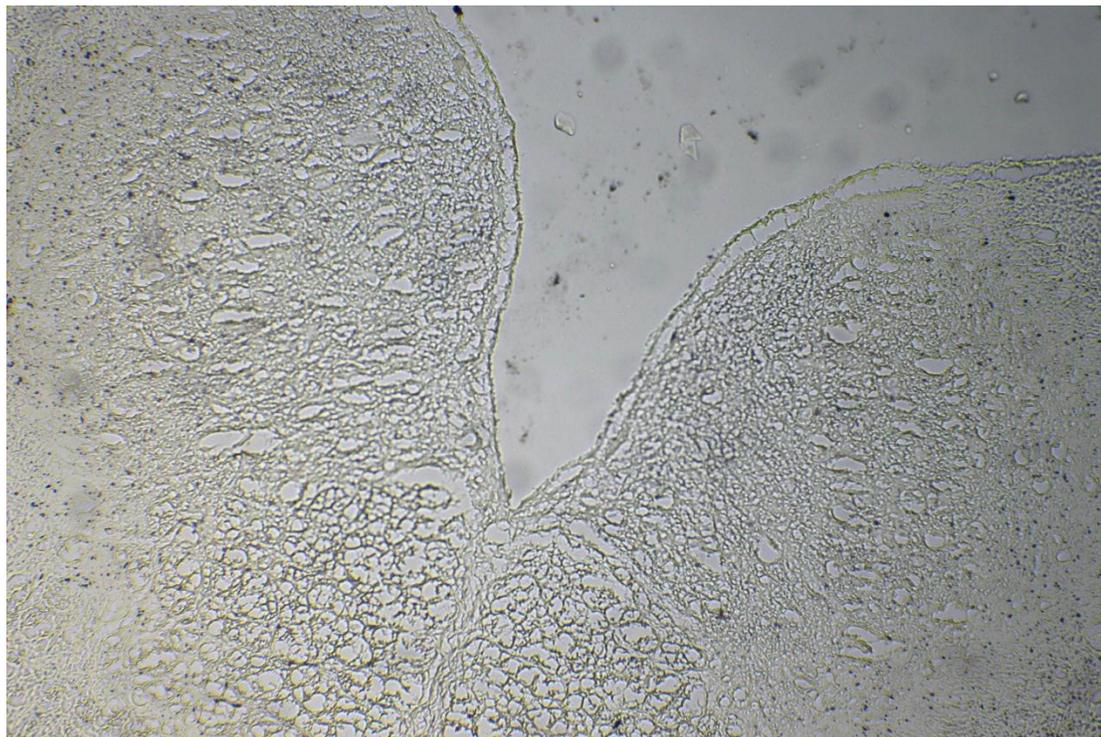
صورة (4-21) مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ولمدة شهر ، يلاحظ انعدام ظهور لويحات البينتا امليويد BA (Silver Stain 400X)



صورة (22-4) مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بمادة $AlCl_3$ بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، يلاحظ ظهور واضح للويحات البيتا املويد BA (Silver Stain 400X) →



صورة (23-4) مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر ، يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا املويد BA (Silver Stain 400X)



صورة (4-24) مقطع عرضي لنسيج الحبل الشوكي في ذكور الجرذان البيض في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا بتركيز 10 ملغم / كغم مع التجريع ب مادة $AlCl_3$ بتركيز 10 ملغم / كغم ولمدة شهر، اذ يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا املويد (Silver Stain 400X) BA

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

المناقشة

Discussion

1-5 تأثير كلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الانزيمية (AChE, CYT c (G1) , AchE (G4) , Nuroal mitochondrial ATPase, TNF α) و oxidase (COX)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز انزيم AchE(G1) وانخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز انزيم AchE(G4) بعد التجريع الفموي بمادة $AlCl_3$ مقارنة مع مجموعة السيطرة Group1 وهذه النتائج تتفق مع (Chen *et al*, 2022; Reddy *et al*, 2019; Khan *et al*, 2013; Al-Otaibi *et al*, 2018)

ان انزيم أستيل كولين (ACh) Acetylcholine ، ناقل عصبي كوليني مهم للتعلم والذاكرة ، AChE هو الإنزيم الرئيسي لتحطيم ACh في الشق المشبكي ، اكدت العديد من الدراسات ان الاشكال الجزيئية لانزيم AchE تتأثر بشكل غير متساوي في الحالات المرضية ، ان التغيرات في تركيز الاشكال الجزيئية لإنزيم AchE تعكس العديد من التغيرات التي تحدث في الدماغ (García-Ayllón *et al*, 2011; Saez-Valero *et al*, 2000a)، وتكون الاشكال الاحادية من انزيم الاستيل كولين استيريز AchE(G1) النوع الاكثر وفرة في الدماغ وله اهمية بالغة في عملية glycosylation من خلال اضافة انصاف كاربوهيدراتية مختلفة الى AchE من انسجة مختلفة و من نفس النسيج ، وان الخلل في هذه العملية يعكس الاضطرابات التي تحدث في الدماغ ، وبالتالي تسبب تغيرات في الاشكال الجزيئية لإنزيم AchE (Darreh-Shori, 2006 ; Saez-Valero *et al*, 2000 b) ، فقد يكون الارتفاع المعنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز انزيم AchE والتي اشارت اليها الدراسة الحالية بسبب التجريع الفموي ب $AlCl_3$ ترجع هذه التغيرات إلى أن الالمنيوم هو مادة شديدة السمية تؤثر على الخلايا العصبية الكولينية و تؤثر على الحاجز الدماغي الدموي مما يؤدي إلى حدوث تغييرات في النورادرينالين والناقل العصبي الكوليني والذي ادى الى تحطم الخلايا الدماغية عن طريق توليد عدد من الجذور الحرة بفعل الاجهاد التاكسدي مسبباً حدوث الضرر الخلوي Cell injury وتسرب الانزيم (Sagae *et al*, 2011) ان هذه الزيادة في نشاط AchE تعود اما الى التأثير الخطير ل $AlCl_3$ او تمزق غشاء الخلية الناجم عن زيادة بيروكسيد الدهون ، كما ان انخفاض

معدل تركيز انزيم (AchE(G4) قد يعود الى فقدان الخلايا العصبية الكولينية cholinergic neurons (Fishman *et al*, 1986) اذ يلعب النظام الكوليني في الدماغ دورًا رئيسيًا في تعديل التعلم والذاكرة ، فقد ارتبط انخفاض نشاط إنزيم الأسيتيل كولين استريز (AchE (G4) ومستويات الأسيتيل كولين في منطقة الذاكرة hippocampus والقشرة الدماغية بفقدان الوظيفة الإدراكية لدى مرضى الزهايمر (John *et al*, 2015). وأشارت دراسة الى أن الألمنيوم يقلل من نشاط إنزيم الأسيتيل كولين استريز في الجردان ويسبب تلف المراكز الكولينية في القشرة الدماغية ومنطقة الذاكرة (Platt *et al*, 2001). ان الزيادة في تركيز انزيم AchE يرتبط مع ظهور لويحات البيتا اميلويد $A\beta$ في النسيج العصبي والتي تعد من العلامات التشخيصية لمرض الزهايمر ، فقد وجد ان لويحات $A\beta$ ربما تكون مسؤولة عن زيادة تركيز انزيم AchE حول اللويحات كما وجد ان الزيادة في انزيم AchE حول NFT ترتبط مع زيادة فسفرة بروتين التايو P-tau التي لها دور كبير في زيادة التعبير الجيني للانزيم (Silveyra *et al* 2011). وفي الحالات المتقدمة من الاعتلال العصبي كما هو الحال في مرض الزهايمر يكون هنالك انخفاض معدل تركيز انزيم (AchE(G4) والذي يعزى الى تحطم الخلايا العصبية الكولينية بينما تبقى الاشكال الاحادية (AchE(G1) بدون تغيير او تزداد في الحالات المرضية المتقدمة (García-Ayllón *et al*, 2010 ; García-Ayllón *et al*, 2011).

كما بينت النتائج وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز انزيم Nuroal mitochondrial ATPase بعد التجريع الفموي بمادة $AlCl_3$ مقارنة مع مجموعة السيطرة Group1 وهذه النتائج تتفق مع (Ghorbel *et al*, 2016) ، ان الماييتوكونديريا تكون مسؤولة عن العديد من مسارات التمثيل الغذائي ، وإنتاج الجذور الحرة ، و ان الخلايا العصبية تحتوي على كثافة عالية من الميتوكونديريا ، وهو ما يفسر سبب تعرضها بشكل خاص للعيوب المعتمدة على الطاقة الناتجة عن تشوهات الميتوكونديريا (Chen *et al*, 2013) ، ان التغيير في الميتوكونديريا نتيجة التعرض للمواد السمية وعدم التوازن بين إنتاج أنواع الجذور الحرة ونشاط أنظمة مضادات الأكسدة تعد من العوامل التي تشارك في تطور الاضطرابات العصبية التنكسية والشيخوخة ، وفي الواقع فإن حدوث الإجهاد التأكسدي وزيادة عمليات الأكسدة والاختزال تؤثر على وظيفة الميتوكونديريا نفسها ، كما تشير دراسة على ان لمادة الالمنيوم قدرة عالية على تغيير مسار عمليات السلسلة التنفسية في الميتوكونديريا وعمليات الأكسدة والاختزال في الدماغ. ومع ذلك ، يبدو أن مدى وطبيعة هذا التغيير يكون متفاوتاً اعتماداً على ظروف التعرض لهذا العنصر (Iglesias-González *et al*, 2017). وقد بينت الدراسات ان التعرض ل $AlCl_3$ يسبب توليد الجذور الحرة وحدث الاجهاد التاكسدي

والتي بدورها تؤدي الى تغيرات وظيفية مثل استنفاد ATP في الخلية العصبية ، (Takahashi *et al*) ، 2009) ، يمكن أن يرجع انخفاض نشاط NMit -ATPase إلى زيادة عملية بيروكسيدية الغشاء الدهني نتيجة لهجوم الجذور الحرة على أغشية الخلايا. قد يتسبب استنفاد ATP الخلوي الى اضعاف قدرة الخلايا العصبية في الحفاظ على التدرجات الأيونية ويمكن أن يؤدي إلى ضعف وظيفة الميتوكوندريا مما يؤدي إلى موت الخلية (Ghorbel *et al*,2016) ، كما ان زيادة انواع الاوكسجين النفاغلية (ROS) تعمل على تنشيط مسارات موت الخلية المبرمج من خلال تحرير بروتينات Cytochrome c و apoptosis inducing factor الذي ينتهي بموت الخلية العصبية (Wu *et al* ,2020)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز CYT c oxidase (COX) في المصل ، بعد التجريع الفموي ب $AlCl_3$ مقارنة مع مجموعة السيطرة Group1 وقد يعزى السبب في هذا الانخفاض نتيجة لتراكم $AlCl_3$ الذي يسبب تلف انسجة الدماغ ونقص التروية مما يؤدي الى استنفاد الاوكسجين داخل الخلايا وبالتالي يستنفذ ال COX من السلسلة التنفسية في المايتوكوندريا وبالتالي انخفاض ATP وزيادة ADP (Hüttemann *et al* ,2012) ، فضلا عن ذلك فقد وجد ان التراكيز المتزايدة من الالمنيوم تؤدي الى تحرير COX من المايتوكوندريا الذي يؤدي الى زيادة انتاج الجذور الحرة وبالتالي الى انخفاض تركيزه في المصل (Kawahara, 2005)

كما بينت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز $TNF-\alpha$ في المصل ، بعد التجريع الفموي ب $AlCl_3$ مقارنة مع مجموعة السيطرة Group1 وهذه النتائج تتفق مع (Maksud *et al* ,2020) . ان الارتفاع في معدل تركيز $TNF-\alpha$ قد يكون بسبب السمية العصبية التي يسببها $AlCl_3$ والتي تسبب تراكم العديد من البروتينات غير الطبيعية ، مثل البيتا امليويد خاصة النوع $A\beta$ -42 والجذور الحرة بضمنها (ROS ، NO و RNS) ، التي تسبب الإجهاد الخلوي و الالتهاب العصبي عن طريق تنشيط الجهاز المناعي للدماغ والذي يشمل الخلايا الدبقية الصغيرة microglia والخلايا النجمية astrocyte (John *et al* ,2015) كما وجد أن تراكم الالمنيوم يكون مصحوبا بإطلاق السيتوكروم c من الميتوكوندريا ، مما يؤدي إلى زيادة إنتاج الجذور الحرة التي تؤدي إلى الإجهاد التأكسدي عن طريق زيادة الضرر التأكسدي للجزيئات الحيوية وزيادة إنتاج السيتوكينات المنشطة للالتهابات . فضلاً عن ان زيادة التعبير الجيني لـ $TNF-\alpha$ يؤدي دوراً مهماً في التنكس العصبي الناتج عن الالتهاب العصبي المرتبط بالسمية العصبية التي يسببها الالمنيوم (Kawahara, 2005) ، ويمكن أن تؤدي زيادة الإجهاد التأكسدي المرتبط بالشيخوخة

إلى حدوث تهاب مزمن يعزز توليد انواع الاوكسجين والنتروجين التفاعلية في الدماغ ، وتوجد أدلة قوية تدعم أن تنظيم الإشارات الالتهابية العصبية يساهم في العجز الإدراكي المرتبط بالشيخوخة ونقص التروية الدماغية وكذلك مرض الزهايمر (Cheung & Yew, 2020) .

2-5 تأثير المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والدور الوقائي للمستخلص المعامل

بكلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الانزيمية (AchE (G1) , AchE (G4))

) TNF α وNuronal mitochondrial ATPase, CYT c oxidase (COX)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من الجنكة بيلوبا ادى الى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في فعالية انزيم AchE(G1) وعدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) في فعالية انزيم AchE(G4) وهذه النتائج تتفق مع (Qi-Hai *et al*, 2006; Marucci *et al* 2021). والتي اكدت ان مستخلص الجنكة بيلوبا يمتلك تأثير مباشر على الجهاز الكولينري Cholinergic system المسؤول عن ادامة الوظائف المعرفية للدماغ ، من خلال دوره في تنشيط مستقبلات muscarinic acetylcholine receptor التي تؤثر على سرعة انتقال المعلومات بين الخلايا العصبية من خلال دوره في زيادة فعالية الناقل العصبي الاستيل كولين ACh وتقليل فعالية AchE (Marucci *et al* 2021) ومن المعروف أن مستويات الكولين خارج الخلية تعتمد على عملية التمثيل الغذائي للفوسفوليبيدات المحتوية على مادة الكولين ، اذ تزداد مستويات الكولين في العديد من الظروف المرضية بما في ذلك نقص التروية ischemia والتهيج العصبي excitotoxicity ، بسبب تنشيط فسفوليبياز phospholipase A2 والتحلل المائي للفوسفاتيديل كولين لذا اشارت دراسة الى ان مستخلص الجنكة بيلوبا يمتاز بقدرته على المحافظة على التركيب الطبيعي لعشاء الفوسفاتيديل كولين phosphatidylcholine membrane والحفاظ على الوظائف الطبيعية للمايتوكوندريا (Mdzinarishvili *et al*, 2012) ، اذ يعمل الجنكة بيلوبا (GBE) على اكتساح الجذور الحرة نتيجة لاحتواءه في تركيبه على العديد من المركبات الفعالة بضمنها الجينكجوليد ginkgolide الفلافونويد Flavonoid والتي تعمل كواهب للإلكترونات وبذلك تقلل الضرر التاكسدي على الخلايا العصبية (Zuo *et al*, 2017) ، كما وجد ان نبات الجنكة يعمل على تحسين عملية التعلم ومعالجة حالات ضعف الذاكرة الناجم عن $AlCl_3$ في الفئران نتيجة لتنشيطها تعبير إنزيم AchE في منطقة الذاكرة ال hippocampus (Qi-Hai *et al*, 2006) ، و يمتلك GBE القدرة على تقليل انتاج لويحات $A\beta$ من خلال

تحويل مسار بروتين Amyloid Precursor Protein (APP) وبذلك يكون لها دور في حماية الخلايا العصبية من سمية هذه اللويحات التي تسبب خلل في وظائف المشبك العصبي (Bastianetto & Quirion , 2002) ، وتقلل من نمو الخلايا العصبية (Manczak et al , 2010) ، و تسبب الضمور الدماغي (Cash et al , 2013) وتدهور القدرات المعرفية خصوصا عندما تتجمع بكميات كبيرة ، والتي تؤدي الى تحطم الغشاء الخلوي (Villemagne et al , 2013) .

