



جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تقييم فعالية المستخلص المائي البارد لقشور و لب ثمار الرامبوتان
Nephelium lappaceum ضد السمية المستحثة بمادة الثيواسيتاميد في
ذكور الجرذان البيض

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

كُتبت بواسطة

زهراء فاضل ثابت شبل

بكالوريوس علوم الحياة 2018/جامعة كربلاء

بأشرف

أ. م. د. هبة علوان عبد السلام

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

﴿قُلْ لَوْ كَانَ الْبَحْرُ مَدَادًا لَكَلِمَاتِ رَبِّي لَنَفَذَ
الْبَحْرُ قَبْلَ أَنْ تَنفَذَ كَلِمَاتُ رَبِّي وَلَوْ جِئْنَا بِمِثْلِهِ

مَدَدًا﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة الكهف (آية 109)

إقرار المقوم اللغوي

اشهد ان هذه الرسالة الموسومة ب (تقييم فعالية المستخلص المائي البارد لقشور و لب ثمار الرامبوتان *Nephelium lappaceum* ضد السمية المستحثة بمادة الثيواسيتاميد في ذكور الجرذان البيض) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الامر بسلامة الأسلوب والصحة في التعبير.

التوقيع :

الاسم : د. مسلم مالك الاسدي

المرتبة العلمية : استاذ

الكلية والجامعة : جامعة كربلاء / كلية العلوم الاسلامية

التاريخ :- / / 2024

إقرار المقوم العلمي الأول

اشهد ان هذه رسالة الموسومة (تقييم فعالية المستخلص المائي البارد لقشور و لب ثمار الرامبوتان *Nephelium lappaceum* ضد السمية المستحثة بمادة الثيواسيتاميد في ذكور الجرذان البيض) في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة / جامعة كربلاء التي تقدمت بيها الطالبة (زهراء فاضل ثابت) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع :

الاسم: د. تحرير محمد نطاح

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة القاسم الخضراء / كلية الزراعة

التاريخ: / / ٢٠٢٤

إقرار المقوم العلمي الثاني

أشهد ان هذه رسالة الموسومة (تقييم فعالية المستخلص المائي البارد لقشور و لب ثمار الرامبوتان *Nephelium lappaceum* ضد السمية المستحثة بمادة الثيواسيتاميد في ذكور الجرذان البيض) في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة / جامعة كربلاء التي تقدمت بيها الطالبة (زهراء فاضل ثابت) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع :

الاسم: د. منى حسين حسن عبد الرضا

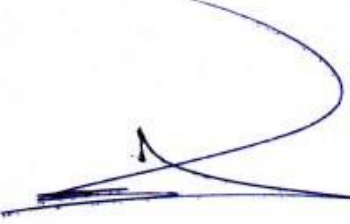
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة كربلاء / كلية الطب البيطري

التاريخ: / / ٢٠٢٤

إقرار المشرف عل الرسالة

نشهد ان اعداد هذه الرسالة الموسومة : (تقييم فعالية المستخلص المائي البارد لقشور ولب ثمار الرامبوتان *Nephelium lappaceum* ضد السمية المستحثة بمادة النيواسيتاميد في ذكور الجرذان البيض) قد جرى تحت اشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان

التوقيع :-


الاسم : ا.م.د. هبة علوان عبد السلام

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

مكان العمل: كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ : / / ٢٠٢٤

توصية رئيس قسم علوم الحياة

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

التوقيع :


الاسم : د.نصير مرزا حمزة

المرتبة العلمية : أستاذ

مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ : / / ٢٠٢٤

اقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين ادناه نشهد باننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة: (تقييم فعالية المستخلص المائي البارد لقشور و لب ثمار الرامبوتان *Nephelium lappaceum* ضد السمية المستحثة بمادة الثيواسيتاميد في ذكور الجرذان البيض) المقدمة من قبل الطالبة (زهراء فاضل ثابت شبل) كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء ، وبعد اجراء المناقشة العلمية وجد انها مستوفية الشروط لمتطلبات الشهادة و عليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير (امتياز)

عضو لجنة المناقشة

رئيس اللجنة المناقشة

التوقيع:

التوقيع:

الاسم: د. سحر محمود جواد

الاسم: د. سناء جبوري محمد

المرتبة العلمية: استاذ

المرتبة العلمية: استاذ

مكان العمل: جامعة الكوفة / كلية التربية للبنات

مكان العمل: جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: / / ٢٠٢٤

التاريخ: / / ٢٠٢٤

المشرف

عضو اللجنة المناقشة

التوقيع:

التوقيع:

الاسم: د. هبة علوان عبد السلام

الاسم: د. غصون غانم كعيم

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

المرتبة العلمية: استاذ

مكان العمل: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

مكان العمل: جامعة كربلاء/ كلية العلوم الطبية التطبيقية

التاريخ: / / ٢٠٢٤

التاريخ: / / ٢٠٢٤

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع

الاسم : د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية : استاذ

التاريخ : ٢٠٢٤ / ٩ / ٣

الاهداء

إلى الله ربي وخالقي ومصوري الذي كلما قلت لك الحمد وجب عليه ان أقول لك الحمد، الهي احمدك
وانت للحمد اهل على حسن صنعك الي وتوفيقك الدائم
إلى من قاد قلوب البشرية وعقولهم إلى مرفأ الأمان، معلم البشرية الأول نبينا الاكرم محمد صلى الله عليه
واله وسلم وإلى ال بيته الكرام
إلى من تبحت عنه النفوس وتشتاق إلى تعجيل ظهوره، صاحب العصر والزمان عجل الله فرجه الشريف
إلى الرجل العظيم الذي شرفني بحمل اسمه وحمل امانة تربيتي وتعليمي والدي العزيز
إلى من شعوري اتجاهها يعجز البيان عن وصفه والبنان عن خطه والدتي العزيزة
إلى من كان له النصيب الأكبر بعد الله في مد يد العون لي اشكرك على اعانتك وحبك زوجي

المخلص

إلى من كانت مواقفهم وكلماتهم رفيق الالق والتفوق اخواني واخواتي
إلى من ساندتني وعلمتني وبذلت جهدا في سبيل وصولي إلى درجة علمية عالية مشرفتي الفاضلة
إلى من تحمل معي العناء رغم صغر سنه بهجة حياتي ابني حيدر
إلى من علموني حرفا ومنحوني حبا ودعموني صدقا اساتذتي النبلاء
إلى كل يد وقلب سار معي درب الإنجاز لأكون زملائي

زهراء

الشكر والتقدير

في بداية كلمتي لا بد لي من أتوجه أولاً بالشكر لله عزّ وجلّ الذي وفقني للوصول إلى هذه المرحلة العلمية العالية، ومهد لي الطريق لأن أكون بينكم اليوم لأناقش رسالتي في الماجستير، فله الحمد حمدا يليق بجلال وجهه العظيم فقد سدّد الخطى وشرح الصدر ويسر الأمر واليه يعود الأمر كله، والصلاة والسلام على أشرف المرسلين سيدنا محمد صلى الله عليه واله وسلم .

ولا يتم شكر الله الا بشكر عباده واعترافا بذوي الفضل علي اقدم شكري وتقديري لكل من مد يد العون في سبيل إتمام هذه الدراسة واخراجها على اكمل وجه واطمئن بالذكر أستاذتي الغالية أ.م. د. هبة علوان عبد السلام التي سعدت بإشرافها وتوليها مجريات هذه الدراسة، فكان لعلمها الفياض وتوجيهاتها البناءة وروحها الطيبة وخلقتها الكريم الأثر الكبير لإنجاز الرسالة، فقد كانت ومازالت منارة للبحث تضيء جنباته ، فجزاها الله عني خير الجزاء .

ومن العرفان الجميل والاقرار بالفضل أتقدم بعميق الشكر والامتنان الى الطبيب الاستشاري في الأمراض النسجية الدكتور عادل السعداوي /مدينة الطب على تشخيصه النتائج العيانية والنسجية .

كذلك أتقدم بالشكر والتقدير الخالص إلى رئاسة جامعة كربلاء لإتاحتها الفرصة لي لإكمال دراستي وأيضا أتقدم بالشكر الجزيل إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة وإلى جميع أساتذة علوم الحياة لما قدموه من ملاحظات قيمة وتوجيهات سديدة خلال مدة الدراسة وفقهم الله جميعا.

زهراء

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية تقييم كفاءة المستخلص المائي البارد لقشور ولب ثمار نبات الرامبوتان *Nephelium lappaceumm (NI)* ضد التغيرات الفسلجية والنسجية للكبد والكلية والمستحثة بمادة الثيوأسيتاميد (TAA) في ذكور الجرذان البيض *Rattus norvegicus* ، اجريت الدراسة في البيت الحيوان التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء ومختبرات كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء للفترة الممتدة من بداية تشرين الاول 2023 ولغاية شباط 2024، تضمنت الدراسة تجربتين رئيسيتين وتم استخدام 180 من ذكور الجرذان البيض ، كما تم اجراء الاختبارات الفسيولوجية في المركز الوطني للمختبرات التعليمية في مدينة الطب في محافظة بغداد .

