



جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تقييم الفعالية المضادة للسرطان للمستخلص المائي لأوراق توت  
البانديكوت *Leea indica* في بعض المعايير الفسلجية والنسجية في  
ذكور الجرذان المعاملة بمادة Diethylnitrosamine (DEN)

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

كُتبت بواسطة

مصطفى عبد الحسين كاظم موسى

بكالوريوس علوم حياة 2020/جامعة كربلاء

بإشراف

أ.م.د. هبة علوان عبد السلام

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿وَعَلَّمَكَ مَا لَمْ تَكُن تَعْلَمُ وَكَانَ

فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة النساء (آية 113)

## إقرار المشرف على الرسالة

أشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة: (تقييم الفعالية المضادة للسرطان للمستخلص المائي لأوراق توت البتديكوت *Leea indica* في بعض المعايير الفسلجية والنسجية في ذكور الجرذان المعاملة بمادة Diethylnitrosamine (DEN) 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:

الاسم : د. هبه علوان عبد السلام

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

مكان العمل: كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2023

## توصية رئيس قسم علوم الحياة

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

التوقيع:

الاسم : د. نصير مرزا حمزة

المرتبة العلمية : أستاذ

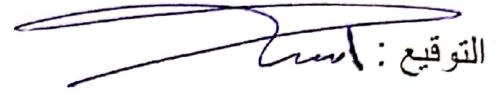
مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2023

## إقرار لجنة المناقشة

نحن اعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة : ( تقييم الفعالية المضادة للسرطان للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت *Lea indica* في بعض المعايير الفسلجية والنسجية في ذكور الجرذان المعاملة بمادة (Diethylnitrosamine(DEN) المقدمة من قبل الطالب (مصطفى عبد الحسين كاظم موسى) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء، وبعد اجراء المناقشة العلمية وجد انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعلية نوصي بقبول الرسالة بتقدير ( امتياز ).

رئيس لجنة المناقشة

التوقيع : 

الاسم : د. اشواق كاظم عبيد

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : 2023/ /

عضو لجنة المناقشة

التوقيع : 

الاسم : د. سحر محمود جواد

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : جامعة الكوفة / كلية التربية للبنات

التاريخ : 2023/ /

عضو لجنة المناقشة

التوقيع : 

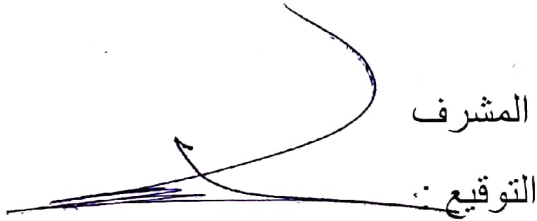
الاسم : د. غصون غانم كعيم

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية العلوم الطبية التطبيقية

التاريخ : 2023/ /

المشرف

التوقيع : 

الاسم : د. هبه علوان عبد السلام

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : 2023/ /

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع : 

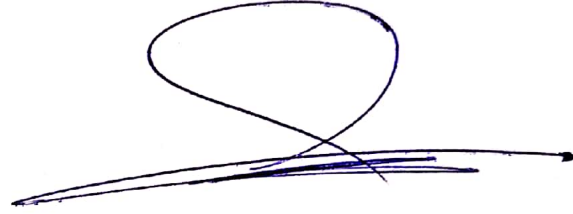
الاسم : د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية : استاذ

التاريخ : 2023/ / 2

## إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ تقييم الفعالية المضادة للسرطان للمستخلص المائي لأوراق ثوت الباتديكوت *Leea indica* في بعض المعايير الفسلجية والنسجية في نكور الجرذان المعاملة بمادة Diethylnitrosamine (DEN) 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 الاسدي

المرتبة العلمية: استاذ

مكان العمل : جامعة كربلاء / كلية العلوم الاسلامية

التاريخ: 2023/ /

## الأهداء

إلى من لا تدركه الأبصار وهو يدرك الأبصار وهو اللطيف الخبير ..... له المنّة وله الفضل بما  
أعطى لعبده من العلم والمعرفة، وحثه للترقي على سائر المخلوقات بالعقل المفكر ..... اللهم لوجهك  
خالصاً أقدم عملي

إلى مدينة العلم ..... احمد ، وبابها الأوحى ..... الامام علي الأمد وائمة الهدى واعلام التقى اجمعين  
إلى من احمل اسمة بكل فخراً الذي علمني من الوفاء والعطاء دون انتظار مقابل الذي اختار دار الآخرة  
مقراً له الذي لاتزال روحه عالقة في مخيلتي تاركة لنا لوعة الفراق ..... ابي الغالي -رحمك الله

إلى من اسهرت عيناها في تربيئنا وصارعت الحياة من اجلنا القلب النابض التي زرعت في قلبي روحها  
شمعة حياتي وسر نجاحي وبلسم جراحي اغلى ما بالوجود..... امي الحبيبة

إلى المصابيح المنيرة الذين ساندوني ودعموني بصدق الذين بهم استمد اصراري..... اخوتي\_ اخواتي

إلى من بذلت ولم تنتظر العطاء وامست شمعةً تُنير دروب طلاب العلم ..... مشرفتي الفاضلة

إلى من علموني حرفاً ومنحوني حبا ودعموني صدقاً..... اساتذتي النبلاء

إلى يبابيع الصدق الذين ولدتهم لي الأيام رموز المحبة والاخلاص..... اصدقائي

مصطفى

## الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على اشرف الخلق والمرسلين ابي القاسم محمد عليه افضل الصلاة والتسليم ، اشكر الله العلي القدير الذي انعم عليّ بنعمة العقل والدين القائل في محكم التنزيل(وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ)

واعترافاً مني بالجميل , أتقدم بجزيل الشكر واثني ثناء حسناً ووفاءً وتقديراً لأولئك المخلصين الذين لم يدخروا جهداً في مساعدتي في مجال البحث العلمي وأخص بالذكر أستاذتي الفاضلة أ.م. د. هبة علوان عبد السلام على هذه الدراسة وصاحبة الفضل في توجيهي ومساعدتي في تجميع المادة البحثية واتقدم بجزيل شكري الى كل من مد لي يد العون والمساعدة في إخراج هذه الدراسة على اكمل وجه كما التقدم بالشكر والتقدير الجزيل الى رئاسة جامعة كربلاء لإتاحتها الفرصة لي لإكمال دراستي وايضاً اتقدم بالشكر الجزيل الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة والى رئاسة قسم علوم الحياة والى جميع أساتذة قسم علوم الحياة وبالخصوص أ. د اشواق كاظم اليساري لما قدموه من مساعدة ودعم معنوي وفقهم الله جميعاً

ومن العرفان بالجميل والاقرار بالفضل اتقدم بعميق الشكر والامتنان الى الطبيب الاستشاري في الامراض النسجية الدكتور نزار جبار متعب /مستشفى الحسيني العام على تشخيصه النتائج العيانية و النسجية كما اهدي شكري وتقديري الى كل من غاب اسمه وحضر فضله وخير عمله وفقهم الله جميعاً لما فيه خير وعافية وأخيراً اتقدم بكل الحب والتقدير لكل من دعا لي دعوة صادقة .

مصطفى

## الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى معرفة الدور الوقائي للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت *Leea indica* ضد التلف الوظيفي والنسجي الحاصل في الكبد والكلى والمستحث بمادة Diethyl-nitrosamine (DEN) 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 الاول 2022 ولغاية شهر آذار 2023 تضمنت هذه الدراسة استخدام 76 جرذ من ذكور الجرذان البيض وتراوحت اعمارها بين (12-14) أسبوعاً وأوزانها ما بين (200-220) غرام ، تم تحضير المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت و تضمنت الدراسة تجربتين هدفت التجربة الأولى تحديد الجرعة المؤثرة النصفية ( $ED_{50}$ ) للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت عن طريق دراسة منحنى الجرعة المؤثرة ، فقد تم استخدام 36 من ذكور الجرذان والتي قسمت عشوائيا الى ستة مجاميع متساوية ( 6 حيوان / مجموعة وتم تجريعها فمويًا ب 5 جرع تصاعديّة من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت يوميًا 20، 40، 60 و 80 ، 100 ملغم /كغم اضافة لمجموعة السيطرة التي جرعت بالماء الاعتيادي ) ولمدة 30 يوم ، جمعت عينات الدم بعد نهاية التجربة لدراسة المعايير التالية : مستويات المالونالديهايد (Malondialdehyde (MDA ، الكلوتاتيون المختزل (Glutathione (GSH، الكولسترول الكلي (Total cholesterol (TC) ومستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة (High density lipoprotein (HDL) وكانت الجرعة المؤثرة النصفية للمستخلص تساوي ( 60 ملغم/ كغم).

هدفت التجربة الثانية دراسة الدور الوقائي للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ضد التأثيرات الضارة في الكبد والكلى والمستحث بمادة DEN ، فقد تم استخدام 40 من ذكور الجرذان البالغة والتي قسمت عشوائيا الى اربعة مجاميع متساوية (10 حيوان / مجموعة) ، جرعت المجموعة الأولى (G1) 1 مل/كغم من الماء الاعتيادي وعدت كمجموعة سيطرة ، حققت المجموعة الثانية (G2) تحت الغشاء البريتوني بتركيز 200 ملغم/ كغم من DEN ، جرعت المجموعة الثالثة (G3) ب 60 ملغم/ كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ، اما حيوانات المجموعة الرابعة (G4) فقد تم تجريعها ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت يومياً وبعد اربع ساعات حققت تحت الغشاء البريتوني ب 200 ملغم / كغم من DEN يومين في الأسبوع ولمدة ثلاثة أشهر



جمعت العينات الدم بعد تجويع الحيوانات Fasting blood sample لمدة 8 ساعات بعد نهاية التجربة لدراسة المعايير التالية فعالية انزيم الناقل للامين Alanine transaminase (ALT), فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP), فعالية انزيم ناقلة الاسبارتات Aspartate transaminase (AST), فعالية انزيم أوكسيد الديسموتاز الفائق Superoxide dismutase (SOD), مستوى المالونالديهيد (MDA), بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية Lipid hydroxyl peroxides (LHP), الكلوتاثيون المختزل (GSH), البيليروبين الكلي Total bilirubin (T-BIL), الالبومين Albumin, اليوريا Urea, حمض اليوريك Uric acid, الكرياتينين Creatinine, الارثروبويتين Erythropoietin (EPO), الكالسيتريول calciterol, فعالية بروتين الرنين Renin, عامل التخر الورمي نوع الفا Tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), الانترلوكين Interleukin-1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), الانترلوكين Interleukin 8 (IL-8) ومستوى السيتوكروم Cytochrom oxidase (COX)

اظهرت نتائج هذه الدراسة الحالية ان الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة DEN ادى الى حدوث ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى ALT, ALP, AST, MDA, TNF- $\alpha$ , Renin, Creatinine, Uric acid, Urea, T-BIL, EPO, LHP, Albumin, COX, GSH, SOD في معدل IL-8, IL-1 $\beta$  وانخفاض معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل calciterol مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة

فيما اظهرت المجموعة المعاملة ب ED<sub>50</sub> المستخلص المائي لنبات اوراق توت البانديكوت الى حدوث ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في مستويات SOD, COX, GSH, Albumin, calciterol وعدم وجود فروق معنوية ( $P > 0.01$ ) في ALT, ALP, AST, MDA, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , Renin, Creatinine, Uric acid, Urea, T-BIL, EPO, LHP, IL-8 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة

كما بينت التجربة في المجموعة الوقائية إلى عدم وجود فروق معنوية ( $P > 0.01$ ) في مستويات SOD, COX, GSH, Albumin, calciterol, ALT, ALP, AST, TNF- $\alpha$ , Renin, Creatinine, Uric acid, Urea, T-BIL, EPO, LHP, MDA, IL-1 $\beta$ , IL-8 مقارنة مع مجموعة السيطرة.

أظهرت نتائج الفحص النسيجي أن الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة DEN ولمدة 90 يوم أدى الى حدوث تلف في خلايا الكبد إذ لوحظ حدوث تغيرات تنكسية واضحة وتفجى واضح في نسيج الكبد وظهور عقيدات ورمية كبيرة وارتشاح الخلايا الكبدية مع حدوث تنخر في الخلايا الكبدية مع ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية ويلاحظ أيضا احتقان الوريد المركزي مع انحلال لانوية الخلايا الكبدية اما التغيرات النسجية للكلية فتمثلت بضمور شديد في حجم الكبيبة وزيادة فسحة بومان مع وجود احتقان دموي وتحطم للنيبيات البولية مع تنكس وتغلظ انوية خلايا النبيبات وانسلاخ ظهارتها المبطننة و ارتشاح الخلايا الالتهابية و حدوث انكماش في الكبيبة فضلاً عن تحطم النبيبات البولية مع وجود نزف دموي

كما يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج الكبد مع اعادة انتظام الحبال الكبدية مع حدوث توسع للوريد المركزي بالنسبة للمجموعة الوقائية التي تم تجريعها ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت و حقنت تحت الغشاء البريتوني ب 200 ملغم / كغم من DEN اما نسيج الكلية فتمثلت وجود تغيرات نسيجية بسيطة ممثلة بتوسع طفيف في فسحة بومان والكبيبة طبيعية مع بنية طبيعية لبعض النبيبات البولية البعيدة والقريبة مع وجود احتقان دموي بسيط مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة

أستنتج من الدراسة الحالية ان المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت وبتركيز 60 ملغم / كغم له فعالية كبيرة في خفض التأثيرات السمية الناتجة من حقن ذكور الجرذ الأبيض بمادة ثنائي اثيل نيتروسامين على نسيجي الكبد والكلية وتحسين المعايير الوظيفية وله دور واضح في تقليل احتمالية الاصابة بسرطان الكبد والكلية .

## قائمة المحتويات

الصفحة	العنوان	التسلسل
I	الخلاصة	
IV	المحتويات	
XIV	قائمة الجداول	
XIV	قائمة الاشكال الصور	
XVII	قائمة المختصرات	
<b>الفصل الأول</b>		
<b>المقدمة</b>		
1-2	المقدمة Introduction	1
<b>الفصل الثاني</b>		
<b>استعراض المراجع</b>		
3	توت البانديكوت <i>Leea indica</i>	1-2
4	الخصائص العلاجية لتوت البانديكوت <i>Leea indica</i>	2-2
5	الخصائص المضادة للسرطان لتوت البانديكوت Anticancer effects of <i>Leea indica</i>	3-2
7	الخصائص المضادة للاكسدة لتوت البانديكوت Antioxidant activity of <i>Leea indica</i>	4-2
8	الخصائص العامة للمادة الكيميائية Diethyl-nitrosamine (DEN)	5-2
10	التأثيرات السمية لمادة Diethyl-nitrosamine (DEN) على الجسم	6-2
12	التمثيل الغذائي لمادة ثنائي اثيل نيتروزامين Metabolism of Diethyl-nitrosamine (DEN)	7-2

13	Liver الكبد	8-2
14	Kidney الكلية	9-2
15	Hepatocellular carcinoma (HCC) سرطان الكبد	10-2
16	Cytochrom C oxidase (COX ) السيتوكروم C اوكسيديز	11-2
17	IL-1 $\beta$ Interleukin-1 $\beta$ الانترليوكين	12-2
17	Interleukin-8 (IL-8) 8 انترلوكين	13-2
18	Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) عامل التنخر الورمي	14-3
19	انزيمات الكبد	15-2
19	Alkaline phosphatase (ALP) انزيم الفوسفاتيز القاعدي	1-15-2
20	Alanine Transaminase Enzyme انزيم الألنين الناقل للامين (ALT)	2-15-2
20	Aspartate Transaminase انزيم الاسبارتيت الناقل للامين Enzyme ( AST)	3-15-2
21	Total Seram Bilirubin البيليروبين الكلي في المصل	16-2
21	Albumin الالبومين	17-2
22	Urea اليوريا	18-2
22	Uric acid حامض اليوريك	19-2
22	Superoxid (SOD) انزيم أوكسيد الديسموتاز الفائق Dismutase	20-2
23	Glutathion الكلوتاثيون	21-2
24	Malondialdehyde (MDA) المالون ثنائي الالديهيد	22-2
25	Erythropoietin(EPO) هرمون الإرتروبويتين	23-2

26	Rrnin بروتين الرنين	24-2
26	Lipid Hydroperoxides بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية	25-2
<b>الفصل الثالث</b>		
<b>Materials and Methods المواد وطرائق العمل</b>		
28	المواد	1-3
28	الأجهزة	1-1-3
29	الأدوات	2-1-3
29	Chemical Material المواد الكيميائية	3-1-3
31	حيوانات التجربة	2-3
31	تحضير المستخلص المائي	3-3
32	استحداث مرض سرطان	4-3
32	Experiment design تصميم التجربة	5-3
32	Experiment 1 التجربة الأولى	1-5-3
33	Experiment 2 التجربة الثانية	2-5-3
33	سحب الدم	1-2-5-3
36	تقييم فعالية الانزيمات	6-3
36	تقدير فعالية أنزيم ناقل أمين الأالنين في مصل الدم تقدير فعالية أنزيم ناقل أمين الأالنين في مصل الدم Estimation of alanin aminotransferase activity in blood serum (ALT)	1-6-3
37	Estimation تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل الدم alkaline phosphatase (ALP) activity in blood serum	2-6-3
39	تقدير فعالية أنزيم ناقل أمين الأسبارتيت في مصل الدم : Estimation of aspartate aminotransferase in blood	3-6-3

	Seurm (AST)	
40	تقدير فعالية إنزيم أوكسيد الديسموتاز الفائق (SOD) Estimation of superoxide dismutase activity in blood (SOD)	4-6-3
42	Cytochrom C oxidase (COX) تقييم فعالية انزيم	5-6-3
43	تقدير فعالية بروتين الرنين في المصل	6-6-3
44	الفحوصات الكيموحيوية	7-3
44	تقدير مستوى المالون ثنائي الدهيد في Malondialdehyde (MDA)	1-7-3
46	تقدير مستوى بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية في الدم Lipid hydroperoxides (LHP)	2-7-3
47	تقدير مستوى الكلوتاثيون المختزل في مصل الدم Reduced glutathione (GSH)	3-7-3
48	تقدير مستوى الكوليسترول الكلي في مصل الدم Total Cholesterol (TC)	4-7-3
50	تقدير مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة في مصل الدم High Density Lipoprotein (HDL)	5-7-3
52	تقدير مستوى البيليروبين الكلي (T-Bil) في مصل الدم Estimation of total bilirubin level in blood serum	6-7-3
53	تقدير مستوى الالبومين Albumin في مصل الدم level of albumin in blood serum	7-7-3
54	تقدير مستوى اليوريا Urea في المصل	8-7-3
55	تقدير مستوى حمض اليوريك Uric acid في المصل	9-7-3
56	تقدير مستوى الكرياتنين في مصل الدم creatinine concentration in blood serum	10-7-3

58	تقدير مستوى هرمون الإرتروبويتين في المصل Estimating of EPO hormone level in the serum	11-7-3
59	تقدير مستوى هرمون الكالسيترون في المصل Evaluation calciterol level in the serum	12-7-3
60	المعايير المناعية	8-3
60	قياس مستويات عامل التنخر الورمي الفا TNF- $\alpha$ , و الانترلوكين Interleukin 8 (IL-8), الانترلوكين, Interleukin-1 $\beta$ ( IL-1 $\beta$ )	1-8-3
62	التحضيرات النسجية Histological preprations	9-3
64	التحليل الاحصائي	10-3
<b>الفصل الرابع</b>		
<b>النتائج</b>		
65	تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت Determination of ED <sub>50</sub> of Leaves aquatic extract of <i>Leea indica</i> تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت Determination of ED <sub>50</sub> of Leaves aquatic extract of <i>Leea indica</i>	1-4
65	تأثير الجرع المختلفة من للمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت على بعض المعايير الكيموحيوية	1-1-4
65	تأثير الجرع المختلفة من المستخلص المائي لتوت البانديكوت في مستوى المالونالديهيد MDA في مصل ذكور الجرذان البيض	1-1-1-4
66	تأثير الجرع المختلفة من المستخلص المائي لتوت البانديكوت في مستوى الكلوتاثيون المختزل GSH في مصل ذكور الجرذان البيض	2-1-1-4
67	تأثير الجرع المختلفة من المستخلص المائي لتوت البانديكوت في مستوى الكوليستيرول الكلي TC في مصل ذكور الجرذان البيض	3-1-1-4

67	تأثير الجرعة المختلفة من مادة للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL-C في مصل ذكور الجرذان البيض	4-1-1-4
69	التجربة الثانية Experiment 2	2-4
69	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في انزيمات للكبد والبيروبن الكلي	1-2-4
69	التغيرات في معدل مستوى انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP) (U/L)	1-1-2-4
69	التغيرات في معدل مستوى الانزيمات الناقلة لمجموعة الأمين Aspartate Transaminase (AST) Alanine transaminase (ALT) (U/L)	2-1-2-4
69	التغيرات في معدل مستوى البيروبن الكلي Total (T-BIL) Bilirubin (mg/dl)	3-1-2-4
70	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستويات الكلوتاثيون المختزل GSH والمالونالديهيد MDA الديسموتاز الفائق (SOD) و السيتوكروم Cytochrome C Oxidase (COX) و LHP	2-2-4
70	التغيرات في مستويات الكلوتاثيون المختزل GSH (mg/dl)	1-2-2-4
71	التغيرات في مستوى المالونالديهيد (MDA) mg/dl	2-2-2-4
71	التغيرات في مستوى الديسموتاز الفائق Superoxide dismutase (SOD) (mg/dl)	3-2-2-4
71	التغيرات في فعالية السيتوكروم Cytochrome C Oxidase (COX) (U/ml)	4-2-2-4



71	التغيرات في مستوى بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية LHP (Uk/kg)	5-2-2-4
73	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستويات Urea ، Uric acid و Albumin	3-2-4
73	التغيرات في معدل مستوى الكرياتينين Creatinin (Cr) $\mu\text{m/l}$	1-3-2-4
73	التغيرات في معدل مستوى الالبومين Albumin	2-3-2-4
73	التغيرات في معدل مستوى اليوريا وحامض اليوريك Urea and Uric acid	3-3-2-4
74	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستويات هرمون الاريثروبايوتين والكالسيترول وانزيم الرنين	4-2-4
74	التغيرات في معدل مستوى هرمون الاريثروبايوتين (mlU/ml) Erythropoietin (EPO)	1-4-2-4
75	التغيرات في معدل مستوى هرمون الكالستريول Calciterol (pg/ml)	2-4-2-4
75	التغيرات في معدل فعالية بروتين الرنين Renin protenin (ng/ml) activity	3-4-2-4
76	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستويات عامل التنخر الورمي TNF- $\alpha$ والانترلوكين Interleukin 8 (IL-8) و الانترلوكين Interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )	5-2-4
76	التغيرات في معدل مستوى عامل التنخر الورمي TNF $\alpha$ (ng/ml)	1-5-2-4
76	التغيرات في معدل مستوى الانترلوكين (IL-8) (pg/ml)	2-5-2-4

76	التغيرات في مستوى الانترلوكين IL-1 $\beta$ (ng/L)	3-5-2-4
77	التغيرات النسجية	6-2-4
77	التغيرات العيانية	1-6-2-4
77	التغيرات العيانية في الكبد	1-1-6-2-4
78	التغيرات العيانية في الكلى	2-1-6-2-4
80	التغيرات المجهرية	2-6-2-4
80	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في نسيج الكبد	1-2-6-2-4
84	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في نسيج الكلى	2-2-6-2-4
<b>الفصل الخامس</b>		
<b>المناقشة</b>		
87	تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في أنزيمات الكبد ( ALT، AST و ALP ) و T-BIL	1-5
88	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق توت بانديكوت في أنزيمات الكبد ( ALT، AST و ALP ) و T-BIL	2-5
90	تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في مستويات اليوريا Urea ،الكرياتينين Creatinine ، حامض اليوريك Uric acid , والالبومين Albumin	3-5
92	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستويات اليوريا Urea ،الكرياتينين Creatinine ، حامض اليوريك Uric acid , والالبومين Albumin	4-5

93	تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في مستوى الارثروبويتين Erythropoietin وفعالية بروتين Renin ومستوى هرمون الكالسيترون Calciterol	5-5
95	تأثير مستخلص نبات توت البانديكوت في مستوى هرمون الارثروبويتين Erythropoietin وفعالية بروتين Renin ومستوى هرمون الكالسيترون Calciterol	6-5
97	تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في مستويات المالونالديهيد MDA و بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية LHP والديسموتاز الفائق SOD والكلوتاثيون GSH والسايكروم COX	7-5
99	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستويات المالونالديهيد MDA و بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية LHP والديسموتاز الفائق SOD والكلوتاثيون GSH والسايكروم COX	8-5
102	تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في مستويات عامل النخر الورمي الفا TNF- $\alpha$ والانتروكين Interleukin-1 $\beta$ والانتروكين Interleukin- 8	9-5
104	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستويات عامل النخر الورمي الفا TNF- $\alpha$ والانتروكين Interleukin-1 $\beta$ والانتروكين Interleukin- 8	10-5
105	الدراسة النسجية Histological Study	11-5
105	تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في نسيج الكبد	1-11-5
106	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في نسيج الكبد	2-11-5

107	تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في نسيج الكلى	3-11-5
108	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في نسيج الكلى	4-11-5
<b>الفصل السادس</b> <b>الاستنتاجات والتوصيات</b>		
111	الاستنتاجات	
112	التوصيات	
113	المصادر	
151	Summary	

## قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	التسلسل
28	الأجهزة المستخدمة حسب المنشأ والشركة	1-3
29	الأدوات الزجاجية والبلاستيكية حسب المنشأ والشركة	2-3
29	المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة	3-3
70	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستوى انزيمات للكبد و البيلروبين الكلي في مصل ذكور الجرذان البيض	1-4
72	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستوى GSH و MDA و SOD و COX و LHP في مصل ذكور الجرذان البيض	2-4
74	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستوى Creatinin و Albumin و Urea و Uric acid في مصل ذكور الجرذان البيض	3-4
75	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستوى Erythropoietin و Calciterol و فعالية بروتين Renin في مصل ذكور الجرذان البيض	4-4
77	تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت على معدل تركيز عامل التنخر الورمي TNF $\alpha$ والانترلوكين (IL-8) و الانترلوكين IL-1 $\beta$ في مصل ذكور الجرذان البيض	5-4

## قائمة الصور و الاشكال

الصفحة	العنوان	التسلسل
4	صورة توضح اجزاء نبات توت البانديكوت الثمرة (A) الازهار (B) الاذينات (C)	1-2
9	شكل التركيب الكيميائي ثنائي ايثيل نيتروسامين	2-2
35	مخطط تصميم التجربة	1-3
66	شكل تأثير الجرع المختلفة من المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستوى المالونالديهيد MDA بعد 30 يوم	1-4

66	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستوى الكلوتاثيون المختزل GSH بعد 30 يوم	2-4
67	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستوى الكوليسترول الكلي TC بعد 30 يوم	3-4
68	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL بعد 30 يوم	4-4
77	شكل تبين مظهر عياني للكبد لذكور الجرذان البيض	1-4
78	شكل تبين مظهر عياني للكلية لذكور الجرذان البيض	2-4
81	شكل تبين مقطع نسجي في نسيج الكبد لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة	3-4
81	شكل تبين تأثير التجريب الفموي ب 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة ثلاثة اشهر لذكور الجرذان البيض ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 100 X) في نسيج الكبد	4-4
82	شكل تبين تأثير التجريب الفموي ب 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة شهر لذكور الجرذان البيض ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) في نسيج الكبد	5-4
82	شكل تبين تأثير التجريب الفموي ب 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة شهر لذكور الجرذان البيض ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) في نسيج الكبد	6-4
83	شكل تبين تأثير التجريب الفموي ب 60 ملغم / كغم المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في نسيج الكبد لذكور الجرذان البيض ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X)	7-4
83	شكل تبين تأثير التجريب الفموي ب 200 ملغم / كغم من DEN مع التجريب الفموي ب 60 ملغم / كغم المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في نسيج الكبد لذكور الجرذان البيض ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X)	8-4
84	شكل تبين مقطع نسجي في نسيج الكلية لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة	9-4

85	شكل تبين تأثير التجريع الفموي ب 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة ثلاثة اشهر لذكور الجرذان البيض ، بصبغة الهيماتوكسليين والايوسين (H&E 200 X)	10-4
85	صورة تبين تأثير التجريع الفموي ب 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة ثلاثة اشهر لذكور الجرذان البيض ، بصبغة الهيماتوكسليين والايوسين (H&E 200 X) في نسيج الكلية	11-4
86	شكل تأثير التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في نسيج الكلية لذكور الجرذان البيض ولمدة ثلاثة اشهر، بصبغة الهيماتوكسليين والايوسين (H&E 200 X)	12-4
86	شكل تأثير التجريع الفموي ب 200 ملغم / كغم من DEN مع التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسليين والايوسين (H&E 200 X)	13-4

قائمة المختصرات

المختصرات	المصطلحات
ALT	Alanine transaminase
ALP	Alkaline phosphatase
AST	Aspartate transaminase
COX	Cytochrom C oxidase
P450	Cytochrom P450
DEN	Diethyl-nitrosamine
ELISA	Enzyme - Linked Immunosorbent Assay
EPO	Erythropoietin
GSH	Glutathione
GSSG	Glutathione disulfide
GPx	Glutathione peroxidase
GSH-RD	Glutathione reductase
HCC	Hepatocellular Carcinoma
HDL	High Density Lipoprotein
D25	hydroxyvitamin D25
IL-8	Interleukin 8
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 $\beta$
L.S.D	Least Significant difference
<i>L.indica</i>	<i>Lea indica</i>



LHP	Lipid hydroperoxides
MDA	Malondialdehyde
MTT	Mean transit time
NBT	Nitroblue Tetrazolum
ROS	Reactive oxygen species
RBC	Red Blood cell
RAAS	Renin angiotensin aldosterone system
RNA	Ribonucleic acid
SOD	Superoxide dismutase
T-BIL	Total Bilirubin
TC	Total Cholesterol
TNF- $\alpha$	Tumor necrosis factor
TAM	Tumor-Associated Macrophages

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

## المقدمة

### Introduction

#### 1-1 المقدمة Introduction

ان النباتات الطبية تُعد مصادر مهمة للمكونات الفعالة ذات التأثيرات الوقائية والعلاجية نظراً لامتلاكها العديد من الخصائص المضادة للاكسدة وقدرتها على معالجة العديد من الامراض مما جعلها بديلاً فعالاً في العلاج عن استخدام الادوية التقليدية (Salmerón-Manzano *et al.*, 2020). فقد وجد ان النباتات الطبية تحتوي على العديد من المركبات العلاجية الفعالة ، فقد اكدت منظمة الصحة العالمية ان 80% من سكان العالم قد بدؤوا باستخدام النباتات الطبية لعلاج العديد من الأمراض التي تصيب الجسم بما فيها الامراض البكتيرية والفطرية والفايروسية فضلاً عن الامراض المزمنة وامراض المناعة الذاتية كذلك مرض الزهايمر و أمراض السرطان التي تنتج من أسباب مختلفة ( De & De .,2019; Siew *et al.*, 2019).

يعد نبات توت البانديكوت *Leea indica* من اكثر النباتات الطبية الغنية بالمواد المضادة للاكسدة منها الفينولات والفلافونيدات والتربينات والعديد من المركبات الفعالة ذات النشاط المضاد للاكسدة والتي لها دور اساسي في علاج العديد من الأمراض وبشكل خاص امراض السرطان والتهاب المفاصل والتقرحات الجلدية والاكزيما والجروح والاضطرابات الجنسية و الكزاز والتيفوئيد والحمى والسكري والحساسية وغيرها من الأمراض ( Hossain *et al.*, 2016; Harun *et al.*, 2021). فضلاً عن ذلك فقد وجد ان توت بانديكوت يعد من النباتات التي تتميز بفعاليتها في كبح نمو الخلايا السرطانية من خلال قابليتها على تحفيز مسار موت الخلايا المبرمج ، كما بينت العديد الدراسات السابقة دور هذا النبات في تنظيم مستويات السكر والدهون في الدم (Hossain *et al.*, 2021).

إن من اهم العوامل التي تؤثر في صحة الإنسان وجود السموم والملوثات البيئية في الطبيعة ومنها مادة الداى اثيل نايتروسامين (Diethylnitrosamine)(DEN) الذي يوجد على نطاق واسع في العديد من المواد الغذائية مثل منتجات اللحوم المعالجة والحليب والأسماك المملحة والعديد من الخضروات (Park *et al.*, 2015). فضلاً عن وجوده في دخان التبغ والمشروبات الكحولية ومستحضرات التجميل والمواد الكيميائية الزراعية والمياه الملوثة ،

وبذلك تعمل على توليد انواع مختلفة من الجذور الحرة التي تؤثر سلبا على اعضاء الجسم المختلفة ، اضافة الى دورها كمادة مسرطنة للعديد من الخلايا الجسمية بما في ذلك الخلايا الكبدية (Adebayo *et al.*,2020 ; Pariollaud & Lamia,2020).

## 2-1 اهدف الدراسة Aim of Study

نظرا لارتفاع نسبة الاصابة بالاورام السرطانية ونظرا للعديد من التأثيرات السمية التي تسببها مادة الداى اثيل نايتروسامين (Diethylnitrosamine (DEN) ووجودها في العديد من المنتجات الغذائية والكيميائية ، ونظرا لقلّة الدراسات التجريبية التي تناولت دراسة تأثير أوراق نبات توت البانديكوت ضد الأورام السرطانية لذلك تضمنت الدراسة المحاور الحالية التالية :

### اولاً : المحور الفسلجي

- 1- دراسة تأثير مادة DEN على بعض انزيمات الكبد الوظيفية (AST , ALT , ALP ، T-Bil ، ومعايير وظائف الكلى ( uric acid ، urea ، Albumin و Creatinin)
- 2- دراسة تأثير مادة DEN على عامل التتخر الورمي TNF- $\alpha$  والانتروكينات ( IL-8 ، IL-1 $\beta$  ) و سايتوكروم Cytochrom oxidase (COX) و Lipid hydroxyl و peroxide (LHP)
- 3- دراسة الدور الوقائي للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ضد الاجهاد التاكسدي المستحث بمادة DEN من خلال قياس مستوى GSH و MDA و SOD .
- 4- دراسة تأثير مادة DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت على فعالية هرمونات الكلى (الاريثروبويتين Erythropoietin و الكالستيرون calciterol ) و فعالية انزيم الرنين Renin

### ثانياً : المحور النسجي

- 1- دراسة التغيرات النسجي المتسبب عن مادة DEN في نسيج الكبد والكلى
- 2- دراسة الدور الوقائي للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في نسيج الكبد والكلى

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

## استعراض المراجع

### Literature Review

#### 1-2 توت البانديكوت *Leea indica*

الاسم الشائع : توت البانديكوت

الاسم الانكليزي bandicoot berry

الاسم العلمي *Leea indica*

التصنيف العلمي للنبات :

**Kingdom:** Plantae

**Division:** Magnoliophyta

**Class :** Eudicots

**Order :** Vitales

**Family :** *Leeaceae*

**Genus :** *Leea*

**Species :** *Leea indica*

(Hossain *et al.*,2021)

يعد توت البانديكوت من الأشجار التي تتواجد في الهند و الصين وماليزيا وشبة الجزيرة الملايو في تايلاند وجزيرة سومطرة في اندونيسيا ، يتراوح طول أوراق هذا النبات من 9 - 12 سم وتكون مختلفة من حيث الشكل والحجم (Daryaganj, 2019) سيقانها خشبية قوية وازهارها ذات لون أبيض مخضر ذات أشواك كبيرة ثلاثية التفرع ومرتفعة على سيقان قصيرة (Srinivasan *et al.*, 2009) ، أما الثمار تكون سوداء ارجوانية اللون وتحتوي

حوالي ستة بذور بقطر 1 سم تقريبا (Lok *et al.*, 2011) ينتمي هذا النبات إلى العائلة الكرمية Vitaceae والتي تضم أكثر من 70 نوعا تم توزيعها على نطاق واسع في جميع أنحاء شمال استراليا وجنوب شرق آسيا وأجزاء من أفريقيا ومن هذه الأنواع هي *Leea macrophylla* ، *Leea asiatica* ، *Leea aequata* ، *Leea rubra* و *Leea guineensis* (Hossain *et al.*, 2021).



صورة (1-2) توضح أجزاء نبات توت البانديكوت الثمرة (A) الأزهار (B) الاذينات (C) (Khuniad *et al.*, 2022)

## 2-2 الخصائص العلاجية لتوت البانديكوت *Leea indica*

يملك توت البانديكوت *Leea indica* أهمية طبية واسعة في جميع أنحاء العالم ، إذ يستخدم لعلاج العديد من الاضطرابات الصحية ، فقد تم استخدامه كعلاج للعديد من مشاكل البشرة والحمى و الالام المفاصل والدوار فضلا عن استخدامه لعلاج الاضطرابات الهضمية كالاسهال والقرحة المعدية (Daryaganj, 2019 ; Deepa *et al.*, 2017) وهي تمتلك نشاط مضاد للسرطان ومضاد للميكروبات والسكري واضطرابات الكبد والاعوية الدموية والجهاز العصبي المركزي وكذلك يستخدم كعلاج للروماتيزم والكسور والجروح والزرار والاضطرابات الجنسية (Hossain *et al.*, 2021) فضلا عن استخدام هذا النبات لعلاج الالتهابات الفيروسية وبعض انواع السرطانات كونه من النباتات الغنية بمضادات الاكسدة (Khuniad *et al.*, 2022) إذ تحتوي أوراق هذا النبات على الهيدروكربونات Hydrocarbons, وحامض البالمتيك Palmitic acid و مشتقات الفثالات Phthalate وحامض الغاليك gallic acid وحامض الإيلاجيك gallic acid والسولانيسيون Solanesol, و الفيتوسترول Phytosterols, والتريتربين Triterpenes, والكاتيكين Catechins, والتانينات Tannins و الفلافونيدات Flavonoids, والكومارين

Coumarins, والمجاستيجماتانات Megastigmanes, والاكسيليبينات Oxylipins (Wong *et al* , 2012 ; Srinivasan *et al* 2008) وبينت دراسات اخرى ان اوراق هذه النباتات تحتوي على مكونات كيميائية اخرى مثل القلويدات Alkahoid واللجنين lignins والصابونين saponins, والستيروول sterols, والانثراكينوات anthraquinone, (Ghagane *et al.*, 2017)

اكادت بعض الدراسات ان مستخلص اوراق توت البانديكوت يمتلك خاصية مضادة للاكسدة ويمكن اعتبارها عاملا مضادا للملاريا ( Sulistyaningsih *et al* . 2017 ) حيث بينت الدراسات ان المكونات الكيميائية لمستخلص اوراق توت البانديكوت تمتلك قدرة على اكتساح الجذور الحرة ROS مما يمنحها تاثيرات مضاد للاكسدة (Emran *et al.*, 2012) فضلاً عن دوره في تنظيم ضغط الدم و تقليل مستويات الكلوكوز والدهون في الدم (Dalu *et al.*, 2014) إذ تم استخدام النباتات كدواء تقليدي منذ العصور القديمة ولايزال الإقبال متزايد على استخدام الأدوية العشبية بسبب قدرتها العلاجية العالية وسهولة استخدامها وقدرتها على التكيف بشكل كبير مع جسم الانسان (Hettihewa & Indunika, 2021)

## 3-2 الخصائص المضادة للسرطان لتوت البانديكوت Anticancer effects of

### *Leea indica*

يُعرّف السرطان بأنه انقسام سريع غير مسيطر عليه يحدث بسرعة كبيرة في الخلايا الحية من خلال زيادة في قابلية الانقسام ، يتطور السرطان عندما يفقد الجسم سيطرته على انقسام الخلايا بشكل طبيعي مما يؤدي إلى تحويل الخلايا الطبيعية إلى خلايا سرطانية ( Hossain *et al.*, 2021). ان النشاط المضاد للسرطان هو نشاط مهم جدا للحفاظ على الجسم من العديد من الامراض وبالتالي الحفاظ على حياة الكائن الحي ، و قد يكون العامل المضاد للسرطان مادة طبيعية أو صناعية أو مادة كيميائية يمكنها عكس أو قمع أو منع تقدم الانقسامات المسببة للسرطان. هناك أكثر من 80٪ من مضادات السرطان الموجودة بالأدوية المشتقة من النباتات. مثل حمض الموليك الفا mollic acid  $\alpha$ -L-arabino-side وحمض الموليك بيتا mollic acid  $\beta$ -D-xyloside الموجودة في اوراق *Leea indica* والتي لها تاثير كابح للعديد من الخلايا السرطانية بضمنها سرطان عنق الرحم (Wong *et al*, 2012)



كما اثبتت فعالية المستخلص الميثانولي والإيثانولي و المستخلصات المائية لأوراق *Leea indica* المثبطة لنمو الخلايا السرطانية ضد نوعين من الخطوط السرطانية من سرطان البروستاتا (DU-145 و PC-3 ) ، وقد أفادت دراسة أجراها Raihan وآخرون (2012) أن للمستخلص الميثانولي لأوراق نبات *Leea indica* نشاطاً مضاداً للأورام ضد الخلايا السرطانية نوع Ehrlich Ascites Carcinoma cell في الفئران البيضاء ، فقد أظهرت النتائج أن حقن المستخلص تحت البريتون بجرعة 40 ملغم / كغم أظهر أقصى نشاط مضاد للأورام بنسبة 77.29% من تثبيط نمو الخلايا السرطانية، كما لوحظ انخفاض في وزن الورم وكذلك زيادة في العمر الافتراضي للخلايا (Raihan et al., 2012)، وبذلك يمكن القول إن هذه النبتة فعالة ضد عدة أنواع من السرطانات (Hossain et al., 2021) .

تعمل العديد من المركبات الفعالة مثل الفينولات والبوليفينول والفلافونويد بنشاط مضاد للأكسدة وتقوم باكتساح الجذور الحرة المتكونة في الخلايا والأنسجة والأعضاء التي تعد أحد الأسباب الرئيسية التي تؤدي إلى تطور السرطان ، إذ يُعتقد أن أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) تلعب دوراً مهماً في العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان واهمها السرطان ( Diplock, 1997). كما تم استخدام مستخلص توت البانديكوت *Leea indica* ضد العديد من خطوط الخلايا السرطانية ، بضمنها خطوط خلايا سرطان الثدي و خلايا سرطان عنق الرحم ، كما لوحظ أن له دور في حث موت الخلايا المبرمج (Wong et al., 2012) .

اظهر تقييم للنشاط المضاد للانقسام للمستخلصات النباتية ضد خطوط الخلايا السرطانية غالباً في اختبار Mean transit time (MTT) (وهو اختبار يستخدم لفحص السمية الخلوية ) بوجود مؤشرات حول أنشطتها الفعالة المضادة للسرطان (Nurhanan et al., 2008) اذ اظهر المستخلص الكحولي لأوراق توت البانديكوت نشاط ملحوظ مضاد للانقسام ضد سلالات خلايا سرطان الثدي (MCF-7) breast carcinoma cells . وقد اظهر نشاطاً كبيراً ضد خلايا الخطوط السرطانية ، وقابليتها في حث موت الخلايا المبرمج اضافة الى استنفاذ الكلوتاثيون (GSH) داخل الخلايا السرطانية و تنشيط انزيم (caspase-3) (wong et al., 2011) كما تم تقييم فعالية مستخلص توت البانديكوت ضد ثلاثة خطوط لسرطان القولون البشري ، HT-29 و HCT-15 و HCT-116 ، واثبت وجود نشاط مضاد لتكاثر الخلايا في الخطوط السرطانية (Reddy et al., 2012) .

أكدت إحدى الدراسات على النشاط المضاد للانقسام لأوراق توت البانديكوت على اثني عشر سلالة من الخلايا السرطانية البشرية المستحصلة من الثدي (MDA-MB- 231 ، T47D) وعنق الرحم. (C33A) ، القولون (HCT116) ، اللوكيميا (U937) ، الكبد (HepG2 ، SNU-182 ، SNU-449) ، المبيض (OVCAR-5 ، PA-1 ، SK-OV-3) والرحم (MES-SA / DX5). أظهرت جميع مستخلصات أوراق توت البانديكوت الكحولية والمائية نشاطاً قوياً مضاداً للتكاثر ضد جميع سلالات الخلايا التي تم اختبارها. وظهرت فعالية عالية جداً ضد الخلايا السرطانية لعنق الرحم C33A ، الكبد SNU-449 ، والمبيض PA- 1. (Siew *et al.*, 2019) ، وفي دراسة أجريت لتحديد الخاصية المضادة للاكسدة والنشاط المضاد للسرطان لمستخلص أوراق توت البانديكوت في سرطان البروستات البشري إذ أكدت نتائج هذه الدراسة ان المستخلص يمتلك قدرة عالية كمادة مضادة لنمو الخلايا السرطانية فضلاً عن دورها كمادة مضادة للاكسدة (Ghagane *et al.*, 2017) .