كما بينت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالمستخلص المائي لجنكة بيلوبا ادى الى ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز انزيم Nmit ATPase مقارنة مع مجموعة السيطرة Group1، فقد بينت العديد من الدراسات ان الجنكة بيلوبا يلعب دوراً فعالاً في دعم وظائف المايوتوكونديريا عن طريق دورها في الحماية ضد التغيرات في الفسفرة التأكسدية والتي تؤدي الى زيادة مستوى انتاج ال ATP (Astre et al , 1998) ، اضافة الى دوره في تنشيط معقدات سلسلة نقل الالكترونات منها cytochrome c oxidase ، cytochrome c reductase و NADH ، كما انها تحافظ على توازن الكالسيوم الداخلى خلوي (Kwon et al , 2004) ، بالاضافة الى دور GBE كمادة مضادة للاكسدة وله تاثيرات وقائية لمختلف انواع الخلايا بضمنها الخلايا العصبية والخلايا النجمية فهو يعمل على حماية المايوتوكونديريا من خلال التقاطه العديد من الجذور الحرة بضمنها جذر الهيدروكسيل (OH^-) ، السوبر اوكسيد (O_2^-) ، اوكسيد النتريك (NO) ، بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) و البيروكسي نايتريت ($ONOO^-$) (Cheung & Yew, 2020).

وأظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالمستخلص المائي للجنكة بيلوبا ادى الى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز Cytochrome c oxidase مقارنة مع مجموعة السيطرة Group1 وقد اتفقت هذه النتائج مع (Shi et al , 2011) اذ أشاروا إلى أن Bilobalide (BB) احد مكونات الجنكة بيلوبا الفعالة له القدرة على تنظيم نشاط COX من خلال التنظيم الجيني والتعبير البروتيني لوحده الفرعية المشفرة بالحمض النووي في الميتوكونديريا ، وقد يساهم تعديل نشاط COX بواسطة BB في آثاره الوقائية على وظيفة الميتوكونديريا ، كما يعمل مستخلص GBE على تثبيط توليد ROS والإجهاد التأكسدي الذي قد يساهم في الحفاظ على بنية المادة الوراثية للميتوكونديريا (Mitochondrial DNA (mt DNA) واستقرار mRNAs ، وبذلك يؤدي الزيادة في التعبير الجيني ونشاط COX إلى تعزيز القدرة المضادة للأكسدة لمستخلص الجنكة بيلوبا (Chandrasekaran et al , 2001; Defeudis , 2002)

واظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية ($p>0.05$) في معدل تركيز TNF- α بعد التجريع الفموي بمستخلص الجنكة بيلوبا مقارنة مع مجموعة السيطرة Group1 وهذا يتفق مع (Spencer *et al*, 2012; Tulsulkar & Shah, 2013) ، وقد يكون السبب في ذلك الى تاثيرات الجنكة المضادة للالتهابات اذ يرتبط الالتهاب Inflammation ارتباط وثيقا بالاجهاد التاكسدي وفي الاستجابة الالتهابية ، وقد بينت الدراسات هذا التأثير لل GBE ودوره في حماية منطقة الذاكرة ضد موت الخلايا العصبية وبالتزامن مع انخفاض ملحوظ في عدد الخلايا الدبقية والخلايا النجمية الصغيرة يمكن لمركبات الفلافونويد تنظيم مسارات الإشارات بواسطة انزيم Tyrosin kinase و-3 phosphoinositide kinase و protein kinase C ، و انزيم mitogen-activated protein kinase وبالتالي تعمل على تثبيط تنشيط الساييتوكين للخلايا الدبقية الصغيرة وتحريض iNOS فضلا عن امتلاك جينكوليدات Ginkgolides نوع A و B الموجودة في نبات الجنكة تاثيرات مثبطة على انتاج السيتوكينات المنشطة للالتهابات مثل TNF- α (Cheung, & Yew, 2020)

3-5 تأثير كلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الكيموحيوية (الكلوتاثيون المختزل GSH ، المالونالديهايد MDA)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز GSH و ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز MDA بعد التجريع الفموي بمادة AlCl₃ وهذا يتفق مع (Ghorbel *et al*, 2016 ; Elhadidy *et al*, 2018 ; Thenmozhi *et al*, 2016 ; Abu-Taweel & Al.Mutary, 2021) الذين أفادوا بأن الالمنيوم قد قلل من إجمالي قدرة مضادات الأكسدة وزاد من مستويات بيروكسيد الدهون وأكسيد النيتريك في الدماغ ، اذ يمكن أن يتفاعل أكسيد النيتريك مع أنواع الأكسجين التفاعلية مثل الأكسيد الفائق مكوناً البيروكسي نيتريت الذي يعد أحد الجزيئات الضارة القوية للجهاز العصبي (Poderoso, 2009). قد يمثل هذا التفاعل المستحث ب Al إحدى الآليات التي تسبب في انخفاض GSH هو أحد مضادات الأكسدة غير الأنزيمية التي لها دور محتمل في أنسجة المخ ضد إنتاج الجذور الحرة والتتنس العصبي (Saing *et al* 2016). كما يعد استنفاد GSH السمة المميزة المبكرة في حدوث موت الخلايا المبرمج (Circu & Aw, 2008)، فقد يكون انخفاض تركيز ال GSH بسبب انخفاض التوليف الناتج عن انخفاض نشاط إنزيم Glutathion synthase الذي يحتاج الى طاقة ال ATP. لذلك ، قد يكون الانخفاض

الحالي في مستوى GSH في الدماغ بسبب استنفاده للتخلص من ROS المتطور والفسل في تجديد محتواه بعد التعرض للالمنيوم (Elhadidy *et al*, 2018)

تعكس المستويات المتزايدة من MDA التأثيرات السمية للالمنيوم ودورها في تحفيز عملية بيروكسيدية الدهون ، كما ان انخفاض مستوى الجلوتاثيون يعد مؤشرا على حدوث الإجهاد التأكسدي ، فقد يكون انخفاض تركيز ال GSH ناتجاً عن التأثير التأكسدي للجينات التي تتحكم بعمل هذه الانزيمات ، اذ يتولد الاجهاد التاكسدي نتيجة لزيادة عمليات الاكسدة الضارة مقابل انخفاض كفاءة أنظمة مضادات الاكسدة للجسم بعد المعاملة ب AlCl₃ (Lakshmi *et al*, 2014) فقد وجدت احد الدراسات ان سمية الالمنيوم تزيد من مستويات الجذور الحرة للأكسجين وبيروكسيد الدهون ، مما يقلل بدوره مستويات الجلوتاثيون GSH مسببة الضرر لجدار الخلية وسهولة تكسرها (Olawuyi *et al*, 2019) قد يكون سبب زيادة بيروكسيد الدهون هو التداخل مع التمثيل الغذائي للمعادن (Nuhair, 2015) ، كما وجد أن الالمنيوم يحث على الإجهاد التأكسدي في الدماغ وتوليد أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) التي تستنفد آليات مضادات الأوكسدة وتحفز بيروكسيد الدهون ، وتلف الحمض النووي ، وتعديل البروتين وغيرها (Elhadidy *et al*, 2018)

4-5 تأثير المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والدور الوقائي للمستخلص المعامل بكلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الكيموحيوية الكلوتاثيون المختزل GSH ، المالنوالديهايد MDA

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من مستخلص الجنكة بيلوبا ادى الى حدوث ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز GSH و انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل تركيز MDA مقارنة مع مجموعة السيطرة Group1. ترتبط التأثيرات المضادة للأكسدة لـ GBE بشكل أساسي بتأثيره على تدفق الدم في الدماغ ، وتنظيم عمل النواقل العصبية ، وحالة الأوكسدة الخلوية والتقليل من مستوى أكسيد النيتريك (Nowak *et al*, 2021) ، فقد وجدت الدراسات ان مستخلص GBE يحافظ على مستوى الجلوتاثيون ويمنع اكسدته في الميتوكوندريا ويقلل إنتاج البيروكسيد في هذه العضيات ، اذ يرتبط تأثير مضادات الأوكسدة بإزالة الأنبيون الفائق وجذر الهيدروكسيل ، وبالتالي يمنع بيروكسيدية الدهون في أغشية الميتوكوندريا ، كما يقلل GBE من إنتاج ROS في الميتوكوندريا ويحمي مركبات السلسلة التنفسية ويزيد من إنتاج ATP داخل الخلية الحية من خلال زيادة التعبير الجيني عن إنزيمات الميتوكوندريا مثل NADH dehydrogenases ، والتي يمكن أن تؤثر على ROS المتولدة في الميتوكوندريا ، اذ يعمل هذا الانزيم على

تقليل الفسفرة التأكسدية للجذور الحرة ، وبالتالي يزيد GBE من مستويات ATP وينظم إنتاج الطاقة (Nowak *et al*, 2012; Abdel-Wahab & Abd El-Aziz, 2021) كما وجد ان مضادات الاكسدة الموجودة في مستخلص GBE تقلل إنتاج لويحات البيتا امليويد A β ، نقص التروية والصدمات من خلال تقليل إنتاج ROS في الدماغ ، اذ تعمل الفلافونيدات Flavonoids على تثبيط إنتاج ROS من خلال التقاط هذه الجذور الحرة المتكونه ، أو عن طريق تنشيط التعبير الجيني للعديد من الجينات المضادة للأكسدة (Cheung & Yew, 2020) او عن طريق تثبيط بيروكسيدية الدهون ، وبالتالي الحفاظ على مستويات GSH وهذا بدوره يحمي الخلايا من ضرر الإجهاد التأكسدي (Sakarcan *et al*, 2005) ، فيما بينت دراسة أخرى ان التأثير المضاد للأكسدة للفلافونويد ينتج بشكل مباشر عن طريق زيادة نشاط إنزيم السيتوكروم P-450 ، مما يقلل من تكوين ROS ويمنع إطلاق أنيون البيروكسيد (Bodalski & Karłowicz- Bodalska, 2006) ، وفي دراسة أجريت خارج الجسم على خلايا الورم الأرومي العصبي اظهرت ان مستخلص الجنكة بيلوبا سبب انخفاضاً في عدد الخلايا التي تخضع لموت الخلايا المبرمج عن طريق تثبيط انزيم Caspase-3 وغالباً ما يُعزى هذا التأثير الحد إلى دور البيولوبلايد bilobalide (Ahlemeyer *et al.*, 2001) كما يعمل هذا المكون أيضاً على تحسين تكوين الأوعية الدموية و يعمل على اكتساح للجذور الحرة خاصة أوكسيد النيتريك nitric oxide (Zhang *et al.*, 2018)

5-5 تأثير كلوريد الالمنيوم على معدل تركيز بعض الايونات (الكالسيوم Ca⁺ والحديد الحر Fe⁺)

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز Ca⁺ و ايون الحديد

الحر Fe⁺ بعد التجريع الفموي ب AlCl₃ مقارنة مع مجموعة السيطرة Group1

أن الالمنيوم له القدرة على حدوث الضرر التأكسدي من خلال آليات متعددة ، إن الآلية الرئيسية لسمية الالمنيوم تتضمن حدوث خلل في توازن المعادن وبشكل خاص الكالسيوم (Ca⁺) والحديد (Fe⁺) المغنيسيوم (Mg⁺) (Kawahara & Kato-Negishi, 2011). اذ يعمل الالمنيوم على تغيير الوظائف البيولوجية للخلايا ، فمن الممكن أن يرتبط ال Al بالفوسفوليبيدات الدماغية ، والتي تحتوي على أحماض دهنية متعددة غير مشبعة والتي يمكن مهاجمتها بسهولة بواسطة أنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS) مثل O⁻² و H₂O₂ و -

OH وبذلك يؤدي الى زيادة الكالسيوم الخلوي نتيجة تحطم الخلايا وتسرب ايونات Ca^{+2} منها (Berihu *et al*, 2015). فقد وجد ان زيادة ايونات Ca^{+2} قد يرجح الى حدوث خلل في الية عمل قنوات الكالسيوم للميتوكوندريا و زيادة مستويات العديد من المؤكسدات بضمنها NADPH oxidase و xanthine oxidase وتثبيط المعقدات الانزيمية للسلسلة التنفسية مؤديا الى زيادة مستويات Ca^{+2} ، كذلك نفاذ ال ATP و فتح ثقب الميتوكوندريا (mPTP) mitochondrial permeability transition pore مما يزيد من تحرير انزيم Cytochrome C ، وبالتالي تحطم الميتوكوندريا (Calkins *et al*, 2011; Alleyne *et al*, 2011 Lam *et al*, 2013) ، كما وجد ان الألومنيوم يسبب اضطراب وظيفي لميتوكوندريا الخلية العصبية، والتي تؤدي الى المستويات المرتفعة بشكل غير طبيعي من الكالسيوم وهذا بدوره يسبب تثبيط فسفرة بروتين كينيز (AKT) protein kinase ، اضافة الى دور الالمنيوم في تعزيز موت الخلايا المبرمج على خلايا PC12 العصبية مما يؤدي إلى ضعف وظيفة الخلية العصبية و ضعف التمثيل الغذائي الطاقة الخلوية (Qianqian *et al*, 2022).