تضمنت الدراسة تحضير المستخلص المائي البارد لقشور ولب ثمار نبات الرامبوتان ، وبعد ذلك تم اجراء التجربة الأولى والتي تضمنت تحديد الجرعة المؤثرة النصفية ED_{50} لقشور ولب ثمار الرامبوتان (*Nephelium lappaceum (NI)* ، فقد تم استخدام 120 من ذكور الجرذان البيض (60 جرذ / نوع من المستخلص) وقسمت الجرذان إلى ستة مجاميع متساوية (10 حيوان / المجموعة) بالنسبة لمستخلص القشور، تم تجريعها فموياً بجرعات تصاعدية من المستخلص المائي لقشور الرامبوتان (10، 20، 30، 40، 50) ملغم/كغم من وزن الجسم إضافة إلى مجموعة السيطرة التي جرعت بالماء المقطر ، أما الـ 60 جرذ الباقية فقد قسمت أيضاً إلى ستة مجاميع متساوية (10 حيوان / المجموعة) بالنسبة لمستخلص اللب، وجرعت فموياً بجرعات تصاعدية من المستخلص المائي للرب الرامبوتان (10، 20، 30، 40، 50) ملغم/كغم من وزن الجسم إضافة لمجموعة السيطرة التي جرعت بالماء المقطر واستمرت التجربة لمدة 30 يوم ، بعد نهاية التجربة تم جمع عينات الدم لتقييم المستويات التالية : مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة High density lipoprotein (HDL) ومستوى الكوليسترول الكلي Total cholesterol (TC) ومستوى المألون ثنائي الديهايد Malondialdehyde (MDA) ومستوى الجلوتاثايون Glutathione (GSH) ، تم تحديد الجرعة المؤثرة النصفية ED_{50} للمستخلص المائي لقشور الرامبوتان والتي بلغت 25 ملغم/كغم من وزن الجسم أما الجرعة المؤثرة النصفية ED_{50} لمستخلص لب الرامبوتان فقد بلغت 27 ملغم /كغم من وزن الجسم .

هدفت التجربة الثانية تقييم كفاءة المستخلص المائي البارد لقشور ولب ثمار الرامبوتان ضد السمية الكبدية والكلوية المستحثة بمادة TAA ، تضمنت هذه التجربة استخدام 60 من ذكور الجرذان البيض التي قسمت عشوائياً إلى ستة مجاميع بواقع (10 حيوان / مجموعة) ، جرعت المجموعة الأولى (G1) فموياً بالماء المقطر وعدت كمجموعة سيطرة سالبة ، في حين حققت المجموعة الثانية (G2) تحت الغشاء البريتوني بجرعة 200 ملغم/كغم من وزن الجسم من مادة الثيوأسيتاميد TAA وعدت كمجموعة سيطرة

موجبة ، أما المجموعة الثالثة (G3) فقد جرعت فمويا بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بتركيز 25ملغم/كغم من وزن الجسم ، أما المجموعة الرابعة (G4) فقد جرعت فمويا بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بتركيز 25ملغم/كغم من وزن الجسم وبعد اربع ساعات حققت تحت الغشاء البريتوني بمادة الثيوأسيتاميد TAA بتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم ، أما المجموعة الخامسة (G5) فقد جرعت فمويا بالمستخلص المائي للثمار الرامبوتان في حين جرعت المجموعة السادسة (G6) فموياً بالمستخلص المائي للثمار الرامبوتان بجرعة 27 ملغم / كغم من وزن الجسم وبعد اربع ساعات حققت تحت الغشاء البريتوني ب 200 ملغم / كغم من وزن الجسم من TAA بواقع جرعتين اسبوعيا لجميع المجموع السابقة ولمدة 90 يوما .

بعد مرور 90 يوم تم انهاء التجربة وتم جمع عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طوال فترة الليل وذلك لقياس مستوى المعايير الكيموحيوية التالية: فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline Phosphatase (ALP) ، فعالية أنزيم الناقل للأمين Alanine transaminase (ALT) ، فعالية انزيم الناقل للأسبارتيت Asparatate Transaminase (AST) ، البيليروبين الكلي (total bilirubin (T-BIL) ، الكرياتينين Creatinine ، اليوريا Urea ، الألبومين Albumin ، مستوى الجلوتاثايون (Glutathione (GSH) ، فعالية انزيم أوكسيد الديسموتاز الفائق (Superoxide dismutase (SOD) ، المألون ثنائي الديهايد Malondialdehyde (MDA) ، انزيم السيتوكروم Cytochrome p 450 (CYP) ، مستوى عامل التتخر الورمي الفا (Tumor necrosis factor- α (TNF- α) ، الانترلوكين Interleukin IL-10 ، البروتين الجنيني الفا (alpha-fetoprotein (AFP) ، عامل النمو المتحول transforming (TGF- β) ، growth factor β و بروتين الجذب الكيمائي للخلية الوحيدة Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن الحقن تحت الغشاء البريتوني بجرعة 200 ملغم / كغم من وزن الجسم من TAA في المجموعة الثانية (G2) أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في مستوى ALP ، ALT ، AST ، T-BIL ، Urea ، Creatinine ، MDA ، TNF- α ، IL-10 ، TGF- β ، AFP ، MCP-1 ، و حدوث انخفاضا معنوياً ($P<0.01$) في مستوى CYP ، GSH ، SOD ، و Albumin مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة ، في حين أظهرت نتائج المجموعة الثالثة (G3) والمعاملة بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في مستوى GSH وانخفاضا معنوياً ($P<0.01$) في مستوى TNF- α ، وعدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في مستويات ALP ، ALT ، AST ، T-BIL ، Urea ، Creatinine ، SOD ، MDA ، CYP ، IL-10 ، TGF- β ، AFP ، و MCP-1 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة ، كما و أظهرت نتائج المجموعة الخامسة (G5) المعاملة بالمستخلص المائي للثمار الرامبوتان حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في مستوى

GSH وعدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في مستويات Urea ، T-BIL ، AST، ALT ، ALP و AFP ، TGF- β ، TNF- α ، IL-10، CYP ، MDA ، SOD ، Albumin، Creatinine، MCP-1 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

كما أوضحت نتائج التجربة حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل مستوى ALP و عدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في مستويات ، Creatinine، Urea ، T-BIL ، AST، ALT ، Albumin ، SOD ، GSH، MDA ، CYP ، TNF- α ، IL-10، TGF- β ، AFP ، MCP-1 في المجموعة الرابعة (G4) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة ، أما المجموعة السادسة (G6) فقد اشارت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل ALP و Creatinine و عدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في مستويات، ALT ، AST، T-BIL ، Urea ، Albumin، SOD ، GSH، MDA ، CYP ، TNF- α ، IL-10، TGF- β ، AFP و MCP-1 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

أوضحت نتائج الفحص النسيجي للكبد في مجموعة السيطرة الموجبة المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA لمدة 90 يوما إلى حدوث تغيرات تنكسية واضحة وتنخر وتفجي واضح في نسيج الكبد وظهور عقيدات ورمية كبيرة وارتشاح الخلايا الالتهابية مع احتقان الوريد المركزي مع انحلال لانوية الخلايا الكبدية كما وبينت نتائج الفحص المجهرى للكلى حدوث تحطم للنبيبات البولية ضمور وانكماش شديد في الكبيبة وزيادة فسحة بومان مع وجود احتقان دموي و ارتشاح الخلايا الالتهابية. كما يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج الكبد مع اعادة انتظام الحبال الكبدية بالنسبة للمجموعتين الوقائية التي تم تجريعها بالمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان و حقنت تحت الغشاء البريتوني ب 200 ملغم / كغم من وزن الجسم من TAA ، اما نسيج الكلية فتمثلت بوجود التركيب الطبيعي للنبيبات البولية البعيدة والقريبة ووجود نزف دموي بسيط وتلف لبعض الكبيبات الكلوية مع وجود عدد من الكبيبات الطبيعية والانابيب الكلوية الطبيعية مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة.

نستنتج من الدراسة الحالية أن المعاملة بالمستخلص المائي لقشور ثمار نبات الرامبوتان وبتركيز 25ملغم/كغم من وزن الجسم والمستخلص المائي للب ثمار نبات الرامبوتان بتركيز 27ملغم/كغم من وزن الجسم كان له دور وقائي في خفض التأثيرات السمية التي احدثتها مادة الثيوأسيتاميد في الكبد والكلى وتحسين المعايير الكيموحيوية واعادتها إلى معدلاتها الطبيعية فضلا عن دور المستخلصين في تقليل احتمالية الإصابة بسرطان الكبد والكلى .

قائمة المحتويات

الصفحة	العنوان	التسلسل
I	الخلاصة	
IV	المحتويات	
XII	قائمة الجداول	
XII	قائمة الاشكال والصور	
XV	قائمة المختصرات	
الفصل الأول المقدمة		
1	المقدمة	1-1
2	اهداف الدراسة	2-1
الفصل الثاني استعراض المراجع		
4	نبات الرامبوتان (NI) (<i>Nephelium lappaceum</i>)	1-2
5	تصنيف وتسمية نبات الرامبوتان Classification And Naming of Rambutan plants	2-2
6	الاهمية الطبية لثمار نبات الرامبوتان medical Importance of Rambutan Fruits	3-2
8	الثيوأسيتاميد (TAA) Thioacetamide	4-2
9	التمثيل الغذائي لمركب الثيوأسيتاميد Metabolisme of Thioacetamide (TAA)	5-2
10	التأثيرات المسرطنة للثيوأسيتاميد على الجسم of Carcinogenic effects Thioacetamide TAA on the body	6- 2
12	الكبد Liver	7-2
13	سرطان الكبد Liver Cancer	8-2