## 4-2 الخصائص المضادة للاكسدة لتوت البانديكوت Antioxidant activity of *Leea indica*

إن عملية الأكسدة سلسلة من التفاعلات الكيميائية التي تنتج الجذور الحرة، مما يؤدي إلى إتلاف الخلايا للكائنات الحية ، وتلعب مضادات الأكسدة دوراً حيوياً في الحفاظ على الصحة عن طريق المحافظة على التراكيب الخلوية مثل الحمض النووي والاغشية الخلوية من عمليات الأكسدة (Hossain *et al.* , 2021) تعمل مضادات الأكسدة بشكل مباشر أو غير مباشر على التخلص من أنواع الأكسجين التفاعلية و التحكم في إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية ، إذ تعمل المركبات الفينولية ، والفلافونويد ، والقلويدات ، والأحماض الأمينية غير البروتينية بشكل متناسق مع الإنزيمات المضادة للاكسدة مثل Superoxid Dismutase (SOD) ، catalase (CAT) من أجل التقليل من إنتاج ROS . (Hasanuzzaman *et al.* , 2020)

واكدت العديد من الدراسات إن استخدام المستخلص الكحولي لأوراق توت البانديكوت يمتلك نشاط مضاد للاكسدة ، إذ اثبتت كفاءته في اكتساح الجذور الحرة و يعزى ذلك الى احتواءه على التربينويدات ، الستيرويدات ، الصابونين والعديد من المركبات الفعالة الاخرى (Khuniad *et al.*,2022). أن المركبات الفينولية تمتلك نشاطاً مضاداً للاكسدة نظراً لخصائص الأكسدة

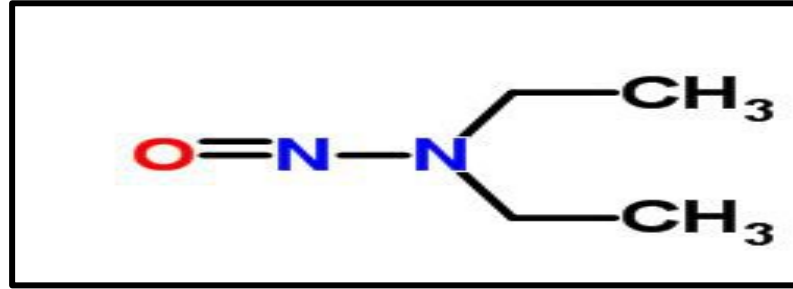
والاختزال التي تسمح لها بالعمل كعوامل اختزال أو مانحة للهيدروجين (Luna- Guevara *et al.*, 2018). بشكل عام ، وجدت العديد من الدراسات ان توت البانديكوت يمتلك نشاطاً وقائياً للكبد عن طريق تخفيف الأضرار الناجمة عن الإجهاد التأكسدي ، فقد أظهر المستخلص الإيثانولي لساق التوت بانديكوت نشاطاً وقائياً ضد السمية الكبدية التي يسببها الباراسيتامول في الجسم الحي وانه يقلل وبشكل كبير المستويات المرتفعة من إنزيمات الكبد في المصل و البيليروبين و الدهون الثلاثية و بالتالي تكون مسؤولة عن التأثير الوقائي للكبد (Mishra *et al.*, 2014).

أظهر تحليل النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلص الميثانولي لاوراق توت البانديكوت لديه القدرة على تثبيط جذر الاوكسجين الفائق Superoxide هو عامل مؤكسد و مصدر مهم لأنواع الأكسجين التفاعلية (ROS). بضمنها جذور الهيدروكسيل (Alves *et al.*, 2010) الذي يتوسط العديد من الاضطرابات المرضية المختلفة ويمكن أن يسبب خلل في التنظيم الحيوي للخلية ، فضلا عن إنه يلعب دوراً مهماً في التسرطن والطفرات الوراثية ودوره في احداث السمية الخلوية ، نظراً لقدرة على التفاعل مع الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة في الاغشية الخلوية (Khan *et al.*, 2012). كما وجد أن مستخلص توت البانديكوت له تأثيراً مثبتاً قوياً لأكسيد النيتريك (NO) ، وقد أفاد Sakib و اخرون (2021) في الأونة الأخيرة أن مستخلص أوراق *L. indica* كان له نشاط تثبيطي لانحلال كريات الدم Hemolysis مقارنة بالعديد من العقاقير غير الستيرويدية المضادة للالتهابات ، فضلا على ان مستخلص أوراق توت البانديكوت تعمل على زيادة وتحسين مستويات إنزيمات مضادات الأكسدة الذاتية وله نشاط قوي في إزالة الجذور الحرة (Hossain *et al.*, 2021) .

## 2-5 الخصائص العامة للمادة الكيميائية Diethyl-nitrosamine (DEN)

الاسم الكيميائي N,N-Diethylnitrous amide

التسميات الأخرى Diethylnitrosamine ; N-Ethyl-N-nitrosoethanamine ;  
NDEA ; DENA



شكل(2-2) يوضح التركيب الكيميائي ثنائي إيثيل نيتروسامين (Tolba *et al.*, 2015)

ثنائي إيثيل نيتروسامين (DEN) هو مركب كيميائي عضوي سائل ذات لون اصفر ويُعد من المواد المطفرة والمسرطنة ويصنف على أنه نتروزامين ذات صيغة كيميائية  $C_4H_{10}N_2O$  , درجة غليانه 177 درجة سليزية ( 351 F ) وكثافته 0.95 غرام/مل , والكتلة المولية 102.14 غرام/مول ( Verna *et al.*, 1996 ). ويُعد من الملوثات الضارة الذي يوجد على نطاق واسع في العديد المواد الغذائية مثل منتجات اللحوم المعالجة والحليب والمشروبات الكحولية والأسماك المملحة والعديد من الخضروات (Park *et al.*, 2015). فضلا عن ذلك ، فهو موجود في دخان التبغ ، ومستحضرات التجميل ، والمواد الكيميائية الزراعية ، والادوية الصيدلانية ، والمياه الملوثة (Norwood *et al.*, 2009)

يمثل التعرض للأغذية والملوثات البيئية خطراً كبيراً على صحة الإنسان والحيوان. وقد ثبت أن الآثار الضارة لـ DEN تتمثل زيادة إنتاج الجذور الحرة والالتهابات وتضرر المادة الوراثية DNA. (Owumi *et al.*, 2019) وقد أُثبت أن مادة DEN لها تأثيرات مسرطنة للفئران والهامستر والجرذان وخنزير غينيا والأرانب فضلاً عن تأثيراته المسرطنة على البشر . وبالتالي ، يتم استخدام DEN على نطاق واسع كمادة مسرطنة تجريبية (Tae *et al.*, 2011). وفي دراسة أُجريت على الجرذان وجد ان التعرض لمادة DEN يسبب سرطان الخلايا الكبدية وايضا وجد انه يحفز من انقسام الخلايا الكبدية ويعزز من حجم الورم وبالتالي تلف الحمض النووي DNA كما وجد ان لها دور في حدوث تشمع الكبد من خلال دوره في تلف الخلايا الكبدية (Bannasch,2012) ويكون استقلابه سريعاً حيث يتم التخلص منه في مجرى الدم بشكل تام خلال 4 ساعات أما في حالة حدوث اضطراب في عملية الايض فهذا يتطلب مدة اكبر تستغرق حوالي 24 ساعة لكي يتم التخلص منه (Khan *et al.*,2011) .

## 6-2 التأثيرات السمية لمادة Diethyl-nitrosamine (DEN) في الجسم

تعد النيتروسامينات المختلفة من المواد المسببة للسمية الكبدية الحادة والمسرطنة في الكثير من أنواع الحيوانات ومنها مادة DEN. والتي تعطى عن طريق الفم أو الحقن في التجارب التي تجرى على اغلب القوارض بجرعات عالية وفعالة لغرض إستحداث أورام الكبد (Emre *et al.*, 2018). يتم استقلاب مادة DEN بشكل أساسي في الكبد و تحويله إلى مستقلبه الضار ، N - acetyl - p benzoquinoneimine ، عن طريق السيتوكروم Cytochrom P450 (Ding *et al.*, 2017) وخاصة إنزيمات Cytochrom 2E1 ، مما ينتج عنه نواتج مستقلبات حاوية على مجموعة الالكيل التي لديها القدرة على حدوث التهابات كبدية واتلاف الحامض النووي وتعزيز موت الخلايا المبرمج ويؤدي في النهاية الى الاصابة بسرطان الكبد. (Li *et al.*,2019; Owumi *et al.*, 2019) إذ أن الاستجابات الالتهابية التي يسببها DEN تساهم في نمو مفرط لخلايا الكبد والتي يمكن ان تحفز سرطان الخلايا الكبدية لاحقا (Fujii *et al.*,2013).

تسبب مادة DEN زيادة تحرر ATP من الخلايا الكبدية المتضررة مستهدفة بذلك الخلايا الالتهابية لإعادة دورة ضرر الخلايا الكبدية مسببة في ذلك تكاثر غير مسيطر عليه للخلايا الكبدية hepatocytes وتكوين السرطان Carcinogenesis (Schulien *et al.*,2020). اذ تسبب مادة DEN توليد عدد كبير من الجذور الحرة التي لها دور كبير في حدوث الأضرار الكبدية نتيجة حدوث الاجهاد التاكسدي. (Adebayo *et al.*,2020). وبالتالي حدوث خلل في توازن مضادات الاكسدة الانزيمية الموجودة في الجسم إذ تعمل على قمعها بما في ذلك ديسموتاز الفائق (SOD) ، الكاتالاز (CAT) وبذلك يحدث تلف الحامض النووي نتيجة لزيادة الجذور الحرة وانخفاض نسبة مضادات الاكسدة فضلاً عن دورة في حدوث تنخر للخلايا الكبدية (Li *et al.*,2019). وكذلك زيادة استهلاك وتنشيط فعالية الانزيمات المضادة للأكسدة ، بما في ذلك glutathione reductase (GR) و Glutathione S transferase (GST) ، وخفض الجلوتاثيون (GSH) ، بعد إعطاء DEN (Singh *et al.*,2018) حيث تعمل مادة DEN على اكسدة كلاً من الحامض النووي DNA و RNA. كما وجد انها تسبب انخفاض في التعبير الجيني للانزيمات المضادة للاكسدة . (Santos *et al.*,2014)

أثبتت إحدى الدراسات السابقة حدوث خلل في وظائف الكلى في الحيوانات المعرضة للنيتروزامين nitrosamine (Ding *et al.*, 2017) حيث يتفاعل النيتريت في المعدة مع الأحماض الأمينية الموجودة في الأطعمة لإنتاج مركبات مثل النيتروسامين والجذور الحرة ، توجد العديد من مركبات N-nitroso التي تسبب أمراضاً خطيرة مثل السرطان في جميع الحيوانات (Zhang *et al.* 2019). تسبب النيتروزامينات أمراضاً سرطانية من خلال تفاعلها مع أنسجة الجسم والتي تعزز الأكسدة الفائقة للدهون Lipid peroxidation وتحفز ROS ، مما يؤدي إلى تغيير الأنظمة الدفاعية المضاد للأكسدة والإجهاد التأكسدي في الأنسجة وإصابة الخلايا ، والتي قد تكون أحد العوامل المسببة للسرطان (Mittal *et al.*, 2006) كما تعمل النيتروزامينات على تحفيز سرطانات عديدة منها المريء والأمعاء الدقيقة والمعدة ( Sellimi *et al.*, 2017; Vickers, 2017 )

كما أكدت بعض البحوث أن التفاعلات الكيميائية - البيولوجية التي تعقب التعرض للمواد الكيميائية تؤدي إلى تأثيرات محفزة أو مثبطة بفعل انزيمات مضادات الأكسدة (Groten *et al.*, 2001). وايضا تُعد هذه المادة مجالاً رئيساً في علم السموم الكيميائية ، هناك ندرة في المعلومات العلمية حول طبيعة التعرض لمادة DEN في مجموعة الملوثات البيئية المعتادة. للجسم الحي (Ding *et al.*, 2017)

ويعد ثنائي إيثيل نيتروسامين (DEN) أحد أكثرها المواد السامة التي يمكن أن تسبب نتخرات عديدة وما يترتب على ذلك من تليف كبدي Liver fibrosis ( Starkel & Leclercq, 2011; Kim *et al.*, 2016) كما تسبب مادة DEN ترسب مفرط لبروتينات الكولاجين في كبد الفئران وكذلك انها مناسبة لدراسة الأحداث المبكرة المرتبطة بتطور التليف الكبدي (Rodríguez *et al.*, 2020). كما يحفز DEN سرطان الخلايا الكبدي عن طريق زيادة التعبير عن البروتينات المنظمة لمرحلة G1 / S عن طريق تعزيز التغييرات في التعبير عن العوامل المنظمة لدورة الخلية (Park *et al.*, 2009) حيث أصبح DEN نموذجاً تجريبياً مهماً لدراسة تكوين أورام الكبد آلية التليف المرتبطة بدورة الخلية والتهاب الكبد الذي يؤدي الى تكوين سرطان الكبد (Tolba *et al.*, 2015).

يؤدي تناول كميات صغيرة من ثنائي إيثيل نيتروسامين (DEN) أو ثنائي ميثيل نيتروسامين (DMN) عن طريق الفم، إلى تلف شديد في الكبد. أبرزها ارتشاح كبير للخلايا العذلة ، وتنخر

في الخلايا الكبدية ، انسداد القناة الصفراوية ، نظراً لقوة التغييرات الكبدية المستحثة (Tolba *et al.*, 2015) ومع ذلك ، فقد أظهرت العديد من الدراسات أن التأثيرات النيتروزامين المسرطنة للكبد قد تختلف باختلاف التركيب الوراثي للحيوانات وبنسبها وعمرها وغيرها من العوامل (Alsaqli *et al.*, 2021) كما وجد حدوث اضطرابات الساعة الحيوية اليومية للفئران بعد تعرضها بمادة (DEN) يزيد من وتيرة تكوين الورم ، إذ يرجع ذلك جزئياً إلى زيادة التعبير عن الجين الورمي (c-Myc) وانخفاض التعبير الجيني للجين المثبط للأورام p53 (إذ يقوم بتنظيم دورة الخلية والذي يلعب دوراً مهماً في كبح الأورام والوقاية من السرطان) (Filipski & Lévi, 2009) وتعزيز التأثير الكبدية المسرطن الناجم عن DEN ، بالإضافة إلى اختلافات التوقيات اليومية يؤثر أيضاً مجموعة متنوعة من الأورام الكبدية في الفئران مثل: سرطان الأوعية الصفراوية BileDuct Cancer والساركوما Sarcoma والأورام المختلطة والأورام الكبيرة (Filipski *et al.*, 2009). كما أن الـ DEN لديه القدرة على تعطيل إيقاعات الساعة البيولوجية من نشاط الراحة ودرجة حرارة الجسم لدى الفئران (Mteyrek *et al.*, 2016).

## 7-2 التمثيل الغذائي لمادة ثنائي اثيل نيتروزامين Metabolism of diethyl-nitrosamine (DEN)

توجد النترات بتراكيز قليلة في الجسم و يتم الحصول عليها بشكل اساسي من الخضروات والفواكة ، كما يتم انتاج جزء صغير منها من تفاعلات الأوكسدة. إذ يتم تحويل النترات الغذائية إلى نترت من خلال البكتيريا اللاهوائية الموجودة في تجويف الفم. يمكن اختزال النترت إلى اكسيد النترت NO ويمكن أن يتأكسد كلاهما إلى نترات ، يلعب كلا من الكبد و الكلى دوراً رئيسياً في عملية التمثيل الغذائي و التخلص من المركبات الضارة بما في ذلك DEN. يتم إخراج حوالي 75٪ من النترات عن طريق البول ، ويتم امتصاص الباقي من بواسطة الكلى والقنوات الصفراوية أو تمتصها الغدد اللعابية التي تفرز في اللعاب من خلال بروتين sialin أو غيرها من قنوات النقل غير المحددة. (Wang *et al.*,2022).

عندما يضاف النترت كمضافات غذائية فإنه يمكن أن يتفاعل مع الأمينات الموجودة في المعدة وينتج النتروزامين أو العديد من الجذور الحرة المعروف أنها تسبب الإجهاد التأكسدي الضار. (Aboulgasem *et al.* , 2015). يتفاعل نترت الصوديوم أيضاً مع

الهيموغلوبين Hemoglobin في الدم لتكوين Methaemoglobinaemia ، مما يؤثر على عمليات تكوين الدم وهذا يعني توفر كمية أقل من الهيموغلوبين لحمل الأكسجين ( El-0 Nabarawy et al. , 202 ). حيث يكون أكسيد النترريك NO في الغدد الصم هو محفز للتفاعلات في الأعضاء الرئيسية ، وأكسدة أكسيد النترريك تؤدي إلى إنتاج النترت في الغذاء و الأنسجة ، حيث يتم اختزال النترت إلى اوكسيد النترريك NO نتيجة لعملية نقص الاوكسجين Hypoxic . وان الزيادة في استهلاك كمية النترت عن طريق مسارات الاستقلاب المؤكسدة يؤدي الى انتاج النترت . (Curtis et al., 2012)

بعدها يتم تحول النترات إلى نتروز Nitrous في المعدة ثم يتم فصله تلقائيًا عن أكاسيد النيتروجين وبضمنها أكسيد النيتريك. ويتم تحويل النترات والنترت التي يتم تناولها إلى أكسيد النيتريك بسرعة إلى الأمعاء والمستويات الناتجة سوف تكون أعلى من المستويات الداخلية المنتجة لتكوين أكسيد النيتريك من الأرجينين (Ma et al. , 2018) .

## 8-2 الكبد Liver

عضو غدي في الجسم يتراوح وزنه من (1- 2.3) كغم لونه بني محمر , يقع في الجانب الأيمن من التجويف البطني أسفل الحجاب الحاجز مباشرةً ( Scanlon and Sanders, 2018 ) و يتكون الكبد تشريحياً من أربع فصوص هامة هي الفص الأيمن والفص الأيسر والفص المذنب والفص المربعي ويفصل بين هذه الفصوص أربطة رئيسية وهي الرباط المدور Ligamentum teres والرباط الوريدي Ligamentum venosum والرباط المنجلي ligamentum Falciforme . (Ibrahim ,2020) تتكون فصوص الكبد من وحدات صغيرة تدعى الفصيصات Lobules والتي تُعد الوحدات الوظيفية الأساسية للكبد ويتشكل الفصيص الواحد من صفائح متفرعة أو أشرطة تدعى الخلايا الكبدية Hepatocytes وفي الأصل هي خلايا طلائية. (Huang et al.,2022) . يحتوي الكبد على خلايا تدعى خلايا كوپفر Kupffer cells تعمل هذه الخلايا على تحلل كريات الدم الحمراء القديمة ، كما تقوم هذه الخلايا الكبدية بالدفاع ضد الميكروبات التي تصيب الجسم ( Young et al ,2013 ) تتميز الخلايا الكبدية بامتلاكها القدرة على تجديد نفسها والتي تكون عملية ضرورية للحفاظ على وظائفها الطبيعية (Huang et al.,2022)



تدخل الشرايين والأوردة والأعصاب إلى الكبد عن طريق الشق البابي portal fissure ، إذ يدخل الوريد البابي portal vein إلى الكبد محملاً بالدم من المعدة والبنكرياس والطحال والأمعاء الدقيقة والأمعاء الغليظة ، أما الشريان البطني الذي يتفرع منه الشريان الأورطي البطني Coelic artery و الشريان الكبدي Hepatic artery فيدخل إلى الكبد حاملاً الدم الشرياني المؤكسج ، في حين تتحد الأوردة المركزية لجميع الفصيصات لتشكل الأوردة الكبدية التي تنتقل الدم من الكبد إلى الوريد الأجوف الأسفل ( Scanlon and Sanders, 2018)

يقوم الكبد بالعديد من الوظائف الهامة في الجسم منها التمثيل الغذائي للكاربوهيدرات Carbohydrates metabolism ، إذ يلعب الكبد دوراً مهماً في تنظيم مستوى السكر في الدم ، وله دور هام في أيض الدهون ويعمل على تحويل الدهون المخزونة في الأنسجة إلى أشكال أخرى يمكن من خلاله تجهيز الجسم بالطاقة وكما له دوراً مهماً في أيض البروتينات (Wang et al.,2021) .

## 9-2 الكلية Kidney

الكلية هي عضو هام في الجسم تكون بشكل يشبه حبة الفاصوليا ، وتقع في تجويف البطن على جانبي العمود الفقري تحت الحجاب الحاجز ، وتكون الكلية اليسرى بمستوى أعلى من الكلية اليمنى و تستلم الكلى ما يقارب 25% من النتاج القلبي ، إذ تشكل نسبة الدم الداخلة للكلية في منطقة القشرة حوالي 85 % وفي منطقة اللب الخارجي حوالي 14% وفي اللب الداخلي حوالي 1% (Radi, 2019) ، يمثل النفرون الوحدة الوظيفية للكلية ، وتتألف الكلية الواحدة من حوالي مليون نفرون وتضم تقريباً 40 نوعاً مختلفاً من الخلايا (Lake et al., 2019)

إن الوظيفة الأساسية للكلية تتحقق من خلال أربع عمليات رئيسية هي الترشيح الكبيبي Glomerular filtration (GF) وإعادة الامتصاص Reabsorption والافراز Secretion والأخراج Excretion ( Park et al.,2018; Alelign & Petros et al., ) 2018) إذ تعمل على تنقية الدم من الفضلات بعملية الترشيح الكبيبي ، ويمكن الحفاظ على هذه الوظيفة حتى بعد فقدان نصف العدد من النيفرونات الكلوية ، وهذا هو السبب في أن الشخص السليم يمكن أن يتبرع بكلية واحدة ليخسر 50% من النيفرونات الكلوية ويحافظ على معدل

الترشيح الكبيبي الطبيعي (Kramer, 2019) كما تقوم الكلى بالعديد من الوظائف الهامة في الجسم ابرزها هي الحافظ على التوازن الحامضي و القاعدي وتوازن الكهارل والاوزموزية وازلة الفضلات الضارة والمحافظة على تنظيم الماء في الجسم ، فضلاً عن افراز هرمون الارثروبويتين Erythropoietin والكالستترول Calcitriol ، و تُعد الكلية من اكثر الأعضاء عرضة إلى المواد السمية الناتجة عن الأدوية بسبب حجم الدم الكبير القادم اليها من القلب (Chamanza et al., 2019) .

## 10-2 سرطان الكبد (HCC) Hepatocellular carcinoma

ان سرطان الخلايا الكبدية (HCC) الشكل الأكثر شيوعًا لانواع سرطانات الكبد ، وهو احد اهم اسباب الوفيات في جميع أنحاء العالم.(Saber et al., 2019)

يعد سرطان الكبد (HCC) من أنواع السرطانات الخبيثة و غالبًا ما يتم تشخيصه في مرحلة متقدمة من المرض ، ويعد تليف الكبد السبب الأكثر شيوعًا لتطور سرطان الخلايا الكبدية . (Machairas et al., 2022) من الممكن أن يُصاب الفرد بسرطان الكبد الأولي Primary cancer الذي ينشأ من اصابة الخلايا الكبدية مباشرة نتيجة تعرض الخلايا الكبدية لفترات طويلة الامد للمسببات المرضية او المواد الكيماوية أو الالتهابات المزمنة والتي تؤدي إلى تحول هذه الخلايا إلى خلايا سرطانية، (Li et al., 2022) وفي معظم الحالات يكون سرطان الكبد ثانويًا Metastasis cancer ، أي أن الورم السرطاني موجود في عضو آخر من الجسم وانتقل بعد ذلك الى الكبد (Vogel et al., 2022)

يمر الكبد بالعديد من المراحل المرضية حتى يصاب بالسرطان ، فمثلا عندما يصاب الكبد بعدوى فيروسية تبدأ المرحلة الأولى وهي مرحلة الالتهاب الكبدي، إذ يقوم الكبد في هذه المرحلة بإصلاح نفسه وتكوين خلايا كبدية جديدة إلا أن تكرار الإصابة واستمرارها يترتب عليه تكوين نسيج ندبي يحل محل خلايا الكبد الطبيعية ومع تزايد حجم النسيج الندبي خلال هذه المرحلة تقل قدرة خلايا الكبد على القيام بوظائفها وينتقل الكبد من مرحلة الالتهاب الكبدي إلى المرحلة الثانية وهي التليف الكبدي liver fibrosis، ومع استمرار أسباب التليف لفترة زمنية طويلة يصاب الكبد بتليف شديد يعرف باسم تشمع الكبد liver cirrhosis وهي مرحلة متقدمة من مراحل تليف الكبد، وهذه المرحلة يليها مرحلة سرطان الكبد. (Rajapaksha, 2022;Loosen et al.,2022)

كما إن سرطان الكبد يمكن أن ينشأ عندما يحدث تغيراً في الحمض النووي لخلايا الكبد (طفرات) ، اذ تؤدي طفرات الحمض النووي الى حدوث خلل في عمليات الانقسام الخلوي (Morris *et al.*,2022) ومن نتائج ذلك أن الخلايا قد تبدأ في النمو خارج نطاق السيطرة، وتشكل أوراماً أي كتلة من الخلايا السرطانية ، وبعد ذلك تتطور الخلايا الكبدية السرطانية إلى عقيدات ورمية صغيرة (Sanduzzi-Zamparelli *et al.*,2022) .

## 11-2 السيتوكروم C اوكسيدز Cytochrom C oxidase (COX)

إن السيتوكرومات عبارة عن بروتينات نشطة تمتلك القدرة على الاكسدة والاختزال وتحتوي نواتها على ذرة حديد مركزية يتم التعبير عنه في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا ، و توجد اربع فئات من السيتوكروم تصنف حسب طريقة ربطه وعلى نوع الهيم وهي سايتوكروم (A,B,C,D) . (Deng, 2020) يعد السيتوكروم C اوكسيدز COX المفتاح الرئيسي في انجاز العديد من العمليات الضرورية للكائن الحي بما في ذلك عملية الفسفرة التاكسدية Oxidative phosphorylation والتي تتضمن اكتساب وتخزين الطاقة خلال عملية تكوين الـ ATP ، كما يعد ايضاً البروتين الحامل للإلكترون و يوجد بكميات كبيرة في تجويف الاعراف cristae للميتوكوندريا وهو يمثل بروتيناً صغيراً (وزنه حوالي 12 كيلو دالتون) ولكنه كبير جداً بالنسبة لبوابات البورين الموجودة في الغشاء الخارجي للميتوكوندريا بحيث لا يمكن اختراقه أو المرور عبر بوابات البورين (Swerdlow,2018 ;Collins ,2016; Althoff *et al.*, 2015)

يعد COX الإنزيم النهائي في السلسلة التنفسية للميتوكوندريا Mitochondrial respiratory chain ، ويقوم بتحويل الأوكسجين الجزيئي إلى جزيئين من الماء ويسمح بانتاج الـ ATP ويتكون من ثلاثة عشر وحدة فرعية ، عشرة منها مشفرة بواسطة الجينات النووية ويعتمد تجميع مركب اوكسيدز النشط على إدخال ثلاثة أيونات من النحاس ، جنباً إلى جنب مع اثنين من الهيم وأيونات مفردة من الصوديوم والزنك والمغنيسيوم ( Shoubridge,2001; Collins ,2016)

## 12-2 الإنترليوكين IL-1 $\beta$ Interleukin-1 $\beta$

هو أحد بروتينات عائلة الإنترلوكين 1 وزنه الجزيئي 31 كيلو دالتون يتم انتاجه من خلال تحفيز بعض خلايا الجهاز المناعي مثل الخلايا البلعمية الكبيرة و الخلايا التائية T-cells والخلايا البائية B-cells و الخلايا الطلائية ، و يُعد عنصراً أساسياً من الاستجابة المناعية الفطرية ويساهم في القضاء على مسببات الأمراض، ويخلق بيئة محفزة للمناعة ، اذ يمكن تعزيز انتشار الخلايا الورمية عن طريق انتاج مستويات عالية من IL-1 $\beta$  بسبب الالتهاب المزمن (Zhana & Veeramachaneni., 2022; Tassi *et al.*, 2010) ويشترك في مجموعة متنوعة من الأنشطة الخلوية بما في ذلك تكاثر الخلايا Proliferation ، التمايز Differentiation ، وموت الخلايا المبرمج (Apoptosis) ( Gelfo *et al.*, 2019; Mantovani *et al.*, 2019). و يقوم ( IL- 1 $\beta$  ) بتحفيز انزيمات الأكسدة ذات الشكل الحلقي 2 Prostaglandin-2/ Cyclooxygenase-2(PTGS2 / COX2) في الجهاز العصبي المركزي (CNS) للمشاركة في فرط الم التهابات ( Gloria & Divid , 2011 )

## 31-2 إنترلوكين 8 (IL-8) Interleukin-8

هو نوع آخر من أنواع الإنترلوكينات التي تنتجها الخلايا البلعمية الكبيرة وكذلك الخلايا الطلائية وخلايا العضلات الملساء الموجودة في المجاري التنفسية والخلايا البطانية (ذات وزن جزيئي 8.5 KDa ) يمتلك (IL-8) أهمية سريرية للكشف عن السرطان والأمراض الالتهابية الأخرى ( Pachauri *et al.*, 2020) ويعد أول كيموكين chemokine تم اكتشافه يحتوي على سلسلة من الأحماض الأمينية متعدد الببتيد , حيث يتم التعبير عنه في العديد من السرطانات اذ يقوم IL-8 بتنظيم الانجذاب الكيميائي بشكل فعال للخلايا العدة البشرية ويؤثر بشكل مباشر على تكوين البروتينات من خلال اصلاح وتنشيط الاوعية الدموية المتضررة او تنبية الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cell على محاربة الخلايا السرطانية ( , Schalper *et al.*, 2020) ، لقد ثبت أن IL-8 يؤثر من الناحية البايولوجية على أنواع عديدة من السرطانات ، بما في ذلك (الورم الميلاني) والبروستاتا والقولون والبنكرياس و الثدي والرئة ( Cheng *et al.*, )

(2019) ويمكن أن يؤثر IL-8 بشكل مباشر على الاورام من خلال تغير صفات الخلايا السرطانية وذلك من عن طريق تحويل مورفولوجية الخلايا السرطانية من النمط الحشوي (الغير واضح) الى النمط الظاهري وذلك من خلال زيادة مستوى الانترلوكين بالدم فقد بينت إحدى الدراسات أن الخلايا السرطانية الكبدية (HCC) قادرة على انتاج ببتيد نيوروتنسين neuropeptide neurotensin الذي يعمل على تحفيز انتاج IL-8 وبالتالي زيادة الاستجابة المناعية (Yu, et al., 2013; Xiao, et al., 2018)

وقد وجد ان IL-8 لا يؤثر فقط على ابراز الاورام السرطانية لكنه يعمل ايضاً على تغيير البيئة المحيطة بالاورام وكذلك يعمل على تحفيز الخلايا المناعية المثبطة للاورام القادرة على تنشيط الاستجابة المناعية ، فقد لوحظ دورة في تحويل الخلايا الوحيدة إلى خلايا بلعمية مرتبطة بالورم Tumor-Associated Macrophages (TAM) أو تجنيد الخلايا الكابتة المشتقة من النخاع الشوكي myeloid derived suppressor cells (MDSC) الى Tumor Microenvironmen (TME) (Ostrand-Rosenberg & Fenselau, 2018) ومن الجدير بالذكر أن كلاً من التأثيرات المباشرة وغير المباشرة لـ IL-8 على أنواع الخلايا يمكن أن تؤدي إلى تغيرات عديدة على TME . (Chen, et al., 2018)

## 14-2 عامل التنخر الورمي (TNF- $\alpha$ ) Tumor necrosis factor-

يعد عامل التنخر الورمي TNF- $\alpha$  بروتين ذو وزن جزيئي عالي أي مايقارب 17 كيلو دالتون ، فهو مكون من 157 حامضاً أمينياً كما يعد واحداً من أهم السيتوكينات الالتهابية وقد حُدد لأول مرة كعامل مضاد للاورام إذ يسبب تنخر للورم كما يعد وسيطاً مركزياً للالتهابات المزمنة التي تتطور الى الأورام الخبيثة (Tan et al., 2019) وقد اثبتت الدراسات دور هذا العامل الفعال في تنشيط موت الخلايا المبرمج كما يعزز فعالية الجهاز المناعي وهو ذو اهمية للحفاظ على الخلية كما ينظم عملية التمثيل الغذائي ، فقد يكون له دور وقائي كما في دفاع المضيف أو قد يكون ضاراً للخلايا , و قد يختلف مستوى هذا العامل بالاعتماد على سبب الإصابة (Zhao et al., 2020) يتم تصنيع هذا العامل بشكل اساسي بواسطة خلايا الدم البيضاء الوحيدة والخلايا البلعمية .كما يُصنع بواسطة الخلايا اللمفاوية وكذلك بواسطة خلايا العضلات الملساء والبطانية و الأرومات الليفية Fibroblasts (Cai et al., 2020) ، كما

يصنع في خلايا عضلة القلب والأنسجة الدهنية ، و تشترك خلايا الدماغ في تصنيعه كما هو الحال في الخلايا الدبقية الصغيرة والخلايا النجمية , ونتيجة لما يمتلكه هذا العامل من خصائص مسببة للالتهابات فقد عُد هذا العامل مشاركاً في أمراض المناعة الذاتية وأمراض التهاب الأمعاء كما ارتبط هذا العامل مع الاضطرابات الأيضية مثل السمنة و دنف السرطان Cancer cachexia (فقدان كتلة الجسم ) و الاضطرابات النفسية والعصبية كفقدان الشهية العصبي Anorexia nervosa وكذلك مرض الزهايمر والاكتئاب . (Patsalos et al.,2020)

يمكن التعبير عن عامل التنخر الورمي TNF- $\alpha$  بواسطة جين يسمى TNFA (Mercogliano et al.,2021) إذ يحتوي جين TNFA على مواقع ربط للعديد من عوامل الاستسناخ فيؤدي الى مرونة عالية في الاستجابة للعديد من المحفزات المختلفة (2020 Rolski & lyszczuk) يظهر عامل التنخر الورمي الفا بشكلين الشكل الاول قابل للذوبان Soluble form والشكل الثاني هو عبر الغشاء الخلوي (Jang et al.,2021) قد يرتبط عامل التنخر الورمي الفا بمستقبلات خاصة به وهي TNF Receptor 1(TNFR1) و المستقبل الثاني TNF Receptor 2 (TNFR2) ويتم التعبير الجيني عن المستقبل الاول في جميع الانسجة اذ يعد هذا المستقبل هو المستقبل الرئيسي للإشارات في حين يتم التعبير عن المستقبل الثاني في الخلايا المناعية ليسهل الاستجابات الحيوية المحددة ( Mortaz et al.,2021.)

## 15-2 انزيمات الكبد

### 1- 15-2 انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP)

يسمي ايضاً ALK phosphatase ,هي عائلة من الإنزيمات التي تحلل الفوسفات عند مستويات عالية من الأس الهيدروجيني. يوجد في جميع الأنسجة تقريباً ، ولكنها متوفرة بشكل خاص في العظام ، والقناة الصفراوية ، وجدار الأمعاء ، والنبيبات الكلوية ، والمشيمة. (Sekaran et al.,2021)، تتراوح مستويات ALP الطبيعية من 42 الى 147 وحدة دولية / لتر لذلك عندما يحدث تلف في خلايا الكبد سوف نلاحظ المستويات مرتفعة في مستوى هذا الانزيم في الدم ( Hasan et al., 2018 ) وتشير المستويات غير الطبيعية من ALP في الدم إلى تلف الكبد والمرارة و اضطرابات العظام و أمراض القلب والأوعية الدموية وداء السكري

النوع الثاني وارتفاع ضغط الدم واضطراب الدهون في الدم (Park *et al.*, 2020) كما يزداد مستواه في حالة اليرقان الانسدادي Obstructive jaundice ، فقد لوحظ زيادة مستوى انزيم ال ALP إلى 200 وحدة / لتر في حالة انسداد القنوات الصفراوية. (Farhan *et al.*, 2020)

## 2-15-2 انزيم الألبانين الناقل للامين Alanine transaminase enzyme (ALT)

يوجد هذا الانزيم في خلايا الكبد وله اهمية كبيرة في تشخيص اصابة الكبد ، إذ يتسرب هذا الانزيم إلى مجرى الدم عندما تتلف أو تلتهب خلايا الكبد مما يسبب التهاب الكبد الحاد والمزمن وكذلك تشمع الكبد والارتشاح الدهني (Sahu *et al.*,2022) كما إن الاستعمال المفرط للأدوية يسبب تنخراً في الأنسجة وكذلك تمزق في الخلايا مما يؤدي الى خلل في فعالية انزيمات الكبد (Kageyama *et al.*,2018) ويعد هذا الانزيم مؤشراً مهماً وفعالاً لتراكم الدهون في الكبد ، إذ يرتبط انخفاض تأثيرات ALT بارتفاع مستويات الكوليسترول في الدم كما يلاحظ في حالة الاحتقان الكبدي (Hepatohemia Washington *et al.*,2012) كما تزداد فعالية هذا الانزيم في حالة حدوث الاجهاد التاكسدي وذلك لان تكوين ROS يؤدي إلى تكون بيروكسيد الدهون في أغشية الخلايا مما يسبب حدوث تغير في نفاذية الخلية وبالتالي يتم تدميرها مما يؤدي إلى تسرب هذا الانزيم إلى مجرى الدم وارتفاع مستواه في المصل. (Esa *et al.*,2013) إذ يوجد هذا الانزيم في الساييتوسول وفي العديد من الأعضاء مثل القلب والعضلات الهيكلية ويلعب دوراً مهماً في عملية التمثيل الغذائي للحمض الأمينية. (Nakajima *et al.*,2022; Visaria *et al.*,2020)

## 3-15-2 انزيم الاسبارتيت الناقل للامين Aspartate transaminase enzyme (AST)

ويسمى أيضاً انزيم أوكسالو أسينات الغلوتامات Glutamic-Oxaloacetic Transaminase(GOT) ، يوجد هذا الإنزيم بكميات كبيرة في الكبد و القلب والعضلات الهيكلية والكلى و كريات الدم الحمراء ، إن ارتفاع مستويات ال AST ممكن ان تسبب تلف هذه الانسجة (تمزق الاغشية البلازمية أو موت الخلايا المبرمج) ، و يلعب ال AST دوراً مهماً في

عملية التمثيل الغذائي للأحماض الأمينية و دورة كريبس ، وتخليق قواعد البيورين / بيريميدين وتخليق اليوريا والبروتين ، وكذلك تكوين الجلوكوز (Ndrepepa, 2021) ، وتشير بعض الدراسات إن ارتفاع هذا الانزيم في الكبد قد يكون ناتجاً عن السمية العالية الناتجة من بعض الادوية او الاصابة بالانواع البكتيرية مما يؤدي تلف انسجة وخلايا الكبد (Lee et al.,2022)

## 16-2 البيليروبين الكلي في المصل Total serum bilirubin

البيليروبين مادة صفراء تنتج عن تفكك العديد من البروتينات الحاوية على الهيم Heme، وخصوصاً من تحلل كريات الدم الحمراء من مادة الهيموكلوبين ، ويقسم إلى نوعين هما البيليروبين المرتبط و البيليروبين الحر حسب وجوده في جسم الإنسان، يُطرح البيليروبين المرتبط بشكل أساسي في الأمعاء ، أما البيليروبين الحر ينتقل مع الدورة الدموية وفي النهاية يتم إفرازه في الصفراء أو يتم تصفيته وإفرازه عن طريق الكلى وإفرازه عن طريق urine ، او يتم إعادة تدويره في مجرى الدم (Cappellini and Swinkels,2017) تعد مستويات البيليروبين المرتفعة في البلازما ذات أهمية كبيرة في تشخيص العديد من الأمراض، وخاصة الأمراض المرتبطة بالكبد (Méndez-Sánchez et al.,2019) فعندما يكون مستوى البيليروبين مرتفعاً في الدم يتحول لون الجلد إلى اللون الأصفر وتسمى هذه الحالة باليرقان، كما ان معرفة مستوى البيليروبين في الدم يمكن ان تعكس مدى كفاءة وظائف الكبد. (Filiz et al., 2005)

## 17-2 الالبومين Albumin

بروتين يتم تصنيعة في الكبد ذات وظائف متعددة يتم افرازه باستمرار في مجرى الدم (Kragh- Hansen,2016) يتكون الألبومين في الغالب في الكبد ويشكل حوالي 60% من إجمالي البروتين ، يقوم الالبومين بالعديد من الوظائف الفسيولوجية المهمة في الجسم و له دور رئيسي في حمل الفيتامينات والهرمونات وبعض العناصر مثل الكالسيوم في جميع أنحاء الجسم ، كما أنه ضروري لنمو الأنسجة ، فضلاً عن أنه يعد مؤشراً لالتهابات المزمنة في أنواع عديدة من السرطانات كأحد البروتينات التي يرتفع مستواها في المرحلة الحادة ( Bozkaya et al.,2019) ان النسبة الطبيعية للألبومين هي (50-35 dl/g) ولكن يتاثر هذا المستوى بإفراز الالبومين والاصابة بالامراض المختلفة (Bashardoust et al.,2015)



## Urea اليوريا 18-2

مركب كيميائي يوجد في الجسم في الدم واللمف يتم انتاجه خلال دورة اليوريا التي تحدث في الكبد ويتم تحويلها من أمونيا الى يوريا ، وتعد الناتج النهائي لتهديم البروتينات والاحماض الامينية (Özbek *et al.*,2022) تُعد اليوريا مؤشر مهم على كفاءة الكلى في الظروف الطبيعية والمرضية (Tsai *et al.*,2019) كما تُعد مؤشراً مرتبطاً في حالات الفشل الكلوي ، إذ أن وجود مستويات عالية من اليوريا في الدم تدعى باليوريميا وهي حالة تتميز باضطراب مستويات السوائل والهرمونات والكهارل والاضطرابات الايضية ، وهي حالة مرضية تحدث في مرضى الفشل الكلوي المزمن (Tsai ,2019 ; Wang *et al* ,2018 ;Mair *et al.* ,2018 )

## Uric acid حامض اليوريك 19-2

هو مركب كيميائي يتكون من الأوكسجين ، الكربون ، الهيدروجين ، النتروجين ، هو مركب موجود في الجسم وهو من نواتج البيورينات التي تنتج من البروتينات ، ان البيورينات هي عبارة عن مركبات توجد بنسب مختلفة في الأطعمة ، ويفرز الكبد البورينات إلى الدم ومن ثم تخرجها الكلية إلى الجهاز البولي ، وعند زيادة نسبة حمض اليوريك في الدم عن مستواه الطبيعي ، سوف يحدث اختلال في نسبتها في الدم وبالتالي يسبب العديد من الأمراض منها التهابات حادة ، و الفشل الكلوي ( Saito *et al.* , 2020; Nezhat *et al* ,2017) .

## Superoxid dismutase (SOD) أنزيم أوكسيد الديسموتاز الفائق 20-2

هو أحد الإنزيمات المضادة للاكسدة في الجسم ، الذي يعمل كعامل مهم و فعال ضد الاضرار التي تسببها أنواع الأوكسجين الفعالة (ROS) Reactive oxygen species ، ويقلل من احتمالية حدوث العديد من الامراض التي تصيب الجسم بضمنها السرطان والأمراض الالتهابية ونقص التروية والسكري والشيخوخة والاضطرابات العصبية (Younus, 2018) وهو من الانزيمات التي تمثل أحد الدفاعات الخلوية الأساسية الهامة ضد أيون جذر الأوكسجين الفائق  $O_2^-$  ، اذ يحفز هذا الإنزيم تحلل جذر الأوكسجين الفائق  $O_2^-$  إلى بيروكسيد الهيدروجين

Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)، والذي يتم تحويله لاحقا إلى ماء وأكسجين بواسطة إنزيمات الكاتالاز Catalase والجلوتاثيون بيروكسيديز Glutathione peroxidase ، وبالتالي يقلل من خطورة إنتاج جذر أكسيد الفائق ، وهو من أهم إنزيمات مضادات الأكسدة الموجودة في الجسم ، وتوجد ثلاث اشكال من انزيم ال SOD التي تم تشخيصها في اللبائن اثنتين منها في داخل الخلية والثالث خارج الخلية ( Neha et al., 2019; Zhu et al., 2019) الشكل الاول هو إنزيم (SOD -Zn ,Cu) الموجود داخل الخلايا (السيتوبلازم) والذي يلاحظ في الخلايا حقيقية النواة والشكل الثاني هو إنزيم (Mn-SOD) الذي يُخلق في الخلايا وتحديداً في (الميتوكوندريا) من اجل حمايتها ويتواجد في بدائية النواة ، والانزيم الأخير هو إنزيم (EC-SOD) يحتوي على نرتين نحاس وزنك ويوجد خارج الخلية ويرتبط بكرياتات الهيبارين التي توجد على سطح الخلية التي تكون وظيفتها الرئيسية في الشرايين حيث يتواجد في السوائل البايولوجية مثل السائل المفصلي و اللف و البلازما ( Perera et al., 2017; Rosa et al., 2021)

## 21-2 الكلوتاثيون Glutathion

إن الجلوتاثيون (GSH) احد مضادات الأكسدة الخلوية وهو عبارة عن ببتيد ثلاثي يتكون من الأحماض الامينية وهي السيستين والغلوتاميك والكلايسين (L-Cysteine, L-Glutamic, Glycine) ، يوجد الكلوتاثيون بشكلين داخل الخلايا هما الشكل المختزل (GSH) والشكل المؤكسد (GSSG) ، و يحتوي على مجموعة الثيول Thiol group من السيستين Cysteine التي تكون قادرة على التخلص من الجذور الاوكسجينية الحرة ROS المختلفة التي يتم تكوينها اثناء استخدام الأوكسجين من قبل الخلايا في التمثيل الغذائي الهوائي (Ribas et al., 2014) يعد الكلوتاثيون من مضادات الاكسدة غير الأنزيمية الذائبة في الماء ويدخل في العديد من العمليات البيولوجية من ضمنها في عملية نقل الاحماض الامينية ويتم تصنيعه في الجسم بواسطة عمل الانزيمين GSH synthase و-δ glutamylcysteine synthase ويتم عن طريقها استنفاد جزيئين من ال ATP ، وبالتالي يختلف عن بقية مضادات الأكسدة غير الأنزيمية من حيث قدرة الجسم على تخليقه (Rajendran et al., 2014) .

يدخل الكلوتاثيون كمادة اساسية أو مرافق انزيمي لبعض العمليات الانزيمية داخل الخلية وبالتالي يعزز من فعالية بعض الانزيمات و يساهم في تكوين البروتينات والنيوكليوتيدات (Flohe, 2018) ويعد انزيمي GSH-Peroxidase , GSH-transferase من أهم أنواع انزيمات الكلوتاثيون واللذان يعملان في الكبد والتي لها دور في حماية الكبد والاعضاء الاخرى من تاثير الجذور الحرة (Ahmadvand *et al.*, 2019).

## 22-2 المألون ثنائي الالديهيد (MDA) Malondialdehyde

وهو منتج ثانوي لعملية بيروكسيدية الدهون التي تحدث في خلايا الجسم (Sergent, *et al.*, 2018) . ويعد MDA مؤشر على زيادة إنتاج الجذور الحرة ، وحدث الإجهاد التأكسدي وقدرته على إحداث تفاعلات مع جزيئات أخرى مثل البروتينات والكربوهيدرات وجزيئات الحمض النووي . (Martini *et al.*, 2016) ، إن العملية التي تتفاعل بيها الأحماض الدهنية غير المشبعة الموجودة في الأغشية البلازمية والجذور الحرة تدعى بعملية التزنخ الدهني أو بيروكسيدية الدهون ، وهي تنطوي على تحلل الأحماض الدهنية غير المشبعة او تفككها في سلسلة من التفاعلات التي تؤثر على بنية الأغشية الخلوية وبالتالي على وظيفة تلك الأغشية . (Sergent *et al.*, 2018) إذ تحتوي الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة على اثنين أو أكثر من الروابط المزدوجة التي هي الهدف الرئيسي لتفاعلات الجذور الحرة على اثنين أو أكثر من الروابط المزدوجة التي هي الهدف الرئيسي لتفاعلات الجذور الحرة (Ayala *et al.*, 2014) إن بيروكسيدية الدهون يجعل أغشية الخلايا أكثر سيولة وتؤدي الى تغيرات في نشاط البروتينات الأساسية المكونة للغشاء ، مما يؤثر على معدل الأيونات الخارجة والداخلة عبر الغشاء ، ويعد جذر الهيدروكسيل (OH<sup>-</sup>) هو أحد أهم الجذور التي تساهم في تحطم الأغشية الخلوية (Niki, 2014) .