إن التراكيز المتزايدة من الالمنيوم تعمل على تحفيز عملية بيروكسيدية الدهون مما يؤدي إلى إنتاج ROS ويسبب زيادة في تكوين Fe^{+3} (Berihu *et al*, 2015) ، وقد تسبب أنواع الأوكسجين التفاعلية تلفًا خلويًا أيضًا ، عن طريق أكسدة بقايا الأحماض الأمينية في البروتينات ، وتشكيل البروتينات الكربونية التي تشير إلى أن Al لديها نشاط تحفيزي لإنتاج الجذور الحرة والذي يؤدي الى موت الخلايا (Verstraeten *et al*, 2008). فقد وجد ان العديد من مركبات الالمنيوم لها القدرة على حث تفاعل فنتون fenton reaction الذي تختزل فيه الحديد الثلاثي التكافؤ الى حديد ثنائي التكافؤ وبالتالي ينتج العديد من الجذور الحرة بضمنها جذر الاوكسجين الفائق O_2^- و بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 مؤديا الى حدوث الاجهاد التاكسدي وتحطم الخلية العصبية (Mujika *et al*, 2018) تعتبر القدرة المؤكسدة للالمنيوم واحدة من اهم العوامل الرئيسية للآثار الضارة للالمنيوم، أن هذا النشاط المؤكسد يرجع الى قدرة الالمنيوم للارتباط بجذر الاوكسجين الفائق O_2^- مما يؤدي الى تكوين مركب مؤكسد اكثر خطورة من الالمنيوم - أكسيد الفائق aluminum-superoxide complex وقد وجد Fukuzumi وجماعته (2002) ان هنالك علاقة خطية بين قوة التفاعل بين الالمنيوم والأكسيد الفائق و النشاط المؤكسد للمعدن ، أن معقد aluminum-superoxide complex قد يزيد من الاجهاد التاكسدي في الانظمة البيولوجية من خلال العمل على تحفيز تفاعل فنتون . ، فضلا عن تأثيرات جذر الهيدروكسيل (OH^-) الذي له القدرة للحث على موت الخلايا من خلال بدء سلسلة من التفاعلات الكيميائية مما يؤدي الى تحطم الحامض النووي DNA ، تحطم الميتوكوندريا ، وزيادة اكسدة

الدهون (Barham *et al* , 2004 ; Bergeron *et al* 2003). كما إن زيادة أيونات الحديد الحرة لها القدرة على التفاعل مع الدهون غير المشبعة مكونة جذر البيروكسيل Peroxyl والكوكسيل alkoxyle ، وإن مثل هذه التفاعلات المؤكسدة تؤدي الى ضعف في الوظائف الخلوية وتحطم الخلايا والأنسجة والأعضاء) ، (Lieu *et al* , 2001) ، كما وجد ان الجذور الحرة المتولدة من خلال تفاعل الفنتون تعمل على تنشيط مسارات MAPK و NF-B لتوليد ROS ، والتي تؤدي بدورها الى تحطم الخلايا ، بالإضافة إلى تنشيط الإنزيمات المرتبطة بالأكسدة β -galactosidase (β -GAL) و Lactoperoxidase (LPO) ، ودوره في حدوث تفاعلات التهابية من خلال تنشيط Nuclear factor kappa-light-chain- (NF- κ B) enhancer of activated B cells و Interleukin 6 (IL-6) و Chemokine (CC motif) 1 (CCL1) و TNF- α و IL-1 β في الخلايا (Phaniendra *et al* , 2015) .

يمكن للألمنيوم أن يحفز تكوين الجذور الحرة عن طريق تثبيت الحديد الثنائي التكافؤ (Fe^{+2}) والتي يمكن من خلالها تعزيز تفاعل فنتون ، كما لوحظ ان املاح الالمنيوم تعمل على خفض سرعة أكسدة الحديد الثنائي التكافؤ (Fe^{+2}) إلى الحديد الثلاثي التكافؤ (Fe^{+3}) بشكل ملحوظ (Kumar & Gill, 2009). اذ يمكن أن يعزز أيون الحديد الثنائي التكافؤ (Fe^{+2}) تفاعل فنتون لتوليد جذر الهيدروكسيل وبالتالي يعزز الضرر الناتج عن الأكسدة للدهون والبروتينات ، كما يمكن أن ترجع الزيادة المعنوية للحديد في مصل الدم إلى تحرر الحديد من بروتين تخزين الحديد (الفيريتين) ferritin ، أو تحلل البروتين الناقل للحديد (الترانسفيرين) transferrin أو عن طريق التحرر من تحلل الهيموغلوبين (Mohamed& Abd El-Moneim, 2017)

5-6 تأثير المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والدور الوقائي للمستخلص المعامل بكلوريد الالمنيوم على معدل تركيز بعض الايونات (الكالسيوم Ca^{+} والحديد الحر Fe^{+})

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من مستخلص الجنكة بيلوبا عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) في معدل تركيز Ca^{+} و Fe^{+} مقارنة مع مجموعة السيطرة Group1 قد يعود السبب في ذلك الى دور مستخلص الجنكة بيلوبا في التقاط الجذور الحرة والتقليل من تأثير ROS و NOS (Cheung & Yew , 2020) ، اذ وجد انه يمكن للـ GBE تنظيم تركيز Ca^{+} من خلال تعزيز مستويات

cAMP داخل الخلايا و تؤدي الزيادة في مستوى الكالسيوم داخل الخلايا إلى إزالة استقطاب الميتوكوندريا وزيادة إنتاج ROS (Zuo *et al* 2017)، لذا يعمل GBE على تنظيم مستويات التعبير عن Bcl-xL (B- cell lymphoma-extra large و BCL2 Associated X(Bax) عن طريق تثبيط تنشيط caspase-9 للحماية من اختلال وظائف الميتوكوندريا (Shi *et al* 2010)، كما يعمل GBE على منع إطلاق الكالسيوم عبر مسام انتقال نفاذية الميتوكوندريا، وبالتالي منع دوران الكالسيوم عبر غشاء الميتوكوندريا، اذ يمكن ان يكون الحد الفاصل بين بقاء الخلية وموتها هو الحفاظ على التوازن الايوني في الميتوكوندريا وجهد الغشاء (Kwon *et al*, 2004)، اذ يحسن GBE سلسلة نقل الالكترونات للميتوكوندريا عن طريق قمع الأنيون الفائق، وجذور الهيدروكسيل والبيروكسيل، كما إنه يحمي الدماغ عن طريق تسهيل امتصاص النواقل العصبية وتقليل نقص التروية و موت الخلايا المبرمج (Droy-Lefaix, 1997)، فضلا عن ذلك وجد ان Fe^{+} له دور كبير في احداث السمية العصبية من خلال ارتباطه بتكوين لويحات $A\beta$ و NTF، و ان زيادة ايونات Fe^{+} تسبب تحفيز تجمع $A\beta$ من خلال دوره في احداث تغيرات في بروتين APP (Perry *et al*, 2002)، ونظرًا لأن GBE يمتلك القدرة على عبور الحاجز الدماغي الدموي BBB وله خصائص مضادة للأكسدة ضد الجذور الحرة ويحتوي على حوالي 300 مركب بما في ذلك حمض الأسكوربيك ascorbic acid، بيتا-كاروتين β -carotene، الفلافونويد، flavonoids، الكومارين coumarins، البيلوبلايد، bilobalide، لذلك تم تحسين مستويات Fe^{+} , Ca^{+} (Shi *et al*, 2010 ; Mohamed & Abd El-Moneim, 2017)

5-7 تأثير كلوريد الالمنيوم على بعض المعايير الهرمونية (Cortisol، ACTH و GH)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز هرمون الكورتيزول وهرمون ACTH بعد التجريع الفموي ب $AlCl_3$ وهذه النتائج تتفق مع (Kinawy & Al-Eidan, 2018; Murugaiyan & Bhargavan, 2021)

ان الزيادة في افراز هرمون الكورتيزول قد يكون بسبب طبيعة الالمنيوم المؤكسدة ودوره في احداث الإصابة الخلوية بواسطة الجذور الحرة من خلال تعزيز الإجهاد التأكسدي، وإضعاف نظام الدفاع المضاد للأكسدة وتغيير الكيمياء العصبية للدماغ (Liaquat *et al* 2019)، اذ يؤدي استمرار الإجهاد إلى ضعف التكوين للخلايا العصبية، مما يسبب خلل واضح على الجهاز العصبي تنعكس على التغيرات الهرمونية الذي ممكن أن يؤدي ذلك إلى تغييرات تنكسية عصبية وبالتالي إلى الخرف والتدهور المعرفي (Wong &

فقد اظهرت الدراسات ان الإجهاد يؤثر بشكل أساسي على محور Hypothalamus-pituitary axis (HPA) ، فقد وجد ارتباط بين فرط نشاط محور HPA والإجهاد المزمن، اذ يحفز الإجهاد المستمر على زيادة إفراز الهرمون المحفز للغدة الكظرية (CRH) Adrenocorticotropin releasing hormone من تحت المهاد ، والذي يسبب تخليق وإفراز الهرمون الموجه لقشرة الكظر Adrenocorticotropin hormone (ACTH) في الغدة النخامية وهذا بدوره يحفز افراز هرمون الكورتيزول عن طريق الغدد الكظرية. ان كمية الإجهاد تتناسب طردياً مع مستوى الكورتيزول في البلازما ، فقد وجد ان الاجهاد يسبب ارتفاع مستوى الكورتيزول في الدم والذي بدوره يسبب حدوث خلل وظيفي في المراكز التي تنظم المزاج ، والدافع النفسي ، وآليات الذاكرة واضطرابات في تكوين الخلايا العصبية ، وضعف في وظيفة منطقة الذاكرة (Justice,2018 ; Saveanu & Nemeroff,2012). كما وجد ان السمية التي يسببها الالمنيوم تؤثر على التركيب النسيجي للغدة النخامية مما تسبب خلل في وظائفها (Olawuyi et al ,2019) بما ان كلوريد الالمنيوم يعمل كمحفز للاجهاد والذي يؤدي الى زيادة corticosterone من تحت المهاد مما يزيد اطلاق ACTH من الغدة النخامية وبذلك ينشط محور HPA نتيجة الإجهاد بفعل مادة كلوريد الالمنيوم ، وان تنشيط هذا المحور يسبب اطلاق عوامل محفزة لهذا الهرمون من تحت المهاد والتي تشمل Corticotropin releasing factor (CRF) و Arginin vasopressin (AVP) ، التي تعمل على تحفيز الغدة النخامية الأمامية لإفراز الهرمون الموجه لقشرة الغدة الكظرية (ACTH) والذي بدوره يسبب تخليق الكورتيزول وإطلاقه من الغدد الكظرية (Murugaiyan & Bhargavan,2021) ، كما تشير الدراسات الى ان الساييتوكينات Cytokines وخاصة (IL-1 و TNF-a) تعمل على زيادة افراز ACTH وهذا مايتفق مع دراستنا حول ان التجريب ب $AlCl_3$ يؤدي الى زيادة TNF-a والذي بدوره يزيد من اطلاق هرمون ACTH (John et al ,2015; Arzt et al ,1999)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز هرمون النمو GH بعد التجريب الفموي ب $AlCl_3$ ،

يتم تنظيم مستوى هرمون النمو في الجسم عن طريق عدة هرمونات بما في ذلك الهرمون المحفز لهرمون النمو growth hormone releasing hormone والهرمون المثبط لهرمون النمو growth hormone release inhibiting hormone التي تفرز من منطقة تحت المهاد hypothalamus ، (Xu et al ,2014). ان كلوريد الالمنيوم من المواد المؤكسدة التي تسبب حدوث الاجهاد التاكسدي

(Liaquat *et al* 2019)، يعد هرمون النمو (GH) من الهرمونات التي تعد مؤشرا لحدوث الشيخوخة ، اذ تنخفض مستويات هرمون النمو بشكل كبير مع تقدم العمر اذ يعد الانخفاض المرتبط بالعمر في إفراز هرمون النمو أحد التغيرات الفسيولوجية الملحوظة التي يطلق عليها اسم somatopoiesis (Bartke , 2019) ، قد يؤثر انخفاض هرمون النمو بشكل سلبي على التمثيل الغذائي والوظائف الفسيولوجية ، مما يؤدي إلى الضعف ، وتناقص كتلة الجسم ، وزيادة مخاطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية ، وزيادة الاضطرابات المعرفية واضطرابات النوم لدى كبار السن (Maghfirah *et al* , 2017) وهناك العديد من وجهات النظر تتعلق بتأثير هرمون النمو (GH) على مستويات مضادات الأكسدة ، فقد وجد ان هرمون النمو يؤثر على وظيفة الخلايا المناعية ، ويثبط موت الخلايا المبرمج و زيادة إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية ROS (Mancini *et al* , 2020) .

كما وجد ان انخفاض هرمون النمو يؤثر بشكل مباشر على المايتوكوندريا و دوره في تنظيم التوازن الخلوي وكما يؤدي دورا مهما في تمايز الخلايا ووظائفها وبقائها على قيد الحياة وبما ان هذا الهرمون يصل الى ذروته خلال فترة المراهقة وينخفض تدريجيا خلال مرحلة البلوغ والشيخوخة وبذلك يكون مسؤولا عن تنظيم كتلة المايتوكوندريا ووظيفتها ولكونها العضيات المسؤولة عن تنظيم العمليات الحيوية في خلايا حقيقيات النوى فيعد انخفاض وظيفتها احد السمات المميزة للشيخوخة (Poudel *et al* ,2020)

5-8 الدور الوقائي لمستخلص الجنكة بيلوبا تأثير المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا والدور الوقائي للمستخلص المعامل بكلوريد الألمنيوم على بعض المعايير الهرمونية (GH و ACTH , Cortisol)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) في معدل تركيز هرموني ACTH و Cortisol بعد التجريع الفموي لمستخلص الجنكة بيلوبا وقد يكون السبب في ذلك الى التأثيرات الوقائية للجنكة بيلوبا على منطقة تحت المهاد والغدة النخامية وفي تعزيز وظائف الخلايا الدماغية وقد بينت الدراسات تأثيرات مستخلصات الجنكة بيلوبا المضادة للاكسدة . مما يشير إلى وجود مثبطات في مستخلص الجنكة بيلوبا ل اطلاق ACTH أو إطلاق هرمون CRH تحت المهاد . إن وجود هذا المثبط يجعل الاستخدام المحتمل للمستخلص مهماً لأنه سيحمي الدماغ من الآثار السلبية لمستويات ACTH العالية المستمرة (Amri *et al* ,1996 ; Marcilhac *et al* 1998) ، ان المعاملة بمستخلص نبات الجنكة بيلوبا يؤدي إلى انخفاض تخليق الجلوكوكورتيكويد بواسطة الغدة الكظرية ، مما يشير إلى أن مستخلص الجنكة بيلوبا قد

يخفف من اثار الاكسدة عن طريق الحفاظ على مستويات منخفضة من الجلوكوكورتيكويدات المنتشرة وبالتالي يقلل الزيادة الناتجة عن الاكسدة في الجلوكوكورتيكويدات التي يمكن أن يكون لها تاثيرات سمية عصبية. وبالتالي ، فإن تاثيرات مضادات الاكسدة تؤدي الى حماية وظائف الجهاز العصبي المركزي ، اذ تعمل المواد الفعالة في مستخلص الجنكة بيلوبا على نقل الكوليسترول المولد (المخلق) من المخازن داخل الخلايا إلى غشاء الميتوكوندريا الداخلي حيث يوجد انزيم (P-cytochrome P450 side-chain cleavage (P-450sc)) وبينت دراسة ان المواد النشطة في الجنكة يؤثر على البنية التركيبية للمستقبلات المرتبطة بقشرة الكظر المحيطية من نوع مستقبلات البنزوديازيبين (PBR) peripheral benzodiazepine receptor) الذي يعد عنصر أساسي في تنظيم نقل الكوليسترول ، وبالتالي الحد من كمية الكوليسترول في الميتوكوندريا المتاحة لتخليق الكورتيكوستيرويد corticosteroid ان تناول المستمر لمستخلص جنكة بيلوبا يثبط فرط إفراز الكورتيكوستيرون الناجم عن الاكسدة من خلال تقليل عدد مستقبلات البنزوديازيبين المحيطية الكظرية (PBR) ، وقمع الجين الخاص به (Walesiuk et al, 2006) ، كما ينظم الجنكة بيلوبا إفراز الهرمون الموجه لقشر الكظر ACTH عن طريق تثبيط التغذية الراجعة السلبية feedback negative للكورتيكوستيرويدات على محور CRH / ACTH axis (Assenmacher et al, 1987) .

كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) في معدل تركيز هرمون النمو (GH) بعد التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من مستخلص الجنكة بيلوبا ويعود السبب في ذلك نتيجة لدور GBE في تنظيم تعبير mRNA لهرمون النمو في القشرة الدماغية (Ahlemeyer & Krieglstein, 2003) ، ان هرمون النمو هو هرمون ابتنائي anabolic يحفز معظم الخلايا المستهدفة على النمو في الحجم والتكاثر ، وتوجد مستقبلات GH في الدماغ وقد يعبر الحاجز الدموي الدماغي من خلال آليات تتوسط فيها المستقبلات (Watanabe et al, 2001). وتشير الدراسات أن التأثيرات العلاجية لـ GBE على الأمراض المرتبطة بالشيخوخة قد تكون مشابهة للتأثيرات المضادة للشيخوخة لإفراز هرمون النمو الناجم عن تنشيط مستقبل الجريلين ، أي أن بعض المكونات النشطة في هذه العشبة قد تحاكي الجريلين لتحفيز إطلاق هرمون النمو عبر نفس الآلية الجزيئية تتمثل التأثيرات المهمة لهرمون الجريلين من خلال تنشيط Growth Hormone Secretagogue Receptor (GHSR) في تعزيز الشهية وتحفيز إفراز هرمون النمو (GH) وتنظيم توازن الطاقة (Castaneda et al, 2010; Hsieh et al, 2016)

5-9 تأثير كلوريد الألمنيوم على النسيج العصبي (المخ والمخيخ والحبل الشوكي)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تأثير انسجة الدماغ بعد معالته بصبغة الهيماتوكسيلين والايوسن (H&E) إذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسية واضحة في الخلايا العصبية مع ظهور الفجوات في النسيج العصبي ووجود احتقان دموي واضح في نسيج الدماغ مقارنة مع مجموعة السيطرة في حين يلاحظ من معاملة نسيج الدماغ بصبغة السلفر Silver stain ظهور واضح للويحات البيتا املويد $A\beta$ منتشرة في نسيج المخ والمخيخ والحبل الشوكي في انسجة الحيوانات المعاملة ب 10 ملغم / كغم من $AlCl_3$ ولمدة شهر مقارنة مع مجموعة السيطرة هذه النتائج تتفق مع (Qusti *et al* 2018 ; Aljarari & Bawazir *et al*, 2019)

ان حدوث هذه التغيرات النسجية قد يعود الى قدرة الألمنيوم على عبور الحاجز الدماغي الدموي بسبب ارتباطه بالترانسفيرين (Abdul-Rassoul *et al*, 2009) وان سبب ظهور لويحات $A\beta$ هو ان $AlCl_3$ يسبب خلل في توازن الكالسيوم (Ca^{+}) الداخلى خلوي ، لذا يسبب زوال استقطاب المايكوتونديريا مؤديا الى زيادة توليد ROS (H_2O_2 , $OH^{-}O_2^{-}$) ، والتي بدورها تقلل من فعالية Cytochrome oxidase و تقلل انتاج طاقة ATP ، كذلك تسبب زيادة تنشيط مسارات تحلل وانشطارات Amyloidogenic and nonamyloidogenic APP Pathway عن طريق تنشيط انزيمات secretase- α ، γ -secretases و β -secretase التي تؤثر على بروتين APP وتسبب توليد كميات متزايدة من لويحات البيتا املويد $A\beta$ (Kumar & Singh , 2015; Itkin *et al*, 2011; Zatta *et al*, 2000) ، كما وجد ان زيادة الألمنيوم في الشق المشبكي تسبب خلل في التوازن الايوني وتؤثر على الجهاز الكوليني مسببة انخفاض تركيز Ach وزيادة تركيز AchE مؤديا الى زيادة تكوين لويحات $A\beta$ وزيادة فسفرة بروتين التايو P-tau في النسيج العصبي (Silveyra *et al* 2011; Dey & Singh, 2022)، فيما اكدت دراسة اخرى ان $A\beta$ تسبب زيادة فسفرة P-tau عن طريق تنشيط Extracellular signal regulated kinase 1/2 (ERK1/2) ، Protein kinase (PKC) ، Fyn kinase ، cyclin-dependent kinases (CDK) و Glycogen synthase kinase (GSK-3 β) ، في حين ان تثبيط فسفرة بروتين P-tau ممكن ان تمنع تكوين $A\beta$ وبالتالي تقلل من تأثيراتها على الجهاز العصبي (Alvarez *et al* , 2002)، فضلا عن ذلك فقد وجد ان $A\beta$ تسبب خلل في تركيب الخلايا العصبية وذلك لقدرتها على زيادة انتاج ROS في الخلية العصبية ، وحدث خلل توازن الكالسيوم الخلوي اضافة الى انها تؤثر على نشاط عدد كبير من من الانزيمات بضمنها flavoprotein-linked enzyme و NADPH

oxidase مؤدية الى زيادة توليد الجذور الحرة وانخفاض ال GSH وحدث خلل في السلسلة التنفسية للميتوكوندريا وبالتالي حدوث الموت الخلوي (Sadigh-Eteghad *et al* , 2015; Abramova *et al*) (, 2004) .

كما ان تلف الخلايا العصبية قد يكون نتيجة زيادة حدوث عملية اكسدة الدهون Lipid peroxidation والمتسببة عن ROS في الاغشية العصبية وقدرتها على التفاعل مع الدهون غير المشبعة الموجودة في الاغشية الخلوية ، التي تؤدي الى تضرر الانسجة العصبية (Sadigh-Eteghad *et al* , 2015; Barbagallo *et al* , 2015) . اضافة الى دور الجذور الحرة في تنشيط مسارات موت الخلية المبرمج عن طريق زيادة تحرير بروتينات محفزة لحدوث الموت المبرمج بضمنها apoptosis inducing factor و Cytochrome c وبالتالي تحطم وموت الخلية العصبية (Niizuma *et al* , 2010) . كما وجد انها تسبب تحطم الميتوكوندريا وذلك من خلال تثبيط المعقدات الانزيمية للسلسلة التنفسية والتي بدورها تسبب انخفاض انتاج ال ATP وزيادة انتاج انواع الاوكسجين التفاعلية (Swerdlow *et al* , 2010) ROS ، اضافة الى دور لويحات ال $A\beta$ على اغشية الميتوكوندريا مؤدية الى الاخلال في الية عملها و في النهاية تحطم المشبك العصبي . (Huang *et al* ,2020)

10-5 الدور الوقائي لمستخلص الجنكة بيلوبا على النسيج العصبي (المخ والمخيخ والحبل الشوكي)

اظهرت نتائج التقطيع النسيجي لأنسجة الحيوانات المعاملة ب10 ملغم/كغم من $AlCl_3$ والمجرعة يوميا ب 10 ملغم /كغم من الجنكة بيلوبا انعدام ترسب لويحات $A\beta$ في نسيج المخ ،المخيخ والحبل الشوكي والمظهر الطبيعي للخلايا العصبية مقارنة مع مجموعة السيطرة ويرجع السبب في ذلك الى دور مستخلص الجنكة بيلوبا في منع تكوين لويحات $A\beta$ وقد اشارت دراسة ان الجنكة بيلوبا يثبط انتاج لويحات $A\beta$ عن طريق تغيير مسار بروتين APP خلال المسارات الافرازية (Cheung, & Yew, 2020)، فقد اكدت دراسة على فعالية GBE في تقليل السمية الناتجة من $A\beta$ ، ودوره في تقليل الاجهاد التاكسدي والجذور الحرة الناتجة منه ، والحفاظ على تركيز الكالسيوم الخلوي وحماية DNA الخلية من التحطم وبالتالي الحفاظ على التركيب الطبيعي للخلية العصبية (Bastianetto & Quirion , 2002)، كما وجد ان مستخلص الجنكة بيلوبا يثبط المسارات الالتهابية التي تسببها لويحات ال $A\beta$ وتقليل تأثيرها على النسيج العصبي من خلال تثبيط IL-6 و $TNF-\alpha$ وبالتالي تقليل انتاج الساييتوكاينينات الالتهابية (Cheung & Yew, 2020) ، فضلاً عن ذلك

وجد ان GBE يمتلك القدرة على ازالة لويحات $A\beta$ المتكونة بفعل كلوريد الالمنيوم في النسيج العصبي وبالتالي التخلص من تأثيرها الضار ، اذ يظهر GBE فعالية شديدة ضد لويحات البيتا املويد $A\beta$ ، وزيادة التخلص منها عبر الحاجز الدماغي الدموي ، اضافة الى تحفيز الاستجابة المناعية وتحلل ال $A\beta$ و تنشيط الخلايا الدبقية (DeFeudis &Drieu ,2000) ، كما يعمل ال GBE على زيادة فعالية الانزيمات المضادة للأكسدة و زيادة التعبير الجيني لانزيم glutamatecysteine ligas وهو الانزيم الرئيسي لبناء GSH مؤدياً الى تقليل انتاج ROS (Zhou& Chen *et al* .2017)، ووجد ان GBE يحفز الخلايا العصبية على ازالة البروتينات المتأثرة بالاجهاد التاكسدي والتخلص من لويحات $A\beta$ (Singh *et al*, 2019) ، بالإضافة الى الخاصية المضادة للأكسدة التي يمتلكها GBE والتي تمكنه من المحافظة على المظهر الطبيعي للانسجة ودوره في التقاط نسبة عالية من الجذور الحرة ، مما ادى الى تقليل تأثيرها على الانسجة (Zuo *et al* 2017) .

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommendations

الاستنتاجات

استنتج من الدراسة الحالية:

- 1- بعد تحضير المستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا وجد ان الجرعة المؤثرة للمستخلص بلغت 10 ملغم / كغم في ذكور الجرذان البيض .
- 2- ان التجريع الفموي ب 10 ملغم / كغم من كلوريد الالمنيوم $AlCl_3$ ادى الى :
 - a- تغير في معدل تركيز الاشكال الجزيئية لانزيم الاستيل كولين استريز AChE (G1)، AChE (G2) والذي يعد مؤشر لحدوث تحطم المشبك العصبي .
 - b- انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase والذي يدل على حدوث خلل في العمليات الحيوية لمايتوكوندريا الخلايا العصبية .
 - c- حدوث الاجهاد التاكسدي وزيادة مستوى الجذور الحرة نتيجة للارتفاع المعنوي ($P < 0.05$) في تركيز MDA ، Ca^{+} ، Fe^{+} والانخفاض المعنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز GSH .
 - d- حدوث خلل في تركيز الهرمونات من خلال حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل Cortisol ، ACTH ، وانخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز GH .
 - e- حدوث تغيرات تنكسية واضحة في النسيج العصبي ، وظهور لويحات البيتا املويد $A\beta$ ، ظهور الفجوات في نسيج المخ المخيخ و الحبل الشوكي مما يدل ان هذه المادة سببت الاصابة بمرض الزهايمر
- 3- ان المعاملة بالجرعة المؤثرة للمستخلص المائي لنبات الجنكة بيلوبا قلل و بشكل كبير من التلف الحاصل في نسيج المخ ، المخيخ والحبل الشوكي و ساهم بشكل فعال في اعادة المعايير الكيموحيوية الى معدلاتها الطبيعية .

التوصيات

- 1- تقليل استخدام اواني ورقائق الالمنيوم في الطبخ اضافة الى تقليل استخدام مستحضرات التجميل التي تحتوي على الالمنيوم في تركيبها .
- 2- استخدام نبات الجنكة بيلوبا كمادة وقائية للتقليل من احتمالية الاصابة بمرض الزهايمر.
- 3- اجراء دراسة نسيجية ووظيفية على تأثير كلوريد الالمنيوم على الجلد والجهاز الهضمي في الحيوانات المختبرية .
- 4- اجراء دراسة نسيجية وكيمونسيجية لبيان تأثير كلوريد الالمنيوم على الجهاز الوعائي القلبي في الحيوانات المختبرية .
- 5- اجراء دراسة مناعية وجزيئية لبيان تاثير $AlCl_3$ في الحيوانات المختبرية .

الفصل السابع

المصادر

Reference

المصادر

Reference

- Abdel-Wahab, B. A., and Abd El-Aziz, S. M. (2012). Ginkgo biloba protects against intermittent hypoxia-induced memory deficits and hippocampal DNA damage in rats. *Phytomedicine*, 19(5), 444-450.
- Abdul-Rassoul, M.; E., A Hassan, N., and H Al-Mallah, K. (2009). Histophysiological study of aluminum chloride effect on male
- Abidin, M. Z., Rusli, R., and Halil, N.(2020) Conceptual Framework-Hazard Assessment of Nanomaterials Using Bayesian Network.
- Abramova, A.Y.; Canevari, L. and Duchena, M.R. (2004). Calcium signals induced by amyloid h peptide and their consequences in neurons and astrocytes in culture . *Biochimica et Biophysica Acta* , 1742 (1): 81–87
- Abu-Taweel, G. M., and Al-Mutary, M. G. (2021). Pomegranate juice moderates anxiety-and depression-like behaviors in AlCl₃-treated male mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 68, 126842
- Advenier, E.; Landry, C.;Colomb, V.; Cognon, C.; Pradeau, D.; Florent, M.; Goulet, O.; Ricour, C. and Corriol, O. (2003): Aluminum contamination of parenteral nutrition and aluminum loading in children on longterm parenteral nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 36:448-53 .
- Aggoun, M. A. E. H., Ramdane, M., and Boulahbel, S. (2020). Etude comparative de l'effet des faibles doses de chlorure de Nickel et chlorure d'aluminium sur quelques paramètres chez la lapine gestante.
- Ahlemeyer, B., & Krieglstein, J. (2003). Pharmacological studies supporting the therapeutic use of Ginkgo biloba extract for Alzheimer's disease. *Pharmacopsychiatry*, 36(S 1), 8-14.

- Ahlemeyer, B., Selke, D., Schaper, C., Klumpp, S., and Krieglstein, J. (2001). Ginkgolic acids induce neuronal death and activate protein phosphatase type-2C. *European journal of pharmacology*, 430(1), 1-7.
- Al Zubaidy, E. A., Mohammad, F. S., and Bassioni, G. (2011). Effect of pH, salinity and temperature on aluminum cookware leaching during food preparation. *Int. J. Electrochem. Sci*, 6(12), 6424-6441.
- Alasfar, R. H., and Isaifan, R. J. (2021). Aluminum environmental pollution: the silent killer. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(33), 44587-44597.
- Alfrey A. C., Hegg A. and Craswell P. (1980) Metabolism and toxicity of aluminum in renal failure. *Am. J. Clin. Nutr.* 33, 1509-1516.
- Aljarari, R. M., and Bawazir, A. E. (2019). Effect of Black Raisins (*Vitis vinifera*) on Aluminum Chloride Induced Alzheimer's Disease in Male Albino Rat. *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, 8(3).
- Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S., Richmond, W. F. P. C., and Fu, P. C. (1974). Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical chemistry*, 20(4), 470-475.
- Alleyne, T. ; Mohan, N. ; Joseph, J. and Adogwa, A. (2011). Unraveling the role of metal ions and low catalytic activity of cytochrome C oxidase in Alzheimer's disease . *J. Mol. Neurosci.* , 43(3): 284–289 .
- Al-Otaibi, S. S., Arafah, M. M., Sharma, B., Alhomida, A. S., and Siddiqi, N. J. (2018). Synergistic effect of Quercetin and α -Lipoic acid on aluminium chloride induced neurotoxicity in rats. *Journal of toxicology*, 2018.
- Alvarez, G.; Munoz-Montano, J. R. ; Satrustegui, J. ; Avila, J. ; Bogónez, E. and Díaz-Nido, J. (2002). Regulation of tau phosphorylation and protection against β -amyloid-induced neuro degeneration by lithium. Possible implications for Alzheimer's disease. *Bipolar. Disord.* ,4:153-65.