14	Kidney الكلى	9-2
15	Liver Enzyme أنزيمات الكبد	10-2
15	Asparatate Transaminase(AST) الانزيمات الناقلة لمجموعة الأمين Alanine transaminase (ALT)	1-10-2
16	Alkaline Phosphatase (ALP) انزيم الفوسفاتيز القاعدي	2-10-2
17	Albumin الألبومين	3-10-2
17	Total bilirubin (T-BIL) البيليروبين الكلي	11-2
18	creatinine الكرياتينين	12-2
18	Urea اليوريا	13-2
19	Glutathione (GSH) الجلوتاثايون	14-2
19	Superoxide dismutase enzyme انزيم أوكسيد الديسموتاز الفائق (SOD)	15-2
20	Malondialdehyde (MDA) المألون ثنائي الديهايد	16-2
21	Tumor necrosis factor- α (TNF- α) عامل التنخر الورمي الفا	17-2
22	Interleukin-10 (IL-10) الإنترولكين 10	18-2
23	Cytochrom P450 السيتوكروم	19-2
24	alpha-fetoprotein (AFP) البروتين الجنيني الفا	20-2
25	transforming growth factor β 1 (TGF- β) عامل النمو المتحول بيتا	21-2
26	Monocyte chemotactic protein- برووتين الجذب الكيمائي للخلية الوحيدة- 1 (MCP-1)	22-2
الفصل الثالث المواد وطرائق العمل		
28	المواد	1-3
28	الأجهزة	1-1-3

29	الأدوات	2-1-3
29	الأدوات الكيميائية	3-1-3
31	حيوانات التجربة	2-3
31	تهيئة قشور ولب ثمار الرامبوتان	3-3
32	تحضير المستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان	4-3
33	استحداث مرض السرطان	5-3
33	تصميم التجربة	6-3
33	التجربة الأولى Experiment 1	1-6-3
33	تحديد الجرعة النصفية المؤثرة للمستخلص المائي لقشور الرامبوتان	1-1-6-3
34	تحديد الجرعة المؤثرة النصفية للمستخلص المائي لللب ثمار الرامبوتان	2-1-6-3
34	التجربة الثانية Experiment 2	2-6-3
35	سحب الدم	1-2-6-3
38	تقييم فعالية الأنزيمات	7-3
39	تقدير فعالية الأنزيم الناقل للأمين في مصل الدم Estimation of Alanine Transaminase (ALT) serum	1-7-3
39	تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل الدم alkaline phosphatase (ALP) activity in blood serum	2-7-3
41	تقدير فعالية الانزيم الناقل للأسبارتيت في المصل aspartate aminotransferase in seurm (AST)	3-7-3
42	تقييم فعالية إنزيم أوكسيد الديسموتاز الفائق (SOD) superoxide dismutase activity in blood (SOD)	4-7-3
43	الفحوصات الكيموحيوية	8-3
43	تقدير مستوى المالون ثنائي الديهايد في (MDA) Malondialdehyde	1-8-3

45	Reduced glutathione (GSH) تقدير مستوى الجلوتاثايون المختزل في مصل الدم	2-8-3
46	Total cholesterol (TC) تقدير مستوى الكوليسترول الكلي في مصل الدم	3-8-3
47	High density lipoprotein (HDL) تقدير مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة في مصل الدم	4-8-3
49	Estimation of total bilirubin level in blood serum (T-Bil) تقدير مستوى البيليروبين الكلي في مصل الدم	5-8-3
50	Estimating the level of albumin in blood serum تقدير مستوى الالبومين في مصل الدم	6-8-3
51	Urea في المصل تقدير مستوى اليوريا	7-8-3
52	Estimating of creatinine concentration in blood serum تقدير مستوى الكرياتينين في مصل الدم	8-8-3
53	قياس عامل التنخر الورمي (TNF- α) ، tumor necrosis factor ، interleukin 10 (IL-10) و انزيم Cytochrome P450	9-8-3
54	قياس عامل التنخر الورمي TNF- α	1-9-8-3
55	قياس الانترلوكين 10 (IL-10)	2-9-8-3
56	قياس انزيم Cytochrome P450	3-9-8-3
57	قياس عامل النمو المتحول بيتا 1 (transforming growth factor β 1) و قياس البروتين الجنيني الفا (alpha-fetoprotein (AFP) و قياس البروتين الجاذب الكيمائي احادي الخلية Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)	10-8-3
58	Histological preprations التحضيرات النسجية	9-3
59	Statistical Analysis التحليل الاحصائي	10-3
الفصل الرابع النتائج		
61	التجربة الأولى لتحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان Determination of ED50 of NI peel and pulp aquatic extract	1-4

61	تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة للمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان على بعض المعايير الكيموحيوية	1-1-4
61	تحديد الجرعة المؤثرة النصفية للمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان	1-1-1-4
61	تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في مستوى المألون ثنائي الديهايد MDA في مصل ذكور الجرذان البيض	1-1-1-1-4
62	تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في مستوى الجلوتاثايون في مصل ذكور الجرذان البيض	2-1-1-1-4
62	تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في مستوى الكوليسترول الكلي TC في مصل ذكور الجرذان البيض	3-1-1-1-4
62	تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL في مصل ذكور الجرذان البيض	4-1-1-1-4
63	تحديد الجرعة المؤثرة النصفية للمستخلص المائي لللب ثمار الرامبوتان	2-1-1-4
63	تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لللب ثمار الرامبوتان في مستوى المألون ثنائي الديهايد MDA في مصل ذكور الجرذان البيض	1-2-1-1-4
64	تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لللب ثمار الرامبوتان في مستوى الجلوتاثايون في مصل ذكور الجرذان البيض	2-2-1-1-4
64	تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لللب ثمار الرامبوتان في مستوى الكوليسترول الكلي TC في مصل ذكور الجرذان البيض	3-2-1-1-4
65	تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لللب ثمار الرامبوتان في مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL في مصل ذكور الجرذان البيض	4-2-1-1-4
65	التجربة الثانية Experiment	2-4
65	تأثير مادة الثيوأسيتاميد TAA والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان على انزيمات الكبد والبيليروبين الكلي	1-2-4
65	التغييرات في معدل فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphates (ALP) (U/L)	1-1-2-4
66	التغييرات في معدل فعالية الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين Alanine transaminase (ALT) و Aspartate transaminase (AST) (U/L)	2-1-2-4

66	التغيرات في معدل المستوى الكلي للبيروبين الكلي (T- Total bilirubin) BIL	3-1-2-4
67	تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى الكرياتينين واليوريا والألبومين	2-2-4
67	التغيرات في معدل مستوى الكرياتينين (Um/I) Creatinine	1-2-2-4
67	التغيرات في معدل مستوى اليوريا (mmol/L) Urea	2-2-2-4
67	التغيرات في معدل مستوى الألبومين (g/dl) Albumin	3-2-2-4
68	تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى الجلوتاثيون والمالون ثنائي الديهايد وفعالية انزيم الديسموتاز الفائق والسيتوكروم P450	3-2-4
68	التغيرات في مستوى الجلوتاثيون (mg/dl) Glutathione (GSH)	1-3-2-4
68	التغيرات في مستوى المالون ثنائي الديهايد (MDA) Malondialdehyde mg/dl	2-3-2-4
69	التغيرات في معدل فعالية انزيم الديسموتاز الفائق (SOD) mg/dl Superoxide dismutase	3-3-2-4
69	التغيرات في معدل فعالية انزيم السيتوكروم (CYP) Cytochrom p 450	4-3-3-4
70	تأثير مادة الثيوأسيتاميد TAA والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في معدل مستوى عامل التنخر الورمي -الفا والانترولكين 10 والبروتين الجنيني -الفا وعامل النمو المتحول -بيتا والبروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة	4-2-4
70	التغيرات في معدل مستوى عامل التنخر الورمي الفا Tumor necrosis factor- (TNF- α) (ng/ml)	1-4-2-4
70	التغيرات في معدل مستوى الإنترولكين 10 Interleukin-10 (IL-10) (pg/ml)	2-4-2-4
70	التغيرات في معدل مستوى البروتين الجنيني الفا alpha-fetoprotein (AFP) (ng/ml)	3-4-2-4
70	التغيرات في معدل مستوى عامل النمو المتحول بيتا (transforming) growth factor β 1 (TGF- β) (ng/ ml)	4-4-2-4

71	التغيرات في معدل مستوى بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) pg/ ml	5-4-2-4
71	التغيرات النسجية	5-2-4
71	التغيرات العيانية	1-5-2-4
71	التغيرات العيانية في الكبد	1-1-5-2-4
72	التغيرات العيانية في الكلى	2-1-5-2-4
74	التغيرات المجهرية	2-5-2-4
74	تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب الرامبوتان في نسيج الكبد	1-2-5-2-4
78	تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب الرامبوتان في نسيج الكلى	2-2-5-2-4
الفصل الخامس المناقشة		
83	تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد في انزيمات الكبد (ALT و AST و ALP) و T-BIL	1-5
84	تأثير المستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في فعالية انزيمات الكبد (ALT و AST و ALP) و T-BIL	2-5
87	تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد في مستويات اليوريا Urea والكرياتينين Creatinine والألبومين Albumin	3-5
89	تأثير المستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستويات اليوريا Urea والكرياتينين Creatinine والألبومين Albumin	4-5
91	تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد في مستويات المالون ثنائي الديهايد MAD الجلوتاثايون GSH وانزيم الديسموتاز الفائق SOD والسيتوكروم p450	5-5
93	تأثير المستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستويات المالون ثنائي الديهايد MAD والجلوتاثايون GSH وانزيم الديسموتاز الفائق SOD والسيتوكروم p450	6-5
97	تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد في مستوى عامل التنخر الورمي الفا (Interleukin- 10 و الإنترولكين و Tumor necrosis factor- α (TNF- α	7-5

	transforming growth (IL-10) 10 و عامل النمو المتحول بيتا (alpha-fetoprotein (AFP) الفـا و البروتين الجنيني factor β 1 (TGF- β و بروتين الجذب الكيمائي للخلية الوحيدة Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)	
100	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الـرامبوتان في مستوى عامل التنخر الورمي الفـا (TNF- α) و الانترلوكين 10 (IL-10) Interleukin-10 و عامل النمو المتحول بيتا (transforming growth factor β 1 (TGF- β و البروتين الجنيني الفـا alpha-fetoprotein (AFP) و بروتين الجذب الكيمائي للخلية الوحيدة Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)	8-5
105	الدراسة النسجية	9-5
105	تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA في نسيج الكبد	1-9-5
106	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الـرامبوتان في نسيج الكبد	2-9-5
108	تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA في نسيج الكلية	3-9-5
109	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لقشور ولب الـرامبوتان في نسيج الكلى	4-9-5
الفصل السادس الاستنتاجات والتوصيات		
112	الاستنتاجات	
113	التوصيات	
114	المصادر	