يتفاعل الـ MDA مع البروتينات والدهون المفسفرة لإحداث تغيير في النفاذية الانتقائية للأغشية الخلوية وبالتالي يؤدي إلى حدوث خلل في المكونات الخلوية (Phaniendra *et al.*, 2015) ، و يلعب MDA دورًا خطيرًا في التسبب في احداث طفرات نتيجة تفاعله مع الحمض النووي DNA ، مما يؤدي في العديد من الحالات الى حدوث أورام سرطانية. (Jelic *et al.*, 2019) ، ويرتفع مستوى MDA في حالة الإصابة بأمراض مختلفة مصحوبة بزيادة في الجذور الحرة للأكسجين ، مما ينتج عنه أكسدة الأحماض الدهنية بكميات

كبيرة من Lipid hydroxyl peroxidase ، وبالتالي يحدث تفكك في الاغشية الخلوية (Toto et al., 2022)

## 23-2 هرمون الإرتروبويتين Erythropoietin (EPO)

هرمون الإرتروبويتين هو بروتين سكري Glycoprotein يتم إنتاجه بواسطة الخلايا البينية المحيطة بالنيبيات الكلوية ، ويتحكم في تكوين كريات الدم الحمراء ، إذ يعد الهرمون الرئيسي لتحفيز تكون كريات الدم الحمراء وهو مسؤول بشكل أساسي عن تكاثرها وتمايزها ، إذ تنتج الخلايا المحيطة بالنيبيات الكلوية في القشرة معظم الإرتروبويتين كما ان نسبة صغيرة منه يتم انتاجها في الكبد عند البلوغ ، في حين يكون الكبد هو الموقع الرئيس لإنتاجه في المراحل الجنينية (Chen et al.,2015).

يبلغ الوزن الجزيئي للEPO ( 30.4 كيلو دالتون) و يتكون 165 حامض أميني وترتبط به أربعة سلاسل جانبية من السكريات القليلة الحامضية (يحتوي 14جزيئة من حامض السيلاليك المختزل) ثلاث منها N-linked والرابعة O-linked، وتساهم الكربوهيدرات بنسبة 40 % من الوزن الجزيئي للهرمون (Mocini et al.,2007) ونتيجة لوجود حامض السيلاليك في التركيب الجزيئي للإرتروبويتين اكتسب هذا الهرمون بعض الخصائص الحامضية فضلاً عن ظهور الأشكال اخرى للهرمون، كما يزيد الحامض من عمر النصف للهرمون من خلال حمايته من ضرر الجذور الحرة ، وتؤدي السلاسل السكرية المرتبطة به إلى زيادة الوزن الجزيئي للهرمون وبالتالي تمنع الترشيح الكبيبي ، ويساعد المحتوى السكري للEPO من الانتقال في البلازما والمرور بسهولة من الدم إلى نقي العظام خلال الانسجة الظهارية (Obeagu et al.,2015). إن مستقبل هرمون الإرتروبويتين The erythropoietin receptor (EPO-R) هو بروتين سكري مكون من 484 حامض اميني وسلسلة سكرية N-glycan واحدة ، وذو كتلة جزيئية مقدارها 59 كيلو دالتون (Jelkmann,2013) يوجد على هيئة Homodimers على سطح الخلايا المولدة لكريات الدم الحمراء Erythroid progenitor في نقي العظام ، وهو مستقبل غشائي Transmembrane receptor وعضو من عائلة مستقبلات الساييتوكين الصنف الأول Class 1 cytokine receptor family (Obeagu et al.,2015).

## 24-2 بروتين الرنين Renin

الرنين هو بروتين يتم إفرازه من الكلى ويشكل جزءاً أساسياً من نظام الرنين أنجيوتنسين Renin Angiotensin System ، الذي يكون مسؤولاً عن إفراز الغدة الكظرية للألدوستيرون (Aldosterone) للتحكم بمستويات ضغط الدم، كما أنه مسؤول عن انقباض الأوعية الدموية (Ames et al.,2019) يعد الرنين - أنجيوتنسين من الأنظمة الحيوية التي تلعب دوراً هاماً في تنظيم كمية ومحتوى الجسم من السوائل ، وبعد تكوين الإنزيم الرنين في الكلية يتم إفرازه في الدم ويقوم بعدها بروتين الرنين بتحويل الأنجيوتنسينوجين المفرر من الكبد إلى angiotensin I والذي بدوره يتحول إلى angiotensin II بواسطة الإنزيم المحول للأنجيوتنسين في الرئة، كما أنه يحفز قشرة الغدة الكظرية على إفراز هرمون الألدوستيرون والذي يقوم بدوره على تحفيز الكلية على امتصاص الماء والصوديوم، بالإضافة لنظام الرنين أنجيوتنسين الموجود بالدورة الدموية فإن كل عضو من أعضاء الجسم يحتوي على نظام رنين أنجيوتنسين خاص به والذي يقوم بدوره داخل هذا العضو ( Nguyen et al.,2011)

إن الخلل في نظام الرنين أنجيوتنسين يكون سبباً في حدوث الكثير من الأمراض مثل ارتفاع ضغط الدم وتصلب الشرايين وتليف الكبد ، وقد وجد أن نظام الرنين أنجيوتنسين يلعب دوراً هاماً في حبس الماء والصوديوم مما يساهم في تفاقم وتدهور الحالة المرضية وتضخم عضلة القلب ، كما يلعب الأنجيوتنسين دوراً كبيراً في تصلب الشرايين و خصوصاً الشرايين التاجية ( Satou et al.,2018) ويقوم الأنجيوتنسين 2 بدور هام وحيوي في تليف الكبد عن طريق تحفيز وتنشيط الخلايا النجمية في الكبد لإفراز النسيج الليفي كما وجد أن نظام الرنين أنجيوتنسين في حالات تليف الكبد هو العامل الرئيسي في حدوث الفشل الكلوي المصاحب لتليف الكبد عن طريق تسببه في انقباض الأوعية الدموية الخاصة بالكلية ، ومن الملاحظ أن جميع أمراض الكلى تؤثر في نظام الرنين أنجيوتنسين لذلك فإن أي خلل في هذا النظام يؤثر في وظائف الكلى (Maranduca et al.,2023 ; Shah et al.,2023)

## 25-2 بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية Lipid hydroperoxides

هي المواد الناتجة من تفاعل الجذور الحرة مع الأحماض الدهنية المفسفرة وتعد من العوامل المؤكسدة القوية والتي تسعى للحصول على إلكترونات من البيئة لتحويلها إلى ماء أو

أكسجين أو هيدروكسيدات، حيث تتكون منتجات peroxides من استخلاص ذرة هيدروجين من حامض دهني غير مشبع او تفكك الحوامض الدهنية في اغشية الخلايا بواسطة سلسلة من تفاعلات التحفيز الذاتي عن طريق عملية Lipid Hydroperoxidation والتي ينتج عنها بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية lipid hydroperoxides ، وهذه بدورها تتحلل إلى مركبات اخرى مثل المألون ثنائي الالدهايد ( MDA ) الذي يُعد المحصلة النهائية لعملية الاكسدة الفائقة للدهون و الذي يعد مؤشر لزيادة تكوين الجذور الحرة والاجهاد التأكسدي .

(Mas-Bargues *et al.* , 2021; Yin *et al.*, 2011)

إن العوامل التي تؤدي إلى زيادة الاكسدة الفائقة للدهون هي عدم تشبع الاحماض الدهنية اذ كلما زادت يزداد عدد الاواصر المزدوجة و نتيجةً لذلك تزداد بيروكسيده الدهن والايونات المعدنية مثل النحاس والحديد اللذان تعدان عوامل مساعدة لهذه العملية (Grund *et al.*, 2003) ويستخدم MDA كدليل للبحث عن وجود فرط الاكسدة في الجسم و يعد  $OH^-$  احد الجذور المحطمة للأغشية الخلوية وسببا لحدوث الاكسدة الفائقة للدهون التي ينتج عنها تحطم الاغشية الخلوية (Ali *et al.* , 2022) .

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials & Methods

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1-3 المواد Materials

1-1-3 الأجهزة

جدول ( 1-3 ) الأجهزة المستخدمة حسب المنشأ والشركة

الشركة	المنشأ	الأجهزة
Japan	Concord	ثلاجة Refrigerator
England	Hawksley	جهاز الطرد المركزي Centrifuge
Poland	Coramy (Accent 200)	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer
France	-NSysmex kx21	جهاز تحليل الدم الأوتوماتيكي Blood autoanalyzer
England	Gallenkamp	حاضنة كهربائية Incubator
Germany	Karl-Kob	حمام مائي Water Bath
India	Lassco-india	صفحة ساخنة Hot plate
Germany	Elphor	عدة التشريح Dissection Set
England	Gallenkamp	الفرن الكهربائي Oven
Japan	PMPHD 60 f	كاميرا رقمية Camera Digital
Japan	Olympus	مجهر التشريح Anatomy Microscope
Japan	Olympus	المجهر الضوئي Light Microscope
England	Anglia	المشراح اليدوي الدوار Rotary Microtome
Germany	Savories BL s3100	ميزان القياس الوزني
Germany	Sartrius Meter 200AE	ميزان حساس Sensitive Balance



### 2-1-3 الأدوات

جدول (2-3) الأدوات الزجاجية والبلاستيكية حسب المنشأ والشركة

الشركة	المنشأ	الأدوات الزجاجية والبلاستيكية
BioBasic Inc.	Belgium	انابيب ابندروف
Harshman	Germany	انابيب جل تيوب Gel tube
Volac	England	زجاجيات مختلفة الاحجام Pyrex
China MHECO	China	شرائح زجاجية Slides
S.I.E	Pakistan	عدة تشريح Dissecting Set
Human	Germany	ماصات دقيقة باحجام مختلفة micropipetts
Roma	Italy	مجرة فموية Gavage
Medical ject	S.A.R	محاقن طبية Disposable syringes

### 3-1-3 المواد الكيميائية Chemical material

جدول (3-3) المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة

المنشأ	الشركة	المواد الكيميائية
France	Biomerieux	عدة قياس ALP
England	Randox	عدة قياس ALT و AST
England	BDH	زايلول Xylene
Germany	Merck	شمع البرافين Paraffin Wax
Germany	Merck	صبغة الايوسين EosinStain
Germany	Merck	صبغة الهيماتوكسلين Hematoxylin Stain
Germany	ILP. International GMBH.	عدة اختبار الإرتروبويتين Erythropoietin kit
U.S.A	Randox	عدة التحاليل لتقدير مستوى الالبومين في المصل
France	Biomerieux	عدة تحليل اليوريا والكرياتنين

USA	Kamiya	عدة تقدير LHP
Italy	Giesse	عدة تقدير SOD
Biolabo	France	عدة تقدير الالبومين Albumin
USA	Elabscience	عدة تقدير الانترلوكين 8
Spain	Linear chemicals S.L.	عدة تقدير البيليروبين الكلي T-Bil
USA	Kamiya	عدة تقدير الرنين
USA	Amsbio	عدة تقدير الكالسيترول
Atlas	U.S.A	عدة تقدير الكولسترول TG والشحوم البروتيني عالية الكثافة HDL- C
Europe S.A	Biosorurce	عدة تقدير IL- 1 $\beta$
Spain	Linear chemicals S.L.	عدة تقدير حمض اليوريك Uric acid
Japan	Kono bioech	عدة تقدير عامل التنخر الورمي TNF- $\alpha$
Japan	Kono bioech	عدة قياس السيتوكروم oxidase (COX) Cytochrom
U.S.A	Difco	فورمالين Formalin
Germany	Merck	كحول الايثانول المطلق Absolute Ethanol
Spain	Scharlau	كلوروفوم Chlorofom
USA	Sigma- Aldrich	مادة DEN
Spain	Pancreac	مادة محملة D.P.X

### 2-3 حيوانات التجربة

تضمنت هذه الدراسة استخدام 76 من ذكور الجرذان البيض البالغة التي تراوحت اعمارها بين 12-14 أسبوع ومعدل اوزانها ما بين 200-250 غرام تم الحصول عليها من حقول خاصة من محافظة تكريت ومن تم وضعها في أقفاص بلاستيكية خاصة لتربية الجرذان ، وفرشت ارضيتها بنشارة الخشب الناعمة وتمت العناية بنظافة الأقفاس وكذلك العناية الدائمة بتنظيف قناني الإرواء وغرفة الإيواء . وتبديل الارضية باستمرار تم اخضاع الحيوانات للظروف المختبرية الخاصة بدرجة حرارة 25 م وبتهووية مناسبة وظروف الضوء والظلام ب 12 ساعة ضوء و 12 ساعة ظلام ، استعملت في تغذيتها عليقة من البلت المركز concentrate pullet والتي تتكون من ( 10 % بروتين خام ، 20 % فول الصويا ، 35 % ذرة ، 35 % طحين الحنطة ، فضلا عن الفيتامينات والمعادن 1 ملغم/كغم ) تم ترك الحيوانات مدة أسبوعين للتأقلم مع الظروف المختبرية المعدة مسبقا قبل استعمالها .

### 3-3 تحضير المستخلص المائي

استهدفت التجربة تحضير المستخلص المائي لأوراق نبات *Lee indica* ، تم شراء أوراق النبات من ماليزيا وتم استخدام 20 غم من المسحوق الجاف تم مزجه مع 300 مل من الماء المقطر ، استعمل الخلاط الكهربائي وترك بدرجة حرارة الغرفة وذلك لمدة 24 ساعة ، استعملت طبقات عديدة من الشاش الطبي لغرض ترشيح الخليط والتخلص من العوالق، بعد ذلك طرد مركزيا بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق ، تم ترشيح المستخلص بأوراق الترشيح نوع Whatman No. 0.1 وذلك للحصول على محلول رائق . استعمل الفرن الكهربائي في تجفيف المستخلص وذلك بدرجة حرارة 40 م وحفظ في الثلاجة لحين استعماله (Hernandez et al, 1994)

تم اعتماد الطريقة أعلاه في تحضير مستخلص أوراق توت البانديكوت وذلك مع بعض التحويرات وكما يلي :

تم طحن الأوراق الجافة بشكل جيدا باستخدام المطحنة الكهربائية ونفعت لمدة (24 ساعة) بالماء المقطر مع تحريكها باستمرار ومن تم ترشيحها وباستخدام عدة أنواع من طبقات

الشاش ، وبعدها تم صب المنقوع في أواني زجاجية(بايركس) معقمة ونظيفة لغرض تجفيفه على هواء المروحة فقط ثم حفظ المستخلص في الثلاجة إلى حين استخدامه.

### 3-4 استحداث مرض السرطان

تم استحداث سرطان الكبد والكلى في ذكور الجرذان البيض من خلال حقنها تحت الغشاء البريتوني بمادة ثنائي اثيل نيروزامين بجرعة ( 200مغم/كغم) لمدة 90 يوماً بواقع جرعتين في الأسبوع ( Bannasch,2012)

### 3-5 تصميم التجربة Experiment design

#### 3-5-1 التجربة الأولى Experiment 1

صممت هذه التجربة لتحديد الجرعة المؤثرة ED<sub>50</sub> من المستخلص المائي لنبات *Leea indica* وتضمنت هذه التجربة استخدام 36 من ذكور الجرذان البيض قسمت إلى ستة مجاميع ( 6 حيوان / مجموعة ) تم تجريعها فمويا ويومياً لمدة 30 يوماً وعلى النحو التالي :

**المجموعة الأولى :** جرعت فمويا 1مل/كغم من الماء الاعتيادي و عدت كمجموعة سيطرة

**المجموعة الثانية :** جرعت فمويا 20 ملغم/كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت

**المجموعة الثالثة :** جرعت فمويا 40 ملغم /كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت

**المجموعة الرابعة :** جرعت فمويا 60 ملغم /كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت

**المجموعة الخامسة :** أعطيت 80 ملغم /كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت

**المجموعة السادسة :** أعطيت 100 ملغم /كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت

تم سحب عينات الدم بعد مرور شهر واحد ، سحب 5 مل من الدم مباشرة من القلب باستخدام محاقن طبية معقمة بسعة (5مل) وضع الدم بعد ذلك في أنابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي Centerfuge بسرعة 3000 دورة / دقيقة لقياس المعايير التالية :

1 - مستوى المالونالديهيد (MDA) Malondialdehyde

2 - مستوى الكلوتاثيون المختزل (GSH) Reduced Glutathion

3 - مستوى الكولسترول الكلي (TC) Total Cholesterol

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

### 2-5-3 التجربة الثانية 2 Second experiment

استخدم 40 من ذكور الجرذان البيض قسمت إلى اربع مجاميع ( 10 حيوان / مجموعة ) :  
واستمرت التجربة لمدة ثلاثة أشهر

**المجموعة الأولى:** جرعت فمويًا 1مل / كغم من الماء الاعتيادي و عدت كمجموعة سيطرة

**المجموعة الثانية:** جرعت فمويًا بجرعة ( 200 mg /kg ) من مادة DEN

**المجموعة الثالثة:** جرعت فمويًا بالجرعة المؤثرة ED50 (60 mg/kg) من المستخلص  
المائي لأوراق توت البانديكوت

**المجموعة الرابعة:** جرعت فمويًا ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لاوراق توت  
البانديكوت وبعد اربع ساعات حقنت تحت الغشاء البريتوني ب 200 ملغم / كغم من DEN  
يومين في الاسبوع

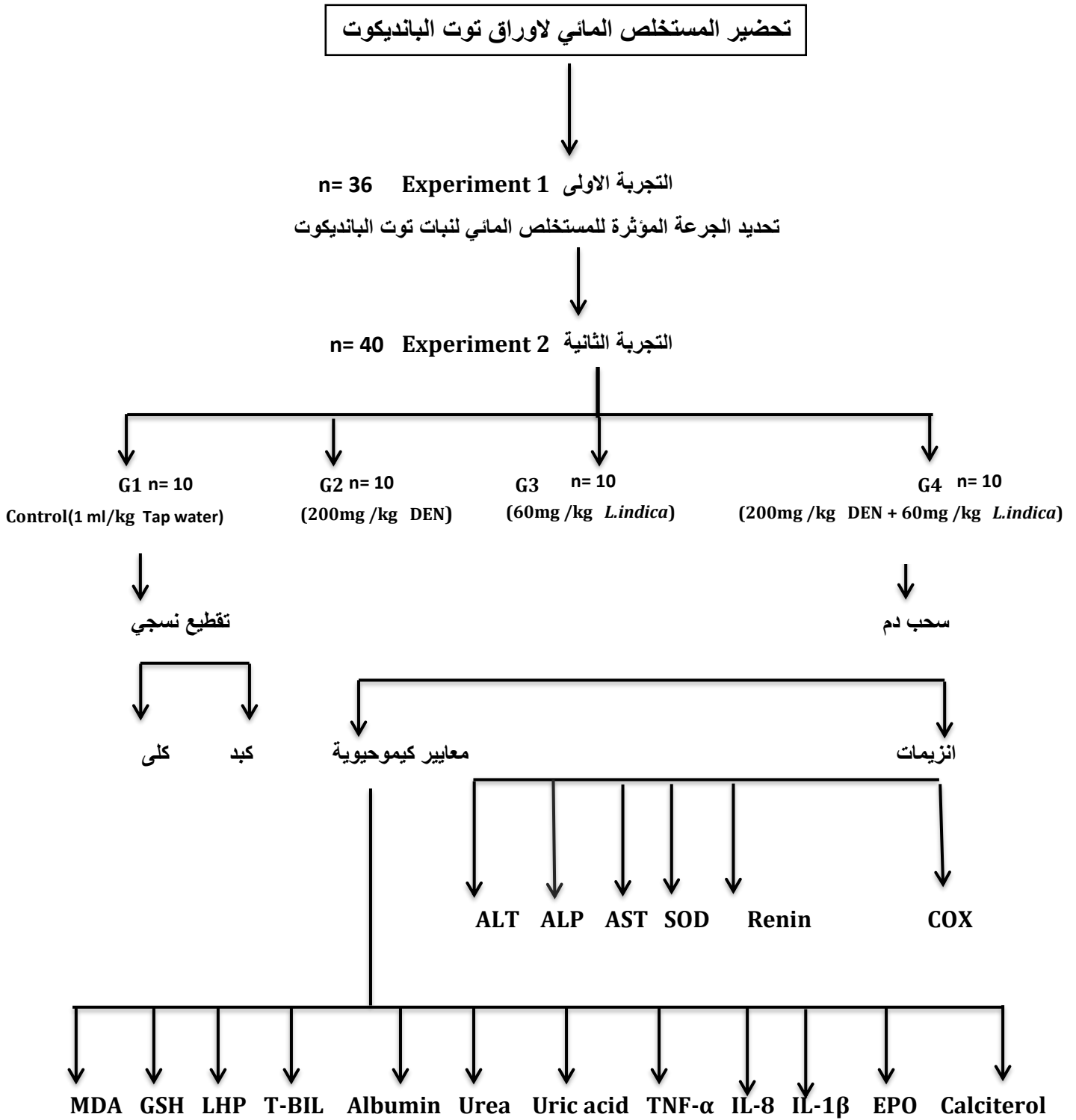
### 1-2-5-3 سحب الدم

سحبت عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طوال الليل وذلك بعد مرور ثلاثة اشهر ، تم  
سحب 5 مل من الدم مباشرة من القلب باستخدام محاقن طبية معقمة بسعة 5 مل ، بعد ذلك تم  
وضع الدم في أنابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر (جل تيوب) وفصل المصل  
بواسطة جهاز الطرد المركزي Centerfuge بسرعة 3000 دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة لقياس  
المعايير التالية :

### المعايير الكيموحيوية

- فعالية انزيم الناقل للامين Alanine transaminase (ALT)
- فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP)
- فعالية انزيم ناقلة الاسبارتات Aspartate transaminase (AST)

- فعالية انزيم سوبر أكسيد ديسميوتاز (SOD) Superoxide dismutase
- فعالية انزيم السيتوكروم (COX) Cytochrom oxidase
- فعالية بروتين الرنين Renin
- مستوى المالونالديهيد (MDA) Malondialdehyde
- مستوى بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية (LHP) Lipid hydroperoxides
- مستوى الكلوتاثيون المختزل (GSH) Glutathione
- مستوى البيليروبن الكلي (T-BIL) Total bilirubin
- مستوى الالبومين Albumin
- مستوى اليوريا Urea
- مستوى حمض اليوريك Uric acid
- مستوى الكرياتينين Creatinine
- مستوى هرمون الارثروبويتين Erythropoietin
- مستوى هرمون الكالسيتريول calciterol
- مستوى عامل التنخر الورمي نوع الفا (TNF- $\alpha$ ) Tumor necrosis factor
- مستوى الانترلوكين (IL-8) Interleukin 8
- مستوى الانترلوكين (IL-1 $\beta$ ) Interleukin-1  $\beta$



شكل (1-3) مخطط تصميم التجربة

### 3-6 تقييم فعالية الانزيمات

أجريت قياسات فعالية الانزيمات باستخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة بكل انزيم بالاعتماد على الطريقة المناعية Enzyme - Linked Immunosorbent Assay (ELISA) عن طريق استخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الألمانى المنشأ وتم اجراء الخطوات لقياس فعالية الانزيمات من خلال اتباع الخطوات المرافقة لكل طقم وكالاتي :

#### 3-6-1 تقدير فعالية أنزيم ناقل أمين الأالنين في مصل الدم

#### Estimation of alanine transaminase (ALT) blood serum

تم قياس فعالية هذا الانزيم على طريقة (AL-Mashhadani *et al.*, 2012) بعدة الكشف عن أنزيم ALT التي تتكون من:

1-دارئ الفوسفات Phosphate buffer يتركز 100 ملي مولالتر بدرجة حموضة 7.4=PH

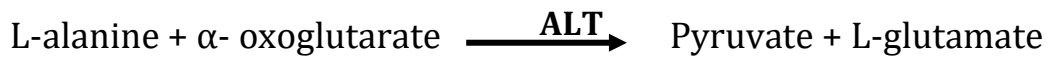
2-L-alanine تركيزه 200 ملي مولالتر.

3- $\alpha$ - oxoglutarate تركيزه 2 مليالتر

4-2,4- dinitrophenyl-hydrazine تركيزه 2 ملي مولالتر

5-هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide تركيزه 4 ملي مولالتر

الخطوة الأساسية للتفاعل هي كما يلي:



وتلخص طريقة العمل كالاتي :



المحاليل solutions	Test العينة	كاشف بلانك Blank
المحلول الأساس	0.5 مللتر	0.5 مللتر
العينة	0.1 مللتر	_____
ماء مقطر	_____	0.1 مللتر
تم الحفظ بدرجة حرارة 37 م° لمدة 30 دقيقة		
2, 4-dinitrophenyl hyd.	0.5 مللتر	0.5 مللتر
تم الحفظ بدرجة حرارة 25-20 م° لمدة 20 دقيقة		
هيدروكسيد الصوديوم	5 مللتر	5 مللتر

وبعد إضافة هيدروكسيد الصوديوم تم مراقبة تركيز المركب الملون Pyruvate hydrazone بالطول الموجي 546 نانومتر وباستعمال المطياف الضوئي لقياس فعالية الأنزيم بوحدة عالمية/التر

### 2-6-3 تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل الدم alkaline phosphatase (ALP) activity in blood serum

#### المبدأ الأساس Basic Principle

قدرت فعالية انزيم ALP استنادا الى طريقة (Engvall and Perlmann, 1971) عن طريق استخدام العدة الجاهزة kit وباستخدام الطريقة الانزيمية وهي طريقة لونية تعتمد على استخدام المادة الأساس (substrate) التي يعمل عليها الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline Phosphatase)

#### المحاليل المستخدمة Reagents Used

##### 1-محلول المادة المنظمة Substrate Buffer Solution

يتكون مركب Disodium Phenyl Phosphate بتركيز (5) ملي مول / لتر من مع محلول Carbonate-Bio Carbonate بتركيز (50) ملي مول / لتر من في دالة حامضية (PH = 10) .

##### 2- المحلول القياسي Standard Solution

يتكون من مركب الفينول بتركيز 20 ملي مول /لتر

### 3- المحلول المثبط Inhibitor Solution

يتكون من مركب potassium ferricanide بتركيز 60 ملي مول /لتر مع 75 غرام /لتر من مركب Sodium Arsenate .

### 4- المحلول الملون Color Solution

يتكون من مركب 4-Amino-Antipyrine بتركيز 60 ملي مول /لتر

### طريقة العمل Procedure

#### 1- محلول الاختبار Test Solution

تم وضع 2 مليلتر في أنبوبة اختبار من المادة الأساس ثم وضعت في حمام مائي بدرجة 37 سيليزية لمدة 5 دقائق ، بعدها تم إضافة 50 مايكروليتر من مصل الدم واعيدت الانبوبة الى الحمام المائي لمدة 15 دقيقة وبدرجة الحرارة نفسها ، وتم إضافة 0.5 مليلتر من المحلول المثبط اليها ومزج جيدا وبعدها اضيف المحلول الملون بتركيز 0.5 مليلتر .

#### 2- محلول السيطرة Control Solution

وضع 2 مليلتر في انبوبة اختبار من المادة الأساس ثم تم وضعها في حمام مائي لمدة 5 دقائق وبدرجة حرارة 37 سيليزية ، تم إضافة 0.5 مليلتر من المحلول المثبط وبعد ان مزجت جيدا تم إضافة 0.5 مليلتر من المحلول الملون وبعدها مزجت جيدا اضيف اليها 50 مايكروليتر من مصل الدم .

#### 3- المحلول القياسي Standard Solution

تم وضع 2 مليلتر في انبوبة اختبار من المادة الأساس بعدها تم وضعها في حمام مائي لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 37 سيليزية ، ثم تم إضافة 50 مايكروليتر من المحلول القياسي، بعدها اعيدت الأنبوبة إلى الحمام المائي لمدة 15 دقيقة بدرجة الحرارة ذاتها كما تم إضافة 0.5 مليلتر من المحلول المثبط للانبوبة ومزجت جيدا وبذلك إضافة 0.5 مليلتر من المحلول الملون .

#### 4- المحلول الكفى Blank solution

وضع 2 ملييلتر من المادة الأساس في انبوبة اختبار ثم نقلت الى حمام مائي لمدة 5 دقائق وبدرجة حرارة 37 سيليزية ثم تم إضافة 0.5 ملييلتر من المحلول المثبط وبعد مزجها جيدا اضيف 0.5 ملييلتر من المحلول الملون مع استمرار المزج بالشكل المطلوب، بعدها تم إضافة 50 مايكروليتر من الماء المقطر . تم وضع جميع الانابيب لمدة 10 دقائق في مكان مظلم ثم قرأت الامتصاصية عند طول موجي 510 نانوميتر مقابل محلول الكفاء.

#### الحسابات Calculation

تم حساب فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) في العينة وفق القانون الاتي :

$$\text{شدة امتصاصية محلول الاختبار} - \text{امتصاصية محلول السيطرة} \times \frac{\text{تركيز المحلول القياسي بوحدة (U/L)}}{\text{شدة امتصاصية المحلول القياسي}}$$

#### 3-6-3 تقدير فعالية أنزيم ناقل أمين الأسبارتيت في مصل الدم :

#### Estimation of aspartate aminotransferase in alood seurm (AST)

اعتمد قياس فعالية هذا الانزيم على طريقة (AL-Mashhadani et al.,2012).

بعدها الفحص الخاصة بالأنزيم و المتكونة من:-

- 1- دارئ الفوسفات Phosphate buffer بتركيز 100 ملي مولالتر بدرجة حامضية .7.4=PH
- 2-  $\alpha$ - oxaloacetate بتركيز 2 مليالتر.
- 3- L- aspartate بتركيز 100 ملي مولالتر.
- 4- 2,4 dinitrophenyl-hydrazine بتركيز 2 ملي مولالتر.
- 5- هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide بتركيز 4 ملي مولالتر.

الخطوة الأساسية للتفاعل هي:



بعد إضافة هيدروكسيد الصوديوم تم مراقبة تركيز المركب الملون oxaloacetate hydrazone بالطول الموجي 546 نانومتر وباستعمال المطياف الضوئي.

### طريقة العمل:-

تم استخدام المحاليل المبينه ادناه وحسب الجدول التالي :

المحاليل	العينة	كاشف بلانك
المحلول الأساس	0.5 مللتر	0.5 مللتر
العينة Sample	0.1 مللتر	————
ماء مقطر	————	0.1 مللتر
ترج الأنابيب وتحفظ عند درجة حرارة 37 ° لمدة 30 دقيقة		
2, 4- dinitrophenylhyd.	0.5 مللتر	0.5 مللتر
ترج الأنابيب وتحفظ عند درجة حرارة 20-25 ° لمدة 20 دقيقة		
هيدروكسيد الصوديوم	5 مللتر	5 مللتر

بعدها رجت الأنابيب وتم مقارنة امتصاصية العينة مع الكاشف وبالطول الموجي 546 نانومتر. يقاس مستوى تركيز AST في عينة المصل بوحدة (وحدة دولية لتر).

### 3-6-4 تقييم فعالية إنزيم أوكسيد الديسموتاز (SOD)

#### Estimation of superoxide dismutase activity in blood (SOD)

##### المبدأ الأساس: Basin Principle

قدرت فعالية إنزيم سوبر أوكسيد دسميوتيز وذلك باستخدام طريقة التفاعل الضوئي - الكيميائي (Modified photochemical method) باستخدام صبغة Nitroblue Tetrazolum (NBT) حيث تضمنت هذ الطريقة استخدام سيانيد الصوديوم كمثبط لانزيم البيروكسيديز ، وتكون هذه الطريقة لتقدير فعالية انزيم SOD غير مباشرة عن طريق ظهور تغير في الكثافة الضوئية للفورمازين المتكون من اختزال 0.5 لصبغة نايتروبلوتترازوليوم

(NBT) الذي بدوره يتولد من تشعيع مصل الدم (Chandrakar *et al.*, 2016) إذ أن الانخفاض في الكثافة الضوئية للفورمازين دلالة على زيادة فعالية إنزيم (SOD) .

### تحضير الكواشف: Preparation of Reagent

1. محلول الفوسفات المنظم بتركيز (50 mmol) و pH7.8 ويحتوي على 0.1 mmol EDTA و Triton X-100 (0.025%) .
2. محلول ميثونين 0.2M L - Methionine Solution
3. محلول 1.75mM نايترولوتتر ازوليوم ثنائي الهيدروكلوريك
4. ترايتون 1% Triton (X-100)
5. رايبوفلافين (117mmol) Riboflavin solution
6. محلول سيانيد الصوديوم 2 mmol Sodium cyanide solution
7. محلول التفاعل Reaction mixture solution يحضر بمزج 117 مل من المحلول (1) و 1.25 مل من محلول (2) و 1.0 مل من المحلول (3) و 0.75 مل من المحلول (4)

### طريقة العمل: Procedure

وضعت طريقة العمل لتقدير فعالية انزيم سوبر او اكسيد دسميوتيز حسب الجدول الاتي :

المحالييل	العينة	الكفى	السيطرة
Reaction Mixture	3 ml	3 µl	3 µl
Sodium Cyanide	40 µl	40 µl	40 µl
Serum	150 µl	—	—
Working Buffer S.	0.523 ml	0.15+0.5 23 ml	0.15+0.523 ml
Riboflavin (B2)	40 µl	40 µl	40 µl

تم حضان الأنابيب بدرجة 37 م لمدة 6 دقائق ثم تم تشعيع جميع الأنابيب عدا الكفى باستخدام مصباح فلورسنت 20 واط مثبت بصندوق مغلق لمدة 10 دقائق وبدرجة 25 درجة مئوية ثم تم قياس الامتصاصية عند 560 نانوميتر بعد التصفير على الكفى .

50% inhibition =1 Unit of SOD

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

حيث :

A0= امتصاصية المادة القياسية

A1= امتصاصية العينة

(Zhang *et al.*, 2016)

### 5-6-3 تقييم فعالية انزيم Cytochrom C oxidase (COX)

المحاليل المستخدمة :

1 محلول القياس Assay Buffer : ويتكون من 10 Mm حامض Tris-HCl عند الأس الهيدروجيني 7=ph ويحتوي على 120 mM من KCL

2 -محلول التخفيف 1 Enzyme Dilution Buffer : ويتكون من 10Mm حامض HCl عند الاس الهيدروجيني 7=ph والحاوي على 250 mM من sucrose

1- محلول 2 Enzyme Dilution Buffer : يتكون من 1 mM n-Dodecyl -D- β maltoside

2- محلول Dithiothreitol (DTT) Solution بتركيز 0.1M

3- 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 جيداً

3- تم اضافة 50 ميكرو لتر محلول Ferrocycochrome c Substrate Solution لبدأ التفاعل بعدها خلط جيداً عن طريق قلب محتويات الأوعية .

4- تم قراءة الامتصاصية عند الطول الموجي قرأ 550 نانوميتر

الحسابات :

تم حساب النتائج باستعمال المعادلة التالية:

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

### 3-6-6 تقدير فعالية بروتين الرنين في المصل

## Evaluation of renin protein level in the serum

### مبدأ العمل

قدرت فعالية انزيم Renin عن طريق استخدام العدة التشخيصية (Kit) المجهز من قبل شركة (Kamiya Biomedical company) الامريكية ، باستخدام جهاز الاليزا ELISA اعتماداً على قياس تركيز Angiotensin I (Ang-I) المتكون والنتائج من تحول انزيم Renin اليه و تم تحديد فعالية انزيم الرنين بالدم عند PH = 6

### طريقة العمل

- 1- جهزت العدد المناسب من الحفر الخاصه على المسند المجهز ومن ثم اضع 50 مايكرو ليتها من عينه الاختبار إلى الحفر الحاوية مسبقاً على الأجسام المضادة للـ Renin و اضافته 50 مايكرو ليتها من الكاشف عند PH 7.5-7.2 إلى حفر عينات محلول القياس
- 2- أضيف 100 مايكرو ليتها من محلول الاقتران Conjugate إلى الحفر ما عدا حفر المحلول القياسي ثم خلطت جيداً و تم تغطيه الحفر وحفظت لمدة ساعة عند درجه حراره 37 مئوية
- 3- غسلت الحفر خمس مرات باستخدام محلول الغسل

6- إضيف 50 مايكروليتر من المحلول A ثم اضيف 50 مايكروليتر من المحلول B في الظلام لكل حفرة لمدة 10-15 دقيقة عند 37 درجة مئوية

7- تم ايقاف التفاعل بأضافه 50 مايكروليتر من محلول الايقاف Stop Solution لكل حفرة

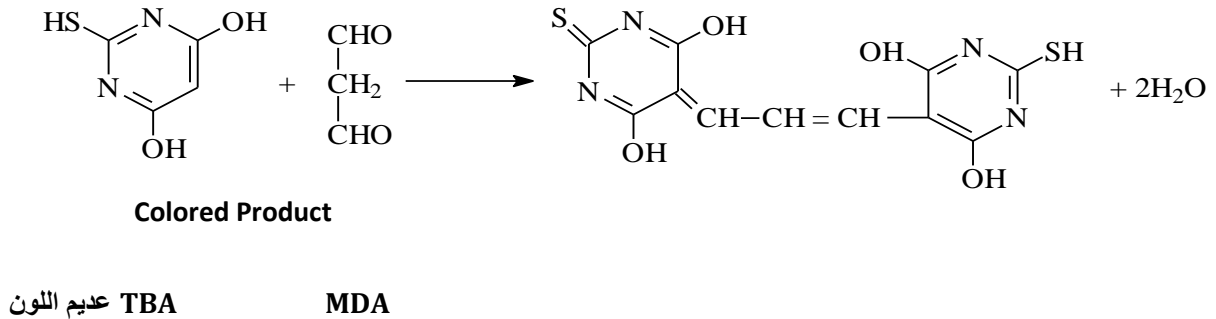
8- قرأت الامتصاصية عند الطول الموجي 450 نانومتر

### 7-3 الفحوصات الكيموحيوية

#### 1-7-3 تقدير مستوى المألون ثنائي الديهايد في Malondialdehyde (MDA)

##### المبدأ الأساس:

تم تقدير مستوى MDA باستخدام الطريقة المحورة المتبعة عن طريق قياس كمية المألون ثنائي الديهايد الذي يمثل أحد النواتج الرئيسية لبيروكسدة الدهون، اذ تعتمد هذه الطريقة على التفاعل بين بيروكسيدات الدهون وخاصة المألون ثنائي الديهايد وحامض ثايوباربيوتريك Thiobarbituric acid (TBA) ويتم هذا التفاعل في وسط حامضي ويتكون ناتج ملون كما موضح في المعادلة أدناه، ثم قُيست شدة الامتصاص له عند طول موجي 532 نانوميتر (Agramonte et al., 2019)



تحضير المحاليل :



4- محلول حامض الثايوباربيتيورك (TBA- solution) :

حضر هذا المحلول انياً عند الاستعمال وذلك بإذابة 0.6 غم من مادة الـTBA في 100مل من الصودا الكاوية NaOH بتركيز 0.05 مولاري باستخدام القليل من التسخين.

5- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloroacetic acid Solution (TCA)

تم تحضير هذا المحلول بتركيزين وتم حفظه في الثلاجة لحين الأستخدام، المحلول الأول يكون بتركيز 17.5% وذلك بإذابة 17.5غم من مادة TCA في 100 مل من الماء المقطر، والمحلول الثاني تركيزه 70% ونحصل عليه بإذابة 70غم من المادة نفسها في 100 مل من الماء المقطر.

طريقة العمل:

المحاليل	العينة	الكفى
Serum	150 µl	-
Distill water	-	150 µl
TCA (17.5%)	1 ml	1 ml
TBA (0.6%)	1ml	1 ml
تم رج الانابيب جيداً وبعد ذلك وضعت في حمام مائي مغلي لمدة 15 دقيقة للحضن ثم تُركت لتبرد في درجة حرارة الغرفة وأضيف إليها :		
TCA (70%)	1 ml	1 ml

قُدِّر التركيز في المصل باتباع طريقة العمل الآتية كما موضحة بالجدول الآتي:  
 تُركت الأنابيب بدرجة حرارة 37م لمدة 20 دقيقة ثم قُصِل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/الدقيقة لمدة 15 دقيقة وقُرأت الامتصاصية للراشح المتكون عند طول موجي 532 نانوميتر .

الحسابات:

تم حساب التركيز اعتماداً على المعادلة الآتية :

$$\text{The concentration of malondialdehyde } \mu\text{mol/L} = \frac{A_{\text{test}}}{L \times E_0 \times D}$$

$$10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \times E_0 = \text{Extinction coefficient } 1.56$$

L = light bath 1 cm.

A= Absorbance.

$$D = \text{Dilution factor} = \frac{1 \text{ ml vol used in Ref}}{0.15} = 6.7$$

### 2-7-3 تقدير مستوى بيروكسيد الهيدروجين الدهنية في الدم Lipid hydroperoxides (LHP)

مبدأ العمل

يعتمد مبدأ عمل LHP مباشرةً على تفاعلات الأكسدة والاختزال مع أيونات الحديد حيث تكون هيدروكسيدات الدهون غير مستقرة للغاية وتتفاعل بسهولة مع أيونات الحديد لإنتاج أيونات الحديد (Mihaljevic *et al.*,1996 )



$$\lambda_{\text{max}}=500\text{nm}$$

$$\epsilon:16.667\text{M}^{-1}\text{CM}^{-1}$$

طريقة العمل

- 1- تم اضافة 500 ميكرو لتر من مستخلص الكلوروفورم لكل عينة بشكل مناسب في أنابيب اختبار زجاجية .
- 2- قسمت 450 ميكرو لتر من خليط مذيب الكلوروفورم والميثانول في انابيب اختبار العينة.
- 3- بعدها تم اعداد المحلول الملون Chromogen عن طريق خلط أحجام متساوية من كاشف FTS 1 و كاشف FTS 2 في أنبوب اختبار و تم توضع في جهاز vortex mixer وهو جهاز بسيط يستخدم عادة في المختبرات لخلط قوارير صغيرة من السائل حيث يعتمد حجم الكروموجين المراد تحضيره على عدد الأنابيب التي تم فحصها.
- 4- بعدها تم اضافة 50 مايكرو لتر من Chromogen لكل عينة من انابيب الاختبار و خلطها جيدا عن طريق جهاز vortex mixer . ومن تم غلق أنابيب الاختبار بأغطية محكمة بلاستيكية
5. بعدها يتم حفظ أنابيب الفحص في درجة حرارة الغرفة لمدة خمس دقائق.
6. تم قياس امتصاص كل أنبوب عند 500 نانومتر باستخدام انابيب زجاجية او معدن الكوارتز
7. بعدها يتم نقل 300 ميكرو لتر من كل أنبوب إلى الوحة ذات 96 حفرة
8. تم قراءة الامتصاصية عند 500 نانومتر باستخدام قارئ الاليزا ذو 96 حفرة

### 3-7-3 تقدير مستوى الكلوتاثيون المختزل في مصلى الدم Reduced glutathione (GSH)

تم قياس مستوى الكلوتاثيون في مصلى الدم وذلك باستخدام طريقة كاشف المان Ellmans المتبعة من قبل AL-Zamely (2001)

#### المحاليل المستخدمة

#### 1- محلول حامض السلفوساليسيليك sulfosalicylic acid solution

تم تحضيره باذابة 4 غم من حامض السلفوساليسيليك في 100 مليلتر من الماء المقطر وحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام .

#### 2- محلول دارى الفوسفات phosphate buffer solution

تم تحضيره بمزج (0.6 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) و (0.08 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)، بعدها تم ضبط الاس الهيدروجيني عند 8 .

### 3- محلول كاشف المان Ellmans

تم تحضيره بتركيز 0.1 ملي مول وذلك بإذابة 0.00396 غم من مادة 5-5 dithio bis 2- nitrobenzoic acid (DTNB) في 100 مليلتر من المحلول المنظم وبعد ذلك تم حفظ الكاشف في الثلاجة .

#### طريقة العمل

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

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

3- سحب 150 مايكروليتر من الراشح في انبوبة اختبار واضيف اليه 4.5 مللتر من كاشف المان Ellmans 0.1 ملي مول وترك لمدة 5 دقائق .

4- تم قراءة الامتصاصية بطول موجي 412 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي.

تم حساب تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم باستخدام المعادلة التالية :

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

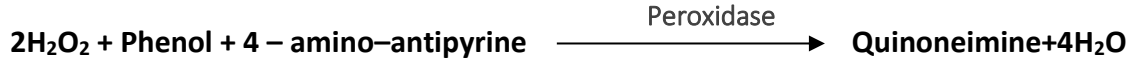
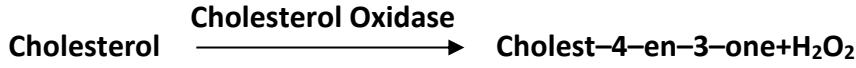
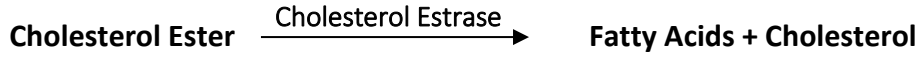
حيث ان :  $E_o = 13600 M^{-1} CM^{-1}$

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

### 3-7-4 تقدير مستوى الكوليسترول الكلي في مصل الدم Total cholesterol (TC)

تم تقدير مستوى الكوليستيرول في مصل الدم بالطريقة الانزيمية وفقا لطريقة Allani (1974) اذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل Cholesterol Esterase بوجود الاوكسجين ( $O_2$ ) وانزيم Cholesterol Oxidase ، اللذان يعملان على اكسدة الكوليستيرول الحر المتكون نتيجة التفاعل الاول إلى ( 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 :

المحاليل	Blank	Sample	Standard
Sample		10 $\mu$	
Standard			10 $\mu$
Blank	10 $\mu$		
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 مستوى الكوليسترول الكلي وفقا للقانون الاتي :

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

اذ

ان :

$N = 200$  وهو تركيز المحلول القياسي.

Sample = الامتصاصية الضوئية لعينة المصل .