- AL-Zamely, H. A. (2011). Oxidant–antioxidant status and some biochemical parameters in pregnant and non pregnant Iraqi she camels. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 35(2), 46-51.
- Alzheimer, A. (1906). Uber einen eigenartigen schweren Er Krankungsprozeb der Hirnrinde. *Neurologisches Centralblatt*, 23, 1129-1136.
- Amer, A. A. (2019). Aluminum in Artisanal Dairy Products: Occurrence, Residues Level, Estimated Intake and Target Hazard Quotient. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 62(1), 55-60.
- Amri, H., Ogwuegbu, S. O., Boujrad, N., Drieu, K., and Papadopoulos, V. (1996). In vivo regulation of peripheral-type benzodiazepine receptor and glucocorticoid synthesis by Ginkgo biloba extract EGb 761 and isolated ginkgolides. *Endocrinology*, 137(12), 5707-5718.
- Artiola, J. F. (2019). Industrial waste and municipal solid waste treatment and disposal. In *Environmental and pollution science* (pp. 377-391). Academic Press.
- Arunima, C., Julia, J. J., and Prasobh, G. R. (2021). A REVIEW ON ROLE OF GINKGO BILOBA IN TREATING ALZHEIMER’S DISEASE.
- Arzt, E., Pereda, M. P., Castro, C. P., Pagotto, U., Renner, U., and Stalla, G. K. (1999). Pathophysiological role of the cytokine network in the anterior pituitary gland. *Frontiers in neuroendocrinology*, 20(1), 71-95.
- Assenmacher, I., Szafarczyk, A., Alonso, G., Ixart, G., and Barbanel, G. (1987). Physiology of neural pathways affecting CRH secretion. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 512(1), 149-161.
- Astre J, Millan A, García de la Asunción J, Plá R, Juan G, Pallardó, O'Connor E, Martin JA, Droy-Lefaix MT, Viña J (1998). A Ginkgo biloba extract (EGb 761) prevents mitochondrial aging by protecting against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 24: 298-304

- Bako, I.G., Mabrouk, M.A., Maje, I.M., Buraimoh, A.A. and Abubakar, M.S., 2010. Hypotensive effect of aqueous seed extract of *Hibiscus sabdariffa* linn (Malvaceae) on normotensive cat. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2(1), :5-8.
- Barbagallo, M.; Marotta, F. and Dominguez, L. J.(2015). Oxidative Stress in Patients with Alzheimer's Disease: Effect of Extracts of Fermented Papaya Powder . *Mediators Inflamm.* , 624(80) :1-7 .
- Barham, K. j. ; Masters, C. L. and Bush, A. L. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat-Rev. Drug. Discov.* , 3:205-214.
- Bartke A. (2019). Growth Hormone and Aging: Updated Review. *World J Mens Health* , 37(1): 19-30.
- Bastianetto S, Quirion R (2002). Natural extracts as possible protective agents of brain aging. *Neurobiol Aging*, 23: 891-897
- Bazira, P. J. (2021). An overview of the nervous system. *Surgery (Oxford)*, 39(8), 451-462.
- Bello, I., and Salerno, M. (2015). Evidence against a role of P-glycoprotein in the clearance of the Alzheimer's disease A β 1–42 peptides. *Cell Stress and Chaperones*, 20(3), 421-430.
- Belloy, M. E., Napolioni, V., Greicius, M. D. (2019). A quarter century of APOE and alzheimer's disease: progress to date and the path forward. *Neuron*. 5, 820–838
- Belwal, T., Giri, L., Bahukhandi, A., Tariq, M., Kewlani, P., Bhatt, I. D., and Rawal, R. S. (2019). Ginkgo biloba. In *Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements* (pp. 241-250). Academic Press.
- Bergeron, R.J. ;Wiegand, J. ; Weimar, W. R. ; McManis, J. S.; Smith, R. E. and Abboud, K. A. (2003). Iron chelation promoted by desazades ferrithiocin analog. *Chirality* , 15 : 593-599.

- Berihu, B. A., Afwerk, M., Debeb, Y. G., and Gebreslassie, A. (2015). Review on histological and functional effect of aluminium chloride on cerebral cortex of the brain. *Int J Pharma Sci Res*, 6, 1105-16.
- Berthon, G. (2002): Aluminium speciation in relation to aluminium bioavailability, metabolism and toxicity. *Coord Chem Rev* 228:319-41.
- Bican, O., Minagar, A., and Pruitt, A. A. (2013). The spinal cord: a review of functional neuroanatomy. *Neurologic clinics*, 31(1), 1-18.
- Birchall ,D.; Bellia, J. and Roberts, N. (1996): Increased silicon levels in dialysis patients due to high silicon content in the drinking water, in adequate water treatment procedures, and concentrate contamination: a multicenter study, *Nephrol Dial Transplant* 11:1188-9.
- Bodalski, T., and Karłowicz-Bodalska, K. (2006). Ginkgo Biloba L. – Chemistry and Activity [Ginkgo Biloba L. – Miłorząd Dwuklapowy (Chemizm I Działanie Biologiczne)]. *Post. Fitoter.* 4, 195–205.
- Bondy SC. The neurotoxicity of environmental aluminium is still an issue. *Neurotoxicology* 2010;31(5):575-81
- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (2014, March 3). adrenocorticotrophic hormone. *Encyclopedia Britannica*.
- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (2021, August 5). Cushing syndrome. *Encyclopedia Britannica*.
- Burstein, M. S. H. R., Scholnick, H. R., and Morfin, R. (1970). Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Journal of lipid research*, 11(6), 583-595.
- Calkins, M. J.; Manczak, M.; Mao, P. ; Shirendeb, U. and Reddy, P.H. (2011) . Impaired mitochondrial biogenesis , defective axonal transport of mitochondria , abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer’s disease. *Hum . Mol . Genet. ,* 20: 4515–4529.

- Cárdenas-Aguayo ; Silva-Lucero ; Cortes-Ortiz ; Jiménez-Ramos ; Gómez-Virgilio ; Ramíwa-Rodríguez; Vera-Arroyo ; Fiorentino-Pérez ; García ; Luna-Muñoz and Meraz-Ríos (2014) . Physiological role of Amyloid Beta in Neural Cells: The Cellular Trophic Activity . *J. Neurochem.* , 1: 1-25.
- Carlo, M.D. (2012) . Simple model systems: a challenge for Alzheimer's disease. *Immun. Ageing* , 9 (3):1-8 .
- Cash, D.M.; Liang, Y.; Ryan, N.S.; Kinnunen, K. M.; Yeatman, T.; Malone, I.B.; Benzinger, T. L.; Jack, C.R. ; Thompson, P.M.; Ghetti, B.F.; Saykin, A. J.; Masters, C.L. ; Ringman, J.M. ; Salloway, S.P.; Schofield, P.R. ; Sperling, R.A. ; Cairns, N.J. ; Marcus, D.S. ; Xiong, C. ; Bateman, R.J. ; Morris, J.C. ; Rossor, M.N. ; Ourselin, S. and Fox, N.C. (2013). The pattern of atrophy in familial alzheimer disease: volumetric MRI results from the DIAN study. *Neurology* , 81: 1425–1433.
- Castaneda, T. R., Tong, J., Datta, R., Culler, M., & Tschöp, M. H. (2010). Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. *Frontiers in neuroendocrinology*, 31(1), 44-60.
- Ceccato, F., Scaroni, C., and Boscaro, M. (2018). The Adrenal Glands 15. *Principles of Endocrinology and Hormone Action*, 387.
- Chacko, A., and Ittiyavirah, S. P. (2019). Neuroprotective effect of against aluminium-induced *Gracilaria corticata* neurotoxicity in the hippocampus and cerebral cortex of rat brain: Biochemical and histological approach. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(3), 604-613.
- Chandrasekaran K, Mehrabian Z, Spinnewyn B, Drieu K, Fiskum G (2001) Neuroprotective effects of bilobalide, a component of the Ginkgo biloba extract (EGb 761), in gerbil global brain ischemia. *Brain Res* 922:282–292
- Changeux , J.P.(2010). Allosteric receptors: from electric organ to cognition. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* , 50:1–38
- Charm, J. Y., and Chang, M. N. (1997). Medicinal uses of Ginkgo biloba. *Today's Therapeutic Trends*, 15-256.

- Chen JH, Yang CH, Wang YS, et al. (2013) Acrylamide-induced mitochondria collapse and apoptosis in human astrocytoma cells. *Food Chem Toxicol* 51:446–452
- Chen, H., Ren, H., Liu, J., Tian, Y., and Lu, S. (2022). Soil acidification induced decline disease of *Myrica rubra*: aluminum toxicity and bacterial community response analyses. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-14.
- Cheung, H. M., and Yew, D. T. W. (2020). Neuroprotective mechanisms of *Ginkgo biloba* against oxidative stress. In *Oxidative Stress and Dietary Antioxidants in Neurological Diseases* (pp. 271-290). Academic Press.
- Christensen, J. F., and Gomila, A. (2018). *The Arts and the Brain: Psychology and Physiology Beyond Pleasure*. Academic Press.
- Circu ML and Aw TY.(2008) Glutathione and apoptosis. *Free Radic Res* ; 42: 689-706.
- Cirrito, J.R.; Deane, Rl.; Fagan, A.M.; Spinner, M. L.; Parsadanian, M. ; Finn, M.B. ; Jiang, H. ; Prior, J.L. ; Sagare, A. ; Bales, K. R.; Paul, S. M.; Zlokovic, B. V.; Piwnica-Worms, D. and Holtzman, D. M (2005). P-glycoprotein deficiency at the blood-brain barrier increases amyloid-beta deposition in an Alzheimer disease mouse model. *J. Clin. Invest.* , 115:3285-3290.
- Clark, C. M. and Trojanowski, J. Q. (2000) . *Neurodegeneration dementia*. The McGraw-Hill Company . USA :117-123.
- 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
- Collins, J. F. (Ed.). (2016). *Molecular, genetic, and nutritional aspects of major and trace minerals*. Academic Press.
- Crisponi G, Fanni D, Gerosa C, Nemolato S, Nurchi VM, Crespo-Alonso M, Lachowicz JI, Faa G (2013) The meaning of Aluminium exposure on human health and Aluminium-related diseases. *Biomol Concepts* 4(1):77–87

- Darreh-Shori, T. ; Meurling, L. ; Pettersson, T.; Hugosson, K.; Hellström-Lindahl, E. ; Andreasen, N. ; Minthon, L. ; and Nordberg, A. (2006). Changes in the activity and protein levels of CSF acetylcholinesterases in relation to cognitive function of patients with mild Alzheimer's disease following chronic donepezil treatment. *J. Neural. Transm.* ,113: 1791–1801.
- Das, R., Lami, M. S., Chakraborty, A. J., Mitra, S., Tallei, T. E., Idroes, R., ... and Emran, T. B. (2022). *Ginkgo biloba: A Treasure of Functional Phytochemicals with Multimedicinal Applications. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022.
- DeFeudis FV (2002) Bilobalide and neuroprotection. *Pharmacol Res* 46:565–568
- DeFeudis, F. V., and Drieu, K. (2000). Ginkgo biloba extract (EGb 761) and CNS functions basic studies and clinical applications. *Current drug targets*, 1(1), 25-58.
- Dekanski, D., Janićijević-Hudomal, S., Tadić, V., Marković, G., Arsić, I., and Mitrović, D. M. (2009). Phytochemical analysis and gastroprotective activity of an olive leaf extract. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74(4), 367-377.
- Deng, Y. (2020). *Effects of Heme Propionates on Structural and Redox Properties of C-type Cytochromes* (Doctoral dissertation, Dartmouth College).
- Dey, M., and Singh, R. K. (2022). Neurotoxic effects of aluminium exposure as a potential risk factor for Alzheimer's disease. *Pharmacological Reports*, 1-12.
- Dobrzański, L. A. (Ed.). (2021). *Advanced Aluminium Composites and Alloys*. BoD—Books on Demand.
- Droy-Lefaix, M. T. (1997). Effect of the antioxidant action of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on aging and oxidative stress. *Age*, 20(3), 141-149.
- Dziwenka, M., and Coppock, R. W. (2021). Ginkgo biloba. In *Nutraceuticals* . Academic Press (pp. 835-852).\
- Eisvand, F., Razavi, B. M., and Hosseinzadeh, H. (2020). The effects of Ginkgo biloba on metabolic syndrome: A review. *Phytotherapy Research*, 34(8), 1798-1811

- Elhadidy, M. E., Sawie, H. G., Meguid, N. A., and Khadrawy, Y. A. (2018). Protective effect of ashwagandha (*Withania somnifera*) against neurotoxicity induced by aluminum chloride in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8(1), 59.
- Epstein, S. G.(2006) Humen exposure to aluminum 19th Aluminum Association NW,Washington 65-70
- Exley, C.; Burgess, E.; Day, J.P.; Jeffery ,E.H.; Melethil, S. and Yokel, R.A. (1996). Aluminium toxicokinetics. *J. Toxicol. Environ. Health* 48,569-584.
- Fabian, H. ; Szendrei, G. I. ; Mantsch, H. H. and Otvos, L. (1993). Comparative analysis of human and Dutch –type Alzheimer b-amyloid peptides by infrared spectroscopy and circular dichroism . *Bil. Chem. Biophys. Res. Commun.* , 191(2) :232-239.
- Feinroth, M.;Feinroth,M.V. and Berlyne,G.M.(1982) Aluminum absorption in the rat everted gut sac.*Miner.Electrolyte Metab.*8:29-35..
- Ferri , C. P.; Prince, M.; Brayne, C.; Brodaty, H.; Fratiglioni, L.; Ganguli, M.; Hall, K.; Hasegawa, K.; Hendrie, H.; Huang, Y.; Jorm, A. ; Mathers, C.; Menezes, P.R.; Rimmer, E. and Scazufca, M . (2005). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* , 366(9503):2112-2117.
- Fishman, E.B. ; Siek, G. C. ; Mac Callum, R. D. ; Bird ,E.D. ; Volicer,L. and Marquis, J.K.(1986).Distribution of the molecular forms of acetyl- cholinesterase in human brain ,alterations in dementia of the Alzheimer type. *Ann. Neurol.* , 19, 246–252.
- Fox , P. J. ; Kelly, S.E. and Tobin, S.L. (1999). Defining dementia : social and historical background of AD. *Genet . Test.* , 3: 13-19.
- Fukuzumi S., Ohtsu H., Ohkubo K., Itoh S.and H. (2002) . Formation of superoxide-metal ion complexes and the electron transfer catalysis Imahori, *Coord. Chem. Rev.*, 226, 71–80.