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	التسلسل
28	جدول الاجهزة المستخدمة حسب الشركة والمنشأ	1-3
29	جدول الادوات الزجاجية والبلاستيكية حسب المنشأ والشركة	2-3
29	جدول الأدوات الكيميائية حسب المنشأ والشركة	3-3
66	جدول تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في فعالية انزيمات الكبد و البيليروبين الكلي في مصل ذكور الجرذان البيض	1-4
68	جدول تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى الكرياتينين واليوريا والألبومين في مصل ذكور الجرذان البيض	2-4
69	جدول تأثير مادة الثيوأسيتاميد TAA والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى GSH و SOD و MDA و CYT P 450 في مصل ذكور الجرذان البيض	3-4
71	جدول تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى TNF α و IL-10 و AFP و TGF- β و MCP-1 في مصل ذكور الجرذان البيض	4-4

قائمة الصور والاشكال

الصفحة	العنوان	التسلسل
5	صورة ثمار نبات الرامبوتان (A) قشور نبات الرامبوتان (B) لب ثمار الرامبوتان	1-2
9	شكل التركيب الكيميائي لمركب الثيوأسيتاميد	1-2
10	المخطط يوضح عملية استقلاب مركب الثيوأسيتاميد Thioacetamide	1-2
32	شرائح قشور (B) ثمار نبات الرامبوتان (A) مراحل تهيئة وتجفيف النبات مسحوق قشور (D) شرائح قشور الرامبوتان الجافة (C) الرامبوتان الطازجة شرائح لب الرامبوتان الجافة (F) شرائح لب الرامبوتان الطازجة (E) الرامبوتان مسحوق لب الرامبوتان (G)	1-3
33	المستخلص المائي لللب ثمار (B) المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان (A)	2-3
37	مخطط تصميم التجربة	1-3

61	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لقشور الرامبوتان في مستويات المألون ثنائي الديهايد MDA	1-4
62	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لقشور الرامبوتان في مستويات الجلوتاثايون GSH	2-4
62	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لقشور الرامبوتان في مستويات الكولسترول الكلي TC	3-4
63	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لقشور الرامبوتان في مستويات الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL	4-4
63	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي للرب الرامبوتان في مستويات المألون ثنائي الديهايد MDA	5-4
64	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي للرب الرامبوتان في مستويات الجلوتاثايون GSH	6-4
64	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي للرب الرامبوتان في مستويات الكولسترول الكلي TC	7-4
65	شكل تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي للرب الرامبوتان في مستويات الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL	8-4
72	صورة مظهر عياني لعضو الكبد في ذكور الجرذان البيض	1-4
73	صورة مظهر عياني لعضو الكلي في ذكور الجرذان البيض	2-4
74	صورة تبين مقطع نسجي في نسيج الكبد في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة (H&E 200X)	3-4
75	صورة تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد (H&E 200X)	4-4
75	صورة تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد (H&E 400X)	5-4
76	صورة تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد (H&E 400X)	6-4
76	صورة تبين تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بجرعة 25 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد (H&E 200X)	7-4
77	صورة تبين تأثير المعاملة بالمستخلص المائي للرب الرامبوتان بجرعة 27 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد (H&E 200X)	8-4
77	صورة تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم والمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بجرعة 25 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد (H&E 200X)	9-4
78	صورة تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم والمستخلص المائي للرب الرامبوتان بجرعة 27 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد (H&E 200X)	10-4
79	صورة تبين مقطع نسجي في نسيج الكلي في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة (H&E 200X)	11-4
79	صورة تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكلي (H&E 200X)	12-4

80	صورة تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكلى (H&E 400X)	13-4
80	صورة تبين تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بجرعة 25 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكلى (H&E 200X)	14-4
81	صورة تبين تأثير المعاملة بالمستخلص المائي للثمار الرامبوتان بجرعة 27 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكلى (H&E 200X)	15-4
81	صورة تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم والمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بجرعة 25 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكلى (H&E 200 X)	16-4
82	صورة تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم والمستخلص المائي للثمار الرامبوتان بجرعة 27 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكلى (H&E 200X)	17-4

قائمة المختصرات

الاختصار	المصطلحات
AKI	Acute Kidney Injury
ALT	Alanine transaminase
ALP	Alkaline Phosphatase
AFP	Alpha-fetoprotein
AST	Asparatate Transaminase
BBB	Blood-Brain Barrier
CAT	Catalase
CV	Central Veins
CYP	Cytochrome p 450
DNA	Deoxyribonucleic acid
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FMO	flavin-containing monooxygenase
GGT	Gamma-glutamyl Transferase
GFR	Glomerular Filtration Rate
GSH	Glutathione
GSSG	Glutathione disulfide
GPx	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione Reductase
HA	Hepatic artery
HSC	Hepatic stellate cells

HCC	Hepatocellular Carcinoma
HDL	High Density Lipoprotein
IL-10	Interleukin IL-10
L.S.D	Least Significant Difference
LDL	Low Density Lipoprotein
MDA	Malondialdehyde
MetS	Metabolic syndrome
MCP-1	Monocyte chemotactic protein-1
NK	Natural killer cell
<i>NI</i>	<i>Nephelium lappaceum</i>
NFLD	Nonalcoholic fatty liver disease
NF-KB	Nuclear Factor-Kappa B
OAT	ornithine Amino Transferase
PPAR γ	peroxisome proliferator activating receptor γ
PV	portal vein
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	Superoxide dismutase
TAA	Thioacetamide
TAASO	Thioacetamide S- oxide
TAASO ₂	Thioacetamide S-2 oxide

T-BIL	Total Bilirubin
TC	Total Cholesterol
TGF- β	Transforming Growth Factor β 1
TNF-a	Tumor necrosis factor- α

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

المقدمة

Introduction

1-1 المقدمة

تعد النباتات الطبية ذا أهمية كبيرة منذ القدم، لكونها مصدرا غنيا بالعديد من المركبات الفعالة المستخدمة على نطاق واسع في مجال العلاجات التقليدية والدوائية العديدة، نظرا لامتلاكها خصائص مضادة للأكسدة تعزز الخصائص العلاجية للأدوية والعقاقير المختلفة وتساهم بالحفاظ على صحة الإنسان ، إذ يتمتع كل جزء من النباتات الطبية بخصائص علاجية تميزه عن الأجزاء الأخرى، نتيجة لامتلاكها أنواع مختلفة من المركبات الكيميائية التي تلعب دورا هاما في علاج العديد من الأمراض (Pammi *et al.*, 2023) ، فقد وجد بأن المركبات الكيميائية المشتقة من النباتات الطبية تساهم في علاج العديد من الأمراض التي يصعب علاجها كالسرطان، فضلا عن قدرتها في الحد من تطور بعض الأمراض المزمنة مثل (الزهايمر ومرض باركنسون)، مما يجعل الكثير من الناس يفضل استخدام المستخلصات النباتية في علاج الأمراض أكثر من المركبات الكيميائية التي تمتلك العديد من التأثيرات السمية، وهذا ما أشارت اليه منظمة الصحة العالمية ، فقد بينت أن ثلاث ارباع سكان العالم مازالوا يعتمدون وبشكل رئيسي على النباتات الطبية للتداوي من الأمراض المختلفة (Ur Rehman *et al.*, 2021 ; Rasool *et al.*, 2020) .

تتميز ثمار نبات الرامبوتان *Nephelium lappaceum* بكونها غنية بالعديد من المركبات الفعالة مثل الفينولات الفلافونويدات وحمض الاسكوربك و الجيرانيين وغيرها التي تمكنها من اكتساح انواع الأوكسجين التفاعلية ROS مما يمنحها تأثيرات مضادة للأكسدة و خصائص علاجية مهمة في علاج العديد من الأمراض وبشكل خاص مرض السرطان ومرض السكري وامراض القلب والأوعية الدموية ، فضلا عن امتلاكها نشاط مضاد للالتهابات ومضاد للميكروبات ونشاطا خافضا للكولسترول (Afzaal *et al.*, 2023) ، فضلا عن النشاط المضاد للأورام لثمار فاكهة الرامبوتان والتي اثبتت نجاحها في التقليل من نمو الخلايا السرطانية من خلال قابليتها على تحفيز مسار موت الخلايا المبرمج ودورها في تحطيم الحمض النووي للخلايا السرطانية ، كما وبينت العديد من الدراسات الحديثة دور ثمار الرامبوتان في مكافحة الشيخوخة وتنظيم مستويات السكر في الدم لما تحويه من خصائص كيميائية متنوعة ومهمة تمكنها من معالجة الأمراض أو التخفيف منها (Tsong *et al.*, 2021)

إن التعرض إلى السموم والملوثات البيئية يؤدي إلى العديد من المشاكل الصحية التي تؤثر على صحة الإنسان ومن هذه المواد السامة مادة الثيوأسيتاميد (Thioacetamide (TAA)، التي تستخدم على نطاق واسع في الصناعات الغذائية و المشروبات والمعالجات المخبرية وفي صناعة الورق و وقود

السيارات (Ebaid *et al.*, 2023)، فضلا عن استخدامها كمبيد للفطريات و أيضا في صناعة المنسوجات وهي تصنف في الوقت الحاضر على أنها مادة مسرطنة بشرية لها القدرة على إنتاج مشتقات مختلفة من الجذور الحرة التي تعد من المسببات الرئيسية للسمية الخلوية و حدوث الاجهاد التأكسدي في الخلايا الجسمية والتي أثبت أنها تسبب أنواع عديدة من السرطانات مثل سرطان الكبد و سرطان الكلى و سرطان الدماغ و سرطان الثدي و سرطان العظم (Ibrahim *et al.*, 2023 ; Elshahawy *et al.*, 2023).