Standard = الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

### 5-7-3 تقدير مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة في مصل الدم High density lipoprotein (HDL)

تم تقدير مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL cholesterol وفقا لطريقة Burstein (1970) وهي طريقة انزيمية تعتمد على ترسيب دقائق الاستحلاب (الكيلوسية) و LDL و VLDL المتواجدة في مصل الدم وذلك بإضافة معامل الترسيب Precipitating reagent إلى مصل العينات وبعد نهاية العملية تم وضع العينات في جهاز الطرد المركزي وبعد عملية الترسيب يتكون محلول رائق يحتوي على HDL والذي يمكن قياس مستوى الكوليسترول فيه باستخدام كاشف Reagent A من عدة تقدير مستوى الكوليسترول .

#### طريقة العمل

تتضمن عملية تقدير مستوى HDL cholesterol خطوتين هما :

#### 1- الترسيب

تم استخدام هذه الخطوة لتحضير الراشح (الرائق) بإضافة 0.5 مل من محلول الترسيب Reagent 1 الى 0.5 مل من مصل الدم وبعد مزجه جيدا ترك لمدة 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة بعد ذلك تم وضعه في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق بسرعة 3000 دورة / دقيقة

#### 2- تقدير كمية HDL cholesterol

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

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

بعد ذلك تم إضافة 2.0 مل من Reagent A الى المحاليل الثلاثة المذكورة أعلاه ومزجت جيدا ثم تم تركها لمدة 5 دقائق في حمام مائي بدرجة 37 م وقرأت الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 510 نانوميتر .

#### الحسابات

تم حساب تركيز HDL cholesterol وفقا للقانون التالي :

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

اذ ان :

$$C.STD = \text{قيمة المحلول القياسي وتقدر } 50 \text{ mg /dl}$$

$$(2) = \text{عامل التخفيف بالمزج مع معامل الترسيب Precipitating reagent}$$

### 6-7-3 تقدير مستوى البيليروبين الكلي (T-Bil) في مصل الدم total bilirubin level in blood serum

تم استخدام طريقة Burtis *et al* (1994) في تقدير مستوى البيليروبين الكلي .

مبدأ العمل :

يحدد مقياس الطيف الضوئي للبيليروبين ، من خلال اقتران البيليروبين مع حامض Sulfanilic diazotized بوجود مادة الكافيين للحصول على صبغة الازو (azo) ويستخدم جهاز المطياف الضوئي لقياس شدة اللون .

الكواشف Reagent :

الكاشف 1 (sulfanilic acid solution)	
sulfanilic acid	29 mmol/L
HCl	0.17 N
الكاشف 2 (sodium nitrite solution)	
sodium nitrite	25 mmol /L
الكاشف 3 (caffeine solution )	
Caffeine	0.26 mol /L
Sodium benzoate	0.52 mol/ L
الكاشف 4 (tartrate solution)	
Tartrate	0.93 mol /L
NaOH	1.9 N

طريقة العمل Procedure :

تم استخدام الكواشف التالية وكما مبين في الجدول التالي :



الكواشف	Sample blank	Sample
الكاشف 1	200 µl	200 µl
الكاشف 2	---	50 µl
الكاشف 3	1000 µl	1000 µl
العينة	200 µl	200 µl
تمزج سوية لمدة 10-60 دقيقة عند درجة حرارة 25 C بعدها يضاف الكاشف الرابع		
الكاشف 4	1000 µl	1000 µl
تم مزجها لمدة 5-30 دقيقة عند درجة حرارة 20-25 C و قرأت امتصاصية العينة عند الطول الموجي 578 نانوميتر		

### 7-7-3 تقدير مستوى الالبومين في مصل الدم albumin in blood serum

المبدأ الأساس :

تم استخدام طريقة بروموكريسول الأخضر Bromocresol Green BCG التي استخدم فيها عدة التحاليل الجاهزة من شركة (Biolabo) الفرنسية لتقدير مستوى الالبومين وتعتمد هذه الطريقة على كمية الالبومين الذي يرتبط مع الكاشف (3 , 3 , 5 , 5 , - رباعي برومو - ميتا كريسول كبريتات الفيثالين ) المسمى برومو كريسول الأخضر الذي يكون معقد البومين - بروموكريسول الأخضر Albumin - BCG Complex ذو اللون الأخضر وتقاس شدته عند طول موجي (630) نانوميتر في المطياف الضوئي (Hallbach *et al.*,1991; Tiez, 2006)

المحاليل المستخدمة :

#### 1-محلول بروموكريسول الأخضر BCG Solution

يتكون هذا المحلول من 3 ملي مول /لتر من حامض السكسنيك مع 167 مايكرومول /لتر من (BCG) و 50 ملي مول /لتر من هيدروكسيد الصوديوم و تركيز 1 غم/لتر من Polyoxyethylene monolauryl ether بدالة حامضية تبلغ 4.2 .

## 2- المحلول القياسي بتركيز 5 غم/ديسيلتر

### طريقة العمل :

1- تم وضع 2.5 مل من محلول BCG في انبوبة اختبار واضيف 5 مايكروليتر من مصل الدم اليها ومزج جيدا .

2- تم وضع 2.5 مل محلول BCG في انبوبة اختبار واضيف 5 مايكروليتر من المحلول القياسي ومزج جيدا .

3- تم وضع 2.5 مليليلتر من محلول BCG في انبوبة اختبار واضيف 5 مايكروليتر من الماء المقطر ومزج جيدا .

بعد ان مزجت الانابيب الثلاث تم قراءة الامصاصية بعد دقيقة بطول موجي 630 نانوميتر مقابل محلول الكفاء .

### الحسابات :

تم حساب مستوى الالبومين في مصل الدم بوحدة (g/ dl) كما في القانون الاتي :

$$\text{شدة امتصاصية محلول الاختبار} \times \frac{\text{تركيز المحلول القياسي}}{\text{شدة امتصاصية المحلول القياسي}}$$

## 3-7-8 تقدير مستوى اليوريا Urea في المصل

### المبدأ الأساس :

تم معرفة مستوى اليوريا في المصل بالاعتماد على طريقة (Bishop et al., 2013) .

بعدة الفحص الذي يحتوي المكونات التالية:-

- 1- المحلول القياسي Standard reagent: حاوي على نسبة ثابتة من اليوريا.
- 2- المحلول الأنزيمي enzyme reagent حاوي على أنزيم Urease.
- 3- الكاشف اللوني Color reagent: متكون من EDTA ,Sodium salicylate ,Sodium nitroprusside ودارئ الفوسفات بدرجة حموضة PH = 8.
- 4- المحلول القاعدي Alkaline Solution: حاوي على Sodium hypochlorate و Sodium carbonate

طريقة العمل:-

المحاليل	العينة	القياسي	كاشف بلانك
المحلول القياسي	-----	10 مايكرو لتر	-----
العينة (المصل)	10 مايكرو لتر	-----	-----
المحلول الإنزيمي + الكاشف اللوني	1 ملتر	1 ملتر	1 ملتر
ترج الأنابيب و تحفظ عند درجة حرارة 37 مئوية لمدة 3 دقائق			
المحلول القاعدي	200 مايكرو لتر	200 مايكرو لتر	200 مايكرو لتر
رجت الانابيب وحفظت عند درجة 37 مئوية لمدة خمس دقائق ثم تم قياس الامتصاصية باستخدام المطياف الضوئي و بطول موجي 580 نانومتر.			

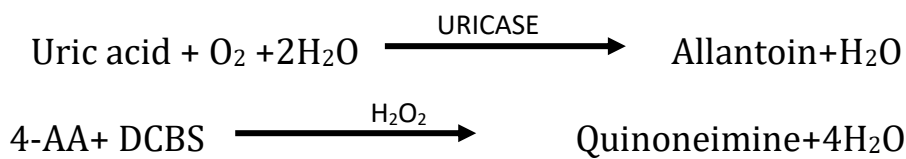
تم حساب مستوى اليوريا من المعادلة التالية:-

$$\text{تركيز اليوريا} = \frac{\text{امتصاصية العينة}}{\text{تركيز المحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$

( Mg / dl ) امتصاصية القياسي

### 3-7-9 تقدير مستوى حمض اليوريك Uric acid في المصل

يتأكسد حمض اليوريك (Uricase) بواسطة اليوريز إلى الأنتوين ( Allantoin ) بتكوين بيروكسيد الهيدروجين. في وجود البيروكسيداز (POD) ، و يتأكسد خليط من ثنائي كلورو فينول سلفونات (DCBS) و ( 4-AA ) 4 aminoantipyrine بواسطة بيروكسيد الهيدروجين لتكوين صبغة كينونيمين Quinoneimine وتتناسب مع تركيز حمض البوليك في العينة (Hashoosh, 2020)



طريقة العمل

المحاليل	الكفى	العينة	المحلول القياسي
R1. Monoreagent	1 مل	1 مل	1 مل
Sample(serum)	-	20 مايكرو ليتر	-
Calibration Standard	-	-	20 مايكرو ليتر

تركت الكواشف لمدة 5 دقيقة في درجة حرارة الغرفة وبعدها رجت وقرات العينات والمحلول القياسي مقابل المحلول الخزين جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer على طول موجي مقداره 520 نانوميتر

تم حساب مستوى حامض اليوريك في مصل الدم باستخدام المعادلة الآتية :

$$\text{uric acid } mg/dL = (A \text{ Sample}) / (A \text{ standard}) \times C \text{ Standard}$$

### 10-7-3 تقدير مستوى الكرياتينين في مصل الدم Estimating of creatinine concentration in blood serum

قدر مستوى الكرياتينين في المصل باستخدام عدة التحليل الجاهزة المصنعة من قبل شركة Bio labo الفرنسية (Bishop et al., 2013).

المبدأ الأساس:

تعتمد هذه الطريقة على أساس تفاعل الكرياتينين مع حامض البكريك في وسط قاعدي ليكون ملحاً أصفر محمر . وأن معدل تكوين اللون يتناسب طردياً مع تركيز الكرياتينين في المصل .

المحاليل المستخدمة:

- المحلول المنظم ( R<sub>1</sub> )
- المحلول الأنزيمي ( R<sub>2</sub> )

• المحلول القياسي (R<sub>3</sub>)

تحضير محلول العمل:

خُضر المحلول عن طريق مزج حجم معين من (R<sub>1</sub>) مع حجم مماثل من (R<sub>2</sub>). إذ مُزج مزجاً جيداً ليُستخدم مباشرةً بعد ذلك وان هذا المحلول الناتج يكون ثابتاً لمدة شهر .

طريقة العمل:

تم تقدير تركيز الكرياتينين في المصل حسب طريقة العمل الموضحة في الجدول الآتي :

Blank	Standard	Sample	المحاليل
ml 1	ml 1	ml 1	Working reagent
-	-	µl100	Serum
-	µl100	-	Standard
µl100	-	-	Distilled water

مُزجت المواد مزجاً جيداً وبعد 30 ثانية سُجلت القراءة الأولى A<sub>1</sub> باستخدام جهاز المطياف الضوئي عند طول موجي 490 نانوميتر وبعد مرور دقيقتين على القراءة الأولى سُجلت القراءة الثانية A<sub>2</sub> عند نفس الطول الموجي .

الحسابات:

تم حساب تركيز الكرياتينين في المصل حسب المعادلة الآتية:

$$\text{Creatinine Conc. (mg/dl)} = \frac{(A_2 - A_1)_{\text{Sample}}}{(A_2 - A_1)_{\text{Standard}}} \times \text{Standard Conc. (2 mg/dl)}$$

### 11-7-3 تقدير مستوى هرمون الإرتروبويتين في المصل

#### Estimating of EPO hormone level in the serum

استعملت طريقة التلازن الأنزيمي المناعي لقياس تركيز هرمون الإرتروبويتين في المصل, واعتمادا على الطريقة الموصوفة من قبل (Kricka,1999).

#### مبدأ العمل The principle

تم تقدير مستوى هرمون الإرتروبويتين من خلال ارتباط EPO الموجود في المصل من جهة مع الاجسام المضادة الاحادية النسيلة Monoclonal والتي تعلم بالبايوتين Biotinylated EPO antibody , ومن جهة ثانية مع الاجسام المضادة النسيلة الاحادية المعلمة بانزيم (HRP) Horseradixh peroxidase.

#### مكونات العدة Kit contents

- 1-الصفحة الرقيقة Microplate المغطاة بـ Streptavidin.
- 2-الكاشف الاول : يحوي هذا الكاشف على اجسام مضادة لـ EPO , والمعلمة بالبايوتين.
- 3- الكاشف الثاني : يحتوي على اجسام مضادة لـ EPO و التي كانت معلمة بانزيم HRP.
- 4- الكاشف A : يعمل هذا الكاشف كمحلول للغسل.
- 5- الكاشف B : يعد المادة الاساس Tetramethylbenzidine (TMB).
- 6- محلول السيطرة Control solution : و يحتوي هذا المحلول على عبوتين، واحدة والتي يكون تركيزها 18.2 وحدة دولية / مل (تركيزها المقدر) والأخرى يكون تركيزها 194 وحدة دولية / مل .
- 7- المحلول القياسي Standard solution: و يحتوي المحلول على ثمان عبوات وبالتركيز التالية (10.1،5.1،2.5،0،532،159،50،25) وحدة دولية / مل.
- 8-محلول الايقاف Stopping solution .

#### Reagents preparation

#### تحضير الكواشف

- 1- خفف الكاشف A من خلال إضافة 570 مل من الماء المقطر

2-خفف المحلول القياسي A عن طريق إضافة 4 مل من الماء المقطر.

3- خُففت المحاليل القياسية H-B بإضافة الماء المقطر ( 2 مل).

### The procedure

### طريقة العمل

- 1- تركت المواد في درجة حرارة الغرفة.
- 2- أُخذت 200 وحدة دولية من محلولي السيطرة والقياسي والعينات وأضيفت الى الحفر.
- 3- أضيف 25 وحدة دولية من الكاشف الاول إلى كل حفرة.
- 4- تم اضافة 25 وحدة دولية / مل من الكاشف الثاني إلى كل حفرة
- 5- تم تغطية الحفر و رجت لمدة خمسة دقائق إجّل خلط العينات مع الكواشف ,وبعد ذلك وضعت لمدة ساعتين على الجهاز الهزاز.
- 6- أُزيل الخليط وغسلت الحفر باستعمال الكاشف A وتم تكرار الغسل خمس مرات وباستعمال جهاز Bioeslisa washer.
- 7- اضيفت 100 وحدة دولية من كاشف B الى كل حفرة ,ثم غطيت الحفر ووضعت لمدة نصف ساعة على الجهاز الهزاز.
- 8- تم اضافة 100 وحدة دولية / مل من محلول الايقاف إلى كل حفرة لغرض ايقاف التفاعل .
- 9- تم قراءة الامتصاصية على طول موجي 450 نانوميتر

### 12-7-3 تقدير مستوى هرمون الكالسيترون في المصل

### Estimating calcitriol level in the serum

تم قياس مستوى calcitriol في مصل الدم بجهاز ELISA وهي طريقة قياس مناعية انزيمية يتفاعل فيها Calcitriol مع جسم مضاد احادي النسيلة مخصص لـ Calcitriol .

### طريقة العمل

- 1- أضيف 50 ميكرو لتر من العينة لكل حفرة .

- 2- اضيف 50 ميكرو لتر من كاشف العمل المحلول لكل حفرة وبعدها تم تغطيتها بلوحة السداد ومن ثم تم الضغط برفق على اللوحة لضمان الخلط الدقيق. ثم حضنت بدرجة 37 مئوية لمدة ساعة واحدة.
3. تم غسل الحفر بمحلول الغسل Wash Buffer وكررت العملية ثلاث مرات.
4. اضيف 100 ميكرو لتر من محلول Detection Reagent B لكل حفرة. مع تغطية الصفيحة و حضنت لمدة 45 دقيقة بدرجة حرارة 37 مئوية.
5. كررت عملية الغسل خمس مرات .
6. بعدها اضيف 90 ميكرو لتر من محلول التفاعل إلى كل حفرة وغطيت الحفر وحضنت من 15-30 دقيقة بدرجة 37 مئوية .
7. تم اضافة 50 ميكرو لتر من محلول الإيقاف لكل حفرة .
8. تحديد الكثافة البصرية لكل حفرة مرة واحدة ، باستخدام قارئ الاليزا عند طول موجي 450 نانومتر

### 3-8 المعايير المناعية

#### 3-8-1 قياس مستوى عامل التنخر الورمي الفا $TNF-\alpha$ , و الانترلوكين (IL-) IL-

#### Interleukin 8 (IL-8), الانترلوكين, Interleukin-1 $\beta$ (1 $\beta$ )

#### مبدأ العمل:

قدرت مستويات  $TNF-\alpha$ , IL-1 $\beta$  و IL-8 بتقنية الاليزا ELISA ، تم قياسها باستخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة بكل منها بالاعتماد على الطريقة المناعية المعروفة - Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) وتم اجراء الخطوات لقياس تركيز كل منها اعتمادا على الخطوات المرفقة لكل طقم وكما يأتي :

#### تحضير الكواشف Reagents preparation:

1. المحلول القياسي Standard: حضر بإضافة المحلول القياسي Standardb مع 1مل من الماء المقطر Distilled water .
2. محلول السيطرة Control: خفف بإضافة محلول السيطرة Control مع 1مل من الماء المقطر Distilled water .



3. محلول تخفيف العينة Specimen diluents : خففت العينة بإضافة ما موجود في العبوة vial إلى 1 مل من الماء المقطر Distilled water .

4. محلول الغسل Working wash solution : حضر محلول الغسل Wash solution بإضافة 199 مل من الماء المقطر إلى 1 مل (عبوة واحدة vial) من Wash solution بالتخفيف إلى (200x) باستخدام المازج Magnetic stirrer للخلط أو التجانس ويكون استعماله أنيا.

5. محلول الارتباط Revelation solution : حضر بإضافة 0.2 مل من Chromogen إلى 6 مل (عبوة واحدة vial) من المادة الأساس الدائرة Substrate buffer والمكونة من (بيروكسيد الهيدروجين الذائب في دارى acetate / citrate buffer) .

### طريقة العمل

1. تم تحضير كل الكواشف ووضعت على مكان نظيف تحت درجة حرارة الغرفة.
2. ثبتت الصفيحة Plate على مكان مستوي.
3. أضيف 100 مايكروليتر باستخدام الماصة الدقيقة Micropipette من دارى الحزن Incubation buffer إلى كل حفرة Well .
4. أضيف 100 مايكروليتر من المحلول القياسي (Calibrators) ، محلول (السيطرة Control) ، العينات ( Sample ) إلى كل الحفر Wells.
5. أضيف 50 مايكروليتر من محلول الاقتران conjugate إلى كل حفرة Wells.
6. حضنت لمدة 2 ساعة تحت درجة حرارة الغرفة محمول على هزاز الأطباق المناعية (Shaker) عند  $100 \pm 700$  rpm.
7. تم إزالة السائل الزائد من كل حفرة .
8. غسلت الصفيحة ثلاثة مرات خلال :أضافة 0.4 مل من محلول الغسل إلى كل حفرة و إزالة كل المكونات من الحفر.

9. أضيف 200 مايكروليتر من محلول الاقتران المحضر حديثا إلى كل حفرة لمدة 15 دقيقة متبوع بغسل الحفر.

10. حضنت الصفيحة لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة .

11. أضيف 50 مايكروليتر من محلول الايقاف ( Stop solution ) إلى كل حفرة.

12. قرأ طيف الامتصاصية عند طول موجي 450 nm.

### 9-3 التحضيرات النسجية Histological preparations

حفظت العينات ( الكبد ، الكلية ) في البداية بعد استئصالها من الحيوان في محلول الفورمالين بتركيز 10 % ثم استخرجت من المحلول بعد 48 ساعة وتم غسلها عدة مرات بالكحول الايثيلي بتركيز 70 % ثم بعد ذلك أجريت عليها سلسلة من العمليات اعتمادا على ماذكر في طريقة ( Bancroft & and Stevens, 2010 ) .

#### 1-9-3 الانكاز والترويق Dehydration and Clearing

سحب الماء من النسيج من خلال تمرير النماذج في سلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الايثيلي ( 70 % ، 80 % ، 90 % ، 100 % ، 100 % ) وذلك لمدة ساعتين في كل تركيز ثم بعد ذلك روقت النماذج بوضعها لمدة 5 دقائق في الزايلين .

#### 2-9-3 التشريب infiltration

بعد نهاية عملية الترويق تم نقل النماذج الى قناني حاوية على خليط من شمع البرافين paraffin wax بدرجة انصهار ( 57-60 ) م المنصهر والمرشح والزايلين بنسبة 1:1 وذلك لمدة نصف ساعة داخل الفرن الكهربائي ذو درجة حرارة 60 °م وذلك لاجل إبقاء الشمع منصهرا ولضمان حدوث عملية التشريب الكامل للنماذج بالشمع وتم نقلها الى قناني أخرى تحتوي على شمع البرافين أيضا داخل الفرن لمدة ساعة واحدة بعدها تم النقل مرة أخرى إلى قناني أخرى حاوية على شمع البرافين وذلك لمدة ساعة واحدة أيضا .

#### 3-9-3 الطمر Embedding

عملت قوالب من الشمع حاوية على نماذج العينات وذلك عن طريق صب الشمع في قوالب بلاستيكية خاصة تم طمر النماذج فيها وتركت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ثم تم فصلها عن القالب وحفظت بعد ذلك حتى وقت تقطيعها .

### 4-9-3 التقطيع Sectioning

استخدم جهاز المشراح اليدوي Rotary Microtome لغرض تقطيع النماذج وذلك بسمك تراوح 5 مايكرومتر ، تم حمل اشربة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة وممسوحة باح ماير بعد أن تم وضعها في حمام مائي بدرجة حرارة 45-50 مئوية وذلك لمدة دقيقة – دقيقتين لضمان فرش المقاطع وبعدها تركت على صفيحة ساخنة Hot Plate وذلك لغرض تجفيفها بدرجة حرارة 37° م .

### 5-9-3 التصبغ والتحميل Staining and Mounting

تم تصبغ جميع المقاطع النسيجية بصبغة هيماتوكسيلين – ايوسين حيث وضعت الشرائح في الزايلين لمدة 5 دقائق لغرض التخلص من الشمع ثم تم تمريرها في سلسلة تنازلية من الكحول الايثيلي (100 % ، 100 % ، 90 % ، 80 % ، 70 % ، 50 % ) وذلك لمدة دقيقتين في كل تركيز وبعدها تم تصبيغها بصبغة الهيماتوكسيلين لمدة اربع دقائق و باستخدام الماء الجاري غسلت لمدة دقيقتين ثم تم تغطيسها بالكحول الحامضي لمرتين أو ثلاث مرات للتخلص من الصبغة الزائدة ووضعت بصبغة الايوسين لمدة سبع دقائق وبعدها تم نقلها الى سلسلة تصاعدية من الكحول الايثيلي (50 % ، 70 % ، 80 % ، 90 % ، 95 % ، 100 % ، 100 % ) وذلك لمدة دقيقتين لكل تركيز منها باستثناء التركيز الأخير تم وضعها فيه لمدة 5 دقائق قبل ترويقها بالزايلين وذلك على مرحلتين كل مرحلة لمدة 10 دقائق ثم طبقت عليها عملية التحميل باستخدام بلسم كندا Canada Balsam وذلك لتثبيت غطاء الشريحة ثم وضعت على صفيحة ساخنة لغرض تجفيفها لمدة 8 ساعات حتى تصبح جاهزة للفحص المجهرى .

### 6-9-3 التصوير المجهرى Microphotography

تم فحص الشرائح الزجاجية لتحديد التغيرات في مقاطع الأنسجة المدروسة باستعمال المجهر الضوئي Light microscope بقوى تكبير مختلفة، وتم تصوير الشرائح الزجاجية باستخدام المجهر الضوئي والمزود بكاميرا رقمية نوع Canon عالية الدقة موصلة الى جهاز حاسوب وتحت القوة 20X و 10X .

### 10-3 التحليل الاحصائي Statistical Analysis

حللت جميع النتائج للمعايير الفسلجية من خلال الاستعانة بالبرنامج الجاهز Spss وقورنت النتائج باستخدام قيمة أقل فرق معنوي (LSD) Least Significant difference على مستوى احتمالية 0.01 حيث قدر معامل الارتباط البسيط بين بعض المعايير الكيموحيوية والجرع التصاعدية لمستخلص نبات التوت البانديكوت وإيجاد معادلة الخط المستقيم للمعايير الكيموحيوية على هذه الجرعة التصاعدية وذلك بيان تأثير الجرعة المؤثرة ED<sub>50</sub> 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 التوت البانديكوت )

تم استخدام تحليل التباين Anova table وفق التصميم العشوائي الكامل Complet randomized design ( CRD ) لتحليل بيانات التجربة الثانية و استخدم أيضا اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D) Least Significant difference لاطهار معنوية النتائج . (Spss , 1999) .

الفصل الرابع

النتائج

Results

## النتائج

### Results

#### التجربة الاولى Experiment 1

1-4 تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت  
**Determination of ED<sub>50</sub> of leaves aquatic extract of *Leea indica***

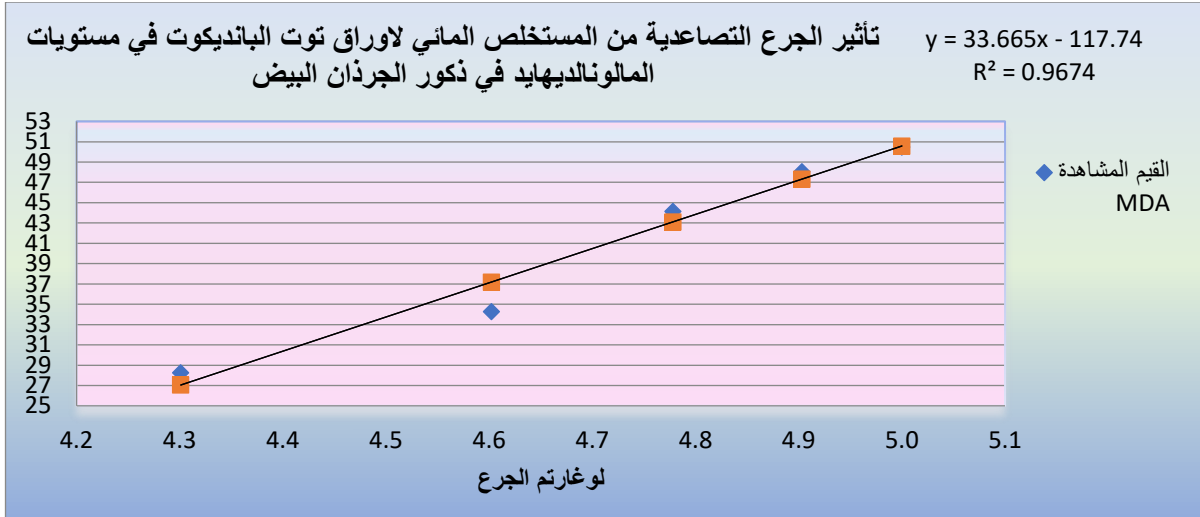
1-1-4 تأثير الجرع المختلفة من للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت  
على بعض المعايير الكيموحيوية

تم قياس الجرعة المؤثرة ED<sub>50</sub> من خلال دراسة منحنى الاستجابة للجرع المختلفة Dose response curve , إذ تم استخدام 5 جرع تصاعدية (20 ، 40 ، 60 ، 80 ، 100) من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت لتحديد الجرعة المؤثرة له ولدراسة تأثيراته على بعض المعايير الوظيفية ومنها مستوى المالونالديهيد (MDA) ، الكلوتاثيون المختزل (GSH) ، الكولسترول الكلي (TC) ومستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة (HDL) ، اوضحت النتائج أن هناك تأثيراً معنوياً للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت على هذه المعايير عند مستوى معنوية  $p < 0.01$  .

تم استخدام النتائج التي تم الحصول عليها لتقدير الجرعة المؤثرة النصفية (ED<sub>50</sub>) من المستخلص المائي لتوت البانديكوت على النحو الآتي:

1-1-1-4 تأثير الجرع المختلفة من المستخلص المائي لتوت البانديكوت في مستوى المالونالديهيد MDA في مصل ذكور الجرذان البيض

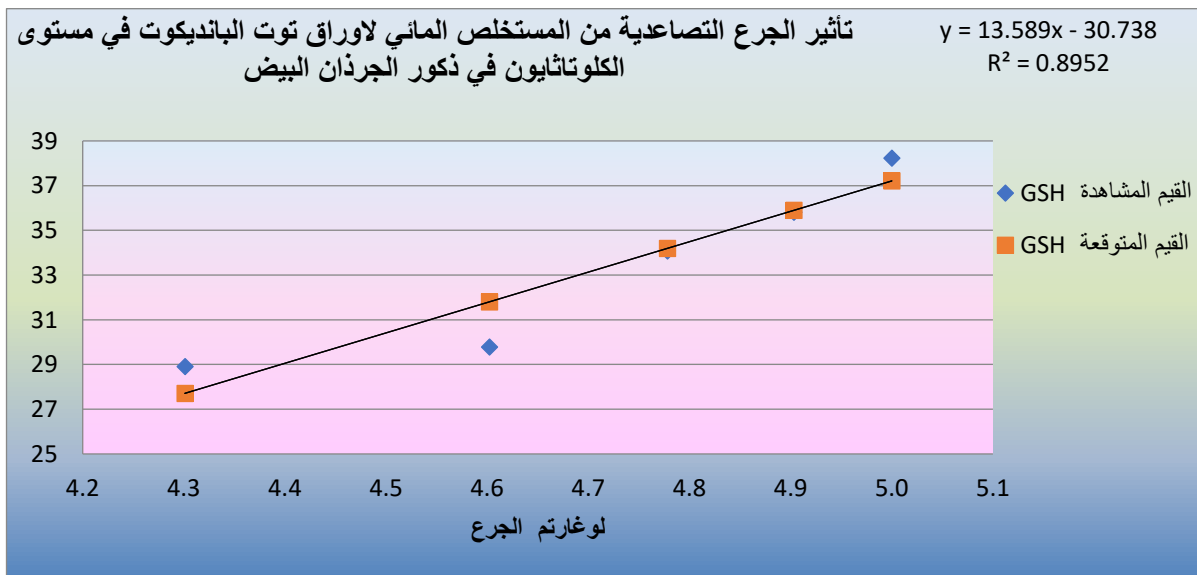
نلاحظ من الشكل (1-4) وجود علاقة خطية عكسية بين المستخلص المائي لتوت البانديكوت ومستوى المالونالديهيد MDA ، ووجد أن مقدار الجرعة المؤثرة النصفية بلغت 57.45 ملغم / كغم



شكل (1-4) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستوى المالونالديهيد MDA بعد 30 يوم ، n= 6 ، ED<sub>50</sub>=57.45 mg/kg

#### 2-1-1-4 تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لتوت البانديكوت في مستوى الكلوتاثيون المختزل GSH في مصّل ذكور الجرذان البيض

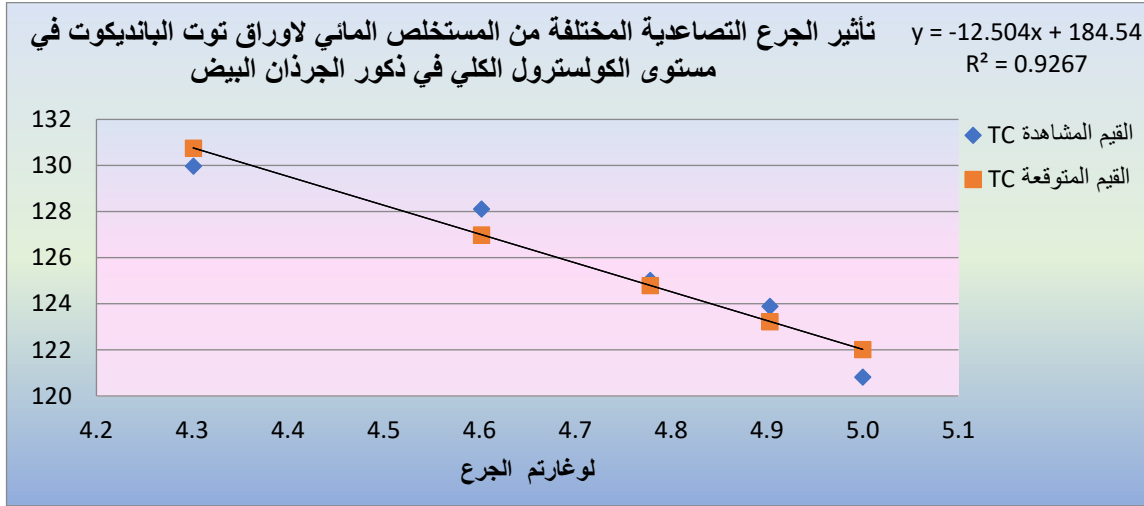
يوضح الشكل (3-4) وجود علاقة خطية طردية بين الجرعة التصاعديّة من المستخلص المائي لتوت البانديكوت ومعدل مستوى الكلوتاثيون المختزل GSH في مصّل ذكور الجرذان البيض ، وقد وجد ان الجرعة المؤثرة النصفية للكلوتاثيون المختزل ED<sub>50</sub> بلغت 61.7 ملغم / كغم /



شكل (2-4) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستوى الكلوتاثيون المختزل GSH بعد 30 يوم ، n= 6 ، ED= 61.7 mg/kg

#### 3-1-1-4 تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لتوت البانديكوت في مستوى الكوليستيرول الكلي TC في مصلى ذكور الجرذان البيض

نلاحظ من الشكل ( 3-4 ) وجود علاقة خطية عكسية بين الجرعة التصاعديّة المختلفة لمستخلص توت البانديكوت ومعدل مستوى الكوليستيرول الكلي TC من خلال المعادلة الخطية وجد ان الجرعة المؤثرة النصفية ED<sub>50</sub> بلغت 59.48 ملغم / كغم



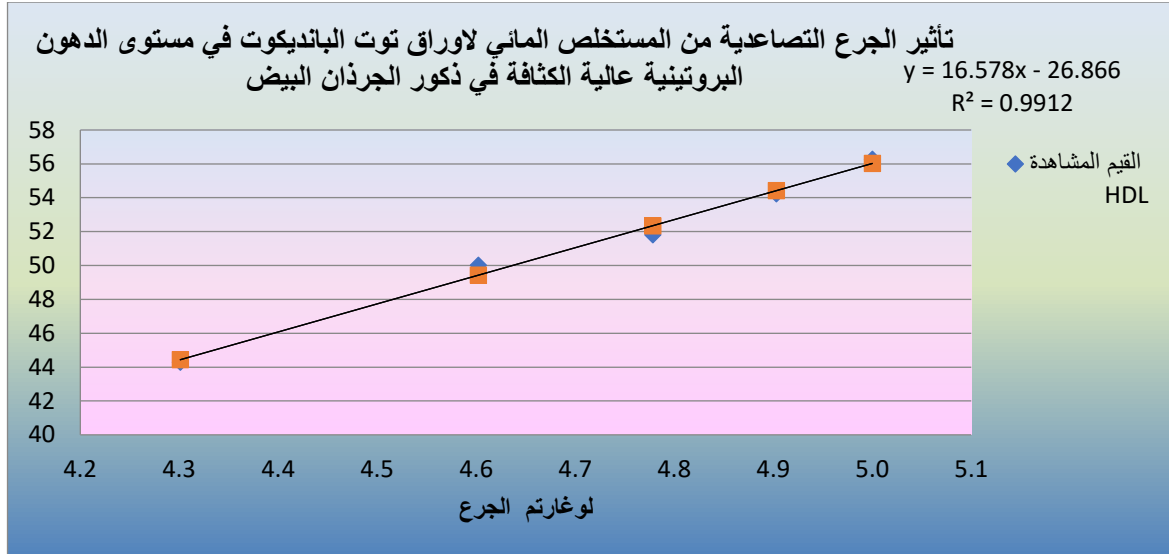
شكل (3-4) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستوى الكوليستيرول الكلي TC بعد 30 يوم ED<sub>50</sub> = 59.48 mg/kg ، n = 6

#### 4-1-1-4 تأثير الجرعة المختلفة من مادة للمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL-C في مصلى ذكور الجرذان البيض

يوضح الشكل ( 4-4 ) وجود علاقة خطية طردية بين الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لتوت البانديكوت ومعدل مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL ، ووجد أن مقدار الجرعة المؤثرة النصفية ED<sub>50</sub> بلغت 61.76 ملغم / كغم .

ومن خلال حساب قيم الجرعة المؤثرة النصفية ED<sub>50</sub> للمعايير السابقة الأربعة (TC,MDA , GSH , HDL) تم حساب الجرعة المؤثرة الكلية للمستخلص المائي لتوت البانديكوت اذ بلغت 60 ملغم / كغم / و.ج.





شكل (4-4) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL بعد 30 يوم ، n= 6 ، ED50= 61.76 mg/kg

## 2-4 التجربة الثانية Experiment 2

1-2-4 تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت على انزيمات للكبد والبلروبين الكلي

1-1-2-4 التغيرات في معدل مستوى انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP) (U/L)

يلاحظ من الجدول (1-4) وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى انزيم ALP في مصل ذكور الجرذان المعاملة ب 200 ملغم /كغم DEN (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) . كما يشير الجدول أن التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت (60 ملغم /كغم) في المجموعة G3 لم يؤدي الى وجود فرق معنوي ( $P > 0.01$ ) في معدل مستوى انزيم ALP مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما أن المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN في المجموعة G4 والمجرعة فمويًا ب 60 ملغم/ كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت لم يؤدي إلى وجود فرق معنوي ( $P > 0.01$ ) في معدل مستوى انزيم ALP مقارنة مع (G1) ، كما لم يلاحظ وجود فرق معنوي ( $P > 0.01$ ) بين المجموعتين G3 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

2-1-2-4 التغيرات في معدل مستوى الانزيمات الناقلة لمجموعة الأمين Asparatate Transaminase (AST) alanine transaminase (U/L) (ALT)

يشير الجدول (1-4) إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى انزيم ALT و AST في المجموعة G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED<sub>50</sub> من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت (G3) و (G4) لم تسجل اي فروق معنوية ( $P > 0.01$ ) في معدل مستوى انزيم ALT و AST في المجموعتين G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما لم يلاحظ وجود فرق معنوي ( $P > 0.01$ ) في معدل انزيم AST في المجموعة G4 في حين حدث ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى انزيم ALT في المجموعة G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

3-1-2-4 التغيرات في معدل مستوى البيليروبين الكلي Total (T-BIL) (mg/dl) bilirubin

يلاحظ من الجدول (1-4) وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى T-BIL في مصل ذكور الجرذان المعاملة بمادة DEN (G2) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول إلى أن التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (ED<sub>50</sub>) من المستخلص المائي

لأوراق توت البانديكوت في المجموعة G3 لم يؤدي الى فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى T-BIL في المصل حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) كذلك لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في المجموعة G4 المعاملة بمادة DEN و المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G2 و G3 ، و بين المجموعتين G2 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

جدول (1-4) تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستوى انزيمات للكبد و البيليروبين الكلي في مصل ذكور الجرذان البيض

المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي				المجاميع
T-BIL (mg/dl)	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	
0.18 $\pm 0.04$ a	45.70 $\pm 5.03$ a	128.70 $\pm 5.21$ a	235.10 $\pm 9.86$ a	G1 (1 ملغم /كغم ماء حنفية )
0.63 $\pm 0.11$ b	112.90 $\pm 9.85$ b	309.20 $\pm 37.93$ b	498.60 $\pm 28.64$ b	G2 (200 ملغم/كغم DEN )
0.14 $\pm 0.04$ a	45.10 $\pm 3.98$ a	126.40 $\pm 5.04$ a	238.10 $\pm 14.91$ a	G3 (60 ملغم /كغم مستخلص توت البانديكوت )
0.18 $\pm 0.07$ a	54.90 $\pm 2.60$ c	133.40 $\pm 4.97$ a	247.90 $\pm 12.12$ a	G4 (200 ملغم/كغم +DEN 60 ملغم /كغم مستخلص توت البانديكوت)
0.06	5.28	17.06	15.72	LSD

n = 10 /مجموعة ، الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال  $P<0.01$

#### 2-2-4 تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت على معدل مستوى الكلوتاثيون المختزل GSH والمالونالديهيد MDA الديسموتاز الفائق (SOD) و السيتوكروم Cytochrome C LHP و oxidase (COX)

##### 1-2-2-4 التغيرات في معدل مستوى الكلوتاثيون المختزل GSH (mg/dl)

يشير الجدول (2-4) إن المعاملة بمادة DEN بجرعة 200 ملغم / كغم (G2) أدى الى انخفاض معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى الكلوتاثيون المختزل GSH مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ من هذا الجدول إن مجموعة ذكور الجرذان التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة النصفية ( $ED_{50}$ ) من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت (G3) أدت الى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى GSH مقارنة مع المجموعة

(G2) ومجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ أن التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة النصفية (ED<sub>50</sub>) من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت (60 ملغم / كغم) لذكور الجرذان المجرعة فمويًا ب DEN في المجموعة G4 لم يؤدي إلى وجود فروق معنوية (P>0.01) في معدل مستوى الكلوتاثيون المختزل GSH مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

#### 2-2-2-4 التغيرات في معدل مستوى المالنوالديهايد (MDA) mg/dl

يشير الجدول (2-4) إلى حدوث ارتفاع معنوي (P<0.01) في معدل مستوى MDA في المجموعة المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN (G2) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ أن التجريع الفموي بجرعة 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت أدى إلى حدوث انخفاض معنوي (P<0.01) في معدل مستوى المالنوالديهايد في المجموعة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) والمجموعة G2 .

في حين لم يلاحظ وجود فرق معنوي (P>0.01) في معدل مستوى MDA في المجموعة G4 التي جرعت فمويًا بالجرعة المؤثرة النصفية ED<sub>50</sub> من مستخلص نبات توت البانديكوت مع 200 ملغم / كغم من DEN حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

#### 3-2-2-4 التغيرات في معدل مستوى الديسموتاز الفائق Superoxide (SOD) (mg/dl) dismutase

تشير البيانات الموجودة في الجدول (2-4) إلى حدوث انخفاض معنوي (P<0.01) في معدل مستوى SOD في المجموعة (G2) المعاملة بمادة DEN بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ أيضًا أن التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة النصفية من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت لم يؤدي إلى وجود فرق معنوي (P>0.01) في معدل مستوى SOD في المجموعة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) . كما لم يسجل حدوث فرق معنوي (P>0.01) في معدل مستوى SOD في المجموعة G4 التي جرعت فمويًا بجرعة 200 ملغم / كغم من DEN مع التجريع بالجرعة المؤثرة النصفية ED<sub>50</sub> من مستخلص نبات توت البانديكوت في نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

#### 4-2-2-4 التغيرات في معدل مستوى السيوكروم Cytochrome C (U/ml) oxidase (COX)

يشير الجدول (2-4) إلى حدوث انخفاض معنوي (P<0.01) في معدل مستوى COX في المجموعة المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN (G2) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ أن التجريع الفموي بجرعة 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق

توت البانديكوت أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى COX في المجموعة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) والمجموعة G2 والمجموعة G4. في حين لم يلاحظ وجود فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى COX في المجموعة G4 التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة النصفية ED<sub>50</sub> من مستخلص نبات توت البانديكوت مع 200 ملغم / كغم من DEN مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

#### 5-2-2-4 التغيرات في معدل مستوى بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية LHP (Uk/kg)

يلاحظ من الجدول (2-4) إلى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى LHP في المجموعة (G2) المعاملة بمادة DEN بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ أيضا أن التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة النصفية (ED<sub>50</sub>) من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت أدى إلى وجود انخفاض معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى LHP في المجموعة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) . في حين لم يسجل حدوث فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى LHP في المجموعة G4 التي حقنت بجرعة 200 ملغم / كغم من DEN مع التجريع بالجرعة المؤثرة النصفية ED<sub>50</sub> من مستخلص نبات توت البانديكوت حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

جدول (2-4) تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستوى GSH و MDA و SOD و COX و LHP في مصلى ذكور الجرذان البيض

المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي					المجاميع
LHP (Uk/kg)	COX (U/ml)	SOD (mg/dl)	MDA (mg/dl)	GSH (mg/dl)	
1.77 $\pm 0.50$ a	219.92 $\pm 2.11$ a	63.60 $\pm 7.66$ a	0.36 $\pm 0.06$ a	16.83 $\pm 0.68$ a	G1 (1 ملغم /كغم ماء حنفية )
3.91 $\pm 0.47$ b	191.63 $\pm 2.92$ b	33.80 $\pm 7.74$ b	0.83 $\pm 0.13$ b	9.56 $\pm 2.27$ b	G2 (200 ملغم/كغم DEN )
1.37 $\pm 0.51$ c	222.80 $\pm 1.38$ c	60.70 $\pm 6.38$ a	0.28 $\pm 0.03$ c	22.84 $\pm 2.03$ c	G3 (60 ملغم /كغم مستخلص توت البانديكوت )
1.97 $\pm 0.35$ a	218.78 $\pm 1.94$ a	65.70 $\pm 4.47$ a	0.37 $\pm 0.06$ a	16.23 $\pm 0.64$ a	G4 (200 ملغم/كغم +DEN 60 ملغم /كغم مستخلص توت البانديكوت)
0.41	1.89	5.87	0.07	1.40	LSD

n =10 /مجموعة ، الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال  $P<0.01$

#### 4-2-3 تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت على معدل مستوى Urea، Creatinin و Uric acid و Albumin

##### 4-2-3-1 التغيرات في معدل مستوى الكرياتينين $\mu\text{m/l}$ (Cr) Creatinin

يشير الجدول (3-4) إلى حدوث ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى Cr في المجموعة المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN (G2) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ ان التجريع الفموي بجرعة 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت لم يؤدي إلى وجود فرق معنوي ( $P > 0.01$ ) في معدل مستوى الكرياتينين في المجموعة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) . كما لم يلاحظ وجود فرق معنوي ( $P > 0.01$ ) في معدل مستوى Cr في المجموعة G4 التي جرعت فمويًا بالجرعة المؤثرة النصفية ED<sub>50</sub> من مستخلص نبات توت البانديكوت مع 200 ملغم / كغم من DEN مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

##### 4-2-3-2 التغيرات في معدل مستوى الالبومين Albumin

توضح النتائج الموجودة في الجدول (3-4) إلى حدوث انخفاض معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى الالبومين في مصل حيوانات المجموعة المعرضة ل DEN (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1). في حين أن التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة النصفية ED<sub>50</sub> من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في المجموعة G3 لم يؤدي إلى وجود أي فرق معنوي ( $P > 0.01$ ) في معدل مستوى الالبومين مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، في حين سجلت النتائج حدوث انخفاض معنوي في معدل الالبومين في المجموعة التي جرعت فمويًا بالجرعة المؤثرة ( 60 ملغم /كغم) من المستخلص والمعرضة ل DEN ( G4 ) مقارنة مع مجموعة السيطرة G1. ، كما يلاحظ وجود فروق معنوية في معدل مستوى الالبومين بين المجموعتين G4 و G2 .