- Galatsis P. Handbook of reagents for organic synthesis : Acidic and basic Reagents. Reich, H.J.; Rigby, J.H, Wiley New York. 1999: 12-15.
- García-Ayllón, M. S. ; Riba-Llena, I.; Serra-Basante, C.; Alom, J. ; Boopathy, R. and Sáez-Valero, J. (2010) . Altered levels of acetyl-cholinesterase in Alzheimer plasma. PLoS ONE, 5: 8701.
- García-Ayllón, M. S.; Small, D. H.; Avila, J. and Sáez-Valero, J. (2011) . Revisiting the role of acetylcholinesterase in Alzheimer's disease: cross-talk with P-tau and β -amyloid. J. Mol. Neurosci. , 4(22):1-9.
- Ghorbel, I., Amara, I. B., Ktari, N., Elwej, A., Boudawara, O., Boudawara, T., and Zeghal, N. (2016). Aluminium and acrylamide disrupt cerebellum redox states, cholinergic function and membrane-bound ATPase in adult rats and their offspring. Biological trace element research, 174(2), 335-346.
- Goullé, J. P., and Grangeot-Keros, L. (2020). Aluminum and vaccines: current state of knowledge. Medecine et maladies infectieuses, 50(1), 16-21.
- Graham, D. I. and Lantos, P.L. (2002). Greenfield's Neuropathology . 7th.(ed.) Vol.2. Oxford University Press. London:203-226.
- Grienberger, C.; Rochefort, N. L.; Adelsberger, H.; Henning, H. A.; Hill D.N. ; Reichwald, J. ; Staufenbiel, M. and Konnerth A. (2012) . Staged decline of neuronal function in vivo in an animal model of Alzheimer's disease. Nat. Commun . , 774:1-10.
- Gulfo, J., Castel, R., Ledda, A., Romero, M. D. M., Esteve, M., and Grasa, M. (2019). Corticosteroid-Binding Globulin is expressed in the adrenal gland and its absence impairs corticosterone synthesis and secretion in a sex-dependent manner. Scientific reports, 9(1), 1-10.
- Harris, W.R; Berthon, G.; Day, J.P.; Exley, C.; Flaten ,T.P.; Forbes ,W.F.; Kiss, T.; Orvig, C. and Zatta, P.F. (1996): Speciation of aluminum in biological systems. J Toxicol Environ Health 48:543-68.

- Hartman, T.; Kuchenbecker, J. and Grimm, M. O. (2007). Alzheimer's disease: the lipid connection. *J. Neurochem.* ,103:159-170.
- He, W., and Wu, G. (2020). Metabolism of amino acids in the brain and their roles in regulating food intake. *Amino Acids in Nutrition and Health*, 167-185.
- Heckers, S.; Geula, C. and Mesulam, M. M. (1992). Acetylcholinesterase -rich pyramidal neurons in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* ; 13:455–460.
- Heir, R., and Stellwagen, D. (2020). TNF-mediated homeostatic synaptic plasticity: from in vitro to in vivo models. *Frontiers in cellular neuroscience*, 297.
- Helisalmi, S . (1998). Molecular Genetics of Al-Zheimer Disease with Special Emphasis on Presenilin , Amyloid Beta Precursor Protein and Apolipoprotein E Gene .Ph.D. Thesis/Department of Neurology/ university of Kuopio.
- Helmi, H., Fakhrudin, N., Nurrochmad, A., and Ikawati, Z. (2021). *Caesalpinia sappan* L. Ameliorates Scopolamine-Induced Memory Deficits in Mice via the cAMP/PKA/CREB/BDNF Pathway. *Scientia Pharmaceutica*, 89(2), 29.
- Hijmans, S. N. (2022). Analogy and Composition in Early Nineteenth-Century Chemistry The Case of Aluminium. *European Journal for Philosophy of Science*, 12(1), 1-17.
- Hill, A. (2018), "12 Benefits of Ginkgo Biloba (Plus Side Effects and Dosage)" , www.healthline.com, Retrieved 14-11-2019.
- Holst, J. P., Soldin, O. P., Guo, T., and Soldin, S. J. (2004). Steroid hormones: relevance and measurement in the clinical laboratory. *Clinics in laboratory medicine*, 24(1), 105-118.
- Hrvat, N. M., Kalisiak, J., Šinko, G., Radić, Z., Sharpless, K. B., Taylor, P., and Kovarik, Z. (2020). Evaluation of high-affinity phenyltetrahydroisoquinoline aldoximes, linked through anti-triazoles, as reactivators of phosphorylated cholinesterases. *Toxicology letters*, 321, 83-89.

- Huang, Z., Yan, Q., Wang, Y., Zou, Q., Li, J., Liu, Z., and Cai, Z. (2020). Role of mitochondrial dysfunction in the pathology of amyloid- β . *Journal of Alzheimer's Disease*, 78(2), 505-514.
- Humason, G. L. 1962. *Animal Tissue Techniques*. Freeman, San Francisco and London
- Hüttemann, M., Helling, S., Sanderson, T. H., Sinkler, C., Samavati, L., Mahapatra, G., ... and Lee, I. (2012). Regulation of mitochondrial respiration and apoptosis through cell signaling: cytochrome c oxidase and cytochrome c in ischemia/reperfusion injury and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1817(4), 598-609.
- Iglesias-González, J., Sánchez-Iglesias, S., Beiras-Iglesias, A., Méndez-Álvarez, E., and Soto-Otero, R. (2017). Effects of aluminium on rat brain mitochondria bioenergetics: an in vitro and in vivo study. *Molecular neurobiology*, 54(1), 563-570.
- Inan-Eroglu, E., and Ayaz, A. (2018). Is aluminum exposure a risk factor for neurological disorders?. *Journal of research in medical sciences: The official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 23.
- ISO (1996) *Water quality-Determination of 33 elements by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy*. Geneva, International Organization for Standardization 11885.
- Itkin, A. ; Dupres, V. ; Dufrene, Y. F. ; Bechinger, B. ; Ruyschaert, J. and Raussens, V. (2011). Calcium Ions Promote Formation of Amyloid b-Peptide (1–40) Oligomers Causally Implicated in Neuronal Toxicity of Alzheimer's Disease . *PLoS ONE* , 6(3):1-10
- Jesulola, E.; Micalos, P.; Baguley, I. (2017) Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model—Are we there yet? *Behav. Brain Res.*, 341, 25
- John, J., Nampoothiri, M., Kumar, N., Mudgal, J., Nampurath, G. K., and Chamallamudi, M. R. (2015). Sesamol, a lipid lowering agent, ameliorates

- aluminium chloride induced behavioral and biochemical alterations in rats. Pharmacognosy magazine, 11(42), 327.
- Justice, N.J. (2018)The Relationship between Stress and Alzheimer’s Disease. Neurobiol. Stress, 8, 127–133
- Kandel,E.R.;Schwartz,J.H.;Jessel,T.M.(2000)Principles of neurol science.Fourth edition ,united state of America. p 324
- Kanekiyo, T. ; Cirrito, J. R.; Liu, C. C. ; Shinohara, M. ; Li, J. ; Schuler, D.R. ; Shinohara, M. ; Holtzman, D. M. and Bu, G. (2013) . Neuronal clearance of amyloid-beta by endocytic receptor LRP1. J. Neurosci. , 33 : 19276-19283.
- Kawahara M, Kato-Negishi M. (2011)Link between aluminum and the pathogenesis of Alzheimer's disease: the integration of the aluminum and Amyloid cascade hypothesis. Int J Alzheimer's Dis. 2011; 276393.
- Kawahara, M. (2005). Effects of aluminum on the nervous system and its possible link with neurodegenerative diseases. Journal of Alzheimer's Disease, 8(2), 171-182.
- Kay, S. M. (2018) Pediatric Adrenal Gland Disorders,
- Khan, K. A., Kumar, N., Nayak, P. G., Nampoothiri, M., Shenoy, R. R., Krishnadas, N., ... and Mudgal, J. (2013). Impact of caffeic acid on aluminium chloride-induced dementia in rats. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 65(12), 1745-1752
- Khorrami, A. ; Ghanbarzadeh, S. ; Mahmoudi, J. ; Nayebi, A. M. ; Maleki-Dizaji, N. and Garjani, A. (2014) . Investigation of the memory impairment in rats fed with oxidized-cholesterol-rich diet employing passive avoidance test. Drug Res. , 64:1-7.
- Kierszenbaum , A. L. (2016). Histology and cell biology An introduction to pathology . fourth Edition.
- Kinawy, A. A., and Al-Eidan, A. A. (2018). Impact of prenatal and postnatal treatment of sodium fluoride and aluminum chloride on some hormonal and

- sensorimotor aspects in rats. *Biological trace element research*, 186(2), 441-448.
- Klatt ,P. and Lamas,S.(2000).Regulation of protein function by S- glutathiolation in response to oxidative and nitrostative stress ;*Eur.J.Biochem.*;267:4928-4944
- Ko, H. Y. (2022). *Functional Neuroanatomy of the Spinal Cord. In Management and Rehabilitation of Spinal Cord Injuries* (pp. 41-68). Springer, Singapore.
- Kocabaş, A., and Peksel, A. (2021). In vitro Investigation of Deoxyribonucleic Acid Interaction and Anti-Acetylcholinesterase Activity of Turnip (*Brassica Rapa* Subsp. *Rapa*). *Eurasian Journal of Food Science and Technology*, 5(1), 50-58.
- Kristin, L. ; Bigos ; Ahmad, R.; Hariri ; Daniel, R. and Weinberger (2015). *Neuroimaging Genetics: Principles and Practices*. Oxford University Press. p. 157 .
- Kumar V, Bal A and Gill KD (2009) Aluminum induced-oxidative DNA damage recognition and cell cycle disruption in different regions of rat brain. *Toxicology* 264: 137-144.
- Kumar, A. and Singh, A . (2015) . A review on mitochondrial restorative mechanism of antioxidants in Alzheimer’s disease and other neurological conditions . *Front. Pharmacol. , 6(206):1-13*.
- Kwon YS, Ann HS, Nabeshima T, Shin EJ, Kim WK, Jhoo JH, et al. (2004). Selegiline potentiates the effects of EGb 761 in response to ischemic brain injury. *Neurochem Int*, 45: 157-170
- Kwon, Y. S., Ann, H. S., Nabeshima, T., Shin, E. J., Kim, W. K., Jhoo, J., ... and Kim, H. C. (2004). Selegiline potentiates the effects of EGb 761 in response to ischemic brain injury. *Neurochemistry international*, 45(1), 157-170.
- Lakshmi, B. V. S., Sudhakar, M., and Anisha, M. (2014). Neuroprotective role of hydroalcoholic extract of *Vitis vinifera* against aluminium-induced oxidative stress in rat brain. *Neurotoxicology*, 41, 73-79.

- Lam, T. I. ; Brennan-Minnella, A. M. ; Won, S. J. ; Shen, Y. ; Hefner, C. ; Shi, Y. ; Sun, D. and Swanson, R. A (2013) .Intracellular pH reduction prevents excitotoxic and ischemic neuronal death by inhibiting NADPH oxidase . Proc. Natl. Acad. Sci. USA. , 110(46) : 4362– 4368 .
- Lam,Y.W.;Sherman,S.M.(2010)Functional organization of the somatosensory cortical layer 6 feedback to the thalamus.Cereb.cortex 20(1):13-24.
- Lambracht-Washington, D., and Rosenberg, R. N. (2013). Anti-amyloid-beta to tau-based immunization: developments in immunotherapy for Alzheimer’s disease. *ImmunoTargets and therapy*, 2, 105.
- Le Roith, D., Bondy, C., Yakar, S., Liu, J. L., and Butler, A. (2001). The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocrine reviews*, 22(1), 53-74.
- Liaquat, L., Sadir, S., Batool, Z., Tabassum, S., Shahzad, S., Afzal, A., and Haider, S. (2019). Acute aluminum chloride toxicity revisited: Study on DNA damage and histopathological, biochemical and neurochemical alterations in rat brain. *Life sciences*, 217, 202-211.
- Lieu, P. T.; Heiskala, M.; Peterson, P. A. & Yang, Y. (2001).The roles of iron in Health and disease. *Mol. Aspect Med .* , 22(1) : 1-87.
- Llinás, R. R. (2014). The olivo-cerebellar system: a key to understanding the functional significance of intrinsic oscillatory brain properties. *Frontiers in neural circuits*, 7, 96.
- Lopes, H. F., and Egan, B. M. (2021). Visceral adiposity syndrome and cardiometabolism. *Scripta Medica*, 52(2), 144-150.
- Maghfirah I., Adi Soelistijo S., Novida H. and Ardiany D. (2017). Effect of Growth Hormone Deficiency on the Cardiovascular System. *Surabaya International Physiology* , 1: 342-348.
- Maksoud, H. A. A., Said, A. M., Abdeldaiem, M. A., and Hassan, M. A. (2020). Aluminum Chloride Induced Inflammatory process in Rat’s Brain.
- Malluche, H.H. (2002): Aluminium and bone disease in chronic renal

- Mancini A, Bruno C., Vergani E., Guidi F., Angelini F., Meucci E. and Silvestrini A. (2020). Evaluation of oxidative stress effects on different macromolecules in adult growth hormone deficiency . Plos One, 1 :1-13.
- Manczak, M. ; Mao, P. ; Calkins, M. J. ; Cornea, A.; Reddy, A.P. ; Murphy, M.P. ; Szeto, H. H. ; Park, B. and Reddy, P. H. (2010). Mitochondria targeted antioxidants protect against amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease neurons. J. Alzheimers Dis. , 20(2): 609–631.
- Marcilhac, A., Dakine, N., Bourhim, N., Guillaume, V., Grino, M., Drieu, K., and Oliver, C. (1998). Effect of chronic administration of Ginkgo biloba extract or Ginkgolide on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. Life Sciences, 62(25), 2329-2340.
- Marr D. A theory of the cerebellar cortex. J Physiol. 1969;202:437–470.
- Martin, R.B. (1986): The chemistry of aluminum as related to biology and medicine. Clin Chem 32:1797-806.
- Marucci, G., Buccioni, M., Dal Ben, D., Lambertucci, C., Volpini, R., and Amenta, F. (2021). Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. Neuropharmacology, 190, 108352.
- Massoulie, J. ; Pezzementi, L. ; Bon, S. ; Krejci, E. and Vallette, F. M. (1993) . Molecular and cellular biology of cholinesterases. Prog. Neurobiol. , 41:31–91.
- Masuoka, N., Lei, C., Li, H., and Hisatsune, T. (2021). Influence of imidazole-dipeptides on cognitive status and preservation in elders: A narrative review. Nutrients, 13(2), 397.
- Mattson, M. P., and Meffert, M. K. (2006). Roles for NF-κB in nerve cell survival, plasticity, and disease. Cell Death and Differentiation, 13(5), 852-860.
- McFarland, G., La Joie, E., Thomas, P., and Lyons-Weiler, J. (2020). Acute exposure and chronic retention of aluminum in three vaccine schedules and effects of

- genetic and environmental variation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 58, 126444.
- Mdzinarishvili, A., Sambria, R. K., Lang, D., and Klein, J. (2012). Ginkgo extract EGb761 confers neuroprotection by reduction of glutamate release in ischemic brain. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 94-102.
- Mehan, S. ; Arora, R. ; Sehgal, V. ; Sharma, D. and Sharma, G. (2012) . Inflammatory diseases - immunopathology, clinical and pharmacological bases; in Khatami M (ed): *Dementia: A Complete Literature Review on Various Mechanisms Involved in Pathogenesis and an Intracerebroventricular Streptozotocin - Induced Alzheimer's Disease*. Rijeka, In Tech, 3(19):1-25.
- Meng, P., Ren, J., Jiang, M., and Fu, C. (2022). Al-Air Batteries. *Battery Technologies: Materials and Components*, 299-316.
- Mescher , A. L. (2016). *Junqueira,s Basic Histology Text and Atlas . India . Fourteenth Edition .*
- Michael, G. J., Averill, S., Nitkunan, A., Rattray, M., Bennett, D. L. H., Yan, Q., and Priestley, J. V. (1997). Nerve growth factor treatment increases brain-derived neurotrophic factor selectively in TrkA-expressing dorsal root ganglion cells and in their central terminations within the spinal cord. *Journal of Neuroscience*, 17(21), 8476-8490.
- Mirra, S. S. ; Hart, M. N. and Terry, R. D. (1993). Making the Diagnosis of Alzheimer's Disease . *Arch. Pathol. Lab. Med. ,117:132-144.*
- Missel, J. R., Schetinger, M. R., Gioda, C. R., Bohrer, D. N., Pacholski, I. L., Zanatta, N., ... and Morsch, V. M. (2005). Chelating effect of novel pyrimidines in a model of aluminum intoxication. *Journal of inorganic biochemistry*, 99(9), 1853-1857.
- Mohamed, N. E. S., and Abd El-Moneim, A. E. (2017). Ginkgo biloba extract alleviates oxidative stress and some neurotransmitters changes induced by aluminum chloride in rats. *Nutrition*, 35, 93-99.