2-1 أهداف الدراسة

هدفت الدراسة الحالية الى تقييم كفاءة المستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان ضد التغييرات الفسلجية والنسجية المستحثة بمادة الثيوأسيتاميد TAA لذا تضمنت الدراسة المحاور التالية :

أولا: المحور الفسلجي

- 1 - دراسة تأثير مادة TAA على بعض انزيمات الكبد الوظيفية (ALT ، ALP ، AST) و T-Bil و Albumin وبعض معايير وظائف الكلى (Creatinine ، urea).
- 2 - دراسة تأثير مادة TAA ضد الاجهاد التأكسدي المستحث بمادة TAA من خلال قياس مضادات الأكسدة GSH و SOD ومستويات الإجهاد التأكسدي MDA ، فضلا عن انزيم السيتوكروم P450 (CYP).
- 3 - دراسة تأثير مادة TAA على عامل التنخر الورمي TNF- α وعامل النمو المتحول بيتا TGF- β و الإنترلوكين 10 و البروتين الجنيني الفا AFP بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة MCP-1 .
- 4 - دراسة الدور الوقائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان على بعض انزيمات الكبد الوظيفية (ALT ، ALP ، T-Bil و Albumin وبعض معايير وظائف الكلى (Creatinine ، urea).
- 5 - دراسة الدور الوقائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان ضد الاجهاد التأكسدي المستحث بمادة TAA من خلال قياس مضادات الأكسدة GSH و SOD ومستويات الإجهاد التأكسدي و MDA ، بالإضافة إلى انزيم السيتوكروم P450 (CYP).
- 6 - دراسة الدور الوقائي لقشور ولب ثمار على عامل التنخر الورمي TNF- α وعامل النمو المتحول بيتا TGF- β و الإنترلوكين 10 و البروتين الجنيني الفا AFP بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة MCP-1 .

ثانياً: المحور النسجي

- 1 - دراسة التغيرات النسجية المتسبب من مادة TAA في نسيج الكبد والكلية.
- 2 - تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في نسيج الكبد والكلية.
- 3 - تقييم الدور الوقائي للمستخلص المائي لللب ثمار الرامبوتان في نسيج الكبد والكلية .

الفصل الثاني
استعراض المراجع
Literature Review

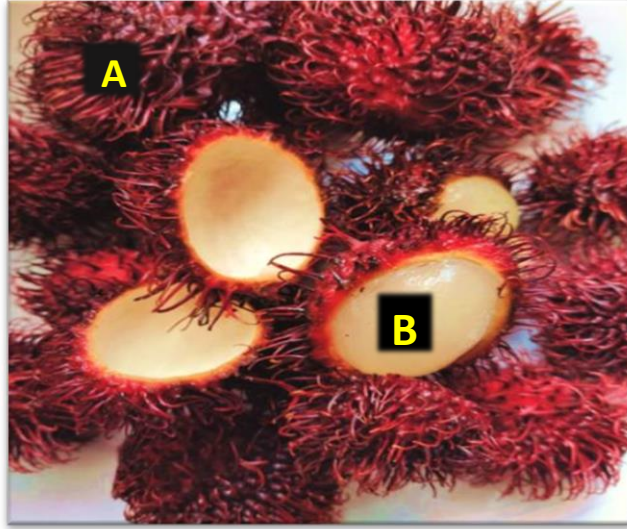
استعراض المراجع

Literature Review

1-2 نبات الرامبوتان (*Nephelium lappaceum* (NI)

الرامبوتان (*Nephelium lappaceum* (NI) نبات استوائي ، موطنه الأصلي جنوب شرق اسيا تحديدا في إندونيسيا وماليزيا وتايلاند (Sekar, 2020) ، إذ تضم هذه البلدان اكبر مزارع الرامبوتان و تقوم بتصديرها إلى بلدانٍ أخرى (Jahurul et al., 2020) ، و يشتق الأصل اللغوي لهذا النبات من لغة الملايو والذي يعني " شعر" بسبب الأشواك التي تغلف القشرة الخارجية للثمار، و يعد الرامبوتان من النباتات دائمة الخضرة يبلغ ارتفاع أشجاره حوالي 12-20 متر مع فروع رمادية إلى بنية اللون (Sukmandari et al., 2017) ، إما الأوراق فهي مركبة ذات الوان خضراء زاهية أو داكنة اللون مع وجود 2-10 وريقات ، يختلف كلاً منها في الطول والعرض من 4-16 سم (Hernández-Hernández et al., 2019).

تمتاز ثمار نبات الرامبوتان بمذاقها الحلو و شكلها البيضوي و بذورها البنية ولبها الأبيض الناعم (Gapsari et al. 2021) ، و يتراوح قطرها ما بين 3-4 سم وطولها ما بين 3-6 سم وهي عادة ذات لون احمر أو اخضر أو برتقالي مصفر (Muhamed et al., 2019). و تكون غنية بالكربوهيدرات و الفيتامينات و البروتينات و الالياف الغذائية و المعادن مثل الحديد و الكالسيوم والنحاس (Afzaal et al., 2023) ، و غالبا ما تستخدم هذه الثمار في صناعة المربي والفواكه المعلبة والعصائر ، فضلا عن الاستهلاك الطازج (Mahmood et al., 2018) ، كما أشارت بعض الدراسات بأن قشور ثمار الرامبوتان تحتوي على العديد من المركبات النشطة بايولوجية ذات خصائص مضادة للأكسدة ، وعلى الرغم من أن تجارة هذه الفاكهة الاستوائية لا تمثل سوى 3 % من التجارة الزراعية الدولية ، إلا أن هذه الفاكهة تتمتع بقيم تصدير مرتفعة ، وتصنف في المرتبة الثالثة لأكثر الثمار قيمة غذائية (Cádiz-Gurrea et al., 2020).



صورة 1-2 ثمار نبات الرامبوتان (A) قشور نبات الرامبوتان (B) لب ثمار الرامبوتان
(Albuquerque B.R *etal.*,2023)

2-2 تصنيف وتسمية نبات الرامبوتان Rambutan plants

ينتمي نبات الرامبوتان إلى عائلة الصابونيات ويحتوي جنس ال *Nephelium* على 22 نوعا يقع 16 منها في إندونيسيا و 9 أنواع منها تكون الأكثر زراعة واستهلاكاً كمادة غذائية وهي *N. lappaceum* و *N. meduseum* و *N. maingayi* و *N. junlandifolium* و *M. cuspidatum* var. و *N. uncimatum* و *N. reticulatum* و *N. melanomiscum* و *ramboutan-ake*

التصنيف العلمي لنبات الرامبوتان: (Rai *et al.* ,2023)

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Tracheobionta

Superdivision: Spermatophyta

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Subclass: Rosidae

Order: Sapindales

Family: Sapindaceae

Genus: Nephelium

Species: Nephelium lappaceum

3-2 الأهمية الطبية لثمار نبات الرامبوتان **medical Importance of Rambutan**

Fruits

تتكون فاكهة الرامبوتان من القشور و البذور و اللب، إذ تساهم القشور بالنسبة الأكبر من الوزن الاجمالي لها اعتمادا على درجة النضج ، و تمتاز بوفرة المركبات الفينولية التي تحتويها وبشكل خاص الجيرانين Geranin وحمض إيلاجيك Ellagic acid و الروتين Rutin والكيرسيتين quercetin والكوريلاجين Corilagin، (Phuong *et al.*, 2020) ، كما تعد القشور مصدرا غنيا بالأصباغ الطبيعية مثل الأنثوسيانين anthocyanins و الفلافونويد flavonoids (Amalia *et al.*, 2019) ، إضافة إلى ذلك تحتوي البذور على الفينولات المتعددة Polyphenols والدهون التي تعد من المواد المغذية الاساسية (Hernández *et al.*, 2017 ; Estrada-Gil *et al.*, 2022) ويحتوي اللب على كميات عالية من الكربوهيدرات والاحماض العضوية وحمض الاسكوريك (Chai *et al.*, 2018a ; Chai *et al.*, 2018b)، حيث أشار wall (2006) أن لب ثمار الرامبوتان تكون غنية بكلا من النحاس والبوتاسيوم والمغنيسيوم .