##### 4-2-3-3 التغيرات في معدل مستوى اليوريا وحامض اليوريك Urea and Uric acid

يلاحظ من الجدول (3-4) وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى اليوريا وحامض اليوريك في المجموعة التي المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ( 60 ملغم/ كغم) من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في المجموعة (G3) أدى إلى انخفاض معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى اليوريا وعدم وجود فرق معنوي في معدل مستوى حامض اليوريك مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما أن التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (ED<sub>50</sub>) من المستخلص مع المعاملة بمادة DEN في المجموعة (G4)

لم يؤدي إلى حدوث فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى اليوريا وحامض اليوريك مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

جدول (4-3) تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستوى Creatinin و Albumin و Urea و Uric acid في مصّل ذكور الجرذان البيض

المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي				المجاميع
Uric acid (mg/dl)	Urea (mmol/L)	Albumin (g/dl)	Creatinin ( $\mu$ m/l)	
41.90 $\pm 3.37$ a	5.53 $\pm 0.46$ a	5.87 $\pm 1.01$ a	40.10 $\pm 3.78$ ac	G1 (1 ملغم /كغم ماء حنفية)
82.51 $\pm 5.86$ b	9.63 $\pm 0.88$ b	2.82 $\pm 0.56$ b	81.50 $\pm 6.38$ b	G2 (200 ملغم/كغم DEN)
45.25 $\pm 13.91$ a	4.88 $\pm 0.74$ c	6.02 $\pm 0.44$ a	37.30 $\pm 3.43$ a	G3 (60 ملغم /كغم مستخلص توت البانديكوت)
42.71 $\pm 3.54$ a	5.82 $\pm 0.79$ a	4.97 $\pm 0.50$ c	43.10 $\pm 7.96$ c	G4 (200 ملغم/كغم DEN + 60 ملغم /كغم مستخلص توت البانديكوت)
6.95	0.64	0.59	5.00	LSD

n = 10 / مجموعة ، الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال  $P<0.01$

4-2-4 تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت على معدل مستوى هرمون الاريثروبايوتين والكالسيتيرول وانزيم الرنين

1-4-2-4 التغيرات في معدل مستوى هرمون الاريثروبايوتين (mlU/ml) Erythropoietin (EPO)

يلاحظ من الجدول (4-4) حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى هرمون الاريثروبايوتين (EPO) في مصّل ذكور الجرذان المعاملة ب 200 ملغم /كغم DEN (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1). كما يشير الجدول أن التجريب الفموي بالجرعة المؤثرة من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت (60 ملغم /كغم) في المجموعة G3 لم يؤدي إلى وجود فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى هرمون EPO مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)، كما إن المعاملة ب 200 ملغم /كغم من DEN في المجموعة G4 والمجرعة فمويا ب 60 ملغم/كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت لم يؤدي إلى وجود فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى هرمون EPO مقارنة مع (G1)، كما لوحظ وجود فرق معنوي ( $P<0.01$ ) بين المجموعتين G3 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

2-4-2-4 التغيرات في معدل مستوى هرمون Calciterol (pg/ml)

يشير الجدول (4-4) الى حدوث انخفاض معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى هرمون الكالستريول في المجموعة G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول أن التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة  $ED_{50}$  من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت (G3) أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى هذا الهرمون في المجموعة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة ، في حين لم يلاحظ وجود فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى هرمون الكالستريول في المجموعة G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

#### 3-4-2-4 Renin activity البروتين الرنين في معدل فعالية بروتين الرنين (ng/ml)

يشير الجدول (4-4) إلى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل فعالية بروتين الرنين في المجموعة G2 و المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ إن التجريع الفموي بجرعة 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت لم يؤدي إلى وجود فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل فعالية بروتين الرنين في المجموعة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) . كما لم يلاحظ وجود فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل فعالية بروتين الرنين في المجموعة G4 التي جرعت فمويًا بالجرعة المؤثرة النصفية  $ED_{50}$  من مستخلص نبات توت البانديكوت مع 200 ملغم / كغم من DEN مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) في حين يلاحظ وجود فرق معنوي بين المجموعتين G3 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة .

جدول (4-4) تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في معدل مستوى Erythropoietin و Calciterol و فعالية انزيم Renin في مصّل ذكور الجرذان البيض

المتوسط ± الخطأ القياسي			المجاميع
Renin Activity(ng/ml)	Calciterol (pg/ml)	Erythropoietin (mlU/ml)	
27.10 ±3.07 ac	22.76 ±1.66 a	3.14 ±0.55 ac	G1 (1 ملغم /كغم ماء حنفية)
39.30 ±4.45 b	16.13 ±2.00 b	8.16 ±0.82 b	G2 (200 ملغم/كغم DEN)
26.30 ±2.31 a	24.97 ±1.63 c	2.92 ±0.40 a	G3 (60 ملغم /كغم مستخلص توت البانديكوت)
29.20 ±2.86 c	21.02 ±1.00 a	3.56 ±0.56 c	G4 (200 ملغم/كغم +DEN 60 ملغم /كغم مستخلص توت البانديكوت)
2.87	1.81	0.53	LSD

n = 10 / مجموعة ، الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال  $P<0.01$



#### 4-2-5 تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت على معدل مستوى عامل التنخر الورمي $TNF-\alpha$ والانترلوكين Interleukin 8 (IL-8) و الانترلوكين Interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

##### 4-2-5-1 التغيرات في معدل مستوى عامل التنخر الورمي $TNF \alpha$ (ng/ml)

تشير البيانات الموجودة في الجدول (4-5) إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى  $TNF \alpha$  في مصل ذكور الجرذان المعاملة ب 200 ملغم /كغم DEN (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1). أما المجموعة G3 فلم يلاحظ فيها وجود فرق معنوي ( $P > 0.01$ ) في معدل مستوى  $TNF \alpha$  بالمقارنة مع G1 ، في حين لوحظ وجود فرق معنوي ( $P < 0.01$ ) بين المجموعتين G3 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

##### 4-2-5-2 التغيرات في معدل مستوى انترلوكين (IL-8) (pg/ml)

يلاحظ من الجدول (4-5) وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى IL-8 في المجموعة التي المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN (G2) في نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة النصفية (60 ملغم/كغم) من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في المجموعة (G3) لم يؤدي الى وجود فروق معنوية ( $P > 0.01$ ) في معدل مستوى IL-8 على مدى فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

إن التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ( $ED_{50}$ ) من المستخلص مع التجريع الفموي ب DEN في المجموعة (G4) لم يؤدي إلى حدوث فرق معنوي ( $P > 0.01$ ) في معدل مستويات IL-8 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

##### 4-2-5-3 التغيرات في معدل مستوى انترلوكين IL-1 $\beta$ (ng/L)

يلاحظ من الجدول (4-5) وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى الانترلوكين IL-1 $\beta$  في المجموعة المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1). كما يلاحظ وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى لانترلوكين IL-1 $\beta$  في المجموعة التي جرعت فمويًا بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت (G3) طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، في حين لم يلاحظ وجود فروق معنوية ( $P > 0.01$ ) بين المجموعة G4 والمجموعة G1 ، كما يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G3 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)

جدول (5-4) تأثير مادة ثنائي ايثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستوى عامل التنخر الورمي TNF $\alpha$  والانترولوكين (IL-8) و IL-1 $\beta$  في مصل ذكور الجرذان البيض

المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي			المجاميع
IL-1 $\beta$ (ng/L)	IL-8 (pg/ml)	TNF- $\alpha$ (ng/ml)	
87.98 $\pm 3.52$ a	14.35 $\pm 1.13$ ac	3.09 $\pm 0.36$ ac	G1 (1 ملغم /كغم ماء حنفية)
142.39 $\pm 7.08$ b	39.62 $\pm 2.28$ b	9.33 $\pm 0.87$ b	G2 (200 ملغم/كغم DEN)
81.01 $\pm 4.86$ c	13.91 $\pm 0.70$ a	2.63 $\pm 0.33$ c	G3 (60 ملغم /كغم مستخلص توت البانديكوت)
90.82 $\pm 4.12$ a	15.25 $\pm 0.82$ c	3.26 $\pm 0.36$ a	G4 (200 ملغم/كغم +DEN 60 ملغم /كغم مستخلص توت البانديكوت)
4.45	1.21	0.46	LSD

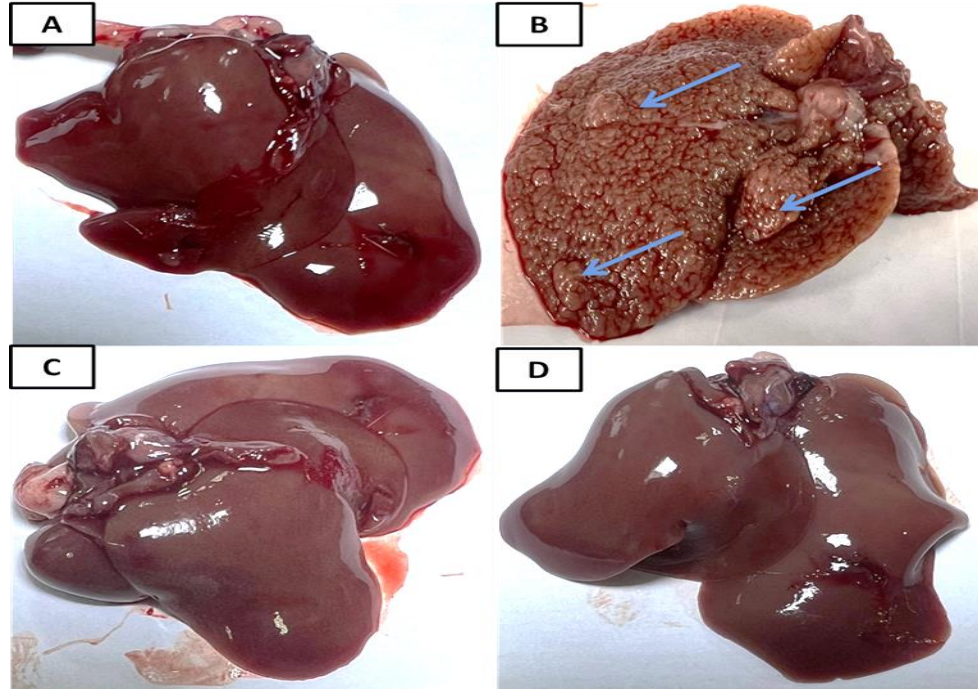
n =10 /مجموعة ، الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.01

#### 4-2-6 التغييرات النسجية

##### 4-2-6-1 التغييرات العيانية

##### 4-2-6-1-1 التغييرات العيانية في الكبد

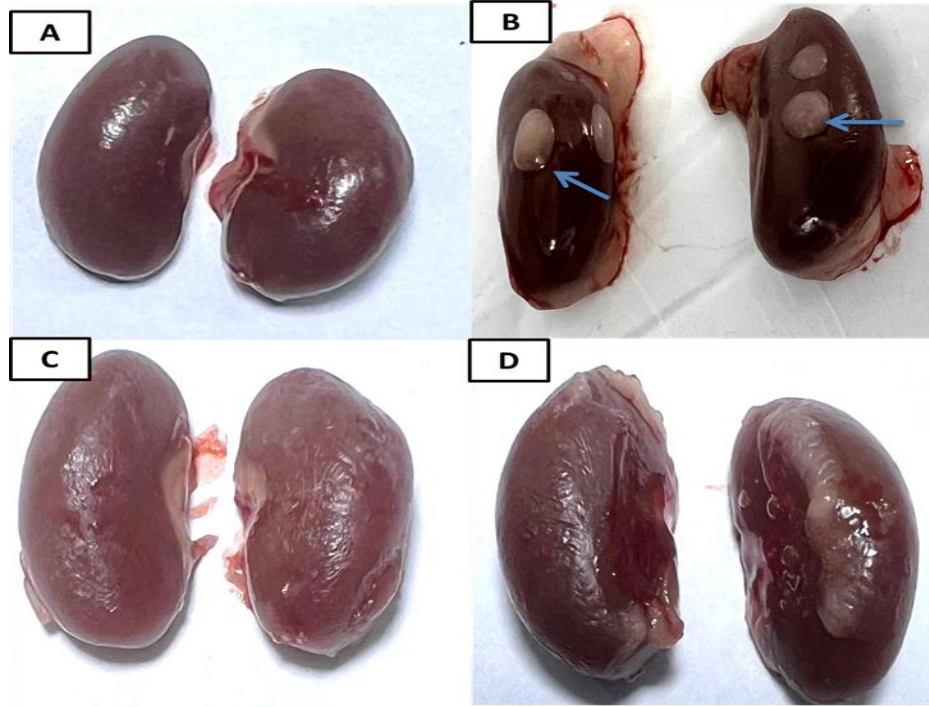
تبين صورة (A 1-4) مظهر عياني للكبد لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة اذ يلاحظ المظهر الطبيعي للكبد ، في حين يلاحظ من الصورة (B 1-4) تأثير الحقن تحت الغشاء البريتوني ب 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة ثلاثة أشهر ، إذ يلاحظ ظهور عقيدات ورمية مع حدوث تضخم الكبد ، كما يلاحظ من الصورة (C 1-4) تأثير التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، اذ يلاحظ المظهر الطبيعي للكبد كما يلاحظ من الصورة (D 1-4) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN مع التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة أشهر ، و يلاحظ فيها المظهر الطبيعي للكبد .



شكل (1-4) تبين صورة مظهر عياني للكبد لذكور الجرذان البيض (A) مجموعة السيطرة إذ يلاحظ المظهر الطبيعي للكبد ، (B) مجموعة الحيوانات التي حقنت ب 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة ثلاثة اشهر ، إذ يلاحظ ظهور عقيدات ورمية (C) ( ← ) الحيوانات التي جرعت ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، إذ يلاحظ المظهر الطبيعي للكبد ، (D) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN مع التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، و يلاحظ فيها المظهر الطبيعي للكبد .

#### 2-1-6-2-4 التغيرات العيانية في الكلى

تبين صورة (A 2-4) مظهر عياني للكلى في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة إذ يلاحظ المظهر الطبيعي للكليتين ، في حين يلاحظ من الصورة (B 2-4) تأثير المعاملة بجرعة 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة ثلاثة أشهر ، إذ يلاحظ ظهور عقيدات ورمية على الكليتين ، كما يلاحظ من الصورة (C 2-4) تأثير التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، إذ يلاحظ المظهر الطبيعي للكليتين كما يلاحظ من الصورة (D 2-4) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN مع التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة أشهر ، و يلاحظ فيها المظهر الطبيعي للكلى .



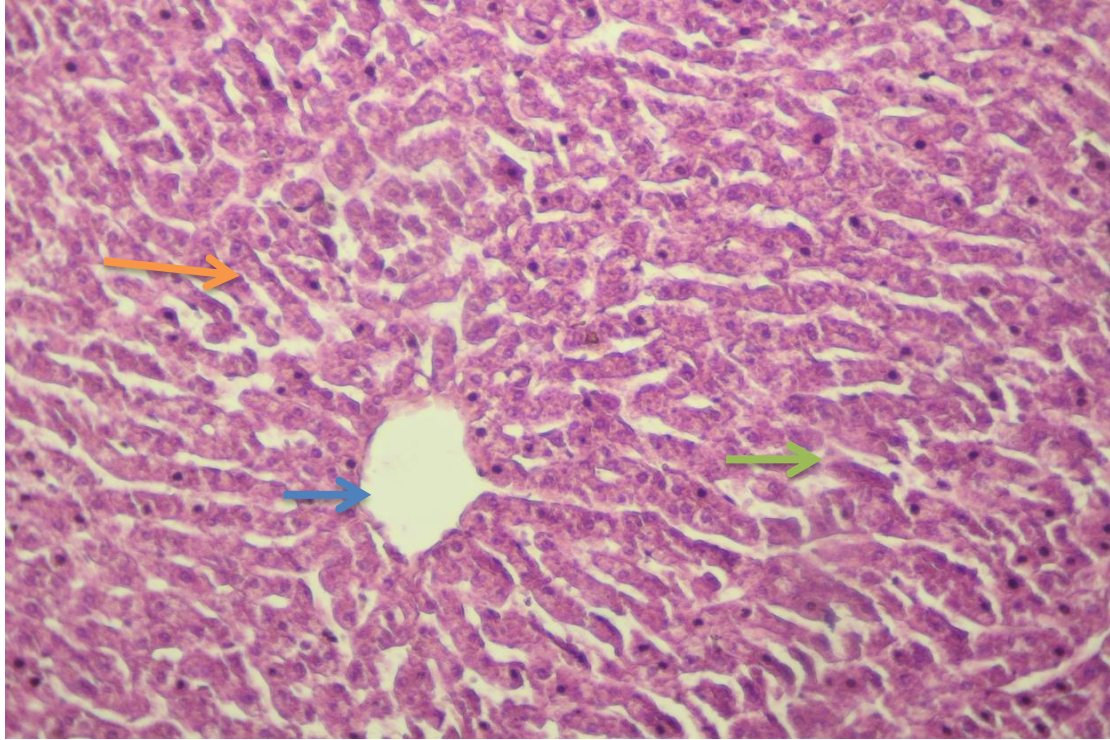
شكل (2-4) تبين صورة مظهر عياني للكلى لذكور الجرذان البيض (A) مجموعة السيطرة اذ يلاحظ المظهر الطبيعي للكلى ، (B) مجموعة الحيوانات التي حقنت ب 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة ثلاثة اشهر ، إذ يلاحظ ظهور عقيدات ورمية على الكليتين ( ← ) (C) الحيوانات التي جرعت ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، اذ يلاحظ المظهر الطبيعي للكليتين ، (D) تأثير ال المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN مع التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، و يلاحظ فيها المظهر الطبيعي للكلى .

#### 4-2-6-2-4 التغيرات المجهرية

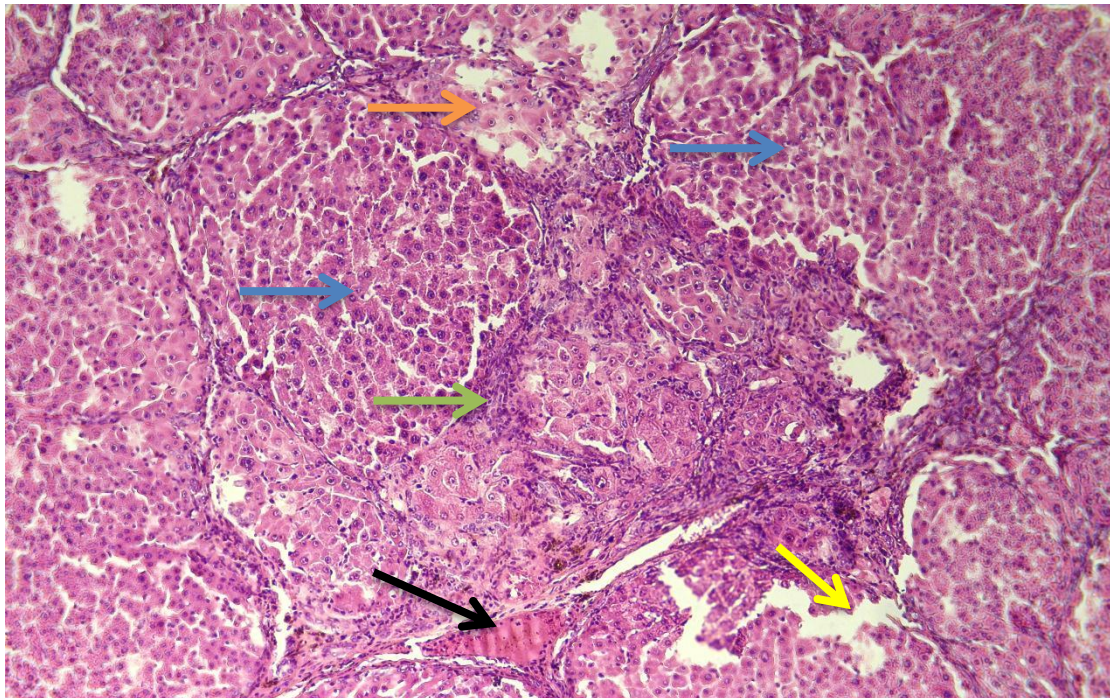
#### 4-2-6-2-4-1 تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت على نسيج الكبد

تبين صورة (3-4) مقطع نسجي في نسيج الكبد لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة إذ يلاحظ وجود الوريد المركزي الطبيعي مع انتظام الحبال الكبدية فضلا عن وجود الجيبانيات والخلايا الكبدية، في حين يلاحظ من الصورة (4-4) و (5-4) و الصورة (6-4) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E) اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسية واضحة في نسيج الكبد وظهور عقيدات ورمية كبيرة مع حدوث تنخر الخلايا الكبدية و يلاحظ انحلال لانوية الخلايا الكبدية وتفجي واضح كذلك وجود تحلل مائي في الخلايا الكبدية ويلاحظ أيضا احتقان الوريد المركزي وارتشاح الخلايا الالتهابية حوله.

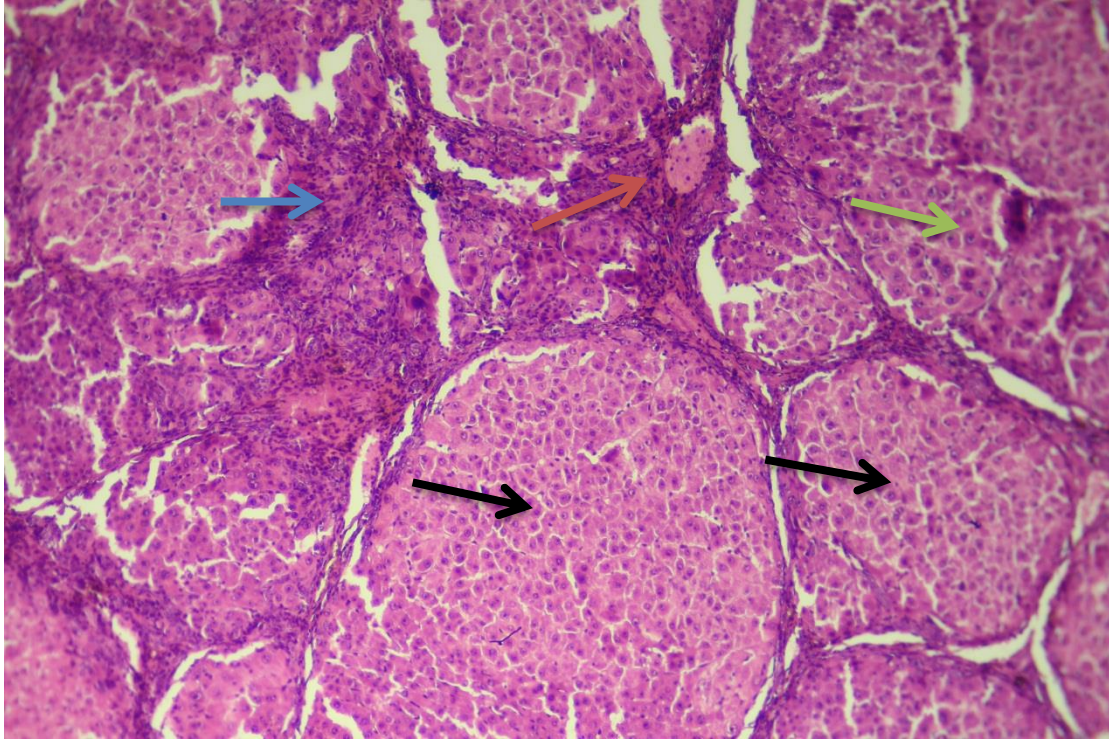
كما يلاحظ من الصورة (7-4) تأثير التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E) إذ يلاحظ التركيب الطبيعي للخلايا الكبدية في نسيج الكبد كما يلاحظ من الصورة (8-4) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN مع التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E) اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للخلايا الكبدية مع وجود توسع في الوريد المركزي .



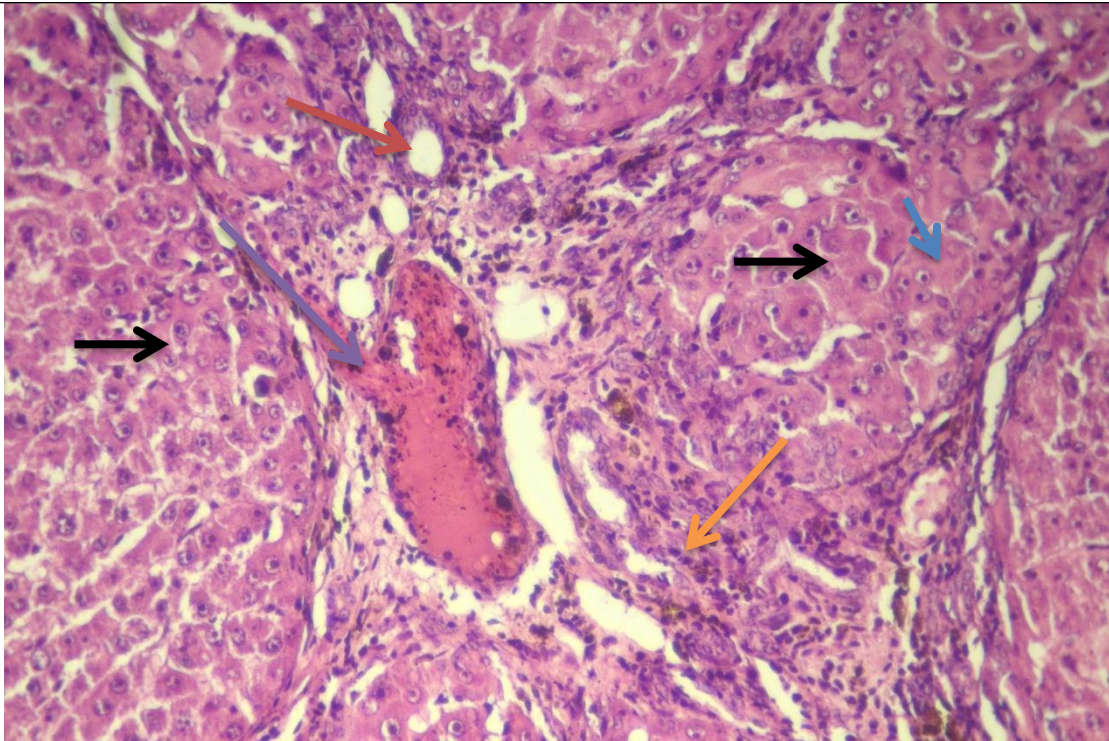
شكل (3-4) تبين مقطع نسجي في نسيج الكبد لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة اذ يلاحظ وجود  
 الوريد المركزي الطبيعي **→** وانتظام الحبال الكبدية **→** مع وجود الجيبانيات والخلايا الكبدية **→**  
 (H&E 200 X)



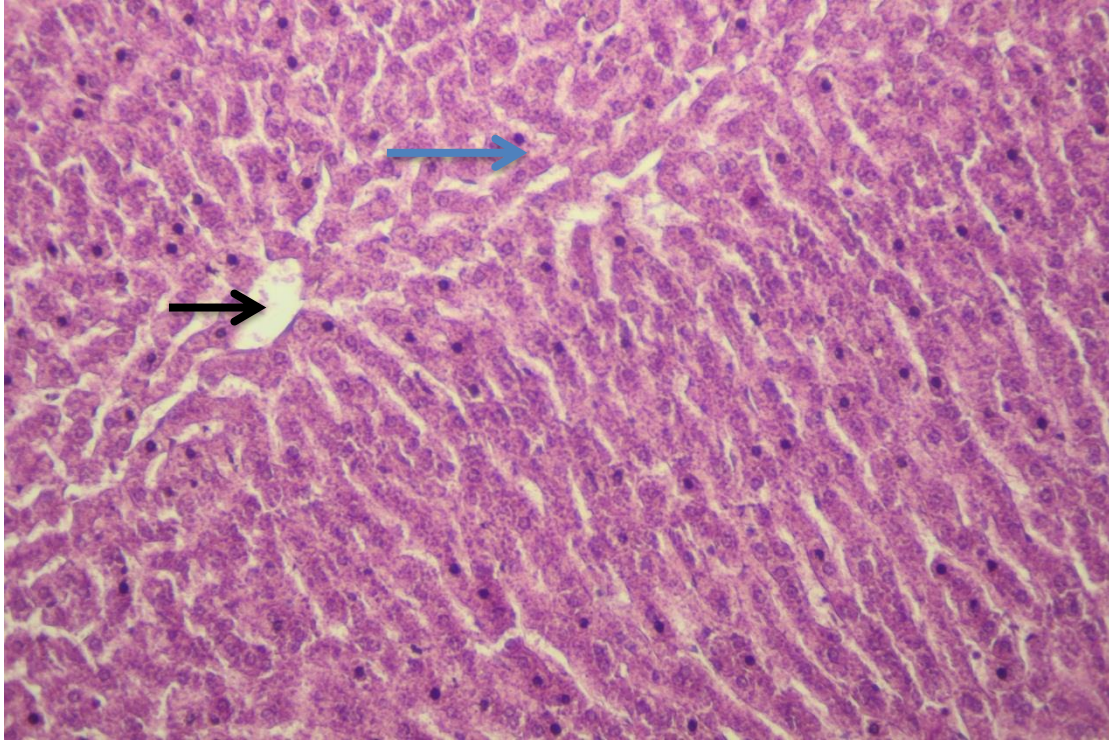
شكل (4-4) تبين تأثير المعاملة بمادة DEN بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر لذكور الجرذان البيض ،  
 بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 100 X) في نسيج الكبد اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسية واضحة في نسيج  
 الكبد **→** وظهور عقيدات ورمية كبيرة **→** وارتشاح الخلايا الكبدية **→** مع حدوث تنخر  
 الخلايا الكبدية **→** ويلاحظ أيضا احتقان الوريد المركزي وارتشاح الخلايا الالتهابية حوله **→**





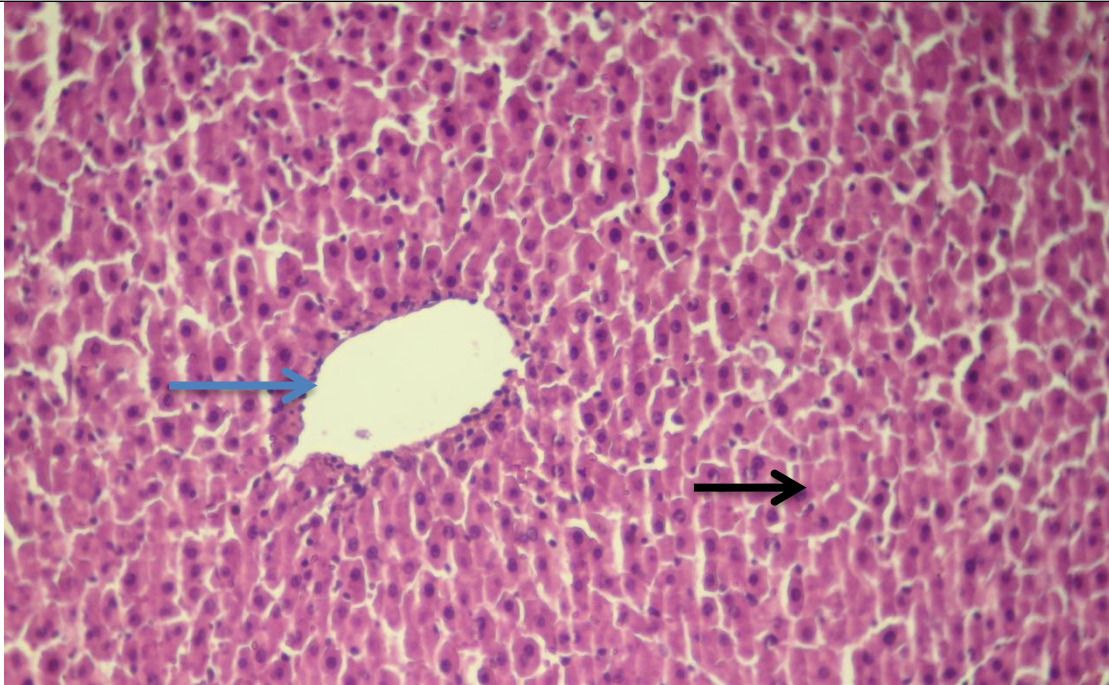
شكل (4-5) تبين المعاملة بمادة DEN بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاث اشهر لذكور الجرذان البيض ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) في نسيج الكبد اذ يلاحظ ظهور عقيدات ورمية عديدة → وحدوث تنخر في الخلايا الكبدية → ويلاحظ أيضا احتقان دموي → و ارتشاح الخلايا الالتهابية → .





صورة (4-6) تبين تأثير المعاملة بمادة DEN بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاث اشهر لذكور الجرذان البيض ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) في نسيج الكبد اذ يلاحظ حدوث تنخر الخلايا الكبدية → مع انحلال لانوية الخلايا الكبدية → وتنكس واضح → ويلاحظ أيضا احتقان الوريد المركزي → وارتشاح الخلايا الالتهابية حوله →



شكل (4-7) تبين تأثير التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في نسيج الكبد لذكور الجرذان البيض ولمدة ثلاثة اشهر، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج الكبد ووجود الوريد المركزي  والمظهر الطبيعي للخلايا الكبدية 



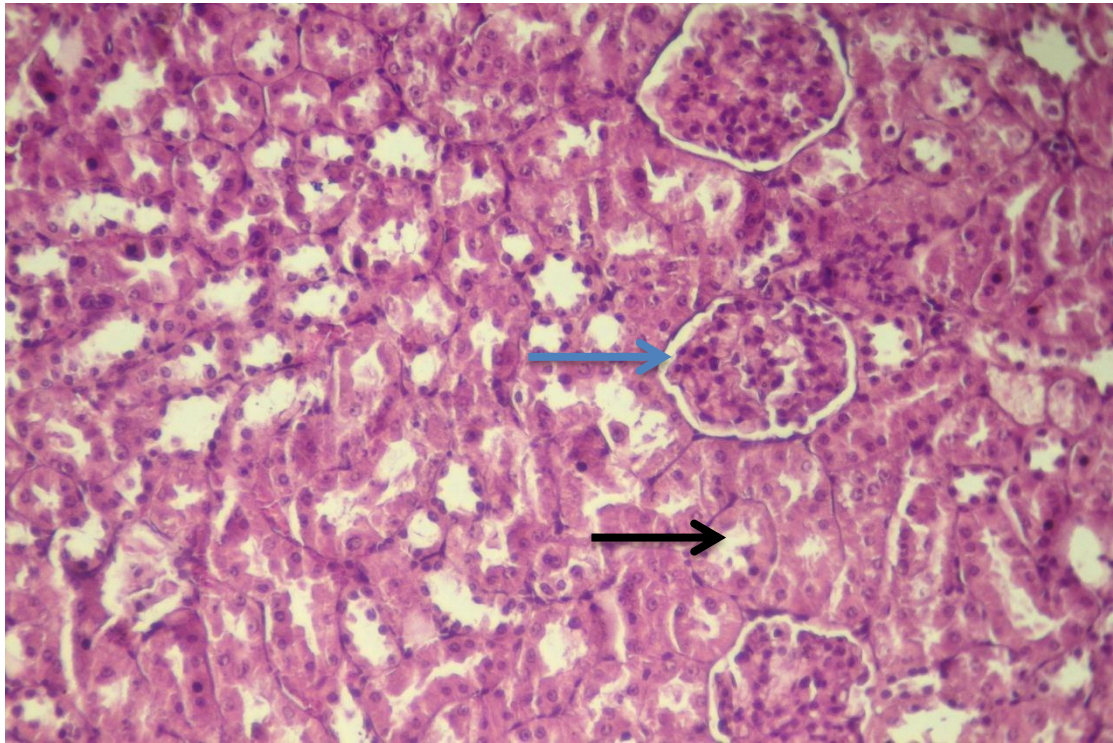
شكل (4-8) تبين تأثير المعاملة بمادة DEN بتركيز 200 ملغم / كغم مع التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في نسيج الكبد لذكور الجرذان البيض ولمدة ثلاثة اشهر، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج الكبد مع اعادة انتظام الحبال الكبدية  مع وضوح للوريد المركزي 



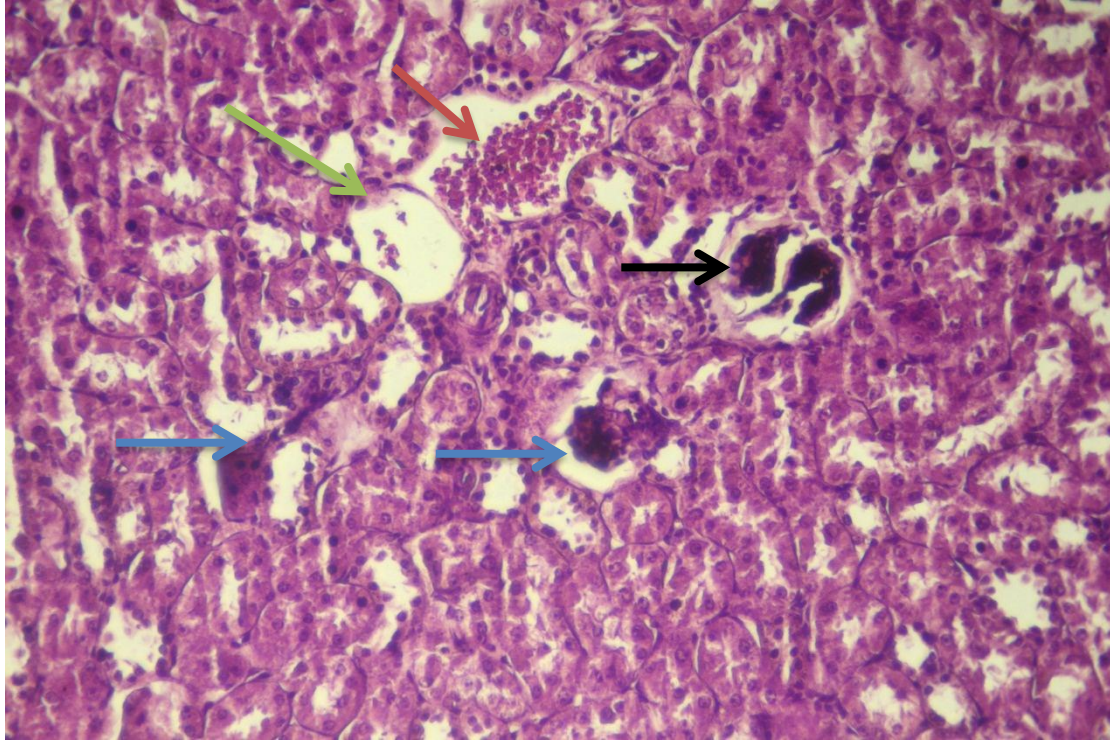
#### 4-2-6-2-2 تأثير مادة ثنائي اثيل نايتروسامين DEN والمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت على نسيج الكلى

تبين صورة (4-9) مقطع نسجي في نسيج الكلى لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ، اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للنيبيات البولية القريبة والبعيدة و الكبيبة ومحفظة بومان ، كما تبين الصورة (4-10) و (4-11) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200X) على نسيج الكلى اذ يلاحظ تغيرات تنكسية في النسيج مع ضمور الكبيبة البولية و حدوث انكماش في الكبيبة فضلا عن تحطم النيبيات البولية مع وجود نزف دموي مقارنة مع نسيج الكلى في حيوانات مجموعة السيطرة ( صورة 4- 9 )

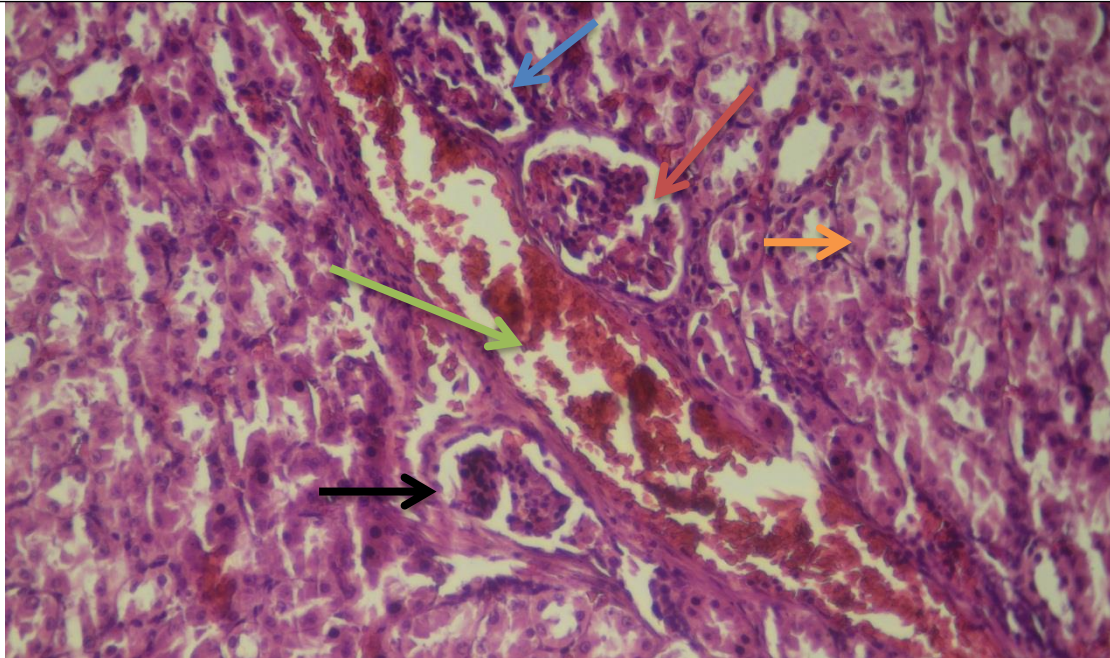
يلاحظ من الصورة (4-12) تأثير التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) إذ يلاحظ التركيب الطبيعي للنيبيات البولية و الكبيبة ، و يلاحظ من الصورة (4-13) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من DEN مع التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة أشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200X) اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للنيبيات البولية و الكبيبة مع احتقان دموي بسيط في بعض اجزاء النيبيات البولية .