- Mold M, Cottle J, King A, Exley C (2019) Intracellular Aluminium in inflammatory and glial cells in cerebral amyloid Angiopathy: a case report. *Int J Environ Res Public Health* 16(8):1–10
- Moshtaghie, A.A.;Rahimi, S.;Messripour,M.(1999)Aluminum Administration on Acetylcholinestrace Activity of different regions of rat brain *Medical Journal of Islamic Academy of sciences* 12(4):105- 108.
- Mujika J. I., Torre G. D. and Lopez X. (2018). Aluminum and Fenton reaction: how can the reaction be modulated by speciation? A computational study using citrate as a test case . *Physical Chemistry Chemical Physics* . 20(1):2-11.
- Murugaiyan, S. M., and Bhargavan, R. (2021). Bacopa monnieri alleviates aluminium chloride-induced anxiety by regulating plasma corticosterone level in Wistar rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 32(1).
- Muslih, B. ; Mizil, Y. O. and Al-Nimer, M. S. (2001). Detection The level of peroxy nitrite, and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction. *Nat. J. Chem.* , (4):625-637.
- Nedelec, T., Couvy-Duchesne, B., Monnet, F., Daly, T., Ansart, M., Gantzer, L., ... and Durrleman, S. (2022). Identifying health conditions associated with Alzheimer's disease up to 15 years before diagnosis: an agnostic study of French and British health records. *The Lancet Digital Health*, 4(3), e169-e178.
- Niizuma, K. ; Yoshioka, H. ; Chen, H. ; Kim, G. S. ; Jung, J. E. ; Katsu, M. ; Okami, N. and Chan, P.H. (2010). Mitochondrial and apoptotic neuronal death signaling pathways in cerebral ischemia. *Biochim. Biophys. Acta.* , 1802: 92-99.
- Noemie, T. A. V., Ifo, G. M., Mafouba, J. C. B., Samba, V. I. B., Diamouangana, M. Z. F., Mboho, N. R. O., ... and Moutou, J. M. (2022). Effect of Cooking Condiments on the Mass Loss of Artisanal Aluminum Cooking Utensils: The Case of Congo—Brazzaville. *Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering*, 10(2), 139-152.

- Nowak, A., Kojder, K., Zielonka-Brzezicka, J., Wróbel, J., Bosiacki, M., Fabiańska, M., ... and Klimowicz, A. (2021). The use of Ginkgo biloba L. as a neuroprotective agent in the Alzheimer's disease. *Frontiers in Pharmacology*, 3136.
- Nuhair, R. (2015). Effects of Aluminum chloride on some hormones levele and reproductive organs of male rats (*Rattus norvegicus*). *University of Thi-Qar Journal of Science*, 5(2), 3-9.
- Ogata, H., Takeshima, A., and Ito, H. (2022). An update on phosphate binders for the treatment of hyperphosphatemia in chronic kidney disease patients on dialysis: a review of safety profiles. *Expert Opinion on Drug Safety*, (just-accepted).
- Oken, B. S. (2022). Dementia treatment: vitamin E and ginkgo biloba. Does the evidence favor one over the other?.
- Olanrewaju, J. A., Akinola, O. B., Olatunji, S. Y., Owolabi, J. O., Fabiyi, O. S., Ukonne, U. E., and Desalu, A. B. O. (2018). Effects of virgin coconut oil on aluminium chloride-induced alzheimer-like dementia in the prefrontal cortex. *J. Adv. Med. Pharmaceutic. Sci.*, 18, 1-12.
- Olawuyi, T. S., Akinola, K. B., Adelakun, S. A., Ogunlade, B. S., and Akingbade, G. T. (2019). Effects of Aqueous Leaf Extract of *Lawsonia inermis* on Aluminum-induced Oxidative Stress and Adult Wistar Rat Pituitary Gland Histology. *JBRA Assisted Reproduction*, 23(2), 117.
- Oltmanns, T. F. and Emery, R. E. (2004) . *Abnormal psychology*. 4th.(ed). Printice – Hall. Nwe Jersey. 494_497
- Pakaski, M. and Kalman, J. (2008) . Interactions between the amyloid and cholinergic mechanisms in Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.* , 53:103-111.
- Parry, R.; Plowman, D.; Delves ,H.T.; Roberts, N.B.; Birchall, J.D.; Bellia J.P.; Davenport, A.; Ahmad ,R.; Fahal, I. and Altmann, P. (1998): Silicon and aluminium interactions in haemodialysis patients. *Nephrol DialTransplant* 13:1759-62.

- Perry, G., Cash, A. D., and Smith, M. A. (2002). Alzheimer disease and oxidative stress. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2(3), 120-123.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30(1), 11-26.
- Picciotto, M. R., Higley, M. J., and Mineur, Y. S. (2012). Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron*, 76(1), 116-129
- Platt B, Fiddler G, Riedel G, Henderson Z. Aluminium toxicity in the rat brain: Histochemical and immunocytochemical evidence. *Brain Res Bull* 2001;55:257-67.
- Poderoso JJ. The formation of peroxynitrite in the applied physiology of mitochondrial nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 2009; 484: 214-220.
- Pohanka, M. (2011) . Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomed. Pap. Olomouc* , 155 (3): 219–229.
- Pohanka, M. (2012). Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptor Is a Target in Pharmacology and Toxicology . *Int. J. Mol. Sci.* , 13 (12): 2219–2238.
- Poudel, S. B., Dixit, M., Neginskaya, M., Nagaraj, K., Pavlov, E., Werner, H., and Yakar, S. (2020). Effects of GH/IGF on the Aging Mitochondria. *Cells*, 9(6), 1384.
- Presnell, J.K. and Schreibman, M.P. (1997). *Humason's animal tissue techniques*, 5th edn., John Hopkins Univ. Press, Baltimore, 546.
- Punzalan, B., Flanagan, V., and Huenger, A. (2019) The Effect of Ginkgo Biloba Extract on Beta-Amyloid Aggregation in *C. elegans*.
- Purves, D. ; Augustine, G. J. ; Fitzpatrick, D. ; Hall, W. C. ; LaMantia, A. S. ; McNamara, J. O. and White, L. E. (2008) . *Neuroscience* (4th ed.). Sinauer Associates. pp. 121–2 .

- Qianqian Y. , Kexin Z. ,Yixin D. ,Ran H. and Dai C. (2022). Comparative study of aluminum (Al) speciation on apoptosis-promoting process in PC12 cells: Correlations between morphological characteristics and mitochondrial kinetic disorder . Comparative study of aluminum (Al) speciation on apoptosis-promoting process in PC12 cells: Correlations between morphological characteristics and mitochondrial kinetic disorder . Journal of Inorganic Biochemistry. 323(1):1-12 .
- Qi-Hai, G., Qin, W., Xie-Nan, H., An-Sheng, S., Jing, N., and Jing-Shan, S. (2006). Protective effect of Ginkgo biloba leaf extract on learning and memory deficit induced by aluminum in model rats. Chinese journal of integrative medicine, 12(1), 37-41.
- Qusti, S. Y., Balgoon, M., Alzahrani, E. S., Elsawi, N., and Alotaibi, N. A. (2018). Role of combined administration of copper-nicotinic acid complex and coenzyme Q10 against aluminium chloride-induced oxidative stress in rat brain. Pharmacophore, 9(1), 19-29.
- Rahimi, L., Rajpal, A., and Ismail-Beigi, F. (2020). Glucocorticoid-induced fatty liver disease. Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy, 13, 1133.
- Rahimzadeh, M. R. ; Kazemi, S., Amiri, R. J., Pirzadeh, M., and Moghadamnia, A. A. (2022). Aluminum Poisoning with Emphasis on Its Mechanism and Treatment of Intoxication. Emergency medicine international, 2022.
- Rakonczay, Z.(2003). potencies and selectivities of inhibitors of acetylcholinesterase and its molecular forms in normal and alzheimer's disease brain. Acta. Biologica. Hungarica. ,54 (2) 183–189.
- Reddy, B. M., Dhanapal, C. K., and Lakshmi, B. V. S. (2019). Anti-Alzheimer's Activity of aqueous extract of leaves of Murraya koenigii in Aluminium chloride Induced Neurotoxicity in rats. Research Journal of Pharmacy and Technology, 12(4), 1927-1934.

- Redgrove J, Rodriguez I, Mahadevan-bava S, Exley C (2019) Prescription infant formulas are contaminated with Aluminium. *Int J Environ Res Public Health* 16:1–7.
- Revett, T.J. ; Baker, G. B. ; Jhamandas, J. ; and Kar, S. (2013). Glutamate system, amyloid β peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology . *Psychiatry Neurosci.* ,38(1):6-23 .
- Rodríguez, J., and Mandalunis, P. M. (2018). A review of metal exposure and its effects on bone health. *Journal of toxicology*, 2018.
- Russ, T. C., Killin, L. O., Hannah, J., Batty, G. D., Deary, I. J., and Starr, J. M. (2020). Aluminium and fluoride in drinking water in relation to later dementia risk. *The British Journal of Psychiatry*, 216(1), 29-34.
- Sadek, K. M., Lebda, M. A., and Abouzed, T. K. (2019). The possible neuroprotective effects of melatonin in aluminum chloride-induced neurotoxicity via antioxidant pathway and Nrf2 signaling apart from metal chelation. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(9), 9174-9183.
- Sadigh-Eteghad, S. ; Sabermarouf, B. ; Majdi, A. ; Talebi, M. ; Farhoudi, M. and Mahmoudi, J. (2014a) . Amyloid-Beta: A Crucial Factor in Alzheimer’s Disease . *Med. Princ. Pract.* , 24(1) :1–10
- Sadigh-Eteghad, S. ; Majdi, A. ; Farhoudi, M. ; Talebi, M. and Mahmoudi, J. (2014b) . Different patterns of brain activation in normal aging and Alzheimer's disease from cognitional sight: meta-analysis using activation likelihood estimation. *J. Neurol. Sci.* , 343:159-166.
- Sadigh-Eteghad, S. ; Sabermarouf, B. ; Majdi, A. ; Talebi, M. ; Farhoudi, M. ; Mahmoudi, J. (2015). Amyloid-beta: a crucial factor in Alzheimer’s disease. *Med. Princ. Pract.* , 24:1–10.
- Saez-Valero, J., Barquero, M. S., Marcos, A., McLean, C. A., and Small, D. H. (2000a). Altered glycosylation of acetylcholinesterase in lumbar cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 69(5), 664-667.

- Saez-Valero, J., Mok Ss, S., and Small, D. H. (2000b). An unusually glycosylated form of acetylcholinesterase is a CSF biomarker for Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*, 102, 49-52.
- Sagae, S. C. ; Grassioli, S. ; Raineke, C. ; Balbo, S. L. ; da Silva, A. C. (2011) . Sex differences in brain cholinergic activity in MSG-obese rats submitted to exercise . *Can. J. Physiol. Pharmacol.* , 89(11): 845-853
- Saing T, Lagman M, Castrillon J, Gutierrez E, Guilford FT, Venketaraman V. Analysis of glutathione levels in the brain tissue samples from HIV-1-positive individuals and subject with Alzheimer's disease and its implication in the pathophysiology of the disease process. *BBA Clin* 2016; 6: 38-44.
- Sakarcan, A., Sehirli, Ö., Velioglu-Övünç, A., Ercan, F., Erkanlı, G., Gedik, N., and Şener, G. (2005). Ginkgo biloba extract improves oxidative organ damage in a rat model of thermal trauma. *The Journal of burn care and rehabilitation*, 26(6), 515-524.
- Santello, M., and Volterra, A. (2012). TNF- α in synaptic function: switching gears. *Trends Neurosci.* 35, 638–647. doi: 10.1016/j.tins.2012.06.001
- Sarker, S. C., Ghosh, S. R., Hossain, M. J., Ghosh, R. C., Razia, S., Sushmoy, D. R., and Noor, M. M. A. (2019). Impact of aluminium (al³⁺) stress on germination and seedling growth of five wheat genotypes. *SAARC Journal of Agriculture*, 17(1), 65-76.
- SAS 2012. *Statistical Analysis System, User,s Guide. Statistical. Version 9.1th ed.* SAS. Institute Incorporated Cary. N.C. USA
- Saveanu, R.V.; Nemeroff, C.B. Etiology of depression: Genetic and environmental factors. *Psychiatr. Clin. North. Am.* 2012, 35,51–71.
- Shi, C., Xiao, S., Liu, J., Guo, K., Wu, F., Yew, D. T., and Xu, J. (2010). Ginkgo biloba extract EGb761 protects against aging-associated mitochondrial dysfunction in platelets and hippocampi of SAMP8 mice. *Platelets*, 21(5), 373-379.

- Shi, C., Zou, J., Li, G., Ge, Z., Yao, Z., and Xu, J. (2011). Bilobalide protects mitochondrial function in ovariectomized rats by up-regulation of mRNA and protein expression of cytochrome c oxidase subunit I. *Journal of Molecular Neuroscience*, 45(2), 69-75.
- Shipp, S. (2007). Structure and function of the cerebral cortex. *Current Biology* 17(12):443-9.
- Shoubridge, E. A. (2001). Cytochrome c oxidase deficiency. *American journal of medical genetics*, 106(1), 46-52.
- Shuster, L. ; Gostout, B. ; Grossardt, B. and Rocca, W. (2008) . Prophylactic oophorectomy in premenopausal women and long-term health. *Menopause .Int.* , 14(3):111-16.
- Sibmooth N., Pipitaporn B., Wilaiiratana P. , Dangdougjai J. ; Udomsangpetchara R., Looareesuwan S., et al (2000) Effect of artemisinin on lipid peroxidation and fluidity of the erythrocyte membrane in malaria. *Biol. Pharmacol Bull* 23:1275-80.
- Sierpina, V. S., Wollschlaeger, B., and Blumenthal, M. (2003). *Ginkgo biloba*. *American family physician*, 68(5), 923-926.
- Silveyra, M. X. ; García-Ayllón, M. S. ; de Barreda, E. G. ; Small, D. H. ; Martínez, S. ; Avila, J. ; Sáez-Valero, J. (2011). Altered expression of brain acetylcholinesterase in FTDP-17 human tau transgenic mice. *Neurobiol. Aging*. 33(3): 23-34.
- Singh, S. K., Srivastav, S., Castellani, R. J., Plascencia-Villa, G., and Perry, G. (2019). Neuroprotective and antioxidant effect of *Ginkgo biloba* extract against AD and other neurological disorders. *Neurotherapeutics*, 16(3), 666-674.
- Smith, K. J.; Kapoor, R. and Felts, P. A. (1999). Symposium oxidative stress Neurological Disease. Demyelination: The role of Reactive Oxygen and Nitrogen species in Brain pathology ;9:69-83 (Review).