كما ويعد نبات الرامبوتان من الثمار الغنية بمضادات الاكسدة، والتي تمتاز باحتوائها على نسبة عالية من المركبات الفينولية الفلافونويدات وهي مركبات معروفة بنشاطها المضاد للأكسدة، فضلا عن احتواءها على العديد من الفيتامينات خاصة فيتامين C و النياسين niacin وأيضا الريبوفلافين (B2) riboflavin (Tsong *et al.*, 2021 ; Nik *et al.*, 2019 ; Mahmood *et al.*, 2018) الجيرانين الذي يعد من اكثر مركبات قشور ثمار الرامبوتان وفرة والذي له فعالية عالية في اكتساح الجذور الحرة التي تسبب الاجهاد التأكسدي Oxidative stress في الخلايا (Yunusa *et al.*, 2018) ، كما اكدت العديد من الدراسات التي اجريت لتحديد الخصائص المضادة للأكسدة لمستخلص قشور الرامبوتان على دورها الفعال في الحد من تلف الخلايا الكبدية الذي يسببه الاجهاد التأكسدي ، حيث اظهرت النتائج دورها الفعال في تقليل نسبة الدهون والمالون ثنائي الدهيد Malondialdehyde (MDA) عن طريق تثبيط التعبير الجيني لمستقبلات البيروكسيسوم نوع غاما Peroxisome proliferator (PPAR γ)

activating receptor γ (Setyawati *et al.*, 2015؛ Zhuang *et al.*, 2017)، كما اثبت الدور المضاد للسرطان للمستخلص الفينولي لقشور ثمار الرامبوتان ضد الخطوط الخلوية السرطانية لكلاً من خط خلايا سرطان الثدي (MDA-MB-231) breast cancer cell line و خط خلايا عنق الرحم osteosarcoma cell line (HeLa) cervical cancer cell line و خط خلايا الساركوما العظمية (MG-63) والذي أثبت فعاليته في التقليل من تكاثر الخلايا السرطانية (Khaizil Emylia *et al.*, 2013).

كما افادت دراسة اجراها Peruml وآخرون (2020) على ان المستخلص الميثانولي لللب ثمار الرامبوتان اظهر نشاطا مضادا للأورام ضد خط الخلايا السرطانية الكبدية البشرية human hepatocellular carcinoma cell (HepG-2) وقابليته في حث الموت الخلوي المبرمج و تفتيت الحمض النووي للخلايا السرطانية ، اضافة إلى انكماش الخلايا السرطانية ، إذ اكدت نتائج التحليل الكيميائي النوعي للنبات على ان مادة البوليفينول الرئيسية والتي تشمل مركبات الفلافونويدات و الفينول وغيرها من المركبات الموجودة في مستخلصات ثمار الرامبوتان كانت مسؤولة عن النشاط المضاد للسرطان و دورها في حث موت الخلايا المبرمج . وكشفت الابحاث عن دور نبات الرامبوتان في التقليل من الأمراض الصحية لمتلازمة التمثيل الغذائي (Metabolic syndrome (MetS) وهي عبارة عن مجموعة من المشاكل التي تحدث بشكل متزامن والتي تزيد من خطر الإصابة باضطراب القلب والأوعية الدموية cardiovascular disorder و السكتة الدماغية stroke ومرض السكري diabetes mellitus ، إذ اظهرت النتائج بأن المعالجة بالجيرانين (وهو احد مركبات قشور ثمار الرامبوتان) في الفئران التي تم اخضاعها لنظام غذائي عالي الدهون بجرعة فموية مقدارها 50 ملغم / كغم يوميا ولمدة اربعة اسابيع قد خفف من الخلل الوظيفي في متلازمة التمثيل الغذائي الناجم عن ارتفاع ضغط الدم و زيادة مستويات الدهون ونسبة السكر في الدم (Cheng *et al.*, 2020) .

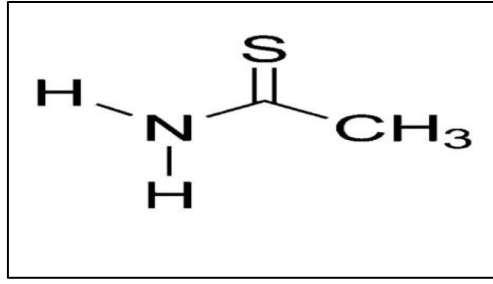
وقد اظهرت مستخلصات ثمار الرامبوتان فعالية عالية في المحافظة على نسبة الهيموجلوبين و كريات الدم الحمراء في دم الفئران التي تم تعريضها إلى دخان التبغ عند استخدامها بجرعة 54 ملغم / كغم من وزن الجسم (Dewi, 2017) ، كما لوحظ دورها الكبير في زيادة اعداد الحيوانات المنوية بسبب النشاط العالي المضاد للأكسدة الذي تظهره مستخلصات هذه الثمار (Victoria *et al.*, 2020) ، كما واثبتت فعالية المستخلص الميثانولي والأيثري والمستخلصات المائية لثمار الرامبوتان في تثبيط نمو بكتريا الكوليرا Vibrio cholera ، المكورات المعوية البرازية Enterococcus faecalis ، المكورات العنقودية الجلدية Staphylococcus epidermidis و البكتريا الزائفة الزنجارية Pseudomonas aeruginosai ، في حين اظهر المستخلص الإيثانولي لثمار الرامبوتان فعالية مقاومة عالية ضد البكتريا

السالبة لصبغة غرام ومن ضمنها بكتريا السالمونيلا المسببة لحمى التيفوئيد (Phoung *et al.*, 2020) ، فضلا عن دور النبات كمضاد للالتهابات عن طريق تقليل انتاج وسائط الالتهابات والجذور الحرة ومضاد للفايروسات (Li *et al.*, 2018)، كما له دور وقائي ضد الشيخوخة (Sekar, 2020)، كما و يعد استخدام نبات الرامبوتان ولعدة قرون في الطب التقليدي من العلاجات المهمة في علاج ارتفاع ضغط الدم و مرض السكري ، بالإضافة إلى استخدامه لعلاج الاضطرابات المعوية والمعدية وأيضا كمضاد للديدان الطفيلية التي تصيب الامعاء مما يساهم في التخلص منها ، في حين تستخدم مستخلصات أوراق هذا النبات للتخفيف من الصداع و يستخدم مغلي الجذور للتقليل من اعراض الحمى (Shahrajabian *etal.*,2020)

4-2 الثيوأسيتاميد (TAA) Thioacetamide

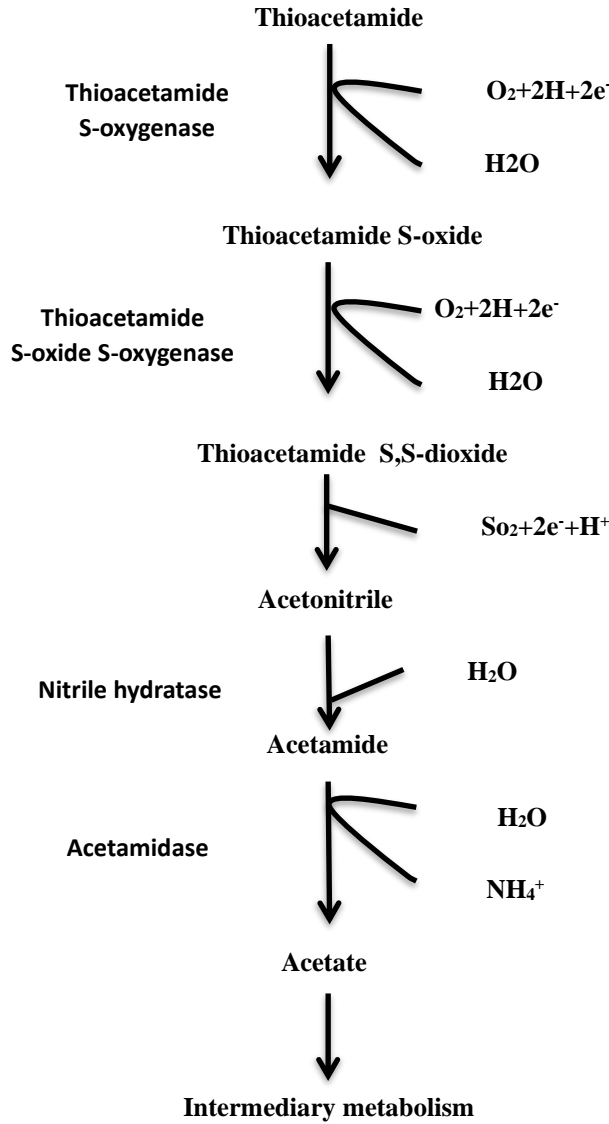
الثيوأسيتاميد (TAA) Thioacetamide هو مركب بلوري عضوي ابيض اللون أو مصفر له القابلية على الذوبان في الماء وهو يحتوي على الكبريت ، ذات صيغة جزيئية كيميائية $(\text{CH}_3\text{CSNH}_2)$ ، تم التعرف عليه كعامل سام للكبد لأول مرة في عام 1948 من قبل فيتز هوج و نلسون (Sepehrinezhad *etal.* , 2021 ; Fitzhugh And Nelson ,1948)

يعد مركب TAA من المواد الشديدة السمية والتي تستخدم بشكل واسع وفعال في العديد من الدراسات التجريبية نظرا لفعاليتها العالية في إحداث الأضرار الخلوية على مختلف اعضاء الجسم خاصة دوره الفعال في إحداث الضرر الكبدي والأورام الكبدية والتليف الكبدي في الجرذان المختبرية (EIBaset *et al* ,2022;Ezhilarasan,2023) ، كما وجد أن مركب TAA يستخدم وبشكل واسع في حث الأصابة بالاعتلالات والأورام الدماغية وإستحداث داء السكري فضلا عن دوره الفعال في إحداث السمية الكلوية (Makki *et al.* , 2022) ، وقد شاع مؤخرا استخدام هذه المادة في صناعة الأغذية والمشروبات ودباغة الجلود وصناعة المنسوجات ومحركات الوقود وصناعة المطاط كما ويستخدم لأنتاج المبيدات الحشرية والفطرية وذلك لاحتواءه على الكبريت الذي يساهم في القضاء على الفطريات والجراثيم، فضلا عن استخدامه الواسع في العديد من الصناعات الدوائية والكيميائية والعديد من الاستخدامات المختبرية (Veerakumar And Muthulingam , 2021 ; Choubey *et al.* , 2018)