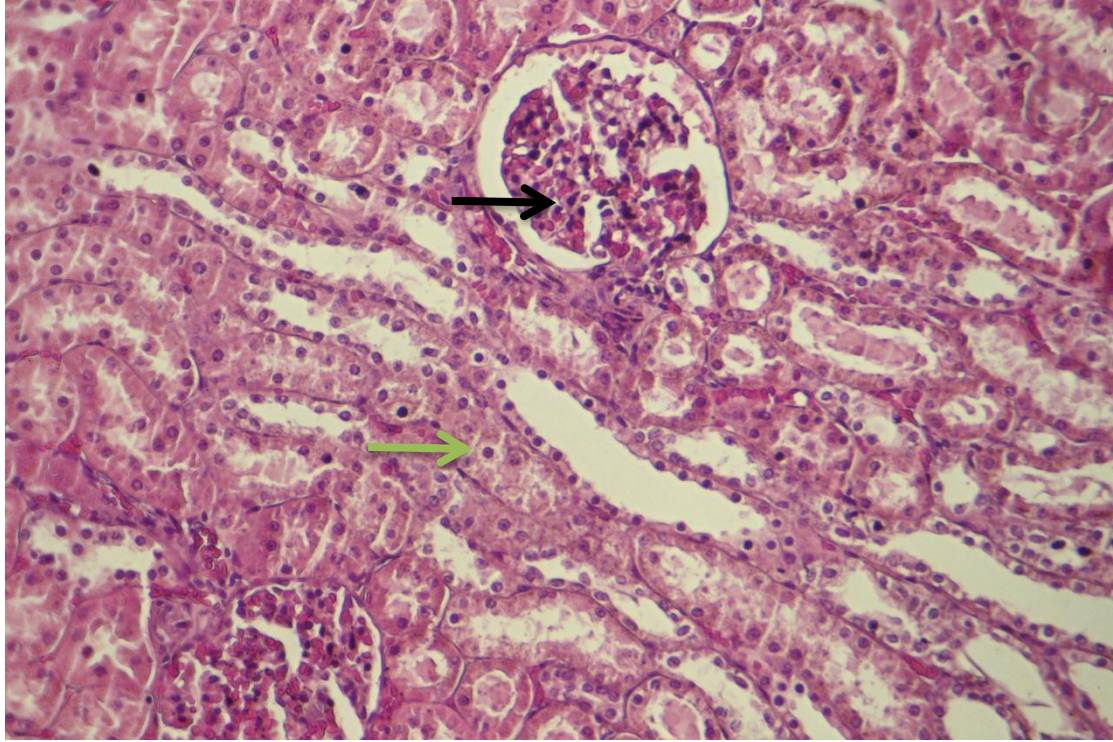
شكل (4-9) تبين مقطع نسجي في نسيج قشرة الكلية لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للكبيبة → والنيبيات البولية → في نسيج الكلية (H&E 200 X)



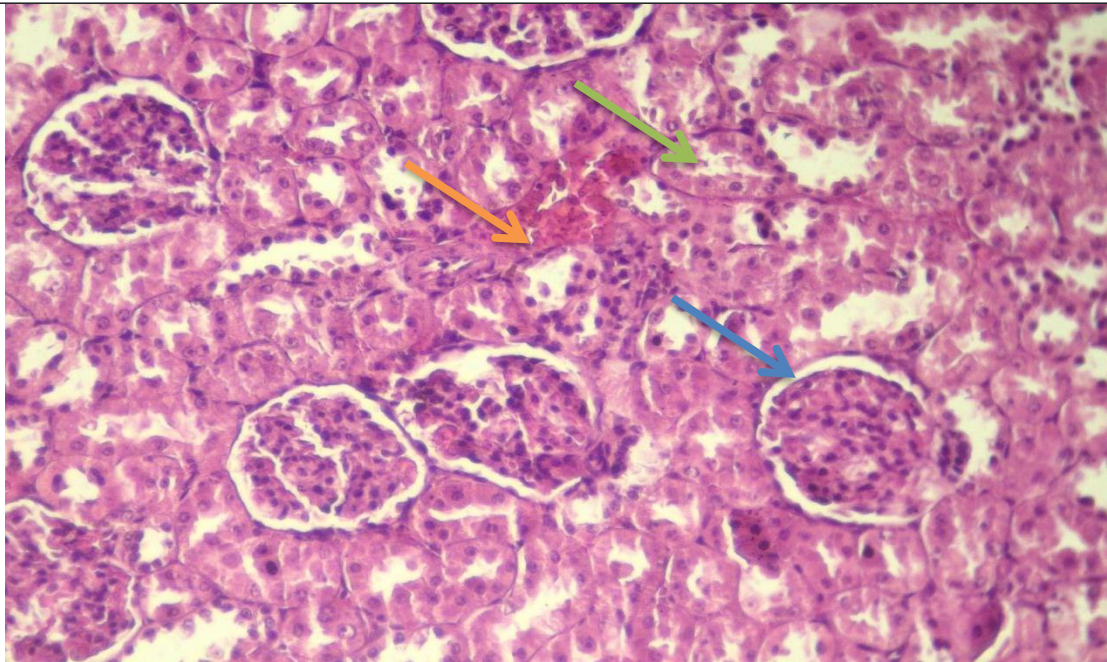
شكل (4-10) تبين تأثير المعاملة بمادة DEN بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر لذكور الجرذان البيض ،  
 بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) في نسيج الكلية اذ يلاحظ ضمور الكبيبة البولية و حدوث  
 انكماش في الكبيبة → اضافة الى تحطم النبيبات البولية → مع وجود احتقان دموي → و حدوث



شكل (4-11) تبين تأثير المعاملة بمادة DEN بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر لذكور الجرذان البيض ،  
 بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) في نسيج الكلية اذ يلاحظ وجود نزف دموي → و ضمور  
 الكبيبة البولية → و حدوث انكماش في الكبيبة → اضافة الى وجود زيادة في فراغ  
 بومان → و تحطم النبيبات البولية →



شكل (4-12) تبين تأثير التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في نسيج الكلية لذكور الجرذان البيض ولمدة ثلاثة اشهر، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للكبيبة → والنبيبات البولية → في نسيج الكلية



شكل (4-13) تبين تأثير المعاملة بمادة DEN بتركيز 200 ملغم / كغم مع التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 200 X) اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للكبيبة → والنبيبات البولية → مع وجود احتقان دموي →

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

## المناقشة

### Discussion

#### 1-5 تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في أنزيمات الكبد (ALT، AST و ALP) و T-BIL

اشارت نتائج الدراسة الحالية إلى حصول ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في مستوى انزيمات الكبد (AST, ALT, ALP) في المجموعة الثانية (G2) التي تم معاملتها بمادة DEN بتركيز 200ملغم/كغم ولمدة ثلاثة أشهر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع نتائج (Rağbetli *et al.*, 2023; Ahmed *et al.*, 2022; Omran *et al.*, 2022)

أن الزيادة في مستوى انزيمات الكبد والتي اشارت اليها الدراسة الحالية قد يعود الى تأثير مادة DEN والتي تعد من المواد الشديدة السمية التي لها تأثيراً تاكسدياً مسببة بذلك السمية الكبدية نتيجة لحدوث الاجهاد التأكسدي وزيادة مستوى الجذور الحرة ROS ، بضمنها جذور الهيدروكسيل وجذر الأوكسجين الفائق والتي تسبب تحطم الغشاء السيتوبلازمي او احداث خلل في الية عمله مما يسبب خروج هذه الأنزيمات من الخلايا وبذلك يرتفع مستواها في المصل (Adebayo *et al.*, 2020) ، كما إن الاجهاد التأكسدي وزيادة تكوين الجذور الحرة يسبب تحطم وتخر الخلايا الكبدية وبالتالي تؤدي إلى تلف نسيج الكبد و فقدان أو تحطم مستقبلات الانزيمات الموجودة على الخلايا الظهارية المبطنة لقناة الصفراء وحول الوعاء المركزي الأمر الذي يؤدي زيادة تحرر الانزيمات إلى خارج الخلايا الكبدية (Zhang *et al.*, 2020)

و قد يشير الارتفاع في إنزيمات الكبد إلى حدوث التهابات التي تساهم في تلف الخلايا الكبدية بشكل واضح حيث وجد أن الخلايا الكبدية المتضررة تكون محاطة بالخلايا الالتهابية نتيجة تسرب بعض الانزيمات المحللة من الخلايا الكبدية المتضررة ، مما قد يؤدي إلى ارتفاع إنزيمات الكبد نتيجة تحطم الخلايا الكبدية ، فضلا عن ان الجذور الحرة تسبب اضرار كبيرة على الخلية الكبدية من خلال تأثيرها على الجزيئات الخلوية الكبيرة وبشكل خاص الدهون المفسفرة الموجودة في الغشاء البلازمي مما يؤدي إلى تحرر هذه الانزيمات من الخلايا إلى المصل وزيادة في بيروكسيدية الدهون مسببة تحطم الغشاء البلازمي ، كما ان الضرر قد يصل الى الانوية الخلوية مسببة بذلك تغيرات في شكل وتركيب هذه الأنوية من خلال حدوث تحطم

المادة الوراثية DNA الذي يقوم بدور في تحفيز حدوث الموت المبرمج للخلايا (Prahalthan *et al.*,2005)

كما اظهرت النتائج ان التجريع الفموي بمادة DEN أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى T-BIL وهذا يتفق مع (Zhang *et al.*,2023;) (mohamed *et al.*,2022)

يعد اختبار مستوى البيليروبين في الدم من أكثر الاختبارات حساسية المستخدمة لتشخيص أمراض الكبد ويوفر معلومات مهمة حول كفاءة عمل الكبد ، وهو أحد نواتج التحلل الكيميائي للهيموغلوبين، ويوجد مرتبط بحامض الجلوكورونيك في خلايا الكبد وذلك لزيادة قابليته للذوبان في الماء (Mahalakshmi & Veerakumari ,2020)، فقد وجدت العديد من الدراسات أن مادة DEN يمكن أن تؤدي إلى احدث السمية الكبدية في الحيوانات المختبرية وأحدث مرض اليرقان الكبدي الذي يؤدي إلى زيادة مستوى البيليروبين الكلي في الدم (mo'men *et al.*,2020) ، وقد يعود سبب ارتفاع مستويات البيليروبين إلى فرط انحلال الدم نتيجة انخفاض امتصاص الكبد للبيليروبين الذي يحدث نتيجة لتأثير بعض الأدوية أو من انخفاض معدل اقتران البيليروبين في الكبد أو انسداد القناة الصفراوية وأن الزيادة في مستوى البيليروبين في الدم يعود إلى ضعف في وظيفة الإخراج الكبدي، وهو مؤشر على انخفاض كفاءة وظائف الكبد بسبب زيادة الاجهاد التأكسدي الذي يعود إلى التأثير الضار DEN ، كما أن زيادة البيليروبين يمكن أن تكون نتيجة لانخفاض مستوى الألبومين بسبب الاجهاد التأكسدي الناتج من DEN وبالتالي انخفاض نقله في الدم (VanWagner and Green, 2015)

## 2-5 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق توت بانديكوت في أنزيمات الكبد ( ALT، AST و ALP ) و T-BIL

أظهرت النتائج ان التجريع الفموي وبجرعة (60 ملغم/كغم) من مستخلص نبات توت البانديكوت أدى إلى عدم وجود فروق معنوية ( $P>0.01$ ) في مستوى انزيمات الكبد AST و ALP في المجموعة الثالثة (G3) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) بينما لوحظ حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في مستوى انزيم (ALT) المجموعة الرابعة (G4) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)

أن عدم وجود فرق معنوي في انزيمات الكبد والتي اشارت اليها الدراسة الحالية في المجموعة الثالثة G3 قد يعود الى دور المركبات الفعالة الموجودة في أوراق توت البانديكوت للحد من التأثيرات السمية التي سببتها مادة ال DEN في معالجة العديد من الأمراض وتقليل الاضطرابات المختلفة التي حدثت للخلايا الكبدية (Hossain *et al.*, 2021)

فقد ثبت أن المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت أدى دوراً مهماً وفعالاً في كسح الجذور الحرة من خلال عمل العديد من المركبات الفعالة النشطة حيويًا مثل القلويدات Alkahoid واللجنين lignins والصابونين saponins، والستيرول sterols، والانثراكينوات anthraquinone، إضافة إلى العديد من المركبات النشطة الأخرى الهامة التي تعمل على اكتساح الجذور الحرة وحماية الكبد من الاجهاد التأكسدي الناجم عن مادة DEN وبالتالي تنظيم عمل انزيمات الكبد . (Emran *et al.*, 2012) ، كما تحتوي اوراق هذا النبات على مركب الفلافونويد Flavonoid الذي يحتوي في هيكله الجزيئي على مجموعة هيدروكسيل الفينول (OH) والتي تشارك في تخليق الكلوتاثيون (GSH) وهي بذلك تعمل على تنشيط مضادات الاكسدة الذاتية (Yousef *et al.*, 2010)

أكدت العديد من الدراسات على دور اوراق توت البانديكوت في تنظيم مستويات انزيمات الكبد، (AST ALP ALT) من خلال العمل على رفع انزيمات مضادات الاكسدة في الجسم بنسبة كبيرة في الحيوانات المعاملة والسبب في ذلك هو احتواء أوراق المستخلص على نسبة عالية من المواد الفعالة التي تقوم بتحسين نشاط الإنزيمات المضادة للاكسدة التي تعمل على ازالة السموم المتواجدة في الجسم والمحافظة على أداء الوظائف الطبيعية للخلايا الكبدية في الجسم، فضلاً عن أن المحافظة على مستويات انزيمات الكبد الطبيعية في المصل يشير إلى دوره في المحافظة على البنية التركيبية للخلايا الكبدية وأغشية هذه الخلايا واصلاح الضرر في بعض الخلايا الكبدية التي تعرضت لسمية مادة DEN (Hettihewa & Indunika, 2021)

كما اظهرت النتائج ان التجريع الفموي بمستخلص أوراق توت بانديكوت أدى إلى عدم وجود فروق معنوية ( $P > 0.01$ ) في معدل مستوى البيليروبين

فقد وجد أن استخدام مستخلص نبات توت البانديكوت في المجموعة الثالثة (G3) بما يحتويه من مركبات مثل القلويدات Alkahoid واللجنين lignins والصابونين saponins، والستيرول sterols، والانثراكينوات anthraquinone، التي تمتلك النشاط الوقائي للكبد

عمل بشكل ملحوظ على توازن مستوى البيليروبين في الكبد (Ghagane *et al.*, 2017) ، ودوره في المحافظة على سلامة القنوات الصفراوية الكبدية مما أدى إلى المحافظة على المستوى الطبيعي للبيليروبين في الدم ، كما إن المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في المجموعة الرابعة (G4) قد يكون له دور إلى تجديد الخلايا الكبدية وخفض مستوى البيليروبين وهذا دليل على استقرار وظيفة القنوات الصفراوية ( Sen *et al.*,2014;Hossain *et al.*,2021) ، اذ تشير السيطرة على مستويات البيليروبين بعد استخدام المستخلص إلى تحسن مبكر في آلية الافراز لخلايا الكبد ، اذ تعتمد فعالية أي دواء وقائي للكبد على قدرتها إما على تقليل التأثير الضار أو استعادة وظائف الكبد الطبيعية ( Altaş *et al.*,2011)

### 3-5 تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في مستويات اليوريا Urea ، الكرياتينين Creatinine ، حامض اليوريك Uric acid ، والالبومين Albumin

اظهرت النتائج إن الحقن البريتوني بمادة DEN أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي (P<0.01) في مستويات اليوريا، الكرياتينين و حامض اليوريك وحدث انخفاض معنوي (P<0.01) في معدل مستوى الالبومين وهذا يتفق مع نتائج (Perumal *et al.*,2023 ; Nota *et al.*,2023 ; Zúñiga-Hernández *et al.*,2023)

تتأثر الكلى بشكل كبير بالعديد من المركبات الكيميائية ونتيجة لذلك تتغير معايير وظائف الكلية وفقاً لحجم الضرر الذي يصيبها ، إذ تعد الزيادة في مستويات اليوريا والكرياتينين في الدم انعكاس لحدوث ضرر وظيفي للكلية ، كما أن الاجهاد التأكسدي له دور في تعزيز مختلف امراض الكلى فهو يعزز الأصابة الكلوية عن طريق دوره في تلف الوحدات الوظيفية للكلية (النفرونات) من خلال أنشطة جذور الاوكسجين التفاعلية داخل وخارج الخلية ( Zeghib & Boutlelis,2021) ، كما قد يكون السبب في ارتفاع مستويات اليوريا والكرياتينين الى حدوث تغيرات في معدل الترشيح الكبيبي و اعادة الامتصاص الأنوبي فضلا عن تدفق الدم الكلوي (Suparmi *et al.*, 2016) .

إن الزيادة في معدل مستوى حامض اليوريك يعد من المؤشرات الأخرى التي تشير إلى حدوث خلل وظيفي للكلية وهذا قد يعود إلى دور مادة DEN في تحفيز مسارات الالتهابات التي تعزز من الأصابة ، والذي يساهم في تحفيز عمليات الأوكسدة التي تحدث في مختلف انحاء



الجسم، كما أنه محفزاً للالتهابات ومنشط للاستجابات المناعية ، وبهذا فإنه مرتبط بالأضرار والاصابات الكلوية إذ يمكن أن تؤدي زيادة حامض اليوريك إلى التهاب خلايا النبيبات البولية ، كما ان تفاعله مع المواد المؤكسدة يعد من أسباب توليد العديد من الجذور الحرة ذات التأثيرات التحطمية الكبيرة على الخلايا والنبيبات الكلوية ( Hahn et al.,2017 ) كما وجد أن ارتفاع مستويات اليوريا وحامض اليوريك تعد مؤشرا على حدوث التنخر للانابيب الكلوية والفشل الكلوي (Laaroussi et al.,2021)

إن الزيادة في مستويات اليوريا وحامض اليوريك بعد الحقن بمادة الـ DEN يعزى إلى حدوث الاجهاد تأكسدي في مختلف اعضاء الجسم ومنها الكلى ، وقد تكون هذه الجذور الحرة مشتقة مباشرة من DEN أو تكون ناتجة عن استقلاب هذا المركب في نظام السييتوكروم P450 ويرافق هذا استنفاد مضادات الاكسدة الطبيعية وبالتالي يحصل قصور كلوي وتتصاعد بذلك نسبة اليوريا وحامض اليوريك في الدم، وقد يكون هذا عائدا إلى انخفاض في معدل الترشيح الكبيبي الذي أدى إلى خلل في وظائف الكلى مما ساهم في ارتفاع مستواها في الدم. (Adebayo et al.,2020;Ding et al., 2017) فقد بينت الدراسات إن الاجهاد التأكسدي يسبب تقلص خلايا مسراق الكبيبة Mesangial cells التي لها اهمية في ازالة المخلفات الموجودة في الدم بواسطة شبكة الشعيرات الدموية للكبيبة ، وتغيير مساحة سطح الترشيح بالتالي انخفاض معدل الترشيح الكبيبي (GFR) Glomerular Filtration Rate (EL-Hassanin, 2021)

يعد الالبومين من البروتينات المهمة في آليات الدفاع المتعلقة بالجسم ، إذ يعمل على الحد من الألتهاب ويحمي من الإجهاد التأكسدي وكما يحمل الكثير من الهرمونات والحديد والبليروبين والادوية والعناصر ذات النشاط البيولوجي والاحماض الدهنية وقد تنخفض مستوياته في الدم لعدة اسباب منها الايض المتسارع او سوء التغذية أو انخفاض التخليق في الكبد، وقد وجد إن انخفاض مستوى الالبومين ينبئ بحدوث اصابة كلوية (Ozgun et al.,2021) ، فعندما تدخل المواد الضارة الى الكلية تُرشح في الكبيبة بعد ذلك يُعاد امتصاصها في الأنابيب الملتوية القريبة مسببة تحطم الخلايا الأنبوبية وبهذا قد ينتج عنه تسمم كلوي، وقد يشير النقص في مستوى الألبومين إلى فقدان هذا المكون في الدم وزيادة إفرازه من الكلية وذلك نتيجة إصابة الكبيبات والأنابيب وضعف عمل الكلية (Poosa & Vanapatla, 2020)

لقد أصبح واضحا أن الجذور الحرة تعمل على استهداف الجزيئات الكبيرة ومنها البروتينات ونتيجة لذلك تحدث اضرار تأكسدية كبيرة على خلايا الجسم ، و تؤدي الجذور الحرة

الناجمة عن الأضرار التأكسدية للبروتينات إلى ضعفها الهيكلي والوظيفي وتزيد من قابلية التحلل للبروتين ويؤدي تأكسد الأحماض الأمينية في البروتين إلى تغييرات هيكلية كبيرة ( Mishra et al.,2014) ، ويعد انخفاض مستوى الألبومين في مصل الدم بعد التعرض للسموم دليلاً على فقدان السلامة الهيكلية للنيفرون و حدوث تغييرات تنكسية في الكبيبات والأنابيب الكلوية (Venkatanarayana et al.,2012) ، كما قد يكون نقص الألبومين في الدم ناتج عن انخفاض تخليق الألبومين بسبب تلف الكبد نظراً لأن الكبد هو الموقع الرئيسي لتخليق البروتين فقد يكون ضعف الكبد هو سبب انخفاض مستويات بروتين المصل ( Abdallah et al.,2020 )

#### 4-5 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستويات اليوريا Urea ، الكرياتينين Creatinine ، حامض اليوريك Uric acid ، والالبومين Albumin

أظهرت النتائج التجريبية الفموية بالمستخلص المائي أدى إلى عدم وجود فروق معنوية معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى اليوريا و حامض اليوريك

أن انخفاض مستويات اليوريا والكرياتينين في الجرذان البيض التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت والمستحث فيها السرطان بواسطة ثنائي أثيل نيتروزامين قد يُعزى سبب الانخفاض دور المركبات الفعالة مثل الفلافونات والفينولات ومضادات الأكسدة التي لها القدرة على إزالة الجذور الحرة من الجسم وخصوصاً مركبات الصابونين و القلويدات والتانينات والفلافونيدات والأحماض مثل حمض الموليك الفا mollic acid  $\beta$ -D-xyloside وحمض الموليك بيتا acid  $\alpha$ -L-arabino-side الموجودة في أوراق هذا النبات والتي لها القدرة على الحد من التلف التأكسدي للخلايا الكلوية والكبيبات الكلوية وزيادة معدل الترشيح الكبيبي وتقليل الأذى الناتج عن الجذور الحرة ( Wong et al , 2012 ; Wong et al, 2011; Srinivasan et al 2008; Ghagane et al., 2017

أن نبات توت البانديكوت بخصائصه المضادة للأكسدة يعمل على التخلص من الجذور الحرة والاجهاد التأكسدي وإصلاح التلف الحاصل في الكلى والأصابة الناتجة التي أحدثتها مادة ال DEN ، كما ثبت أن البوليفينول والفلافونويد في نبات توت البانديكوت يقللان من مستويات

حامض اليوريك ، الكرياتينين واليورينا من خلال العمل كمضادات للأكسدة وتقليل الجذور الحرة و تثبيط العديد من انزيمات الاكسدة بضمنها زانتين أوكسيداز xanthine oxidase وانزيمات الأكسدة الحلقية Cyclooxygenase و انزيمات أخرى وبالتالي تنظيم مستوى حامض اليوريك في الدم (Cicero *et al.*,2021; Nehru *et al.*,2020; Mehmood *et al.*,2019)

كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية أن التجريع الفموي بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت أدى إلى عدم وجود فروق معنوية ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى الألبومين ، إن عدم وجود فرق معنوي في مستوى الألبومين في الدم بعد استخدام مستخلص نبات توت البانديكوت يشير إلى دور النبات في تنظيم وظائف الكلى والاعضاء الاخرى فعلى الرغم من أن الألبومين يتم انتاجه في الكبد إلا أنه عندما يحدث ضرر للكلى قد يحدث خلل في اعادة امتصاص هذا البروتين مما يسمح بإفراز الألبومين في البول وهكذا تعمل المستخلصات النباتية بدورها كمركبات وقائية للكلى تصلح التلف الحاصل وتنظم وظائف الكلى ومختلف العمليات الحيوية (Tienda-Vázquez *et al.*,2022 ; Rajasekaran ,2019)

## 5-5 تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في مستوى هرمون الارثروبويتين Erythropoietin وفعالية بروتين Renin ومستوى هرمون الكالسيترول Calciterol

اظهرت النتائج إن الحقن تحت الغشاء البريتوني ب DEN أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى الارثروبويتين Erythropoietin وانزيم Renin

قد يعزى الارتفاع المعنوي في مستوى هرمون الارثروبويتين إلى دوره في انتاج كريات الدم الحمراء في الجسم ففي حالة نقصان كريات الدم الحمراء تلجأ الكلية إلى افراز كميات كبيرة من الارثروبويتين لتعويض هذا النقص و عند اصابة الكلية بالسرطان و زيادة انقسام الخلايا غير الطبيعي التي تؤدي إلى زيادة عملية الايض مما يؤدي إلى استهلاك الاوكسجين واستهلاك اكثر للمغذيات مما يسبب حدوث نقص الأوكسجين Hypoxia نتيجة تحطم كريات الدم الحمراء (RBC) أو قد يكون بسبب زيادة الانقسام الخلوي الذي يحدث في حالة الإصابة بالسرطان مما يؤثر على عملية انتاج الارثروبويتين وإن تحطم RBC في حالة الإصابة بالسرطان تكون سريعة جدا ، وبالتالي يزداد مستوى هرمون الارثروبويتين ليحفز انتاج كريات الدم الحمراء ، كما وان مستوى ال EPO يتاثر بشكل اساسي بسلامة الكلية ونتيجة تضرر الكلية بمادة DEN

التي سببت حدوث نقصان في وصول الاوكسجين للخلايا و زيادة في انتاج كريات الدم الحمراء والهيموغلوبين (Khan *et al.*,2016; Ifeanyi,2015; Ito *et al.*,2012)

ويمكن أن يعزى السبب في ارتفاع هرمون الارثروبويتين إلى ان مادة DEN تسببت بتكوين اورام واضحة في نسيج الكبد والكلى مما أدى إلى زيادة انتاج EPO (Bohlius *et al.*,2008)

اظهرت النتائج إن الحقن تحت الغشاء البريتوني ب DEN أدى الى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في فعالية انزيم Renin ، وقد يعزى السبب في زياد فعالية انزيم الرنين إلى حدوث خلل في نظام رينين أنجيوتنسين الألدوستيرون (RAAS) Renin angiotensin aldosterone system الذي يعمل على توازن السوائل والأيونات و ضغط الدم نتيجة حدوث بعض الاورام الكلوية التي سببتها مادة DEN والتي كان لها تأثير واضح على معظم وظائف الكلى (Sobczuk *et al.*,2017)، كما قد يكون سبب زيادة فعالية انزيم الرنين ناتج عن نقص حجم الدم ، وزيادة مستوى الاملاح في الأنابيب الكلوية البعيدة ، وتقلص الاوعية الدموية و ضعف تدفق الدم في الكليتان وإحداث المزيد من المضاعفات التي تؤدي إلى حدوث خلل في إداء وظائف الكليتين ، كما إنها تسبب نقص حجم الدم نتيجة نقص التروية الكلوية (Kant *et al.*,2023)

اظهرت النتائج ان الحقن داخل البريتون بمادة ال DEN أدى إلى حدوث انخفاض معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى هرمون الكاليسترول Calciterol

إن الكاليسترول هو من هرمونات الستيرويدات وهو الشكل النشط من فيتامين D، و يمر بتغيرات عديدة في الكبد والكلى قبل أن يكون فعال وظيفيا ، إذ يمر في الكبد بعملية أكسدة (Hydroxylation) ينتج عنها الشكل الهيدروكسيلي للفيتامين hydroxyvitamin D25 (D25) ، و تتحول الغالبية العظمى من فيتامين D إلى هذا المركب، و ان مستويات هرمون الكاليسترول يعكس حالة فيتامين D في الجسم (Irazoqui *et al.*,2022)

وتشير الدراسات إلى دور نقص فيتامين D في الجسم أو عدم تحويله إلى الشكل الفعال في نشوء سرطان الكبد والكلى وذلك عن طريق تثبيط فعالية خلايا كفر kapffer cell و إيقاف عمل مسار Mitogen-activated protein kinase (MAPK) المسؤول عن تنظيم دورة الخلية وإيقاف تمايز الخلايا وتنشيط الجين المحفز للورم proto oncogene

kinase الذي يؤدي إلى حدوث خلل في تنظيم نمو الخلايا وبالتالي تحولها الى خلايا سرطانية (Díaz *et al.*,2015) و كذلك يؤدي انخفاض مستوى هرمون calcitriol إلى انخفاض مستوى الكالسيوم في الدم ، فقد اشارت بعض الدراسات إلى وجود علاقة بين نقص الكالسيوم وزيادة احتمالية الإصابة بالسرطان ، إذ يتحكم هذا الهرمون في توازن الكالسيوم والفسفور بالجسم عن طريق زيادة امتصاص الكالسيوم في الامعاء وزيادة افرازه من العظام . (Huybers *et al.*,2007) ،وقد يعزى السبب في انخفاض مستوى هرمون الكالستيرول إلى حدوث ضرر في خلايا الكلى والتي بدورها تكون مسؤولة عن افراز الانزيمات المهمة التي تدخل في تصنيع فيتامين D في الجسم . (Dusso *et al.*,2011)

## 5-6 تأثير مستخلص نبات توت البانديكوت في مستوى هرمون الارثروبويتين Erythropoietin وفعالية بروتين Renin ومستوى هرمون الكالستيرول Calciterol

اظهرت النتائج التجريعية الفموية بالمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت أدى الى عدم وجود فروق معنوية معنوي (P>0.01) في معدل مستوى هرمون الارثروبويتين Erythropoietin وفعالية بروتين Renin

إن كفاءة وفعالية المستخلص في حماية الانسجة الكبدية والكلى من الالتهابات والامراض المختلفة والتي تعزى إلى احتواء هذا النبات على الفلافونيدات فضلا عن الصابونين والتي تعمل كمضادات اكسدة إذ تعمل هذه المركبات على حماية انسجة الكلى والكبد وباقي أجهزة الجسم من تأثير الجذور الحرة مؤديا بالنتيجة الى الحفاظ على المستويات الطبيعية من هرمون الارثروبويتين وانزيم الرنين ، إذ تقلل مضادات الأكسدة من الفعل الهدمي لانواع الجذور الحرة ، وعادةً ما تتكون الجذور الحرة نتيجة التفاعلات الكيميائية داخل الانسجة الجسمية وهي ذات تأثيرات ضارة للخلايا الجسمية فتسبب أعاقه وظائفها وتحفز موتها ( Wong *et al* , 2008 ; Wong *et al* , 2011 ; Srinivasan *et al* 2012 ) و نتيجة لتلك الخصائص المضادة للاكسدة فانها تعمل على حماية وتنشيط الخلايا الكلى والمحافظة على استنبابها ، وبالتالي المحافظة على معدل إفراز الإارثروبويتين لدى مجموعة الجرذان التي تم تجريعها بالمستخلص.

قد يرجع سبب المحافظة على فعالية انزيم الرنين إلى الدور الوقائي للمستخلص ضد التأثيرات المرضية الناتجة من توليد جذور حرة وأحداث الأجهاد التأكسدي وبذلك يكون قد وفر حماية لكل أنسجة الجسم و بالأخص الأنسجة الكبدية والكلوية من التأثيرات الالتهابية وبالتالي تحسن هذه الانزيم وما يؤكد ذلك سلامة الأنسجة الكبدية والكلوية في الدراسة حيث لم تظهر أي ضرر أو تغير في تركيبها ، إذ أظهرت المقاطع النسجية للكبد والكلية للجرذان المعاملة بهذا التركيز سلامة خلاياها مع ما تحويه من محتويات نووية و سايتوبلازمية وذلك من خلال كبح الجذور الحرة و الحفاظ على مكونات الأغشية الخلوية من دهون مفسفرة بتنشيط الأكسدة الفائقة للدهون ، أو لما يحويه المستخلص من مواد فعالة طبيياً مثل الفلويديات و الجليكوسيدات والستيرويدات و الفيتامينات (Ghagane et al., 2017)

أظهرت النتائج التجريب الفموي بالمستخلص المائي لاوراق توت البنانديكوت أدى الى عدم وجود فروق معنوية معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى هرمون الكاليسترول Calciterol

يرتبط الكاليسيتريول بمستقبلات فيتامين D في الكلى والغدة جار الدرقية والأمعاء والعظام لزيادة مستويات الكالسيوم في الدم عن طريق تعزيز الامتصاص في الأمعاء وإعادة الامتصاص النببي الكلوي في الكلى والإفراز من العظام. يعمل الكاليسيتريول كعامل نسخ لتشفير البروتين المرتبط بالكالسيوم ، والذي يقوم في نفس الوقت بنقل أيونات الكالسيوم والفوسفات عبر الخلايا الظهارية المعوية. جنبا إلى جنب مع هرمون الغدة الجار درقية ، يحفز الكاليسيتريول ارتشاف العظام عن طريق تنشيط الخلايا الناقضة للعظم (Brandenburg & Ketteler, 2022) ، فقد يعود سبب المحافظة على المستويات الطبيعية من هرمون calcitriol في المجاميع G3 و G4 إلى دور المستخلص في تحسين واصلاح خلايا الكبد والكلى التي تشترك في التخليق الحيوي للهرمون عن طريق رفع مستوى مضادات الاكسدة وخفض مستوى الاجهاد التاكسدي في الجسم وبالتالي تقليل الضرر الخلوي لاحتوائه على العديد من المواد الفعالة مثل الفلافونيدات التي تعمل كمضادات أكسدة مما ينتج عنه المحافظة على مستويات الهرمون الطبيعية (Alves et al., 2010)

## 7-5 تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في مستويات المالونالديهيد MDA و بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية LHP والديسموتاز الفائق SOD والكوتاثيون GSH والساييتوكروم COX

اظهرت النتائج إن الحقن داخل البريتون بمادة ال DEN أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى MDA و LHP و انخفاض معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى SOD و GSH وهذه النتائج تتفق مع نتائج ( Zhang *et al.*,2023; Ibrahim *et al.*,2022; Seriner *et al.*,2022 )

تسبب الجذور الحرة ومنها بيروكسيد الهيدروجين تضرر الخلايا الكبدية والتي ينتج عنها ارتفاعاً في مستوى إنزيمات الكبد مصحوبة بزيادة في الأكسدة الفائقة للدهون مع حدوث انخفاض في مستويات الإنزيمات المضادة للأكسدة، ويعزى تسبب الزيادة في نشاط هذه الانزيمات إلى حدوث خلل في التنظيم الوظيفي الكبدية نتيجة لتأثير الجذور الحرة، و تحدث اضطرابات لانزيمات الكبد فضلاً عن تغير في نفاذية غشاء الخلايا الكبدية، فقد وجد ان الارتفاع المعنوي في انزيمات الكبد يكون مصحوب بأضرار نسيجية و حدوث الضرر الخلوي (Punvittayagul *et al.*, 2019 ; Mittal *et al.*, 2006 )

إن وجود الانزيمات المضادات للأكسدة في جسم الكائن الحي تعمل على حماية الخلايا من التلف التي تسببه ROS كما أنها تحافظ على عملية التوازن بين عمليات الاكسدة وانظمة الدفاع المضادة للأكسدة ، وان حدوث عدم التوازن بينهما يؤدي إلى زيادة مفرطة من ROS واكسدة الدهون المفسفرة الغشائية (Hao & Liu ,2019) ، ففي معظم الحالات المرضية التي تحفز الإجهاد التأكسدي فإن نشاط الجذور الحرة يزداد بشكل كبير وتعمل بدورها على تقليل كفاءة انظمة الدفاع المضادة للاكسدة مما يؤدي إلى زيادة في عملية بيروكسيدية الدهون والتي بدورها تزيد من انتاج MDA وحدث خلل في التوازن بين نسبة الجذور الحرة ونشاط الانزيمات المضادة للأكسدة مما يؤدي إلى تلف الخلايا وفقدان سلامة الاغشية الخلوية (Rahal *et al.*, 2014) ، وقد يكون السبب حالة الاجهاد إلى تحفيز وزيادة نشاط إنزيم Fatty acetyl CoA oxidase(FACO) الذي يحفز عملية  $\beta$ -Oxidation للأحماض الدهنية وزيادة تكوّن  $H_2O_2$  وبالتالي زيادة الاكسدة الفائقة للدهون وإنتاج الـ المالون ثنائي الدهيد MDA (Aju *et al.*, 2019)

تشارك انزيمات مضادات الاكسدة مثل SOD و GSH في إزالة الجذور الحرة الخطرة فهي تلعب دورا مهما في مساعدة الجسم للتخلص من السموم نتيجة التعرض لمادة DEN والتي تكون ذات تأثير سمي نظراً لما تسببه من توليد ROS الخطرة القادرة على التفاعل مع الجزيئات الحيوية الكبيرة ودورها في حدوث التخرر واتلاف انسجة الجسم كالكبد وغيره (Tawfik *et al.*, 2022) ان زيادة الأجهاد التاكسدي يؤدي إلى زيادة معدل الأستهلاك للكلوتاثيون الذي يعد من أهم مضادات الأكسدة غيرالأنزيمية ، وأن انخفاض مستوى الكلوتاثيون يتزامن مع انخفاض مستوى مضادات الأكسدة الأنزيمية الأخرى مثل SOD و Catalase وبالتالي تزداد حساسية الخلايا للأجهاد التاكسدي (Bartosikova *et al.*, 2003) ، إذ يعد المألون ثنائي الالديهيد (MDA) هو أحد نواتج عملية بيروكسيدية الدهون (Halliwell & Gutteridge, 2015) الذي يؤدي الى ارتفاع مستويات انواع الأوكسجين الفعالة ROS ومن ثم يتفاعل مع مضادات الأكسدة مما يسبب انخفاض في مستواها (Schieber & Chandel, 2014) ، كما أن حصول الانخفاض بمضادات الاكسدة يؤثر على أيض البروتينات والأحماض الأمينية الحرة وبذلك تتأثر مضادات الاكسدة وينخفض مستوى تكوينها بالكبد (Tawfik *et al.*, 2022) ، وقد يعود هذا الخلل في انزيمات مضادات الأكسدة الى نواتج الأيض الخاصة بال DEN - acetyl - p benzoquinoneimine والتي تم تصنيفها على أنها من المواد المؤكسدة (Li *et al.*, 2019; Ding *et al.*, 2017)

كما أظهرت النتائج إن الحقن داخل البريتون ب DEN أدى إلى حدوث انخفاض معنوي ( $P < 0.01$ ) في معدل مستوى Cytochrom oxidase (COX)

يعد سايتوكروم ( Cytochrom oxidase (COX) من الانزيمات المهمة المشاركة في سلسلة نقل الالكترونات التي تحدث في المايتركوندريا والذي يُعد المفتاح الرئيسي في انجاز العديد من العمليات الضرورية للكائن الحي خاصة عملية الفسفرة التاكسدية Oxidative phosphorylation والتي تتضمن انتاج وخرن الطاقة خلال عملية تكوين الـ ATP (Abramczyk *et al.*, 2022) ، فقد يعزى سبب الانخفاض في الـ COX الى ان مادة DEN سببت اضرارا على الميتوكوندريا، حيث تؤثر الـ ROS على الحمض النووي للميتوكوندريا والبروتينات الخلوية و من المعروف أن غالبية الحمض النووي للميتوكوندريا يعمل على تشفير البروتينات والإنزيمات الخاصة بعملية الفسفرة التاكسدية ، وقد تساهم اكسدة



الحمض النووي الريبي للمايتوكونديريا الى حدوث تحطم المايتوكونديريا و إنتاج جذر الأوكسجين الفائق ، وانخفاض السايتركروم COX (Mikhed *et al.*,2015 ; Chang *et al.*,2016).

### 8-5 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في مستويات المالونالديهيد MDA و بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية LHP والديسموتاز الفائق SOD والكلوتاثيون GSH والسايتركروم COX

أظهرت النتائج ان التجريع الفموي وبجرعة (60 ملغم/كغم) من المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت ادى انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في معدل مستوى MDA و LHP في المجموعة الثالثة (G3) و الرابعة (G4) وارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في SOD و GSH مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) وهذا يتفق مع (Khuniad *et al.*,2022; Chen *et al.*, 2019; Sulistyaningsiha *et al.*, 2017)

تحتوي أوراق توت البانديكوت على نسبة عالية من مضادات الاكسدة والتي تعمل على الحد من تأثير الجذور الحرة من خلال منح الكترول والتخلص من الجذور الحرة و تنشيط مضادات الاكسدة الانزيمية الموجودة في الجسم والتي بدورها تعمل على تثبيط الاجهاد التأكسدي وبيروكسيدية الدهون (Engwa *et al.*, 2022; Hasanuzzaman *et al.*, 2020)

إن الانخفاض في مستويات ال MDA بعد المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت يعود لدوره الكبير في تقليل بيروكسيدات الهيدروجين الدهنية LHP الناجمة عن الجذور الحرة التي أدت إلى استنفاد مضادات الاكسدة وجعلت من أعضاء الجسم عرضة للتلف التأكسدي ، اذ يعد تكون ال MDA مرحلة متأخرة من أكسدة الدهون ومؤشراً سميماً واضحاً (Sulistyaningsiha *et al.*, 2017) ، تهاجم الجذور الحرة ROS الأحماض الدهنية الموجودة في الأغشية الخلوية وتسبب حدوث أضرار خلوية كبيرة وينتج عنها إنتاج الأدهيدات التفاعلية (MDA) (Venmathi Maran *et al.*,2022) الذي يعد الناتج النهائي لبيروكسيدية الدهون ، و إن التوليد المتزايد للجذور الحرة تسبب في حدوث ضرر تأكسدي ، فعندما تتعرض الحيوانات لمواد سمية مختلفة ، تبدأ بتوليد مستويات المرتفعة من الجذور الحرة وعندما يتجاوز إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية انظمة الدفاع المضادة للأكسدة الطبيعية في الجسم ، فإن ذلك يؤدي الى حدوث تلف الجدار الخلوي والحمض النووي والمايتوكونديريا والبروتينات

الوظيفية. يعد الجلوتاثيون (GSH) والديسموتاز الأكسيد الفائق (SOD) من أنظمة مضادات الاكسدة في الجسم (Min *et al.*,2018) .

يحتوي الجلوتاثيون (GSH) في تركيبه على مجموعة الثايول SH، التي يعد وجودها مهم جدا في الحماية الخلوية ضد عمليات الاكسدة ، عن طريق دورها في التفاعل مع جذور الهيدروكسيل والأوكسجين والبيروكسي نترت ، إذ تعمل على منح الالكترونات لتقترن بهذه الجذور وتحولها إلى ماء ، كما تتأكسد مجموعة SH مباشرة لتكوين الشكل المؤكسد للجلوتاثيون وهو مركب ثنائي الاصرة الكبريتية (GSSG) Glutathione disulfide ، الذي يتكون من جزيئين من GSH ارتبطت معا عن طريق عمل انزيم (GPx) Glutathione peroxidase ، بعدها يعاد تحويل الكلوتاثيون المؤكسد إلى الشكل المختزل مرة أخرى بمساعدة انزيم (GSH-RD) Glutathione reductase والعامل المساعد Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) (Vairetti *et al.*,2021)، بينما يعمل ال SOD على تحويل جذور الاكسيد الفائق إلى ماء واوكسجين مما يؤدي إلى تقليل تأثيره الضار على مختلف الانسجة وتقليل الاجهاد التاكسدي (Sannasimuthu *et al.*,2018). كما قد تعود الزيادة في مستوى مضادات الاكسدة بعد المعاملة بالمستخلص المائي إلى دوره في تجديد تخليق هذه المضادات أو بسبب التقليل الأيضي للمادة السامة وبالتالي تقليل التوليد المتزايد للجذور الحرة مما قد يقلل الاصابات الكبدية لما يحتويه من مركبات مهمة مثل الفلافونويد والقلويدات. (Khuniad *et al.*,2022; Chen *et al.*, 2019)

إن GSH وSOD يؤديان دوراً مهماً في المحافظة على الخلايا والانسجة من الاجهاد التأكسدي وحماية البروتينات الخلوية من أنواع الأوكسجين التفاعلية في الجسم، كما انهما يعملان على حماية الخلايا من التلف الناتج عن المؤكسدات ، كما أنه يلعب دوراً رئيسياً في التحكم في العديد من العمليات الخلوية مثل تخليق الحمض النووي والبروتين ، والتعبير الجيني ، ومسارات الإشارات ، ونمو الخلايا ، والتمايز ، وموت الخلايا المبرمج ، ويمنع تدمير الخلايا الناتج عن ROS ، خاصة تلك المتعلقة بآليات السرطان (Teskey *et al.*,2018)

إن الارتفاع في مستوى GSH وSOD والانخفاض في مستوى المألون ثنائي الديهايد MDA وبيروكسيدات الهيدروجين الدهنية قد يعود إلى دور المركبات الفعالة الاخرى في النبات مثل والانثراكينوات anthraquinone، والسولانيسيون solanesol، والقلويدات alkaloids، والفلافونيدات لاعتبار هذه المواد من مضادات الأكسدة التي تقوم بدور مهم في

التقليل من الإجهاد التأكسدي. كما تبين أن الوظيفة الأساسية لهذه المواد هي حماية أغشية الخلايا والمادة الوراثية فيها من عمليات التأكسد الضارة، نظراً لطبيعته التي تؤهله للعمل كمانع للأكسدة ويعتقد أن لها دوراً في منع الإصابة بالسرطان وعلاقته المباشرة بالعديد من الأنظمة الدفاعية ضد الأكسدة. (Yan *et al.*,2019; Wong *et al.* , 2012)، والتي تعمل جميعها على إزالة الجذور الحرة مباشرة عن طريق منح الإلكترون أو بطريقة غير مباشرة من خلال زيادة نشاط مضادات الأكسدة ومنها الكلوتاثيون والسوبر أوكسايد دسموديز والذي يعمل على تثبيط الجهد التأكسدي وبيروكسيد الدهون وبالتالي يمنع إنتاج المألون ثنائي (Raish *et al.*, 2016)

أظهرت النتائج أن التجريع الفموي بالمستخلص المائي لنبات أوراق توت البانديكوت أدى إلى عدم وجود فرق معنوي ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى السيتوكروم (COX) oxidase Cytochrom

تمر المركبات النباتية ومنها الفلافونويد بالمسارات الأيضية نفسها التي تمر بها المواد الأخرى الداخلة للجسم فبعد امتصاصها في الخلايا المعوية تخضع أغلبها لعملية الاقتران والتفاعل ما بين المادة الحيوية وحمض الجلوكورونيك بعملية الاقتران الجلوكوروني glucuronidation ، الميثلة methylation أو الكبرتة sulfation في الغشاء المخاطي للأمعاء و الكبد، فعندما تصل إلى الكبد فإنها تمر بالعديد من المسارات الأيضية ويتم إنتاج مستقبلات عديدة ، ويتم إفراز جزء كبير من هذه المستقبلات عبر الصفراء، ويمكن السيطرة على السمية والحالات المرضية المختلفة التي يتعرض لها الكائن عن طريق استخدام هذه المركبات النباتية من خلال دورها الوقائي و نشاطها المنظم لمستويات السيتوكروم (Cermak,2008) يساهم تنظيم معدل مستوى السيتوكروم في تقليل المستقبلات المتفاعلة الخطيرة والتي تنشأ عن هذا النظام وذلك لأن المستخلصات النباتية تقلل من المركبات المتفاعلة الناتجة عن النشاط الزائد والمواد السامة التي يتم استقلابها بواسطته وبهذا يقلل من الجذور الحرة والإجهاد التأكسدي (Park *et al.*,2010) ، كما أن الانثراكينوات anthraquinone والسولانيسيون solanesol التي هي من مكونات توت البانديكوت الفعالة يمتلك القدرة على تنظيم فعالية سايتوكروم COX من خلال تنظيم التعبير الجيني لوحده الفرعية الموجودة بالحمض النووي للميتوكوندريا ، وقد يساهم زيادة نشاط COX في آثاره الوقائية على وظيفة الميتوكوندريا ، كما تعمل المركبات الفعالة لأوراق توت البانديكوت على تثبيط توليد الجذور الحرة ROS وتقليل الإجهاد التأكسدي الذي له دور كبير في الحفاظ على تركيب المادة الوراثية للميتوكوندريا

Mitochondrial DNA (mt DNA) , مما يؤدي إلى زيادة التعبير الجيني لساييتوكروم COX التي تعزز القدرة المضادة للأكسدة لمستخلص توت البانديكوت (Yan et al.,2019)

## 9-5 تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في مستويات عامل النخر الورمي الفا TNF- $\alpha$ والانترلوكين Interleukin-1 $\beta$ والانترلوكين Interleukin- 8

اظهرت النتائج إن الحقن داخل الغشاء البريتوني ب DEN أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى TNF- $\alpha$  والانترلوكين Interleukin-8 وهذه النتائج تتفق مع (Giri et al. ,2023; Eitah et al. ,2023; Zhang et al. ,2016)

يعود السبب في ارتفاع مستوى TNF- $\alpha$  إلى الضرر الحاصل في الكبد، إذ بينت نتائج الدراسة الحالية انخفاض القدرة الوظيفية للكبد اعتماداً على قيم وظائف الكبد التي تناولتها الدراسة و التي بينت تغيراً في مستوياتها ، فضلاً عن الى تحرر الكثير من الساييتوكاينينات الالتهابية نتيجة تحطم الخلايا الكبدية، لذا يكون الكبد غير قادر على ازالة المستويات العالية من هذه الساييتوكاينينات ، كما إن سبب ارتفاع TNF- $\alpha$  قد يعود إلى ارتفاع مستويات انزيمات AST ،ALT وALP إذ بينت النتائج وجود علاقات ترابطية ايجابية بين انزيمات الكبد مع TNF- $\alpha$  الذي يمتلك دوراً واضحاً في تنخر الخلايا الكبدية (Guobin and Michael,2011)

كما قد يعود سبب ارتفاع مستوى لـ TNF- $\alpha$  إلى أن مادة DEN تعمل على زيادة الجذور الحرة وتقليل مضادات الاكسدة مما تسبب في اختلال التوازن الخلوي وحدث تلف الحامض النووي (Priya et al.,2018) ، ويمكن أن تؤدي المستويات المرتفعة من الاجهاد التأكسدي إلى تدمير الحامض النووي والبروتينات الخلوية عن طريق اختراق أغشية الخلايا والدخول إلى النواة مباشرة وهذا يؤدي إلى حدوث طفرة جينية وتغيير البروتينات مما يؤدي إلى ارتفاع مستواها TNF- $\alpha$  (Basu, 2018 ; Basu and Nohmi, 2018)

أن الخلايا الكبدية تحتوي على عدة انواع من المستقبلات تعود لأنواع مختلفة من الساييتوكاينينات الالتهابية ومنها(TNF- $\alpha$  , IL-8 , IL-1 $\alpha$ )، كما يحتوي الكبد على الكثير من الخلايا الدفاعية لذا قد يعود سبب ارتفاع مستوى TNF- $\alpha$  إلى الخلايا المناعية الموجودة المتمثلة

بخلايا Kupffer cell و خلايا ال Macrophage (Budhu and Wang , 2006 ; Wang *et al.*, 2006 ; Balasa *et al.*, 2015) , أو يعزى السبب إلى تأثير انواع الأوكسجين التفاعلية التي تكونت نتيجة المعاملة DEN والتي رافقها استنفاد في مستوى مضادات الاكسدة الخلوية إذا ان المسارات داخل الخلايا تتأثر كثيرًا بالجذور الحرة المتولدة وان تراكم هذه الجذور تسبب بأكسدة الـ DNA والبروتينات والدهون مسببه بذلك ضرر خلوي وعدم استقرار (Bannasch,2012) من الجدير بالذكر إن العديد من الدراسات ركزت على دور عامل التنخر الورمي TNF- $\alpha$  ودوره كعامل التهابي مهم ومؤشر رئيسي في حالة الاصابة بالسرطان كما أنه مؤشر اصابة الكبد في أمراض عدة مثل التهاب الكبد الفيروسي والكحولي والاصابة و نقص التروية الكبدية (Ding & Yin ,2004; Wu & Zhou,2010)

اظهرت النتائج إن الحقن داخل الغشاء البريتوني ب DEN أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ( $P<0.01$ ) في معدل مستوى الانترلوكين Interleukin-1 $\beta$  وهذا يتفق مع (Adelani *et al.*,2023; Farag *et al.*,2023;Song *et al.*,2020)

يعمل IL- 1 $\beta$  كعامل نمو للكثير من الخلايا السرطانية وهنا تكمن خطورته في تطور المرض، ان مستواه يزداد في الكثير من السرطانات ولاسيما في سرطان الكبد، وبوجود IL-1 $\beta$  على سطح الخلايا الكبدية سوف يحدث انتاج مستمر له من قبل الخلايا السرطانية ومن ثم يزداد مستواه في المصل، وان IL- 1 $\beta$  يشترك في تضرر او تنخر الكبد، وقد وجد أن مستواه يزداد بازدياد حجم الورم، ومن الممكن أن يقلل الموت المبرمج للخلايا السرطانية (Malkova *et al.*,2023)

إن الارتفاع المعنوي في معدل مستوى الانترلوكين IL- 1 $\beta$  يمكن أن يرجع لتأثير المادة السامة والتي احدثت تأثيرا مؤكسدا مسببة بذلك السمية الكبدية نتيجة الاجهاد التأكسدي الحاصل . إذ أن معاملة الجسم بمواد كيميائية غريبة أو مواد سامة وضارة يمكنه أن يحفز توليد لعدد كبير من الجذور الحرة وحدوث الاجهاد تأكسدي الذي ينتج عنه حدوث بيروكسيدية الدهون والتهاب وتنخر في الكبد ، ونتيجة لهذا تعمل الخلايا الكبدية على اطلاق السيتوكينات المحفزة للالتهاب وذلك يتضح من خلال التراكيز المرتفعة والنسبة غير الطبيعية لIL- 1 $\beta$  (Schulien *et al.*,2020)

كما يعزى السبب في ارتفاع مستوى  $IL-1\beta$  الى التلف الحاصل في الكبد، إذ بينت نتائج الدراسة الحالية انخفاضاً في وظائف الكبد اعتماداً على قيم وظائف الكبد التي تناولتها الدراسة  $ALT$ ،  $ALP$ ،  $AST$  ، الالبومين و البليروبين التي بينت تغيراً في مستوياتها ، فعندما تتحطم خلايا الكبد تتحرر العديد من الساييتوكاينينات الالتهابية ومن ضمنها  $IL-1\beta$  بالإضافة الى افرازه من قبل الخلايا السرطانية، ويكون الكبد غير قادر على ازالة المستويات العالية من الحركيات الخلوية، لذا أن انخفاض القدرة الوظيفية للكبد المتمثلة بارتفاع مستويات انزيمات الكبد وانخفاض الالبومين وارتفاع البليروبين الكلي تسبب ارتفاع مستويات  $IL-1\beta$  الذي يساهم في تنخر الخلايا الكبدية (Malkova et al.,2023; da Cruz et al.,2022) .