- Soni, M. G., White, S. M., Flamm, W. G., and Burdock, G. A. (2001). Safety evaluation of dietary aluminum. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 33(1), 66-79.
- Soreq, H. and Seidman, S. (2001). Acetylcholinesterase – new roles for an old actor. *Nat. Rev. Neurosci.* , 2:294–302.
- Spencer JP, Vafeiadou K, Williams RJ, Vauzour D. Neuroinflammation: modulation by flavonoids and mechanisms of action. *Mol Asp Med* 2012;33(1):83–97.
- Srivastava, S., Ahmad, R., and Khare, S. K. (2021). Alzheimer's disease and its treatment by different approaches: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 216, 113320.
- Sterling, S. M., MacLeod, S., Rotteveel, L., Hart, K., Clair, T. A., Halfyard, E. A., and O'Brien, N. L. (2020). Ionic aluminium concentrations exceed thresholds for aquatic health in Nova Scotian rivers, even during conditions of high dissolved organic carbon and low flow. *Hydrology and Earth System Sciences*, 24(10), 4763-4775.
- Sussman, J. L. ; Harel, M. ; Frolow, F. ; Oefner, C. ; Goldman, A. ; Toker, L. and Silman, I. (1991). Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science* , 253 (5022): 872–9.
- Sussman, J. L. ; Harel, M. ; Silman, I. (1993). Three-dimensional structure of acetylcholinesterase and of its complexes with anticholinesterase drugs. *Chem. Biol. Interact.* , 87 (1–3): 187–97.
- Swerdlow, R. H. ; Burns, J. M. and Khan, S. M. (2010). The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis. *J. Alzheimers Dis.* ; 20: 265–279.
- Swerdlow, R. H. (2018). Mitochondria and mitochondrial cascades in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62(3), 1403-1416.
- Takahashi M, Shibutani M, Nakahigashi J, Sakaguchi N, Inoue K, Morikawa T (2009) Limited lactational transfer of acrylamide to rat offspring on maternal oral

- administration during the gestation and lactation periods. *Arch Toxicol* 83:785–793
- Tan, W., Luo, X., Li, W., Zhong, J., Cao, J., Zhu, S., ... and Chen, Y. (2019). TNF- α is a potential therapeutic target to overcome sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma. *EBioMedicine*, 40, 446-456.
- Tang, R. H., Erskine, P. D., Nkrumah, P. N., Echevarria, G., and van der Ent, A. (2022). Soil-plant relationships of metallophytes of the zinc-lead-copper Dugald River gossan, Queensland, Australia. *Plant and Soil*, 471(1), 227-245.
- Thenmozhi, A. J., Dhivyabharathi, M., Manivasagam, T., and Essa, M. M. (2016). Tannoid principles of *Emblica officinalis* attenuated aluminum chloride induced apoptosis by suppressing oxidative stress and tau pathology via Akt/GSK-3 β signaling pathway. *Journal of ethnopharmacology*, 194, 20-29.
- Tian, J., Shi, J., Wei, M., Ni, J., Fang, Z., Gao, J., ... and CHARM study group. (2019). Chinese herbal medicine Qinggongshoutao for the treatment of amnesic mild cognitive impairment: A 52-week randomized controlled trial. *Alzheimer's and Dementia: Translational Research and Clinical Interventions*, 5, 441-449.
- Townsend, C. C., Guest, E., and Al-Ravi, A. (1966). *Flora of Iraq*. vols. 2. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Baghdad.
- Tulsulkar J, Shah ZA. (2013). Ginkgo biloba prevents transient global ischemia-induced delayed hippocampal neuronal death through antioxidant and anti-inflammatory mechanism. *Neurochem Int*; 62(2):189–97. 93.
- Turgut, G.;Enli, Y.;Kaptanoglu, B.;Turgyt, S.and Genc, O.(2006) Changes in the level of MDA and GSH in mice serum,liver and spleen after aluminum admnhhstration.*J.Biochem.* 11:7-12.
- Vanderstichele, H. M., Teunissen, C. E., Vanmechelen, E. (2019). Critical steps to be taken into consideration before quantification of β -amyloid and tau isoforms in blood can be implemented in a clinical environment. *Neurol. Ther.* 8 (Suppl 2), 129–145.

- Varshney, D., and Kumar, K. (2021). Application and use of different aluminium alloys with respect to workability, strength and welding parameter optimization. *Ain Shams Engineering Journal*, 12(1), 1143-1152.
- Verstraeten, S. (2008). Aluminium and lead: molecular mechanisms of Brain Toxicity. School of Pharmacy and Biochemistry, a review article: University of Buenos Aires, Argentina, 82:: 789–802.
- Villemagne, V. L. ; Burnham, S. ; Bourgeat, P. ; Brown, B.; Ellis, K. A. ; Salvado, O. ; Szoeki, C. ; Macaulay, S. L. ; Martins, R. ; Maruff, P.; Ames, D. ; Rowe, C.C. and Masters, C. L. (2013). Amyloid beta deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *Lancet Neurol* . , 12(1): 357–367.
- Walesiuk, A., Trofimiuk, E., and Braszko, J. J. (2006). Ginkgo biloba normalizes stress- and corticosterone-induced impairment of recall in rats. *Pharmacological Research*, 53(2), 123-128.
- Wan W, Zhang C, Danielsen M, Li Q, Chen W, Chan Y, et al. (2016). EGb761 improves cognitive function and regulates inflammatory responses in the APP/PS1 mouse. *Exp Gerontol*, 81: 92-100
- Wang, G. X., Pan, J. Y., Wang, Y. J., Huang, T. C., and Li, X. F. (2020). MiR-640 inhibition alleviates acute liver injury via regulating WNT signaling pathway and LRP1. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 24(17), 8988-8996.
- Wang, Y. J. ; Zhou, H. D. and Zhou, X. F. (2006). Clearance of amyloid-beta in Alzheimer's disease: progress, problems and perspectives. *Drug. Discov . Today* , 11:931-938
- Watanabe, C. M., Wolfram, S., Ader, P., Rimbach, G., Packer, L., Maguire, J. J.. and Gohil, K. (2001). The in vivo neuromodulatory effects of the herbal medicine ginkgo biloba. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(12), 6577-6580.
- White, J.; Highland, M.; Kasier, M. and Clagett – Dame, M. (2000) . Vitamin A deficiency result in the dose – dependent acquisition of anterior character and

- shortening of the caudal hind brain of the rat embryo. *Dev. Biol.*, 15, 220 (2) : 263 - 284.
- WHO (1997) Aluminum Geneva, World Health Organization, International programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 194).
- WHO. Guidelines for drinking water quality, 2nd ed. vol 2 Health criteria and other supporting information. Geneva, World Health Organization. 1996. Available from
- Wiseman, F.K. (2015). A genetic cause of Alzheimer disease: mechanistic insights from Down syndrome. *Nat. Rev. Neurosci.* , 16(9): 564–574.
- Wolf, U.; Rapoport, M.J.; Schweizer, T.A. (2009) Evaluating the affective component of cerebellar cognitive affective syndrome. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 21(3):245-53.
- Wong, E.Y.H.; Herbert, J. The corticoid environment: A determining factor for neural progenitors' survival in the adult hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 2004, 20, 2491–2498
- Wu, J., Ye, J., Kong, W., Zhang, S., and Zheng, Y. (2020). Programmed cell death pathways in hearing loss: a review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. *Cell proliferation*, 53(11), e12915.
- Xiang, Y.; Bu, X.; Liu, Y.; Zhu, C.; Shen, L.; Jiao, S.; Zhu, X.; Giunta, B.; Tan, J.; Song, W.; Zhou, H.; Zhou, X. and Wang, Y. (2015). Physiological amyloid-beta clearance in the periphery and its therapeutic potential for Alzheimer's disease. *Acta. Neuropathol.* , 130(1):487–499.
- Xu, L., Zhang, W., Liu, X., Zhang, C., Wang, P., and Zhao, X. (2018). Circulatory levels of toxic metals (aluminum, cadmium, mercury, lead) in patients with Alzheimer's disease: a quantitative meta-analysis and systematic review. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62(1), 361-372.
- Xu, Y., Liu, M. C., Wang, P., Xu, B., Liu, X. Q., Zhang, Z. P., ... and Hao, X. K. (2014). Correlation between serum IGF-1 and blood lead level in short stature

- children and adolescent with growth hormone deficiency. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 7(4), 856.
- Yadav, P., Singh, J., Srivastava, D. K., and Mishra, V. (2021). Environmental pollution and sustainability. In *Environmental Sustainability and Economy* (pp. 111-120). Elsevier.
- Yokel, R.A. (2000): The toxicology of aluminum in the brain: a review. *Neurotoxicology* 21:813-28.
- Yokel,R.A.;Ackrill, P.;Burgess, E.;Day, J. P.; Domingo, J.L.;Flaten, T.P. and Savory, J.(1996) Prevention and treatment of alnminum toxicity including chelation therapy status and research needs.J. *Toxical Environ Health* 48:667-683.
- Zatta, P., Lain, E., and Cagnolini, C. (2000). Effects of aluminum on activity of Krebs cycle enzymes and glutamate dehydrogenase in rat brain homogenate. *European Journal of Biochemistry*, 267(10), 3049-3055.
- rats. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 23(2), 71-80.
- Zhang, L., Li, D., Cao, F., Xiao, W., Zhao, L., Ding, G., (2018). Identification of Human Acetylcholinesterase Inhibitors from the Constituents of EGb761 by Modeling Docking and Molecular Dynamics Simulations. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 21 (1), 41–49. doi:10.2174/1386207320666171123201910
- Zhao, X. Q., and Shen, R. F. (2018). Aluminum–nitrogen interactions in the soil–plant system. *Frontiers in plant science*, 9, 807.
- Zhou, X., Qi, Y., and Chen, T. (2017). Long-term pre-treatment of antioxidant Ginkgo biloba extract EGb-761 attenuates cerebral-ischemia-induced neuronal damage in aged mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 85, 256-263.
- Zuo, W., Yan, F., Zhang, B., Li, J., and Mei, D. (2017). Advances in the studies of Ginkgo biloba leaves extract on aging-related diseases. *Aging and disease*, 8(6), 812

Summary

The current study aims to know the protective role of the aqueous extract of the *Ginkgo biloba* against physiological and histological damage in the central nervous system which includes (cerebrum, cerebellum and spinal cord) induced by aluminum chloride (AlCl_3) in white male rats.

This study was conducted in the College of Education for Pure Sciences / University of Karbala and the animal house of Pharmacy College / University of Karbala for the period from the beginning of November 2021 until February 2022. This study included use of 90 white male rats *Rattus norvegicus*, their ages ranged between 2-3 Months and their weights ranged between 200-240 g. The study included two experiments. The first experiment aimed to determine the half-effective dose (ED_{50}) of the aqueous extract of the *Ginkgo biloba* by studying the curve of effective dose, 50 adult male rats were used. Which were randomly divided into five equal groups (10 animals/group) and were administered orally four increasing doses of ginkgo aqueous extract daily (0,5, 10, 15 and 20 mg/kg) for 30 days . blood samples were collected after the end of the experiment to study The following parameters were: malonaldehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), total cholesterol (TC), and high-density lipoprotein (HDL) concentration. The half-effect dose of the extract was (10 mg/kg/B.W)

The second experiment aimed to study the protective role of the aqueous extract of the *Ginkgo biloba* against the deleterious effect on the nervous system by aluminum chloride. 40 adult male rats were used, which were randomly divided into four equal groups (10 animals / group), the first group(G1) administered 1 ml / kg of Tap water and considered as a control group, the second group(G2) administered 10 mg / kg of AlCl_3 , the third group (G3) was administered 10 mg / kg of aqueous extract of the *Ginkgo biloba* , while the fourth group animals (G4) were administered 10 mg/kg of AlCl_3 and 10 mg/kg of aqueous extract of the *Ginkgo biloba* orally and daily for month.

Fasting blood samples were collected after starving the animals for 8 hours after the end of the experiment to study the following parameters: concentration of soluble acetylcholinesterase AChE(G1), membrane bound

acetylcholinesterase AChE (G4), Neuronal Mitochondrial ATPase (Nmit ATPase), Cytochrome C oxidase (COX) , Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), Malondialdehyde (MDA), Reduced Glutathione (GSH), Calcium (Ca⁺), Free Iron (Fe⁺), Cortisol, Adrenocorticotropin hormone (ACTH) and growth hormone (GH).

The results of this experiment showed that oral administration of AlCl₃ caused significant increase (P<0.05) in the concentration of AChE(G1) , TNF- α , MDA, Ca⁺, Fe⁺, Cortisol, ACTH and significant decrease (P<0.05) in the concentration of AChE(G4), Nmit ATPase, COX , GSH and GH compared with the negative control group.

Group treated with ED₅₀ of the aqueous extract of *Ginkgo biloba* showed significant increase (P<0.05) in the concentration of Nmit ATPase, COX and GSH with a significant decrease (P<0.05) in the concentration of AChE (G1), Fe⁺ and there was no Significant difference (P>0.05) in the concentration of AChE(G4) , TNF- α , MDA, Ca⁺, Cortisol, ACTH and GH compared with the negative control group.

The experiment also showed that the oral administration of AlCl₃ with oral administration of ED₅₀ of the aqueous extract of the *Ginkgo biloba* caused no significant differences (P>0.05) in the concentration of AChE(G1), AChE(G4), Nmit ATPase, COX , TNF- α , MDA, GSH, Ca⁺, Fe⁺, Cortisol, ACTH and GH compared with the negative control group.

Histological examination showed that oral administration of AlCl₃ for 30 days caused neuronal damage with clear degenerative changes in the nervous tissue after treatment with H&E dye, while the treatment of nerve tissue with silver stain showed a clear appearance of A β plaques spread in the cerebrum, cerebellum and spinal cord, and the normal composition of nervous tissue with H&E dyes for the group that was orally administration with AlCl₃ with oral administration with aqueous extract of *Ginkgo biloba* with absence of A β deposition in the nervous tissue after staining with sulfur stain compared with control group.

It is concluded from the current study that aluminum chloride (AlCl_3) causes clear pathological changes in the nervous tissue and confirms that treatment with the half effective dose of aqueous extract of *Ginkgo biloba* (10 mg/kg) has a protective role against nervous system damage induced by AlCl_3 in male white rats.



Republic of Iraq /Ministry of Higher Education and scientific Research
University of Kerbala- Collage of Education for pure sciences/ Department of Biology

Evaluation the Protective Role of Aqueous Extract of *Ginkgo biloba* Leaves on Physiological and Histological Damage of Central Nervous System Caused by Aluminum Chloride in Male White Rats.

A thesis submitted to the council college of Education for pure science -
Kerbala University as a partial fulfillment of the requirements for the degree
of Master in Biology – Zoology

BY

Noor Majid Hussein Jafar Alshabi

B. Sc. Biology / 2011

Supervised by:

Assist Pro. Dr. Heba A. Abd-Alsalam Alsalam

October /2022 A.D

Rabi` Al-Awal / 1444 A.H.