الشكل (1-2) التركيب الكيميائي لمركب الثيوأسيتاميد (Góbi *et al.*, 2019)

5-2 التمثيل الغذائي لمركب الثيوأسيتاميد Metabolism of Thioacetamide (TAA)

يتم التمثيل الغذائي لمركبات (TAA) بشكل اساسي في الكبد إذ يمثل هذا العضو الموقع الرئيسي لاستقلاب الثيوأسيتاميد و الذي يدخل إلى الجسم عبر الاستنشاق المباشر للأبخرة السامة المنبعثة أو عن طريق ملامسة الجلد ، إذ يمتص هذا المركب بسهولة ليتم تنشيطه حيويًا بواسطة الخلايا الكبدية (Ebaid *et al.*, 2023) ، حيث يمر استقلاب مركب TAA بخطوتين أساسيتين بواسطة الميكروسومات الكبدية التي تحوله إلى السلفين أو الثيوأسيتاميد أوكسيد (TAASO) أو Taioacetamide S- oxide ثم إلى الشكل المؤكسد sulfene المتمثل بمركب الثيوأسيتاميد ثاني أوكسيد Taioacetamide S-2 oxide (TAASO₂)، والذي يعد الوسيط المستقلب ذو الطبيعة السامة الذي يحفز عمليات الاجهاد التأكسدي في الكبد ، حيث يكون أنزيم السيتوكروم cytochrome P450 (CYP) مسؤولًا عن التنشيط الحيوي لمركب TAA أو قد يتم استقلابه أيضًا عبر النظام الأنزيمي احادي الأوكسجين المحتوي على الفلافين-flavin-containing monooxygenase (FMOs) (Akhtar And Sheikh , 2013) ، إذ يزيد مركب الثيوأسيتاميد من انتاج انواع الأوكسجين التفاعلية ROS عن طريق المستقلب التفاعلي TAASO₂ والذي يسبب إجهادًا تأكسديًا شديدًا إلى جانب بيروكسيد الدهون و اكسدة البروتين مما يؤثر على تخليق البروتينات و اكسدة القواعد النووية ، كما ويسبب تغييرًا في سيولة و نفاذية الاغشية الخلوية ، إذ يرتبط هذا المركب بأيونات الكالسيوم مما يؤدي إلى زيادة تركيز Ca²⁺ في داخل الخلايا و ضعف نقل الاشارات و التبادل الايوني في الغشاء والذي يؤدي بدوره إلى التورم والانحلال الخلوي وأخيرًا موت الخلايا ، (Moustafa *et al.* , 2014) . ويتم إكمال المسار الأيضي للمستقلب التفاعلي TAASO₂ عبر تحوله إلى مركب أسيتونتريل Acetonitrile والذي يتحول بدوره بواسطة أنزيم Nitrile hydratase إلى مركب آخر يدعى أسيتاميد Acetamide وبعدها يتم انتاج الأسيتات Acetate عبر تحرر جزيئات الأمونيوم باستخدام جزيئة الماء H₂O وبفعل أنزيم Acetamidase كخطوة أخيرة لعملية التمثيل الغذائي للمركب TAA (Akhtar and Sheikh , 2013).



المخطط (1-2) يوضح عملية استقلاب مركب الثيوأسيتاميد (Thioacetamide) (Akhtar And)
(Sheikh , 2013)

6-2 التأثيرات المسرطنة للثيوأسيتاميد على الجسم Thioacetamide TAA on the body

تعد مادة TAA من المواد المسببة للسمية الكبدية الحادة ، كما وتعد من المواد المسرطنة للعديد من الخلايا الجسمية هذا يعود لاستنزاف مضادات الاكسدة الداخلية الجلوتاثايون التي تعمل على تحطيم المستقلب التفاعلي TAASO₂ ، الذي يسبب الاجهاد التأكسدي في الكبد وهذا بدوره يؤدي إلى نضوب أو انخفاض مستوى الجلوتاثايون في الخلايا مما يؤدي الى حدوث الأضرار الكبدية والتتخر الخلوي أو حدوث خلل في المادة الوراثية للخلية التي تسبب حدوث الأورام الكبدية Hepatocellular carcinoma و سرطان القنوات الصفراوية Cholangiocarcinoma و السرطان الغدي Adenocarcinoma

(Unnisa *et al.*, 2021) ، إذ افادت دراسة اجراها Al- Noshokaty واخرون (2022) على ان اعطاء مركب TAA بجرعة مقدرها 200 ملغم/ كجم مرتين أسبوعيا تحت الغشاء البريتوني ولمدة 16 اسبوع ، قد أدى إلى حث سرطان الخلايا الكبدية في الجرذان المختبرية. كما اشارت الدراسات بأن الجرعة الفردية من هذا المركب بمقدار 1-2 ملي مول / كغم تسبب حدوث التنخر في الفصيص المركزي في الكبد (Saad And Sedeek , ; Hernandez-Blazquez *et al.*, 2018 ; Mansour *et al.*, 2017) (2020).

ويكمن دور مركب TAA في احداث الأصابة الكبدية في قدرته على زيادة تنشيط الخلايا النجمية الكبدية (HSC) hepatic stellate cells والتي تعد الخلايا المسؤولة عن حدوث التلف الكبدي، إذ تعمل خلايا HSC المنشطة على إفراز بروتينات محفزة للجسيمات الالتهابية وان التنشيط المستمر للخلايا النجمية الكبدية يؤدي الي تكوين كميات كبيرة من الكولاجين الذي يؤدي بدوره إلى حدوث التليف الكبدي ثم يتطور المرض بعد ذلك مؤديا إلى حدوث الأورام الكبدية (Dwivedi *et al.*, 2020).

كما أن مركب TAA يسبب تأثيرات تحطيمه على العديد من أعضاء الجسم الأخرى ومنها الدماغ مؤديا بذلك إلى حدوث التدهور العصبي نتيجة لارتفاع مستويات الأمونيا وحدث التهاب الأعصاب الدماغية ، إضافة إلى دوره في حدوث الوذمة الدماغية cerebral edema وتسببه في تغيير نفاذية الحاجز الدماغى الدموي (BBB) Blood-Brain Barrier (Grant *et al.* , 2018) ، كما وأثبت دوره في إحداث الاعتلالات الكلوية وتأثيرات سمية على الطحال والرئتين والأمعاء (Jorgačević *et al.* , 2022)

كما ويعد الشكل المؤكسد لمركب الثيوأسيتاميد (TAASO) مسؤولا عن اطلاق انزيمات اكسيد النتريك nitric oxide synthase و عوامل النسخ المؤيدة للالتهابات (NF-KB) nuclear factor-κB التي تعمل كموجه لعمليات نخر الفصيص المركزي للخلايا الكبدية ، هذا فضلا عن تثبيطه للأنشطة الحيوية لعضيات الميتوكوندريا و اضعاف دورة اليوريا ونشاط انزيم الأورنثين أمينو ترانسفيريز (OAT) ornithine amino transferase و انزيم غاما غلوتاميل الناقل للبيبتيد (GGT) ، حيث يؤدي التناول المباشر لمركب TAA عن طريق الفم إلى ظهور العقيدات الكبدية الكبيرة وأورام خلايا الكبد وأورام الاقنية الصفراوية و أيضا سرطان الكبد (Veerakumar and Muthulingam , 2021) ، كما و يسبب التمثيل الغذائي لهذا المركب تأثيرا كبيرا على مستويات الانزيمات الكبد ، إذ يسبب زيادة كبيرة و ملحوظة في انزيم الاسبارتات الناقل لمجموعة الامين (AST) وانزيم الألبانين الناقل لمجموعة الامين (ALT) وارتفاع نسبة البيليروبين Bilirubin ، بالإضافة إلى تحفيزه للتغيرات النسجية المرضية مثل الحث على الموت المبرمج و ارتشاح خلايا الالتهابية والخلايا الليمفاوية lymphocytes و تحريض الالتهابات البوابية الكبدية (Sepehrinezhad *etal.* , 2021) Portal inflammation hepatic

7-2 الكبد Liver

الكبد هو أكبر عضو في الجسم وهو عضو غدي يقع في الجزء العلوي الايمن من تجويف البطن إلى الأسفل من الحجاب الحاجز ومحمي كلياً بواسطة القفص الصدري ، إذ يزن الكبد الطبيعي للشخص البالغ حوالي 1400-1600 غرام اي يشكل ما يقرب 2.5 % من وزن الجسم ، وهو يتألف من فصين رئيسيين الفص الايمن والفص الايسر يضاف اليها فصين صغيرين هما الفص المذنب caudate lobe والفص المربع , quadrate lobe و يفصل بين هذه الفصوص بواسطة اربطة هي الرباط المنجلي Falciforme ligamentum والرباط المدور Ligamentum teres والرباط الوريدي Ligamentum venosum (Nguyen And Zhang ,2020) .