كما قد يكون سبب ارتفاع  $IL-8$  الى دورة في إحداث الإلتهاب نتيجة تأثير المادة السمية ، إذ ان زيادة مستوى  $IL-8$  ترتبط أيضاً بتطور تليف الكبد كما انه يشارك أيضاً في مجموعة متنوعة من أمراض الكبد من خلال الارتباط بمستقبله  $Chemokine\ receptor\ 1/2$  (CXCR1/2) (Huang et al.2015; Ha et al.,2017). إذ يؤثر  $IL-8$  على مسار الأمراض المختلفة من خلال تعزيز مسار phosphoinositol-3-kinase -protein kinase (PI3K / AKT) الذي يلعب دوراً رئيسياً في ايض، نمو ، تكاثر وبقاء الخلية الحية ، وبالتالي يعزز من تكاثر وهجرة الخلايا البطانية الوعائية وغزو سرطان الخلايا الكبدية من خلال هذا المسار (Wang et al.,2021 ; Sun et al.,2019)

## 5-10 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في مستويات عامل النخر الورمي الفا $TNF-\alpha$ والانترلوكين $Interleukin-1\beta$ والانترلوكين $Interleukin-8$

اظهرت النتائج إن التجريع الفموي بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في المجموعة G3 أدى الى عدم وجود فروق معنوية ( $P>0.01$ ) في معدل مستوى  $TNF-\alpha$  و الانترلوكين  $Interleukin-1\beta$  والانترلوكين  $Interleukin-8$

تحتوي أوراق توت البانديكوت على العديد من المركبات النشطة التي تمتلك مختلف التأثيرات المضادة للالتهاب من خلال تنظيم والسيطرة على السيتوكينات المحفزة للالتهابات منها حامض الغاليك gallic acid حامض الإيلاجيك Elagic acid ، إذ اثبت أن مستخلص توت البانديكوت وما يحتويه من مركبات نشطة له أهمية بالغة كونه ذات خصائص مضادة للالتهاب

والتي جعلت من المستخلص النباتي قادرا على تقليل مختلف الالتهابات والاصابات الخلوية من خلال تنظيم التعبير عن السيتوكينات المحفزة للالتهاب مثل عامل التنخر الورمي  $TNF-\alpha$  و الانترلوكين  $IL-1\beta$  و  $IL-8$  كذلك تعديل وتنظيم هذه السيتوكينات ومستقبلاتها -Zamudio (Cuevas et al.,2021)

إن أحد اهم مسببات الضرر والالتهابات التي تحدث في الخلايا والأنسجة يعزى إلى تولد الجذور الحرة وأنواع الاوكسجين التفاعلية ROS والتي تؤدي الى حدوث الاجهاد التأكسدي وبيروكسيدية الدهون و احدث خلا واضحا في مختلف انحاء الجسم ، وتلعب المركبات النشطة في نبات توت البانديكوت دوراً مهماً وحيوياً كونها مواد مضادة للاكسدة ، فضلا عن دورها في تنشيط الانزيمات المضادة للاكسدة التي تقلل من تاثير الاجهاد التأكسدي وهذا ساهم بشكل واضح في تنظيم السيتوكينات المحفزة للالتهاب وقلل من الاصابة الحاصلة (Alves et al. ,2010)

لقد أصبح واضحا تأثر الخلايا الكبدية ب ROS والسموم الخارجية التي حفزتها على اطلاق السيتوكينات المحفزة للالتهاب وهنا جاء دور المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت الذي عمل على تقليل نشاط البلعمة لخلايا كوبفر الكبدية Kupffer cells المتأثرة بالاجهاد التأكسدي والجذور الحرة وبالتالي قلل افراز هذه الخلايا للسيتوكينات المحفزة للالتهاب مثل  $TNF-\alpha$  و  $IL-1\beta$  و  $IL-8$  وأيضا ويعزى سبب التحسن في المجموعة G4 في مستوى العامل التنخر الورمي و الانترلوكين  $IL-1\beta$  و  $IL-8$  إلى دور المستخلص المائي لاوراق توت البانديكوت في حماية الـ DNA الخلايا من الاجهاد التأكسدي الناتج عن DEN وبالتالي انخفاض مستوى  $TNF-\alpha$  , وإصلاح الحامض النووي المتضرر جراء عملية الاكسدة المفرطة ( Hossain et al. , 2021)

## 11-5 الدراسة النسجية The histological study

### 1-11-5 تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في نسيج الكبد

اظهر الفحص النسجي للكبد في مجموعة السيطرة تركيبه النسجي الطبيعي المتكون من عدة فصيصات و كل فصيص يحتوي على وريد مركزي Central vein وانتظام الخلايا الكبدية Hepatocytes والتي تكون بشكل أشرطة وما بين هذه الاشرطة تقع فسخ دموية تسمى الجيبانيات Sinusoids ويمكن تمييز الخلايا الكبدية ذات أنوية واضحة إلى جانب الوريد المركزي والجيبانيات ، في حين اظهرت نتائج التقطيع النسجي ان الحقن داخل الغشاء البريتوني

بمادة DEN أدى إلى ظهور عقيدات ورمية واضحة وحدوث تغيرات تنكسية في نسيج الكبد وظهر احتقان في الوريد المركزي مع ارتشاح الخلايا الالتهابية حوله وهذا يتفق مع (Ahmed et al., 2022; Akree et al., 2023; Duan et al., 2023)

إن تعرض الكبد الى تأثيرات وتغيرات نسجية واضحة بعد الحقن بمادة DEN قد تكون نتيجة لتكوين مستقبلات نواتج الأيض الضارة بالجسم والتي تكون مسؤولة عن السمية الشديدة التي سببتها مادة الـ DEN ، إذ تنتج بعض المستقبلات التفاعلية من خلال نظام السييتوكروم P450 مثل N - acetyl - p benzoquinoneimine ، التي تعد من نواتج الأيض بالغة الخطورة والتي تعمل على مهاجمة الخلايا الكبدية ، كما إن استنفاد الجلوتاثيون المضاد للأكسدة يكون أحد الأسباب المؤدية للتلف الحاصل في نسيج الكبد (Li et al., 2019; Owumi et al., 2019) ، كما إن الاستجابة الالتهابية التي سببتها مادة DEN ساهمت في حدوث نمو مفرط لخلايا الكبد وبالتالي حفزت حدوث سرطان الخلايا الكبدية (Fujii et al., 2013).

إن هذا الضرر الذي حدث في الخلايا الكبدية قد يكون ناتج من خلال تأثير مادة DEN في الأنسجة الكبدية وبالتالي عززت حدوث عملية الأكسدة الفائقة للدهون Lipid peroxidation التي سببت تحطم واضح لنسيج الكبد وتحرر المكونات الخلوية الى خارج الخلايا ، وهذا بدوره أدى إلى تعطل انظمة الدفاع المضادة للأكسدة وإصابة الخلايا وبالتالي تكون العقيدات الورمية (Mittal et al., 2006) ، كما يمكن أن يعزى سبب هذه التغييرات في الخلايا الكبدية إلى دور الإجهاد التأكسدي بعد التعرض لمادة DEN في تنشيط التسرب المسامي في الماييتوكونديريا لتفريغ عوامل وإنزيمات مختلفة تحث موت الخلايا المبرمج ، كما أن أنواع الأكسجين التفاعلية التي سببتها مادة DEN ذات تأثير خطر على النظم البيولوجية قد تفاعلت مع الحمض النووي والبروتينات والدهون الخلوية مما سبب تلف الخلايا الكبدية (Oliveira et al., 2013)

## 5-11-2 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في نسيج

### الكبد

أظهرت نتائج التقطيع النسيجي بعد التجريع الفموي بجرعة 60 ملغم /كغم بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت التركيب الطبيعي للنسيج و الخلايا الكبدية ، وذلك واضحا من خلال التغيرات النسيجية لنسيج الكبد حيث ساهم المستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت



بشكل كبير في تقليل الضرر الحاصل من خلال خصائصه المضادة للأكسدة بسبب مكوناته النشطة بايولوجيا مثل القلويدات Alkahoid واللجنين lignins والصابونين saponins، والستيرول sterols، والانثراكينونات anthraquinone، حيث أكدت الدراسة الحالية إن مستخلص نبات توت البانديكوت له القدرة على تجديد الخلايا الكبدية وتقليل التلف الحاصل في نسيج الكبد بفعل للاجهاد التأكسدي، فقد يعمل المستخلص على رفع مستوى الانزيمات المضادات الاكسدة مثل GSH و SOD، و الحد من الأصابة الكبدية من خلال اصلاح الاغشية الخلوية التالفة و تنظيم مستوى انزيمات الكبد والبليروبين ومستويات الدهون في الاغشية الخلوية وبالتالي يؤدي إلى تحسين بنية الخلايا الكبدية وتحسين سلامة الأنسجة وتقليل العوامل المشاركة في تطور الإصابة Hasanuzzaman *et al.*, 2020; Ghagane *et al.*, 2017 (Harun *et al.*,2016)

كما إن امتلاك النبات خاصية مضادة للالتهاب جعلت منه ذو فاعلية كبيرة في السيطرة على الالتهاب الحاصل اذ يلاحظ ذلك من خلال دوره في تقليل ارتشاح الخلايا الالتهابية والسيطرة على نشاط خلايا كوبفر وغيرها بالتالي استعادة بنية النسيج (Khuniad *et al.*, 2022; Ghagane *et al.*, 2017)

### 5-11-3 تأثير المعاملة بمادة ثنائي اثيل نيتروزامين في نسيج الكلى

اظهرت نتائج التقطيع النسيجي أن الحقن داخل الغشاء البريتوني بمادة ال DEN أدى الى حدوث احتقان وضمور وانكماش في الكبيبة البولية فضلا عن وجود زيادة في فسحة بومان وتحطم النبيبات البولية مع انسلاخ البطانة الداخلية للنبيبات البولية وهذا يتفق مع Mehany (et al., 2023; El-Desouky *et al.*, 2019)

إن التأثيرات الكلوية الضارة التي حدثت قد تكون نتيجة التعرض لمختلف المواد الغريبة أو الادوية والسموم و تحريض الإجهاد التأكسدي، وقد يتبع ذلك تنشيط عوامل ومسارات مختلفة تشارك في تلف انسجة الكلى وزيادة إنتاج السيتوكينات الالتهابية، ويمكن أن تؤدي هذه التغييرات إلى حدوث خلل في التوازن بين هذه العوامل الالتهابية وانظمة الدفاع المضاد للأكسدة للخلية، مما يؤدي في النهاية إلى اضطرابات وتغيرات نسيجية تحطمية (Molaei *et al.*, 2021)

إن تعرض الجسم لمادة الـ DEN أدى إلى تأثر الكلى وأنسجتها بشكل كبير نتيجة للسمية الحاصلة و يحدث أن ترتبط إصابة الكلى بالكبد أيضا وذلك نظرا لأن الكلى تشارك أيضا في عملية التمثيل الغذائي DEN في الجسم، حيث يحدث التمثيل الغذائي للـ DEN في الكبد عن طريق نظام السييتوكروم P450 فقد أصبح واضحا ان توليد انواع الاوكسجين التفاعلية ROS بشكل مفرط يتسبب بتلف أنسجة الكلى من خلال تعزيز بيروكسيدية الدهون وتلف الاغشية الخلوية والحمض النووي والبروتينات الخلوية ، كما تسبب ROS استنفاد لنظام مضادات الاكسدة ، وتعد الكلية من اكثر الاعضاء المعرضة للتضرر بفعل العديد من المستقلبات الضارة فقد يعود ذلك الى توفر الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة طويلة السلسلة في تكوين الدهون الكلوية وربما تعزى الاضرار النسجية الحاصلة في الكلية الى نشاط السييتوكينات المحفزة للالتهابات مثل عامل التنخر الورمي الفا TNF-a فقد تسبب السييتوكينات المحفزة للالتهاب اعتلال الكلية عن طريق حدوث خلل في عملية الافراز من الغشاء الكبيبي الكلوي; *Aprilia et al., 2018* (Ozbek, 2012) . كما وجد أن مادة الـ DEN تعمل على خفض أنشطة إنزيمات اغشية الحافة الفرشائية Brush border membrane، زيادة في أكسدة الدهون ، أكسدة البروتين ، وزيادة مستويات بيروكسيد الهيدروجين وبالتالي تحطم الاغشية الخلوية للنيبيات البولية والكبيبات (Ansari & Mahmood, 2016).

#### 4-11-5 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت في نسيج الكلى

اظهرت نتائج التقطيع النسيجي بعد التجريع الفموي بالمستخلص المائي لأوراق توت البانديكوت المحافظة على التركيب الطبيعي للكبيبة والنيبيات البولية مع ظهور احتقان في بعض اجزاء النيبيات البولية

اثبتت نتائج الدراسة الحالية إن نبات اوراق توت البانديكوت ومركباته النشطة يحسن من الضرر الحاصل في الخلايا الكلوية ويحسن من معدل الترشيح الكلوي وكذلك يعمل على تحسين وظائف وبنية الكبيبات والأنابيب الكلوية بشكل كبير فالزيادة الحاصلة في تفاعلات الالتهاب والتأكسد داخل الكلية حفزت السمية وفي محاولة السيطرة على الجذور الحرة والاجهاد التأكسدي ادى ذلك إلى استنفاد مضادات الاكسدة إذ يقوم المستخلص النباتي للتوت البانديكوت بتقليل الضرر التاكسدي وحماية الكلى من خلال رفع نظام مضادات الأكسدة ( *Khuniad et*

وجود مادة الفلافونيدات الفعالة في المستخلص المائي لأوراق المستخلص والتي تكسبها فعالية مضادة للأكسدة كونها قادرة على منح ذرة هيدروجين للجذور الحرة وإيقاف عملها الضار على النسيج وبالتالي تقليل عملية بيروكسيدية الدهون وحماية الأغشية الخلوية من الضرر التأكسدي وتعزز نظام إصلاح التلف الخلوي (Luna-Guevara et al., 2018).

ويمكن أن يعزى سبب التحسن في نسيج الكلى إلى احتواء نبات توت البانديكوت على حامض الاسكوربيك Ascorbic Acid الذي يعمل على حماية الخلايا من التلف لكونه عامل مساعد لكثير من التفاعلات الانزيمية منها 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase والذي يعد مهما لعمل وتنظيم عمل الجينات داخل الخلايا ، وكذلك يحافظ حامض الاسكوربيك على استقرار الخلايا عن طريق حمايتها من الجذور الحرة وذلك من خلال وهب الكترول للجزئيات غير المستقرة وتحويلها الى جزئيات مستقرة ويقلل الالتهابات وترميم الانسجة التالفة (Playford and Weiser et al.,2021; Young et al., 2017).

كما قد يعود سبب التحسن في نسيج الكلى إلى احتواء المستخلص المائي للنبات على المجاستيجمانات megastigmanes, الذي له دوراً مهماً في تحسين وظائف الكلى المتمثلة بخفض مستويات اليوريا والكرياتينين في الدم وكذلك زيادة مستويات الالبومين و تحسن البيليروبين مما يؤدي إلى منع تراكم المزيد من البروتينات في أنسجة الكلى للحد من التلف الكلوي وهذا ينتج عنه تقليل التنخر والاحتقان والنزف في النسيج الكلوي وايضاً تقليل تضخم الكبيبات (Ryu et al., 2003).

ويمكن أن يعزى إلى الدور الوقائي لمستخلص أوراق توت البانديكوت بسبب احتوائه على العديد من المواد الفعالة مثل الفينولات والبولىفينول التي لها القدرة على كسح الجذور الحرة ويعود نشاط مكونات المستخلص المضادة للأكسدة بشكل أساسي لخصائص الأكسدة والاختزال الخاصة بها كما ويعد gallic acid أحد المركبات الفينولية الذي يعمل على كسر سلسلة الجذور الحرة عن طريق وهب جزيء الهيدروجين وتؤدي إلى أكسدة الجذر الحرة وتحوله إلى حالة مستقرة نتيجة امتلاء غلافه الخارجي بالالكترونات أو المحافظة على توازن مضادات الأكسدة والتقليل من الأورام السرطانية الناتجة عن أنواع الأكسجين التفاعلية عن طريق زيارة نشاط ديسموتاز الفائق (SOD) والجلوتاثيون (GSH) وكذلك عن طريق تقليل بيروكسيدية الدهون كما يعمل حامض الغاليك على تنظيم دورة الخلية والالتهام الذاتي وموت الخلايا المبرمج عن

طريق تنشيط مسار الكاسبيز و العمل على تنظيم البروتينات المرتبطة بدورة الخلية مثل cyclin A و cyclin D1 و cyclin E ، و تأخير انقسام الخلية غير المسيطر عليه عن طريق تحريض إنزيم Cyclin-Dependent Kinase inhibitor 1B (p27KIP) وتنشيط نشاط (CDK) Cyclin-Dependent Kinase (Kotb *et al.*, 2022; Kahkeshani *et al.*, 2019).

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Concolusion&Recommendation

## الاستنتاجات

- 1- بعد تحضير المستخلص المائي لنبات أوراق توت البانديكوت وجد أن الجرعة المؤثرة للمستخلص بلغت 60 ملغم / كغم في الجرذان البيض
- 2- ان الحقن تحت الغشاء البريتوني 200 ملغم / كغم من مادة ثنائي اثيل نيتروسامين أدت الى  
A- حدوث خلل في وظائف الكبد من خلال الارتفاع المعنوي في معدل مستويات ALT , ALP , AST , MDA , T-BIL ,  
B- حدوث خلل في وظائف الكلى من خلال الارتفاع المعنوي Urea , Uric acid و  
Creatinine و EPO و Renin وانخفاض معنوي في معدل مستوى Albumin و calciterol  
C- حدوث الاجهاد التاكسدي وزيادة مستوى الجذور الحرة نتيجة للارتفاع المعنوي في معدل مستوى MDA و LHP وانخفاض معنوي في معدل مستوى GSH و SOD  
D- ارتفاع معنوي في مستوى IL-8 و TNF-a و IL-1 $\beta$  انخفاض معنوي في معدل مستوى Cytochrom C oxidase  
E- ظهور عقيدات ورمية واضحة في كلا من نسيج الكبد والكلى
- 3- ان المعاملة بالجرعة المؤثرة للمستخلص المائي لنبات توت البانديكوت قلل و بشكل كبير من التلف الحاصل في نسيج الكبد، الكلى وساهم بشكل فعال في اعادة المعايير الكيموحيوية إلى معدلاتها الطبيعية

## التوصيات

- 1- استخدام توت البانديكوت كمادة وقائية للتقليل من احتمالية الإصابة بامراض سرطان الكبد و الكلى .
- 2- اجراء دراسة وظيفية ونسجية عن بيان الدور الوقائي لنبات توت البانديكوت على اعضاء أخرى في الجسم
- 3- دراسة التأثير الوقائي والعلاجي للمستخلص الكحولي على امراض المناعة الذاتية مثل التهاب الأمعاء الحاد والمفاصل والعظام والتهاب العضلة القلبية المناعي .
- 4- اجراء دراسة نسجية ووظيفية على تأثير DEN في الرئة والطحال والغدة الدرقية في الحيوانات المختبرية .
- 5- اجراء دراسة نسجية باستخدام المجهر الاعتيادي والالكتروني لبيان الدور الوقائي لنبات توت البانديكوت على الدماغ في الحيوانات المختبرية
- 6- زيادة الوعي والتثقيف عن طريق الاهتمام بطب الأعشاب للتقليل من الآثار الجانبية الناتجة عن العلاجات الدوائية الكيميائية.

المصادر

References



## المصادر

## References

- Abdallah, A. A., Nasr El-Deen, N. A., Neamat-Allah, A. N., El-Aziz, A., & Heba, I. (2020). Evaluation of the hematoprotective and hepato-renal protective effects of *Thymus vulgaris* aqueous extract on thermally oxidized oil-induced hematotoxicity and hepato-renal toxicity. *Comparative Clinical Pathology*, 29(2), 451-461.
- Aboulgasem, G. J. A., Azab, A. E., and Almaky, M. M. (2015). Sodium nitrite induced biochemical alterations in the blood serum and its amelioration by aqueous extract of Libyan propolis in Guinea pigs. *International Journal of Science and Research*, 4, 1040-1048.
- Abramczyk, H., Brozek-Pluska, B., & Kopeć, M. (2022). Double face of cytochrome c in cancers by Raman imaging. *Scientific reports*, 12(1), 2120.
- Adebayo, O. A., Akinloye, O., & Adaramoye, O. A. (2020). Cerium oxide nanoparticles attenuate oxidative stress and inflammation in the liver of diethylnitrosamine-treated mice. *Biological Trace Element Research*, 193(1), 214-225.
- Adelani, I. B., Ogadi, E. O., Onuzulu, C., Rotimi, O. A., Maduagwu, E. N., & Rotimi, S. O. (2020). Dietary vitamin D ameliorates hepatic oxidative stress and inflammatory effects of diethylnitrosamine in rats. *Heliyon*, 6(9), e04842.
- Agramonte, M. D. A. R.; Gonçalves, C. A. G. and Siniscalco, D.(2019). Selected Papers from CUBANNI-2017“*The Fourth International Workshop of Neuroimmunologi*” published in *behavioral Science*. Pp:53-54.

- Ahmadvand, H., Babaeenezhad, E., Nasri, M., Jafaripour, L., and Khorramabadi, R. M. (2019). Glutathione ameliorates liver markers, oxidative stress and inflammatory indices in rats with renal ischemia reperfusion injury. *Journal of Renal Injury Prevention*, 8(2), 91-97.
- Ahmed, O. M., Ahmed, A. A., Fahim, H. I., & Zaky, M. Y. (2022). Quercetin and naringenin abate diethylnitrosamine/acetylaminofluorene-induced hepatocarcinogenesis in Wistar rats: the roles of oxidative stress, inflammation and cell apoptosis. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(1), 262-273..
- Aju, B. Y., Rajalakshmi, R., and Mini, S. (2019). Protective role of *Moringa oleifera* leaf extract on cardiac antioxidant status and lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetic rats. *Heliyon*, 5(12), e02935.
- Akree, L. S., Amin, Z. A., & Ahmad, H. O. (2023). In silico and in vivo hepatoprotective activity of the synthesized 5-benzylidene-2-thiohydantoin against diethylnitrosamine-induced liver injury in a rat model. *Scientific Reports*, 13(1), 4681.
- Alelign, T., & Petros, B. (2018). Kidney stone disease: an update on current concepts. *Advances in urology*, 1(1): 1-12 .
- Ali, J., Aziz, M. A., Rashid, M. M. O., Basher, M. A., & Islam, M. S. (2022). Propagation of age-related diseases due to the changes of lipid peroxide and antioxidant levels in elderly people: A narrative review. *Health Science Reports*, 5(3), e650.
- AL-Mashhadani, Z. I., Mukhlis, A. J. A., Razaq AL-Faraji, A. S. A.(2012). Estimation of ALP, GPT and GOT Activities in Iraqi Patients Female With Breast Cancer. *Pure and Applied Science*. 25(1): 1-10.

- Alsahli, M. A., Almatroodi, S. A., Almatroudi, A., Khan, A. A., Anwar, S., Almutary, A. G., ... & Rahmani, A. H. (2021). 6-Gingerol, a major ingredient of ginger attenuates diethylnitrosamine-induced liver injury in rats through the modulation of oxidative stress and anti-inflammatory activity. *Mediators of inflammation*, 2021.
- Altaş, S., Kızıl, G., Kızıl, M., Ketani, A., & Haris, P. I. (2011). Protective effect of Diyarbakır watermelon juice on carbon tetrachloride-induced toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2433-2438.
- Althoff, T., Mills, D. J., Popot, J. L., & Kühlbrandt, W. (2011). Arrangement of electron transport chain components in bovine mitochondrial supercomplex I1III2IV1. *The EMBO journal*, 30(22), 4652-4664.
- Alves CQ, David JM, David JP, Bahia MV, Aguiar RM. (2010) Methods for determination of in vitro antioxidant activity for extracts and organic compounds. *Química Nova*, 33:2202–2210.
- Ames, M. K., Atkins, C. E., & Pitt, B. (2019). The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression. *Journal of veterinary internal medicine*, 33(2), 363-382.
- Ansari, F. A., and Mahmood, R. (2016). Sodium nitrite enhances generation of reactive oxygen species that decrease antioxidant power and inhibit plasma membrane redox system of human erythrocytes. *Cell Biology International*, 40(8), 887–894.
- Aprilia, V., Bhima, S. K. L., & Ismail, A. (2018). Pengaruh Pemberian Butylated Hydroxytoluene (2, 6-Di-Tert-Butyl-4-Methylphenol) Per Oral Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histopatologis Ginjal. *Diponegoro Medical Journal*, 7(2), 1154-1165.

- Ayala, A., Muñoz, M. F. and Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 1-32.
- Balasa, B., Yun, R., Belmar, N. A., Fox, M., Chao, D. T., Robbins, M. D. and Rice, A. G. (2015). Elotuzumab enhances natural killer cell activation and myeloma cell killing through interleukin-2 and TNF- $\alpha$  pathways. *Cancer immunology, immunotherapy*, 64(1), 61-73.
- Bannasch P.(2012):"Glycogenotic hepatocellular carcinoma with glycogen-ground-glass hepatocytes: A heuristically highly relevant phenotype". *World J Gastroenterol*. 18(46): 6701-6708.
- Bancroft, J. D., and Stevens, A. (2010). Theory and practice of histological techniques 2nd ed. Churchill Livingstone. XIV+ 647. *Am. Fam. Physician*, 54(3), 986-992.
- Bartosikova, L., Nečas, J., Suchý, V., Kubinova, R., Vesela, D., Beneš, L., ... & Dzurova, J. (2003). Antioxidative effects of morine in ischemia-reperfusion of kidneys in the laboratory rat. *Acta Veterinaria Brno*, 72(1), 87-94.
- Bashardoust, B.; Gavami, M. and Maleki, N. (2015). Mortality and Nutritional Status in Patients Undergoing Hemodialysis. *Shiraz E- Med J*. 16(2): 22-33.
- Basu, A. K. and Nohmi, T.(2018). Chemically-Induced DNA Damage, Mutagenesis, and Cancer. *Int. J. Mol. Sci*. 2:(19)1767-1778.
- Basu, A. K.(2018). DNA Damage, Mutagenesis and Cancer. *Int. J. Mol. Sci*.4(19): 970-982.

- Bishop, M. L.; Edward P. Fody, E.P. and Schoeff, L. E.(2013). Clinical Chemistry: Principles, Techniques, and Correlations. 7th ed., *North American*, P:784.
- Bohlius, J., Schmidlin, K., Brillant, C., Schwarzer, G.,Trelle, S., Seidenfeld, J.etl.(2009). Recombinant human erythropoiesis-stimulating agents and mortality in patients with cancer: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet*. 373:1532–42.
- Bozkaya Y, Erdem GU, Demirci NS, Yazici O, Ozdemir NY, Kostek O & Zengin N. (2019): Prognostic importance of albumin to globulin ratio in metastatic gastric cancer patients. *Curr Med Res Opin*, 35(2): 275-282.
- Brandenburg, V., & Ketteler, M. (2022). Vitamin D and Secondary Hyperparathyroidism in Chronic Kidney Disease: A Critical Appraisal of the Past, Present, and the Future. *Nutrients*, 14(15), 3009.
- Budhu, A. and Wang, X. W. (2006). The role of cytokines in hepatocellular carcinoma. *Journal of leukocyte biology*, 80(6), 1197-1213.
- Burtis C.A., Ashwood E.R., ed. (1994). Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1466-8.
- Cai, R., Hao, Y., Liu, Y. Y., Huang, L., Yao, Y., & Zhou, M. S. (2020). Tumor necrosis factor alpha deficiency improves endothelial function and cardiovascular injury in deoxycorticosterone acetate/salt-hypertensive mice. *BioMed Research International*, 1:1-10 .
- Cappellini, M. D., Lo, S. F., & Swinkels, D. W. (2017). 38–Hemoglobin, iron, bilirubin. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics.

- Cermak, R. (2008). Effect of dietary flavonoids on pathways involved in drug metabolism. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 4(1), 17-35.
- Chamanza, R., Naylor, S. W., Carreira, V., Amuzie, C., Ma, J. Y., Bradley, A. E., ... & Loudon, C. (2019). Normal anatomy, histology, and spontaneous pathology of the kidney, and selected renal biomarker reference ranges in the cynomolgus monkey. *Toxicologic pathology*, 47(5), 612-633.
- Chandrakar, V., Dubey, A. and Keshavkant, S., (2016). Modulation of antioxidant enzymes by salicylic acid in arsenic exposed Glycine max L. *Journal of soil science and plant nutrition*, 16(3), :662-676.
- Chang W., He W., Li P.P., Song S.S., Yuan P.F., Lu J.T. and Wei W. 2016. Protective effects of Celastrol on diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in rats and its mechanisms. *European Journal of Pharmacology*. 173-180.
- Chemistry, 178, 687–704. Zhu, S., Wei, X., Yang, X., Huang, Z., Chang, Z., Xie, F., ... & Wang, Q. (2019). Plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 and superoxide dismutase are independent predictors of cognitive impairment in cerebral small vessel disease patients: diagnosis and assessment. *Aging and disease*, 10(4), 834.
- Chen Q, Chen X, Fu Z, Bais S and Hou X (2019) Anti-amnesic effect of *Leea indica* extract in scopolamine-induced amnesia of Alzheimer's type in rats. *International Journal of Pharmacology* 15, 116-123.
- Chen SJ, Lian GD, Li JJ, Zhang QB, Zeng LJ, Yang KG, et al. (2018). Tumor-driven like macrophages induced by conditioned media from pancreatic ductal

- adenocarcinoma promote tumor metastasis via secreting IL-8. *Cancer Med*, 7, 5679–5690. [PubMed: 30311406]
- Chen, L. N.; Sun, Q.; Liu, S. Q.; Hu, H.; Lv, J.; Ji, W. J.; Wang, M.; Chen, M. X. and Zhou, J. (2015). Erythropoietin improves glucose metabolism and pancreatic  $\beta$ -cell damage in experimental diabetic rats. *Mol. Med. Rep.*,12(4): 5391–5398.
- Cheng Y, Ma XL, Wei YQ, Wei XW (2019). Potential roles and targeted therapy of the CXCLs/ CXCR2 axis in cancer and inflammatory diseases. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 1871, 289– 312. [PubMed: 30703432]
- Cicero, A. F., Fogacci, F., Cincione, R. I., Tocci, G., & Borghi, C. (2021). Clinical effects of xanthine oxidase inhibitors in hyperuricemic patients. *Medical Principles and Practice*, 30(2), 122-130.
- Collins, J. F. (Ed.). (2016). Molecular, genetic, and nutritional aspects of major and trace minerals. Academic Press.
- Curtis, E., Hsu, L. L., Noguchi, A. C., Geary, L., and Shiva, S. (2012). Oxygen regulates tissue nitrite metabolism. *Antioxidants and Redox Signaling*, 17(7), 951–961.
- da Cruz, N.S.; Pasquarelli-do-Nascimento, G.; Oliveira, A.C.P.; Magalhães, K.G.(2022)Inflammasome-Mediated Cytokines: A Key Connection between Obesity-Associated NASH and LiverCancer Progression. *Biomedicines*, 10, 2344.
- Dalu, D., Duggirala, S., & Akarapu, S. (2014). Anti-hyperglycemic and hypolipidemic activity of *Leea indica*. *Int. J. Bioassays*, 3(07), 3155-3159.

- Daryaganj,A.R.2019., Alternative Therapy Health Series Herbal Cure .V&Sublshers. *Bejional Office Hyderabad, India.*
- De, A. K., and De, M. (2019). Functional and Therapeutic Applications of Some Important Spices. In *The Role of Functional Food Security in Global Health* (pp. 499–510). *Elsevier.*
- Deepa, M. R., Udayan, P. S., and Anilkumar, K. A. (2017). Taxonomical and phytosociological studies on Chithalikavu-A sacred grove, Thrissur district, Kerala. *Tropical Plant Research*, 4(1), 20-30.
- Deng, Y. (2020). Effects of Heme Propionates on Structural and Redox Properties of C-type Cytochromes (Doctoral dissertation, Dartmouth College).
- Díaz, L., Díaz-Muñoz, M., García-Gaytán, A. C., & Méndez, I. (2015). Mechanistic effects of calcitriol in cancer biology. *Nutrients*, 7(6), 5020-5050.
- Ding, W.X., Yin, X.M., (2004). Dissection of the multiple mechanisms of TNF-alpha- induced apoptosis in liver injury. *J. Cell Mol. Med.* 8, 445–454.
- Ding, Y. F., Wu, Z. H., Wei, Y. J., Shu, L., & Peng, Y. R. (2017). Hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis in the rat hepatocellular carcinoma induced by diethylnitrosamine. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 143(5), 821-834.
- Diplock, Anthony T. "Will the 'good fairies' please prove to us that vitamin E
- Duan, T., Yang, X., Kuang, J., Sun, W., Li, J., Ge, J., ... & Zhu, X. (2023). ULK1 Depletion Protects Mice from Diethylnitrosamine-Induced Hepatocarcinogenesis by Promoting Apoptosis and Inhibiting Autophagy. *Journal of Hepatocellular Carcinoma*, 315-325.



- Dusso, A. S., & Tokumoto, M. (2011). Defective renal maintenance of the vitamin D endocrine system impairs vitamin D renoprotection: a downward spiral in kidney disease. *Kidney international*, 79(7), 715-729.
- Eitah, H. E., Attia, H. N., Soliman, A. A., El Din, A. A. G., Mahmoud, K., Sayed, R. H., ... & El-Sahar, A. E. (2023). Vitamin D ameliorates diethylnitrosamine-induced liver preneoplasia: A pivotal role of CYP3A4/CYP2E1 via DPP-4 enzyme inhibition. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 458, 116324.
- El-Desouky, M. A., & Mahmoud, M. H. (2019). Nephroprotective effect of green tea, rosmarinic acid and rosemary on N-diethylnitrosamine initiated and ferric nitrilotriacetate promoted acute renal toxicity in Wistar rats. *Interdisciplinary toxicology*, 12(2), 98.
- EL-Hassanin, M.F.A. (2021). The antioxidant effect of Jumbolan ethanolic extract seeds against carbon tetra chloride induced kidney toxicity in experimental rats. *Home Econ. J* , 37.1: 103- 122.
- El-Nabarawy, N. A., Gouda, A. S., Khattab, M. A., and Rashed, L. A. (2020). Effects of nitrite graded doses on hepatotoxicity and nephrotoxicity, histopathological alterations, and activation of apoptosis in adult rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-14
- Emran, T. B., Rahman, M. A., Hosen, S. M., Khanam, U. H., & Saha, D. (2012). Antioxidant, cytotoxic and phytochemical properties of the ethanol extract of *Leea indica* leaf. *J. Pharm. Res*, 5(5), 2938-2941.
- Emre, K. A. Y. A., Yilmaz, S., ÇERİBAŞI, A. O., & Selda, T. E. L. O. (2018). Protective effect of lycopene on diethylnitrosamine-induced oxidative stress and catalase expression in rats. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 66(1), 43-52.

- Engvall, E., & Perlmann, P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Protides of the Biological Fluids*, 553–556.
- Engwa, G. A., Nweke, F. N., & Nkeh-Chungag, B. N. (2022). Free Radicals, Oxidative Stress-Related Diseases and Antioxidant Supplementation. *Alternative Therapies in Health & Medicine*, 28(1).
- Esa NM, Kadir KK, Amom Z, Azlan A. Antioxidant activity of white rice, brown rice and germinated brown rice (in vivo and in vitro) and the effects on lipid peroxidation and liver enzymes in hyperlipidaemic rabbits. *Food chemistry*. 2013 Nov 15;141(2):1306-12.
- Farag, F. S. A. A., Anwar, H. M., Aboushousha, T., Mohammed, H. S., & Ismail, L. D. M. (2023). Ameliorative Effects of *Thunbergia erecta* L. Leaves Against the Initiation of Hepatocarcinogenesis Induced by Diethylnitrosamine in the Rat Model. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1-22.
- Farhan, M. N., Al-Fartusie, F. S., Hamed, S. L., & Al-Fartusie, F. S. (2020). Evaluation of lipid profile and liver function in acute pancreatitis patients: a case control study. *Annals of Tropical Medicine and Public Health*, 23, 231-826.
- Filipski, E., & Lévi, F. (2009). Circadian disruption in experimental cancer processes. *Integrative Cancer Therapies*, 8(4), 298-302.
- Filipski, E., Subramanian, P., Carriere, J., Guettier, C., Barbason, H., & Levi, F. (2009). Circadian disruption accelerates liver carcinogenesis in mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 680(1-2), 95-105.

- Filiz , T.; Berkan, G . and Aylin ,T. (2005) Relationship between serum bilirubin and coagulation test results in 1-month-old infants. *The Indian J. Pediatr.* 72(3):205-207.
- Fortunato, J. J., Feier, G., Vitali, A. M., Petronilho, F. C., Dal-Pizzol, F. and Quevedo, J. (2006). Malathion-induced oxidative stress in rat brain regions. *Neurochemical research*, 31(5), 671-678.
- Fujii, Y., Segawa, R., Kimura, M., Wang, L., Ishii, Y., Yamamoto, R., ... & Shibutani, M. (2013). Inhibitory effect of  $\alpha$ -lipoic acid on thioacetamide-induced tumor promotion through suppression of inflammatory cell responses in a two-stage hepatocarcinogenesis model in rats. *Chemico-biological interactions*, 205(2), 108-118.
- Gelfo, V., Romaniello, D., Mazzeschi, M., Sgarzi, M., Grilli, G., Morselli, A., ... & Lauriola, M. (2020). Roles of IL-1 in cancer: from tumor progression to resistance to targeted therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6009.
- Ghagane, S. C., Puranik, S. I., Kumbar, V. M., Nerli, R. B., Jalalpure, S. S., Hiremath, M. B., and Aladakatti,R., (2017). In vitro antioxidant and anticancer activity of *Leea indica* leaf extracts on human prostate cancer cell lines. *Integrative medicine research*, 6(1), 79-87.
- Giri, S. R., Bhoi, B., Trivedi, C., Rath, A., Rathod, R., Sharma, A., ... & Jain, M. R. (2023). Saroglitzar suppresses the hepatocellular carcinoma induced by intraperitoneal injection of diethylnitrosamine in C57BL/6 mice fed on choline deficient, l-amino acid-defined, high-fat diet. *BMC cancer*, 23(1), 1-13.

- Gloria , L. & David , B. (2011) . Understanding the mechanism of IL-1 $\beta$  secretion. Elsev. . 22 : 189-195.
- Gounden, V., Bhatt, H., and Jialal, I. (2021). Renal function tests: StatPearls.
- Groten, J. P., Feron, V. J., & Sühnel, J. (2001). Toxicology of simple and complex mixtures. *Trends in pharmacological sciences*, 22(6), 316-322.
- Grund, H.; Nilsen, D. W.; Mansoon, M. A. and Nordog, A.(2003). Increased lipid peroxidation during long term intervention with high doses of n-3 fatty acids (PUFAs)following an acute myocardial infarction. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 57(6): 793-800 .
- Guobin, H. and Michael, K. (2011). NF- $\kappa$ B and STAT3 – key players in liver inflammation and cancer. *J., Cell Research* 21:159- 168.
- Ha, H., Debnath, B.& Neamati ,N. (2017). Role of the CXCL8-CXCR1/2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases. *Theranostics*. 7;7(6):1543-1588.
- Hahn, K., Kanbay, M., Lanaspá, M. A., Johnson, R. J., & Ejaz, A. A. (2017). Serum uric acid and acute kidney injury: a mini review. *Journal of advanced research*, 8(5), 529-536.
- Hallbach,J.;Hoffman,G.E.,and Guder,W.G.(1991) .Over estimation of albumin heparinized plasma.*Clin.Chem.*22(5):616-622.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Hao, M., & Liu, R. (2019). Molecular mechanism of CAT and SOD activity change under MPA-CdTe quantum dots induced oxidative stress in the mouse primary hepatocytes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 220, 117104.

- Harun, A., Ab Rahim, N. E. A., Abd Jalil, M. A., Rosdi, A. M., Daud, S., Harith, S. S., ... & Hassan, N. M. (2016). Comparative study of antioxidant and antimicrobial activity of root, stem and leaves of *Leea indica* species. *Malaysian Journal of Science*, 35(2), 259-274
- Hasan, K. M. M., Tamanna, N., & Haque, M. A. (2018). Biochemical and histopathological profiling of Wistar rat treated with *Brassica napus* as a supplementary feed. *Food science and human wellness*, 7(1), 77-82.
- Hasanuzzaman M., Bhuyan B., Zulfiqar F., Raza A., Mohsin S. M., Al Mahmud J., Fujita M. and Fotopoulos V. (2020). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator . *Antioxidants*, 9(681):1-52.
- Hashoosh, S. I. (2020). Association of Biochemical Markers and Adiponectin gene polymorphism with the incidence of Polycystic Ovarian Syndrome in Iraqi Obese women By. Ph.D. Thesis, College of Biotechnology, University of Al Nahrain, Baghdad, Iraq.
- Hernandez, M; Lopez, R; Abanas, R.M.;V and Arias, A.(1994) .Antimicrobial activity of *visnea mocanera* leaf extracts .j. *Ethno pharmacology* ,41 ;115-119.
- Hettihewa, S. K., & Indunika, T. L. (2021). Development of a novel herbal balm with *Leea indica* (Burm. f.) Merr (Burulla) leaf extract and in vitro evaluation of anti-inflammatory and radical scavenging activities. *Asian Journal of Pharmacognosy*, 4(3), 22-29.
- Hossain F., Mostofa Md. G. and Alam AHM K. (2021) . Traditional uses and pharmacological activities of the genus *Leea* and its phytochemicals: A review . *Heliyon* , 7 : 1-12.

- Huang, R., Zhang, X., Gracia Sancho, J., & Xie, W. F. (2022). Liver regeneration: cellular origin and molecular mechanisms. *Liver Int*, 00 : 1- 10 .
- Huang, X., Xu, M., Chen, Y., Peng, K., Huang, Y., Wang, P., Ding, L., Lin, L., Xu, Y., Chen, Y., Lu, J., Wang, W., Bi, Y.& Ning G.(2015). Validation of the Fatty Liver Index for Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Middle-Aged and Elderly Chinese. *Medicine (Baltimore)*. 94(40):1682.
- Huybers, S.; Naber, T.H.; Bindels, R.J.; and Hoenderop, J.G. (2007). Prednisolone-induced Ca<sup>2+</sup> malabsorption is caused by diminished expression of the epithelial Ca<sup>2+</sup> channel TRPV6. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 292(1); G92-G97
- Ibrahim, H. (2020). Morphological variations and measurements of the caudate lobe of the human liver: a cadaveric study. *The Medical Journal of Cairo University*, 88(March), 155-160.
- Ibrahim, S., Fahim, S. A., Tadros, S. A., & Badary, O. A. (2022). Suppressive effects of thymoquinone on the initiation stage of diethylnitrosamine hepatocarcinogenesis in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 36(8), e23078.
- Ifeanyi, O. E. (2015). A review on erythropoietin. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.*, 2(4), 35-47.
- Irazoqui, A. P., Gonzalez, A., & Buitrago, C. (2022). Effects of calcitriol on the cell cycle of rhabdomyosarcoma cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 222, 106146.
- Jang, D. I., Lee, A. H., Shin, H. Y., Song, H. R., Park, J. H., Kang, T. B., ... & Yang, S. H. (2021). The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) in autoimmune

- disease and current TNF- $\alpha$  inhibitors in therapeutics. *International journal of molecular sciences*, 22(5), 2719.
- Jelic, M. D., Mandic, A. D., Maricic, S. M., & Srdjenovic, B. U. (2021). Oxidative stress and its role in cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 17(1), 22.
- Jelkmann, W. (2013). Physiology and pharmacology of erythropoietin. *Transfus. Med. and Hemother.*, 40(5), 302-309.
- Kageyama, S.; Nakamura, K.; Fujii, T.; Ke, B.; Sosa, R.A.; Reed, E.F.; and Kupiec-Weglinski, J. (2018). Recombinant relaxin protects liver transplants from ischemia damage by hepatocyte glucocorticoid receptor: From bench to bedside. *Hepatology*.
- Kahkeshani, N., Farzaei, F., Fotouhi, M., Alavi, S. S., Bahramsoltani, R., Naseri, R., ... & Bishayee, A. (2019). Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 22(3), 225.
- Kant, R., Gupta, S., Kumra, T., Rana, R., & Ganguly, N. K. (2023). Role of Renin Angiotensin-Aldosterone System in Kidney Homeostasis. In *The Renin Angiotensin System in Cancer, Lung, Liver and Infectious Diseases* (pp. 245-259). Cham: Springer *International Publishing*.
- Khan MS., Halagowder D.,and Devaraj SN. (2011):" Methylated chrysin, a dimethoxy flavone, partially suppresses the development of liver preneoplastic lesions induced by N-Nitrosodiethylamine in rats". *Food Chem Toxicol.* 49: 173-178.

- Khan RA, Khan MR, Sahreen S, Ahmed M. (2012). Evaluation of phenolic contents and antioxidant activity of various solvent extracts of *Sonchus asper* (L.) Hill. *Chemistry Central Journal*, 6:12.
- Khan, R., Nai, Q., Zhang, P., Luo, H., Sen, S., Sidhom, I., ... & Yousif, A. (2016). Increased erythropoietin levels as a biomarker of pancreatic adenocarcinoma: A case report. *Molecular and Clinical Oncology*, 4(1), 134-136.
- Khuniad C. , Nahar L., Ritchie K. J. and Sarker S. D.(2022). Therapeutic Potential of *Leea indica* (Vitaceae). *Journal of Natural Products Discovery*.1(1):1-20.
- Kim, N.-H.; Heo, J.-D.; Kim, T.B.; Rho, J.-R.; Yang, M.H.; Jeong, E.J. Protective Effects of Ethyl Acetate Soluble Fraction of *Limonium tetragonum* on Diethylnitrosamine-Induced Liver Fibrosis in Rats. *Boil. Pharm. Bull.* 2016, 39, 1022–1028.
- Kotb, E. S., Serag, W. M., Elshaarawy, R. F., Hafez, H. S., & Elkhayat, Z. (2021). The protective role of Gallic acid in Cisplatin nephrotoxicity. *Frontiers in Scientific Research and Technology*, 2(1), 48-52.
- Kragh-Hansen, U. (2016). Human Serum Albumin: A Multifunctional Protein. In M. Otagiri & V. T. G. Chuang (Eds.), *Albumin in Medicine: Pathological and Clinical Applications* (pp. 1-24). Singapore: Springer Singapore
- Kramer, H. (2019). Diet and chronic kidney disease. *Advances in Nutrition*, 10(Supplement\_4), S367-S379.
- Kricka, L.J. (1999). Human anti-animal antibody interferences immunological assays. *Clin. Chem.*, 45:942-965.



- Laaroussi, H., Bakour, M., Ousaaid, D., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., El Ghouizi, A., ... & Lyoussi, B. (2021). Protective effect of honey and propolis against gentamicin-induced oxidative stress and hepatorenal damages. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1(1): 1-19.
- Lake, B. B., Chen, S., Hoshi, M., Plongthongkum, N., Salamon, D., Knoten, A., ... & Jain, S. (2019). A single-nucleus RNA-sequencing pipeline to decipher the molecular anatomy and pathophysiology of human kidneys. *Nature communications*, 10(1), 1-15.
- Lee, K. J., Moon, J. S., Kim, N. Y., & Ko, J. S. (2022). Effects of PNPLA3, TM6SF2 and SAMM50 on the development and severity of non-alcoholic fatty liver disease in children. *Pediatric Obesity*, 17(2), e12852.
- lessens human degenerative disease?" *Free radical research* 27.5 (1997) 511-532.
- Li, J., Wang, Y., Li, J., Cao, S., & Che, G. (2022). Meta-analysis of lobectomy and sublobar resection for stage i non-small cell lung cancer with spread through air spaces. *Clinical Lung Cancer*, 23(3), 208-213.
- Li, M., Lu, Y., Li, Y., Tong, L., Gu, X. C., Meng, J., ... & Tong, X. (2019). Transketolase deficiency protects the liver from DNA damage by increasing levels of ribose 5-phosphate and nucleotides. *Cancer research*, 79(14), 3689-3701.
- Lok, A. F. S. L., Ang, W. F., Ng, B. Y. Q., Suen, S. M., Yeo, C. K., & Tan, H. T. (2011). *Leea L.*(Vitaceae) of Singapore. *Nature in Singapore*, 4, 55-71.
- Loosen, S. H., Kostev, K., Keitel, V., Tacke, F., Roderburg, C., & Luedde, T. (2022). An elevated FIB-4 score predicts liver cancer development: A

- longitudinal analysis from 29,999 patients with NAFLD. *Journal of Hepatology*, 76(1), 247-248.
- Luna-Guevara ML, Luna-Guevara JJ, Hernández-Carranza P, Ruíz-Espinosa H and Ochoa-Velasco CE (2018). Phenolic compounds: A good choice against chronic degenerative diseases. In: Atta ur, R. (ed.) *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier, pp. 79-108.
- Ma, L., Hu, L., Feng, X., and Wang, S. (2018). Nitrate and nitrite in health and disease. *Aging and Disease*, 9(5), 938.
- Machairas, N., Tsilimigras, D. I., & Pawlik, T. M. (2022). Current landscape of immune checkpoint inhibitor therapy for hepatocellular carcinoma. *Cancers*, 14(8), 2018.
- Mahalakshmi, K., & Veerakumari, L.(2020). Toxicological Screening Of *Andrographis paniculata* Leaf Extract (APLE) On Single And Repeated Dose Toxicity Study. *The International journal of analytical and experimental modal analysis*, 7(1) : 1-11.
- Mair RD, Sirich TL, Meyer TW.2018. Uremic Toxin Clearance and Cardiovascular Toxicities. *Toxins (Basel)*. Jun 02;10(6).
- Malkova, A. M., Gubal, A. R., Petrova, A. L., Voronov, E., Apte, R. N., Semenov, K. N., & Sharoyko, V. V. (2023). Pathogenetic role and clinical significance of interleukin-1 $\beta$  in cancer. *Immunology*, 168(2), 203-216.
- Mantovani, A., Dinarello, C. A., Molgora, M., & Garlanda, C. (2019). IL-1 and related cytokines in innate and adaptive immunity in health and disease. *Immunity*, 50(4), 778.
- Maranduca, M. A., Clim, A., Pinzariu, A. C., Statescu, C., Sascau, R. A., Tanase, D. M., ... & Serban, I. L. (2023). Role of arterial hypertension and angiotensin II

- in chronic kidney disease. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 25(4), 1-5.
- Martini, D., Del Bo, C., Tassotti, M., Riso, P., Del Rio, D., Brighenti, F., & Porrini, M. (2016). Coffee consumption and oxidative stress: a review of human intervention studies. *Molecules*, 21(8), 979.
- Mas-Bargues, C., Escrivá, C., Dromant, M., Borrás, C., & Viña, J. (2021). Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 709, 108941.
- Mehany, A. B., Farrag, I. M., Diab, M., Ghoneim, M. M., El-Sherbiny, M., Al-Serwi, R. H., ... & Abdelhady, A. A. (2023). Curcumin and vitamin C improve immunity of kidney via gene expression against diethyl nitrosamine induced nephrotoxicity in rats: In vivo and molecular docking studies. *Heliyon*, 9(3).
- Mehmood, A., Ishaq, M., Zhao, L., Safdar, B., Rehman, A. U., Munir, M., ... & Wang, C. (2019). Natural compounds with xanthine oxidase inhibitory activity: A review. *Chemical biology & drug design*, 93(4), 387-418.
- Méndez-Sánchez, N, Qi, X, Vitek, L, Arrese, M. (2019). Evaluating an outpatient with an elevated bilirubin. *Am J Gastroenterol*. 114:1185–8.
- Mercogliano, M. F., Bruni, S., Mauro, F., Elizalde, P. V., & Schillaci, R. (2021). Harnessing tumor necrosis factor alpha to achieve effective cancer immunotherapy. *Cancers*, 13(3), 564.
- Mihaljevic, B., Katusin-Razem, B., and Razem, D. *Free Radic. Biol. Med.* 21, 53-63 (1996).

- Mikhed ,Y. ; Daiber ,A. and Steven S.(2015). Mitochondrial oxidative stress, mitochondrial DNA damage and their role in age-related vascular dysfunction. *Int. J. Mol. Sci.* , 16:15918-15953. Mikhed ,Y. ; Daiber ,A. and Steven S.(2015). Mitochondrial oxidative stress, mitochondrial DNA damage and their role in age-related vascular dysfunction. *Int. J. Mol. Sci.* , 16:15918-15953.
- Mishra G, Khosa R, Singh P and Jha K (2014). Hepatoprotective activity of ethanolic extract of *Leea indica* (Burm.f.) Merr. (Leeaceae) stem bark against paracetamol induced liver toxicity in rats. *Nigerian Journal of Experimental and Clinical Biosciences* 2, 59-63.
- Mittal, G., Brar, A. P. S., and Soni, G. (2006). Impact of hypercholesterolemia on toxicity of N-nitrosodiethylamine: biochemical and histopathological effects. *Pharmacological Reports*, 58(3), 413.
- Mocini, D., Leone ,T., Tubaro, M., Santini, M. and Penco, M. (2007). Structure, Production And Function Of Erythropoietin: Implications For Therapeutical Use In Cardiovascular Disease. *Current Medicinal Chemistry*. 14:2278–87.
- Mohamed, H., Al-Ghareeb, M., & Abd-Allah, R. (2022). Pharmacological Evaluation of Novel 1, 2, 4-triazine Derivatives Containing Thiazole Ring against Hepatocellular Carcinoma. *Current Bioactive Compounds*, 18(2), 12-25.
- Molaei, E., Molaei, A., Abedi, F., Hayes, A. W., & Karimi, G. (2021). Nephroprotective activity of natural products against chemical toxicants: The role of Nrf2/ARE signaling pathway. *Food Science & Nutrition*, 9(6), 3362-338.

- Mo'men, Y. S., Hussein, R. M., & Kandeil, M. A. (2020). A novel chemoprotective effect of tiopronin against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in rats: role of ASK1/P38 MAPK-P53 signalling cascade. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 47(2), 322-332.
- Morris, V. K., Overman, M. J., Lam, M., Parseghian, C. M., Johnson, B., Dasari, A., ... & Kopetz, S. (2022). Bintrafusp Alfa, an Anti-PD-L1: TGF $\beta$  Trap Fusion Protein, in Patients with ctDNA-positive, Liver-limited Metastatic Colorectal Cancer. *Cancer research communications*, 2(9), 979-986.
- Mortaz, E., Tabarsi, P., Jamaati, H., Dalil Roofchayee, N., Dezfuli, N. K., Hashemian, S. M., ... & Adcock, I. M. (2021). Increased serum levels of soluble TNF- $\alpha$  receptor is associated with I Umortality in COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*, 12:1- 8 .
- Mteyrek, A., Filipski, E., Guettier, C., Okyar, A., & Lévi, F. (2016). Clock gene Per2 as a controller of liver carcinogenesis. *Oncotarget*, 7(52), 85832.
- Nakajima, K., Yuno, M., Tanaka, K., & Nakamura, T. (2022). High Aspartate Aminotransferase/Alanine Aminotransferase Ratio May Be Associated with All-Cause Mortality in the Elderly: A Retrospective Cohort Study Using Artificial Intelligence and Conventional Analysis. *In Healthcare*, 10( 4) :. 674.
- Ndrepepa, G. (2021). Aspartate aminotransferase and cardiovascular disease—a narrative review. *J. Lab. Precis. Med*, 6(6).
- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., and Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European Journal of Medicinal*

- Nehru, A., Shah, Y., Sharma, J., Shah, Y., Thummar, P., Verma, P., & Shah, M. A(2020) COMPREHENSIVE REVIEW ON THE GENUS LEEA (FAMILY LEEACEAE) WITH SPECIAL EMPHASIS ON THE INDIAN SPECIES.
- Nezhat, C.; Falik, R.; McKinney, S.; and King, L.P. (2017) . Pathophysiology and management of urinary tract endometriosis. *Nature Reviews Urology*, 14(6), 359.
- Nguyen Dinh Cat, A., Briones, A. M., Callera, G. E., Yogi, A., He, Y., Montezano, A. C., and Touyz, R. M. (2011). Adipocyte-derived factors regulate vascular smooth muscle cells through mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *Hypertension*, 58(3), 479-488.
- Niki, E. (2014). Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(2), 809-817.
- Nogueiras, R., & Aspichueta, P. (2023). Expanding the roles of the renin-angiotensin system: drug-induced liver injury. *Journal of Hepatology*, 78(3), 457-459.
- Norwood, D. L., Mullis, J. O., Feinberg, T. N., & Davis, L. K. (2009). N-nitrosamines as “special case” leachables in a metered dose inhaler drug product. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 63(4), 307-321
- Nota, T., Kageyama, K., Yamamoto, A., Kakehashi, A., Yonezawa, H., Jogo, A., ... & Miki, Y. (2023). Safety and Feasibility of Contrast-Enhanced Computed Tomography with a Nanoparticle Contrast Agent for Evaluation of Diethylnitrosamine-Induced Liver Tumors in a Rat Model. *Academic Radiology*, 30(1), 30-39.

- Nurhanan MY, Asiah O, Ilham MAM, Syarifah MMS, Norhayati I and Sahira HL (2008). Anti-proliferative activities of 32 Malaysian plant species in breast cancer cell lines. *Journal of Tropical Forest Science* 20, 77-81.
- Oliveira, M. M., Teixeira, J. C., Vasconcelos-Nóbrega, C., Felix, L. M., Sardão, V. A., Colaço, A. A., ... & Peixoto, F. P. (2013). Mitochondrial and liver oxidative stress alterations induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine: relevance for hepatotoxicity. *Journal of Applied Toxicology*, 33(6), 434-443.
- Omran, K. A., Mahmoud, Y. I., Mahmoud, A. A., & Fares, N. H. (2022). Possible ameliorating effect of isoquercetin on diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in albino mice. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1), 264-279.
- Ostrand-Rosenberg S, Fenselau C (2018). Myeloid-Derived Suppressor Cells: Immune-Suppressive Cells That Impair Antitumor Immunity and Are Sculpted by Their Environment. *J Immunol*, 200, 422–431. [PubMed: 29311384]
- Owumi, S. E., Aliyu-Banjo, N. O., & Danso, O. F. (2019). Fluoride and diethylnitrosamine coexposure enhances oxido-inflammatory responses and caspase-3 activation in liver and kidney of adult rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 33(7), e22327.
- Ozbek, E. (2012). Induction of oxidative stress in kidney. *International journal of nephrology*, 1:1-10 .
- Özbek, O., Berkel, C., Isildak, Ö., & Isildak, I. (2022). Potentiometric urea biosensors. *Clinica Chimica Acta*, 524, 154-163.

- Ozgun, Y., Akin, S., Yilmaz, N. G., G c n, M., & Keskin, Ö. (2021). Uric acid albumin ratio as a predictive marker of short-term mortality in patients with acute kidney injury. *Clinical and Experimental Emergency Medicine*, 8(2), 82.
- Pachauri, N., Lakshmi, G. B. V. S., Sri, S., Gupta, P. K., & Solanki, P. R. (2020). Silver molybdate nanoparticles based immunosensor for the non-invasive detection of Interleukin-8 biomarker. *Materials Science and Engineering: C*, 113, 110911.
- Pariollaud, M., & Lamia, K. A. (2020). Cancer in the Fourth Dimension: What Is the Impact of Circadian Disruption? Circadian Disruption in Cancer Etiology. *Cancer discovery*, 10(10), 1455-1464.
- Park , J. E. , Seo, J. E., Lee, J. Y., & Kwon, H. (2015). Distribution of seven N-nitrosamines in food. *Toxicological research*, 31(3), 279-288.
- Park, C. M., Cha, Y. S., Youn, H. J., Cho, C. W., & Song, Y. S. (2010). Amelioration of oxidative stress by dandelion extract through CYP2E1 suppression against acute liver injury induced by carbon tetrachloride in sprague-dawley rats. *Phytotherapy Research*, 24(9), 1347-1353.
- Park, D. H., Shin, J. W., Park, S. K., Seo, J. N., Li, L., Jang, J. J., & Lee, M. J. (2009). Diethylnitrosamine (DEN) induces irreversible hepatocellular carcinogenesis through overexpression of G1/S-phase regulatory proteins in rat. *Toxicology letters*, 191(2-3), 321-326.
- Park, H. M., Lee, J. H., & Lee, Y. J. (2020). Positive association of serum alkaline phosphatase level with severe knee osteoarthritis: A nationwide population-based study. *Diagnostics*, 10(12), 1016.



- Park, J., Shrestha, R., Qiu, C., Kondo, A., Huang, S., Werth, M., ... & Suszták, K. (2018). Single-cell transcriptomics of the mouse kidney reveals potential cellular targets of kidney disease. *Science*, 360(6390), 758-763.
- Patsalos, O., Dalton, B., Leppanen, J., Ibrahim, M. A., & Himmerich, H. (2020). Impact of TNF- $\alpha$  inhibitors on body weight and bmi: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in pharmacology*, 11, 481.
- Perera, N. C. N., Godahewa, G. I., Lee, S., Kim, M. J., Hwang, J. Y., Kwon, M. G., et al. (2017). Manganese-superoxide dismutase (MnSOD), a role player in seahorse (*Hippocampus abdominalis*) antioxidant defense system and adaptive immune system. *Fish Shellfish Immunol.* 68, 435–442. doi: 10.1016/j.fsi.2017.07.049.
- Perumal, P., Arthanari, U., & Sanniyasi, E. (2023). Phlorizin isolated from seagrass *Syringodium isoetifolium* inhibits diethylnitrosamine and carbon tetrachloride-induced hepatocellular carcinoma in BALB/c mice. *South African Journal of Botany*, 155, 1-15.
- 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.
- Playford, R. J. and Weiser, M. J.(2021). Bovine Colostrum: Its Constituents and Uses. *Nutrients*. 13, 265.
- Poosa, M., & Vanapatla, S. R. (2020). Protective effect of *Antigonon leptopus* (Hook et. Arn) in cadmium induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Clinical Phytoscience*, 6(1) : 1-8.

- Priya, V. V., Jainu, M., & Mohan, S. K. (2018). Biochemical evidence for the antitumor potential of *Garcinia mangostana* Linn. On diethylnitrosamine-induced hepatic carcinoma. *Pharmacognosy magazine*, 14(54), 186.
- Punvittayagul, C., Chariyakornkul, A., Chewonarin, T., Jarukamjorn, K., & Wongpoomchai, R. (2019). Augmentation of diethylnitrosamine-induced early stages of rat hepatocarcinogenesis by 1, 2-dimethylhydrazine. *Drug and Chemical Toxicology*, 42(6), 641-648.
- Radi, Z. A. (2019). Kidney pathophysiology, toxicology, and drug-induced injury in drug development. *International journal of toxicology*, 38(3), 215-227.
- Rağbetli, M. Ç., BİLİCİ, Z., ARIHAN, O., RAGBETLİ, C., & GEYLAN, H. (2023). Biochemical, hematological, peripheral smear and weight evaluation of low dose Epigallocatechin Gallate in Diethylnitrosamine administered rats. *Journal of Contemporary Medicine*, 13(2), 365-370.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., and Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International*, 2014.
- Raihan M.O., Tareq S.M., Brishti A., Alam M.K., Haque A., Ali M.S., (2012) . Evaluation of antitumor activity of *Leea indica* (Burm.f.) Merr. extract against Ehrlich Ascites Carcinoma (EAC) bearing mice, *Am. J. Biomed. Sci.* 4 (2) :143–152.
- Raish, M., Ahmad, A., Alkharfy, K. M., Ahamad, S. R., Mohsin, K., Al- Jenoobi, F. I. and Ansari, M. A. (2016). Hepatoprotective activity of *Lepidium sativum* seeds against D- galactosamine/lipopolysaccharide induced

- hepatotoxicity in animal model. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-11.
- Rajapaksha, I. (2022). Liver Fibrosis, Liver Cancer, and Advances in Therapeutic Approaches. *Livers*, 2(4), 372-386.
- Rajasekaran, M. (2019). Nephroprotective effect of *Costus pictus* extract against doxorubicin-induced toxicity on Wistar rat. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 14(2), 93-100.
- Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasiah, U., Gopas, J., and Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*, 436, 332–347.
- Reddy NS, Navanesan S, Sinniah SK, Wahab NA and Sim KS (2012). Phenolic content, antioxidant effect and cytotoxic activity of *Leea indica* leaves. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 12, article number: 128.
- Ribas, V., García-Ruiz, C., and Fernández-Checa, J. C. (2014) Glutathione and mitochondria. *Frontiers in Pharmacology*, 5, 151.
- Rodríguez, M. J., Herrera, F., Donoso, W., Castillo, I., Orrego, R., González, D. R., & Zúñiga-Hernández, J. (2020). Pro-resolving lipid mediator resolvin E1 mitigates the progress of diethylnitrosamine-induced liver fibrosis in sprague-dawley rats by attenuating fibrogenesis and restricting proliferation. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8827.
- Rolski, F., & Łyszczuk, . (2020). Complexity of TNF- $\alpha$  signaling in heart disease. *Journal of clinical medicine*, 9(10), 3267.
- Rosa, A. C., Bruni, N., Meineri, G., Corsi, D., Cavi, N., Gastaldi, D., & Dosio, F. (2021). Strategies to expand the therapeutic potential of superoxide

- dismutase by exploiting delivery approaches. *International Journal of Biological Macromolecules*, 168, 846- 865.
- Ryu, M. Y., Kim, C. Y., & Kim, J. W. (2003). Two new megastigmane glycosides from *Phyllanthus ussuriensis*. , 1912-1912.
- Saber S, Basuony M, Eldin AS (2019) Telmisartan ameliorates dextran sodium sulfate-induced colitis in rats by modulating NF-κB signalling in the context of PPARγ agonistic activity. *Arch Biochem Biophys* 671:185-195.
- Sahu, A. K., Bhoi, S., Raroth, S. E., Aggarwal, P., Mathew, R., & Sinha, T. P. (2022). FAST versus F-AST Score (FAST plus Aspartate Transaminase) in Pediatric Blunt Abdominal Trauma—a Case Series Analysis. *Indian Journal of Surgery*, 1-6.
- Saito, Y.; Tanaka, A.; Node, K.; Kobayashi, Y.2020. Uric acid and cardiovascular disease: A clinical review. *J. Cardiol.* [CrossRef]
- Sakib SA, Tareq AM, Islam A, Rakib A, Islam MN, Uddin MA, Rahman MM, Seidel V and Emran TB (2021). Anti-Inflammatory, thrombolytic and hair-growth promoting activity of the n-hexane fraction of the methanol extract of *Leea indica* leaves. *Plants* 10, article number: 1081.
- Sanduzzi-Zamparelli, M., Mariño, Z., Lens, S., Sapena, V., Iserte, G., Pla, A., ... & Reig, M. (2022). Liver cancer risk after HCV cure in patients with advanced liver disease without non-characterized nodules. *Journal of hepatology*, 76(4), 874-882.
- Santos, N. P., Colaco, A., da Costa, R. M. G., Oliveira, M. M., Peixoto, F., & Oliveira, P. A. (2014). N-diethylnitrosamine mouse hepatotoxicity: time-related

effects on histology and oxidative stress. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 66(9-10), 429-436.

Satou, R., Penrose, H., & Navar, L. G. (2018). Inflammation as a regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. *Current hypertension reports*, 20, 1-9.

Scanlon, V. C. and Sanders, T. (2018). *Essentials of anatomy and physiology*. FA Davis. F. A. Davis Company (5) United States of America,:379-380.

Schalper, K. A., Carleton, M., Zhou, M., Chen, T., Feng, Y., Huang, S. P., ... & Melero, I. (2020). Elevated serum interleukin-8 is associated with enhanced intratumor neutrophils and reduced clinical benefit of immune-checkpoint inhibitors. *Nature medicine*, 26(5), 688-692.

Schieber, M., and Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current biology*, 24(10): 453-462.

Schulien, I., Hockenjos, B., van Marck, V., Ayata, C. K., Follo, M., Thimme, R., & Hasselblatt, P. (2020). Extracellular ATP and Purinergic P2Y2 Receptor Signaling Promote Liver Tumorigenesis in Mice by Exacerbating DNA DamagePurinergic Receptor Signaling in HCC. *Cancer Research*, 80(4), 699-708.

Sekaran, S., Vimalraj, S., & Thangavelu, L. (2021). The Physiological and Pathological Role of Tissue Nonspecific Alkaline Phosphatase beyond Mineralization. *Biomolecules*, 11(11), 1564.

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

- purified from the Tunisian seaweed *Cystoseira barbata*. *Food and Chemical Toxicology*, 107, 620–629.
- Sen, S., De, B., Devanna, N., & Chakraborty, R. (2014). Hepatoprotective and antioxidant activity of *Leea asiatica* leaves against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *CELLMED*, 4(3), 18-1.
- Sergent, O., Morel, I. and Cillard, J. (2018). Involvement of metal ions in lipid peroxidation: biological implications. *Metal ions in biological systems*, 36, 251-262.
- Seriner, R., Dağlıoğlu, K., Coşkun, G., & Bilgin, R. (2022). Examination of the effect of curcumin in experimental liver damage created by diethylnitrosamine in Swiss albino mice to superoxide dismutase and catalase activities and glutathione, malondialdehyde, and advanced oxidation protein products levels. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 69(3), 1217-1225.
- Shah, A. K., Yadav, S., & Yeganehjoo, H. (2023). Implications of Renin-Angiotensin System in Health and Disease. In *The Renin Angiotensin System in Cancer, Lung, Liver and Infectious Diseases* (pp. 3-15). Cham: *Springer International Publishing*.
- Shoubridge, E. A. (2001). Cytochrome c oxidase deficiency. *American journal of medical genetics*, 106(1), 46-52.
- Siew, Y.-Y., Yew, H., Neo, S., Seow, V., Lew, S., Lim, S., Seetoh, W., Ali, A., Tan, C., Koh, H. (2019). Evaluation of anti-proliferative activity of medicinal plants used in Asian Traditional Medicine to treat cancer. *Journal of ethnopharmacology*.

- Singh, D., Singh, M., Yadav, E., Falls, N., Dangi, D. S., Kumar, V., ... & Verma, A. (2018). Attenuation of diethylnitrosamine (DEN)-Induced hepatic cancer in experimental model of Wistar rats by Carissa carandas embedded silver nanoparticles. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 757-765.
- Sobczuk, P., Szczylik, C., Porta, C., & Czarnecka, A. M. (2017). Renin angiotensin system deregulation as renal cancer risk factor. *Oncology Letters*, 14(5), 5059-5068.
- Song, J., Ding, W., Liu, B., Liu, D., Xia, Z., Zhang, L., ... & Feng, L. (2020). Anticancer effect of caudatin in diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats. *Molecular Medicine Reports*, 22(2), 697-706.
- Spss .(1999). Statistical packages social sciences , Verion 10 .USA
- Srinivasan, G. V., Sharanappa, P., Leela, N. K., Sadashiva, C. T., and Vijayan, K. K. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Leea indica* (Burm. f.) Merr. flowers.
- Srinivasan, G., Ranjith, C., & Vijayan, K. (2008). Identification of chemical compounds from the leaves of. *Acta Pharmaceutica*, 58(2), 207-214.
- Starkel, P., & Leclercq, I. A. (2011). Animal models for the study of hepatic fibrosis. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 25(2), 319-333.
- Sulistyaningsih E., Amaliaa T. Y., Kartikasaria R. (2017). Antioxidant and Antimalarial Activity of *Leea indica* leaf extract against Malaria-mice Model. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* , 7 (12):163-168.

- Sun, F., Wang, J., Sun, Q., Li, F., Gao, H., Xu, L., Zhang, J., Sun, X., Tian, Y., Zhao, Q., Shen, H., Zhang, K. & Liu, J. (2019). Interleukin-8 promotes integrin  $\beta 3$  upregulation and cell invasion through PI3K/Akt pathway in hepatocellular carcinoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 38(449).1-10.
- Suparmi, S., Fasitasari, M., Martosupono, M., and Mangimbulude, J. C. (2016). Comparisons of curative effects of chlorophyll from *Sauropus androgynus* (L) Merr leaf extract and Cu-chlorophyllin on sodium nitrate-induced oxidative stress in rats. *Journal of Toxicology*, 2016.
- Suresh S, Rajvanshi PK and Noguchi CT. (2020). The Many Facets of Erythropoietin Physiologic and Metabolic Response. *Front Physiol*, 10: 1-20.
- Swerdlow, R. H. (2018). Mitochondria and mitochondrial cascades in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62(3), 1403-1416.
- Tae M K, Tae J S, Kyoung M Y, Jin S K, and Dae J K. (2011): "The possibility of liver and lung carcinogenesis induced by diethylnitrosamine in newborn B6C3F1 mice". *Journal of Biomedical Research*. 12( 2) : 81-89.
- Tan, W., Luo, X., Li, W., Zhong, J., Cao, J., Zhu, S, ... & Chen, Y. (2019). TNF- $\alpha$  is a potential therapeutic target to overcome sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma. *EBio Medicine*, 40, 446-456.
- Tassi, S. ; Carta, S. ; Delfino, L. ; Caorsi, R. ; Martini, A. & Gattorno, M. (2010). Altered redox state of monocytes from cryopyrin-associated periodic syndromes causes accelerated IL-1 $\beta$  secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 107(21): 9789-94.



- Tawfik, N. G., Mohamed, W. R., Mahmoud, H. S., Alqarni, M. A., Naguib, I. A., Fahmy, A. M., & Ahmed, O. M. (2022). Isatin counteracts diethylnitrosamine/2-acetylaminofluorene-induced hepatocarcinogenesis in male Wistar rats by upregulating anti-inflammatory, antioxidant, and detoxification pathways. *Antioxidants*, 11(4), 699.
- Teskey, G., Abraham, R., Cao, R., Gyurjian, K., Islamoglu, H., Lucero, M., ... & Venketaraman, V. (2018). Glutathione as a marker for human disease. *Advances in clinical chemistry*, 87, 141-159.
- Tienda-Vázquez, M. A., Morreeuw, Z. P., Sosa-Hernández, J. E., Cardador-Martínez, A., Sabath, E., Melchor-Martínez, E. M., ... & Parra-Saldívar, R. (2022). Nephroprotective plants: a review on the use in pre-renal and post-renal diseases. *Plants*, 11(6), 818.
- Tietz, N. W. (2006). *Clinical Guide to Laboratory Test*. 4th ed., Saunders. pp.86-71.
- Tolba, R., Kraus, T., Liedtke, C., Schwarz, M., & Weiskirchen, R. (2015). Diethylnitrosamine (DEN)-induced carcinogenic liver injury in mice. *Laboratory animals*, 49(1\_suppl), 59-69.
- Toto, A., Wild, P., Graille, M., Turcu, V., Crézé, C., Hemmendinger, M., ... & Hopf, N. B. (2022). Urinary Malondialdehyde (MDA) Concentrations in the General Population—A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Toxics*, 10(4), 160.
- Tsai HM. 2019. Atypical Hemolytic Uremic Syndrome: Beyond Hemolysis and Uremia. *Am J Med.* ;132(2):161-167.
- Van Wagner, L. B. and Green, R. M. (2015). Evaluating Elevated Bilirubin Levels in Asymptomatic Adults. *JAMA*. 313 (5), 516.

- Venkatanarayana, G., Sudhakara, G., Sivajyothi, P., & Indira, P. (2012). Protective effects of curcumin and vitamin E on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats. *EXCLI journal*, 11, 641.
- Verna, L., Whysner, J., & Williams, G. M. (1996). N-nitrosodiethylamine mechanistic data and risk assessment: bioactivation, DNA-adduct formation, mutagenicity, and tumor initiation. *Pharmacology & therapeutics*, 71(1-2), 57-81.
- Vickers, N. J. (2017). Animal communication: when i'm calling you, will you answer too? *Current Biology*, 27(14), R713–R715.
- Visaria, A., Pai, S., Fayngersh, A., & Kothari, N. (2020). Association between alanine aminotransferase within the normal range and all-cause and cause-specific mortality: A nationwide cohort study. *PloS one*, 15(11), 1-13.
- Vogel, A., Ochsenreither, S., Zager, J. S., Wacker, F., & Saborowski, A. (2022). Chemosaturation for primary and secondary liver malignancies: A comprehensive update of current evidence. *Cancer Treatment Reviews*, 102501.
- Wang AY, Kalantar-Zadeh K, Fouque D, Wee PT, Kovesdy CP, Price SR, Kopple JD.(2018). Precision Medicine for Nutritional Management in End-Stage Kidney Disease and Transition to Dialysis. *Semin Nephrol.* 38(4):383-396.
- Wang, H., Han, Q., Chen, Y., Hu, G., & Xing, H. (2021). Novel insights into cytochrome P450 enzyme and solute carrier families in cadmium-induced liver injury of pigs. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111910.

- Wang, J., Tokoro, T., Higa, S. and Kitajima, I. (2006). Anti-inflammatory effect of pitavastatin on NF- $\kappa$ B activated by TNF- $\alpha$  in hepatocellular carcinoma cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(4), 634- 639.
- Wang, Y., Chen, W., Zhou, J., Wang, Y., Wang, H., & Wang, Y. (2022). Nitrate Metabolism and Ischemic Cerebrovascular Disease: A Narrative Review. *Frontiers in Neurology*, 13.
- Wang, Z., Cui ,X., Hao, G. & He J.(2021). Aberrant expression of PI3K/AKT signaling is involved in apoptosis resistance of hepatocellular carcinoma. *Open Life Sci.* 27;16(1):1037-1044.
- Washington IM, Van Hoosier G. Clinical biochemistry and hematology. In *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents* 2012 Jan 1 (pp. 57-116). Academic Press.
- Wong, Y. H., Abdul Kadir, H., & Ling, S. K. (2012). Bioassay-guided isolation of cytotoxic cycloartane triterpenoid glycosides from the traditionally used medicinal plant *Leea indica*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- Wu, Y. D., & Zhou, B. P. (2010). TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B/Snail pathway in cancer cell migration and invasion. *British journal of cancer*, 102(4), 639-644.
- Xiao P, Long X, Zhang L, Ye Y, Guo J, Liu P, et al. (2018). Neurotensin/IL-8 pathway orchestrates local inflammatory response and tumor invasion by inducing M2 polarization of Tumor- Associated macrophages and epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma cells. *Oncoimmunology*, 7, e1440166. [PubMed: 29900041]
- Yakubu, O. F., Metibemu, D. S., Adelani, I. B., Adesina, G. O., Edokwe, C. B., Oseha, O. E., & Adebayo, A. H. (2020). *Annona senegalensis* extract

- demonstrates anticancer properties in N-diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in male Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110786.
- Yan, N., Liu, Y., Liu, L., Du, Y., Liu, X., Zhang, H., & Zhang, Z. (2019). Bioactivities and medicinal value of solanesol and its accumulation, extraction technology, and determination methods. *Biomolecules*, 9(8), 334.
- Yin, H., Xu, L., & Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical Reviews*, 111(10), 5944–5972.
- Young, B., Woodford, P. and O'Dowd, G., (2013). *Wheater's functional histology E-Book: a text and colour atlas*. Elsevier Health Sciences.
- Young, J. I., Zuchner, S., Wang, G. (2015). Regulation of the Epigenome by Vitamin C. *Annu.Rev. Nutr.*1:(35). 545–564.
- Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International journal of health sciences*, 12(3), 88.
- Yousef, M. I., Omar, S. A., El-Guendi, M. I., & Abdelmegid, L. A. (2010). Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress,impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3246-3261.
- Yu J, Ren X, Chen Y, Liu P, Wei X, Li H, et al. (2013). Dysfunctional activation of neurotensin/IL-8 pathway in hepatocellular carcinoma is associated with increased inflammatory response in microenvironment, more epithelial mesenchymal transition in cancer and worse prognosis in patients. *PLoS One*, 8, e56069. [PubMed: 23418512]

- Zamudio-Cuevas, Y., Andonegui-Elguera, M. A., Aparicio-Juárez, A., Aguillón-Solís, E., Martínez-Flores, K., Ruvalcaba-Paredes, E., ... & Sánchez-Sánchez, R. (2021). The enzymatic poly (gallic acid) reduces pro-inflammatory cytokines in vitro, a potential application in inflammatory diseases. *Inflammation*, 44, 174-185.
- Zeghib, K., & Boutlelis, D. A. (2021). Food Additive (Sodium benzoate)- induced Damage on Renal Function and Glomerular Cells in Rats; Modulating Effect of Aqueous Extract of *Atriplex halimus* L. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 20(1), 296.
- Zhang, C., Bruins, M.E., Yang, Z.Q., Liu, S.T. and Rao, P.F., (2016). A new formula to calculate activity of superoxide dismutase in indirect assays. *Analytical biochemistry*, 503, :65-67.
- Zhang, C., Chen, Y., Zhang, M., Xu, C., Gong, G., Veeraraghavan, V. P., ... & Li, Y. (2020). Vicenin-2 treatment attenuated the Diethylnitrosamine-induced liver carcinoma and oxidative stress through increased apoptotic protein expression in experimental rats. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 39(2).
- Zhang, J., & Veeramachaneni, N. (2022). Targeting interleukin-1 $\beta$  and inflammation in lung cancer. *Biomarker Research*, 10(1), 1-9.
- Zhang, Q. Q., Kou, X. G., Cui, Y. H., Wang, L. N., Jin, C. L., Chen, M. L., & Li, W. W. (2016). Effect of rat bone marrow mesenchymal stem cells on dynamic changes of inflammatory factors and apoptosis index during hepatocarcinogenesis. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 20(36), 5358.

- Zhang, R., Wu, T., Yang, J., Liu, M., Luo, J., Ma, C., ... & Zheng, S. (2023). Effect of gambogic acid in attenuating diethylnitrosamine (DEN)-induced hepatocellular carcinoma in rat model. *Arabian Journal of Chemistry*, 104644.
- Zhang, Y., Zhao, G., Cheng, P., Yan, X., Li, Y., Cheng, D., Wang, R., Chen, J., and Shen, W. (2019). Nitrite accumulation during storage of tomato fruit as prevented by hydrogen gas. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1425–1438.
- Zhao, S., Jiang, J., Jing, Y., Liu, W., Yang, X., Hou, X., & Wei, L. (2020). The concentration of tumor necrosis factor- $\alpha$  determines its protective or damaging effect on liver injury by regulating Yap activity. *Cell death & disease*, 11(1), 1-13.
- Zuniga-Hernandez, J., Vielma, F. H., Quinones, M., & Zuniga, M. J. (2023). P-21 Docosahexaenoic Acid And Its Derivative Maresin1 Improve Chronic Liver Damage Associated With The Promotion Of Apoptosis Pathways And Liver Regeneration In A Sprague-Dawley Model. *Annals of Hepatology*, 28, 100924.

## summary

This study aims to know the protective role of the aqueous extract of leaves *Leea indica* on some physiological and histological parameters in White male rats treated with Diethyl-nitrosamine (DEN).

The study was conducted in the College of Education for Pure Sciences / University of Karbala and the animal house of the College of Pharmacy / University of Karbala for the period from the beginning of October 2022 until March 2023. This study included the use of 76 male white rats, *Ratus norvegicus*. Their ages ranged between 12 - 14 weeks, and their weight ranged between 200 - 220 grams. The aqueous extract of the leaves of the bandicoot berries. The study included two experiments. In the first experiment aimed at determining the effective half dose (ED50) of the aqueous extract of bandicoot berry leaves through the study of the effective dose curve, 36 male rats were used, which were randomly divided into two groups. Six equal groups (6 animals per group) were dosed orally with 5 ascending doses of German extract of bandicoot berry leaves daily (20, 40, 60, 80, and 100 mg/kg supplement for a control group that was dosed with plain water) and for a period of 30 days, blood samples were collected after the end of the study. Experiment to study the following parameters: Malonaldehyde level (MDA), reduced glutathione (GSH), total cholesterol (TC), and high-density lipoprotein (HDL) level were dose-dependent. The half-effect of the extract is equal to 60 mg/kg B.W).

The second experiment aimed to study the protective role of the aqueous extract of bandicoot berry leaves. Against adverse effects in the liver and kidneys induced by DEN, 40 male subjects were used, which were randomly divided into four equal groups (10 animals per group). The first group (1) was dosed with 1 ml/kg of normal water and considered a negative control group. The second group (G2) was injected subperitoneally with a level of 200 mg/kg of DEN. control group, the third group (G3) was dosed with 60 mg/kg of the extract. water of bandicoot berry leaves, while the fourth group (G4) animals were dosed with 60mg/kg of the aqueous extract of the leaves of the bandicoot berries, and after four hours, it was injected submembrane Intraperitoneally Daily, with 200 mg/kg of DEN, two days a week for three months

Fasting Blood samples were collected after the end of the experiment to study the level of the following parameters: the activity of the enzyme. Alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), Aspartate transaminase (AST), the activity of the enzyme superoxide dismutase Malondialdehyde (MDA) Concentrate, Superoxide Dismutase (SOD) Glutathione, Lipid hydroxyl peroxidase (LHP), Total Bilirubin (T-BIL), and reduced glutathione (GSH) Albumin, Urea, Uric acid, and creatinine Efficacy, calciterol, erythropoietin (EPO), and creatinine Renin enzyme, TNF-  $\alpha$  (factor necrosis tumor) Interleukin 8 (IL-8) and Interleukin-1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) Cytochrome oxidase (COX)

The results of this experiment showed that subperitoneal injection of DEN caused a significant increase ( $P < 0.01$ ) in the levels of ALT, ALP, AST, and MDA. LHP, EPO, BIL-T, Urea, Uric acid, Creatinine, Renin, TNF-  $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 Significant decrease in rate ( $P > 0.01$ ) SOD, GSH, COX, Albumin, calciterol, compared with the control group.

The group treated with ED50 showed a significant increase in the leaves of the aqueous extract of Bandicoot ( $P < 0.01$ ). SOD, GSH, COX, Albumin, calciterol And there were no significant differences ALT, ALP, AST, and MDA. LHP, EPO, BIL-T, Urea, Uric acid, Creatinine, Renin, TNF-  $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 compared with the negative control group.

The preventive group also showed that there were no significant differences ( $P > 0.01$ ) SOD, GSH, COX, Albumin, calciterol, ALT, ALP, AST, and MDA. LHP, EPO, BIL-T, Urea, Uric acid, Creatinine, Renin, TNF-  $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 compared with the negative control group.

The results of the histological test showed that subperitoneal injections of DEN for a period of 90 days led to damage to the liver cells, as clear degenerative changes and clear eruptions were observed. In the liver tissue, the appearance of large tumor nodules and the infiltration of hepatic cells with the occurrence of necrosis of the cells, Additionally observed are central vein congestion and degeneration. The nucleation of the liver cells, whereas the histological changes in the kidneys were represented by severe atrophy in the size of the glomerulus, an increase in Bowman's space with hyperemia, and destruction of the urinary tubules with deterioration and thickening of the tubule cells' nuclei and sloughing of its lining epithelium, as well as infiltration of inflammatory cells and



contraction of the glomerulus.in addition to Urinary tubules collapsing with hemorrhage It also notes the normal structure of the liver tissue with the reorganization of the hepatic chords and the occurrence of hepatitis The normal structure of the liver tissue is also noted with the reorganization of the hepatic cords with the occurrence of dilatation of the central vein for the prophylactic group that was dosed with 60 mg / kg of aqueous extract of the leaves of the bandicoot berries and injected subperitoneally with 200 mg/kg of DEN. As for the kidney tissue, it was represented by the presence of Simple histological changes represented by a slight dilatation of the Bowman's space, the glomerulus is normal, with a normal structure of some distal and proximal urinary tubulesWith a bloody congestion compared with the positive control group

We conclude from the current study that the aqueous extract of the leaves of the bandicoot berry at a level of 60 mg / kg has a significant effectiveness in reducing the toxic effects resulting from the injection of male white rats with diethyl nitrosamine on the tissues of the liver and kidneys and improving the functional parameters and has a clear role in reducing the possibility of liver and kidney cancer



**University of Karbala**

**College of Education for Pure Sciences**

**Department of Biology**

**Evaluation the anti cancer activity of aqueous  
extract for *Leea indica* leaves in some  
physiological and histological parameters in male  
rats treated with Diethylnitrosamine (DEN)**

**A Thesis**

**submitted to the Council of the College of Education for Pure  
Sciences / University of Karbala as part of the requirements for  
obtaining a master's degree in Biology- zoology**

**written by**

**Mustafa Abd Al-Hussein Kazem Mousa**

**Bachelor of Biology 2020/University of Karbala**

**Supervised by**

**Asst. Prof. Dr. Heba Alwaan Abd Al-Salam Al-Salame**

**July 2023 A.D.**

**Muharram 1445 A.H.**