ويتميز الكبد عن باقي أعضاء الجسم بسمة فريدة وهي الأمداد الدموي المزدوج الذي يتلقاه من الشريان الكبدي (HA) hepatic artery والوريد البابي (PV) portal vein ، إذ يتلقى هذا العضو حوالي ربع النتاج القلبي عند الراحة 1500 ملم / الدقيقة من الشريان الكبدي والذي يحمل الدم المؤكسج في حين يتم توفير ما يقارب 75% من التروية الدموية عن طريق الوريد البابي الذي يحمل الدم غير مؤكسج والمغذيات والذي يتفرع عند سرة الكبد hepatis porta إلى فروع أصغر وأصغر تنتشر في اجزاء الكبد ، ويقوم الكبد بتصفية الدم كلياً عبر تدفقه من الشريان الكبدي والأوردة الكبدية إلى الأوردة المركزية Central Veins (CV) والتي تتجمع في النهاية لتشكل الوريد الكبدي (HV) Hepatic Vein والذي يصب في الوريد الاجوف السفلي الذي بدوره ينقل الدم غير مؤكسج إلى القلب (Yang , 2021) ، وتؤدي الدورة الدموية الدقيقة للكبد دوراً هاماً في الحفاظ على وظائف خلايا الكبد وتنظيم عمل الأوعية الدموية والسيطرة على الالتهابات ، ويؤدي الضعف الحاصل في الدورة الدموية الدقيقة للكبد إلى تحفيز الآليات الرئيسية المسببة لتطويع امراض الكبد (Gracia-Sancho et al.,2019) .

يتم تنفيذ الوظائف الحيوية والهامة في الكبد عن طرق الخلايا الكبدية hepatocytes والتي تشكل حوالي 80% من كتلة الكبد إلى جانب ذلك توجد ستة انواع من الخلايا الداعمة لوظائف الكبد الهامة وهي الخلايا الظهارية الصفراوية biliary epithelial cells ، الخلايا النجمية stellate cells ، الخلايا البطانية الجيبية sinusoidal endothelial cell ، الخلايا المتغصنة dendritic cells ، الخلايا الضامة macrophages ، إضافة إلى انواع الخلايا الكبدية المناعية وهي خلايا كوبفر Kupffer cells ، إذ تشكل هذه الخلايا جنباً إلى جنب مع خلايا الكبد الاساسية hepatocytes وحدات تشريحية مرتبة على شكل اعمدة سداسية تدعى فصيصات الكبد liver lobules والتي تمثل الوحدة الوظيفية التشريحية الاساسية للكبد و (Almeida ; Itzkovitz And Ben-Moshe2019 ; Huppert And Iwafuchi 2019) و يتمتع الكبد بالقدرات التجديدية الفريدة والتي تعد أمراً هاماً للحفاظ على الاستقرار (et al., 2022) ،

الداخلي للجسم ووظائفه ، إذ تمتلك الخلايا الكبدية إستراتيجيات تجديد متعددة تمكنه من الشفاء حتى عند الاصابات الحادة (Michalopoulos And Bhushan,2021).

يؤدي الكبد العديد من الوظائف الأساسية الضرورية في جسم الإنسان ، حيث يلعب دورا رئيسيا في الفعاليات الأيضية للجسم و امتصاص كميات كبيرة من العناصر الغذائية المذابة والتي تشمل الاحماض الدهنية و الاحماض الامينية و الحديد و السكريات و استقلاب الكربوهيدرات وتنظيم مستويات الجلوكوز و تكوين البروتينات (الألبومين Albumin ، الغلوبولين الفا وبيتا alpha , beta globulins) و تخليق وتنظيم عوامل التخثر Coagulation Factors و انتاج الصفراء Bile و خزن الفيتامينات (فيتامين A و فيتامين E و فيتامين D و فيتامين K و فيتامين B12) و تصنيع و إفراز هرمون مولد الانجيوتنسين Angiotensinogen الذي يسبب تضيق الأوعية الدموية مما يساهم في ارتفاع ضغط الدم ، كما ويؤدي الكبد دورا مناعيا مهما من خلال خلايا كوبر التي تعمل على تدمير العوامل المسببة للالتهابات وتحسين الاستجابات المناعية ، اضافة إلى دوره الفعال في أيض العديد من المواد الكيميائية والعقاقير والادوية (Ajjawi , 2022) ، كما ويقوم الكبد بتنظيم مستويات الكوليسترول من خلال انتاج البروتين الناقل لإسترات الكوليسترول Cholesterylester transfer protein (CETP) الذي له دورا مهما في نقل أسترات الكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية من البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة جدا (VLDL) أو المنخفضة الكثافة Low Density Lipoprotein (LDL) ويعمل على استبدالها بأسترات الكوليسترول الموجودة في الكوليسترول عالي الكثافة High Density Lipoprotein (HDL) وبذلك يساهم في زيادة HDL وانخفاض LDL (Wang et al. ,2015).

8-2 سرطان الكبد Liver Cancer

إن سرطان الخلايا الكبدية Hepatocellular carcinoma (HCC) هو ورم الكبد الأولي الأكثر شيوعا وهو يحتل المرتبة الرابعة كأحد أسباب الوفيات المرتبطة بالسرطان في جميع انحاء العالم (Pan et al. ,2020).

من المعروف أن العديد من عوامل الخطر التي تساهم في زيادة اصابة الافراد بسرطان الكبد الأولي HCC ، إذ تنشأ الاصابة بعد تعرض الخلايا الكبدية لفترات زمنية طويلة للمواد الكيميائية والمسببات المرضية و الالتهابات المزمنة والتي من شأنها تؤدي إلى تحول خلايا الكبد الطبيعية إلى خلايا سرطانية (Li et al. , 2022)، ومن الممكن ان يكون سرطان الكبد ثانويا Metastasis cancer أي انتقال الورم السرطاني المتواجد في عضو اخر من الجسم إلى الكبد (Vogel et al., 2023).

تحصل الأصابة بسرطان الكبد بعد أن يمر هذا العضو بالعديد من المراحل المرضية المعقدة ، فعند الأصابة بعدوى فايروسية على سبيل المثال تبء مرحلة الالتهاب الكبدي وهي المرحلة الأولى للأصابة ، إذ تقوم خلايا الكبد بعملية إصلاح نفسها وتكوين خلايا جديدة لكن مع استمرار الأصابة وتكرارها وما يترتب عليه من تشكل النسيج الندبي Cicatricial tissue في محل خلايا الكبد الطبيعية وتزايد حجمه تفقد بذلك الخلايا الكبدية قدرتها على القيام بوظائفها المختلفة وينتقل الكبد من مرحلة الالتهاب الكبدي إلى مرحلة الثانية وهي مرحلة التليف الكبدي (Rajapaksha, 2022) liver fibrosis ، ومع استمرار الاسباب المؤدية للتليف الكبدي يصاب الكبد بتليف شديد يعرف باسم التشمع الكبدي liver cirrhosis ، إذ تعد هذه المرحلة من المراحل المتقدمة للتليف الكبدي والتي تليها مرحلة سرطان الكبد (Loosen *et al.* ,2022).

كما يمكن للعديد من الأليات الخلوية أن تساهم في نشوء سرطان الكبد كالتغيرات الحاصلة في الحمض النووي للخلايا الكبدية ، إذ تؤدي هذه التغيرات أو الطفرات إلى حدوث خلل في عملية الانقسام الخلوي يؤدي إلى نمو الخلايا بشكل غير مسيطر عليه وتشكيل كتلة خلوية غير طبيعية تمثل الأورام الكبدية، لتتطور خلايا الكبد السرطانية بعد ذلك إلى العقيدات الورمية (Sanduzzi-Zamparelli ; Morris *et al.*,2022) . (et al.,2022)

9-2 أنزيمات الكبد Liver Enzyme

1-9-2 الانزيمات الناقلة لمجموعة الأمين (AST Alanine Asparatate Transaminase) transaminase (ALT)

تلعب الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين دورا مهما في عملية التمثيل الغذائي للأحماض الأمينية ، إذ تحفز عمليات نقل مجموعة النتروجين الأميني الفا α -amino nitrogen من الاسبارتات AST أو الأنين ALT إلى حمض الفا - الكيتوكلوتاريت مؤدية إلى إنتاج الغلوتامات glutamate ، كما وتشارك هذه الانزيمات في العديد من الوظائف الهامة منها تصنيع السكر gluconeogenesis وتخليق اليوريا في الكبد ، (Kumar , 2023) .

تمتلك انزيمات AST و ALT انتشارا واسعا في مختلف الانسجة الجسمية وبنسب متفاوتة ، إذ يتواجد انزيم AST في الكبد ، الكلى ، القلب والأوعية الدموية ، الدماغ ، العضلات ، البنكرياس ، الطحال ، الرئة وهو يكون بشكلين مميزين هما AST السائتوبلازمي Oxaloacetic Transaminase (GOT1) أو (Cytoplasmic AST cAST) و AST الميتوكوندريا Oxaloacetic Transaminase (GOT2) أو (Mitochondrial AST mAST) (Ndrepepa , 2021) ، أما انزيم ALT فهو يوجد بشكل اساسي في الكبد وبنسبة اقل في القلب والكلى والدماغ

ولهذا تعد مستوياته عاملا محددًا للأصابة بالخلايا الكبدية ومدى شدته (Aulbach And Amuzie , 2017) ، كما ويتواجد هذا الانزيم في العصارة الخلوية Cytosol وله عمر نصف يبلغ حوالي 47-48 ساعة في حين يوجد 20 % من أنزيم AST في العصارة الخلوية و 80 % منه في الميتوكوندريا ويبلغ عمر النصف له حوالي 17-87 ساعة (Kim and Wu , 2020) .

تشير النسبة AST/ALT ratio للتغير المتزامن لمستويات انزيم AST و ALT والتي تستخدم كعلامة تنبؤية اساسية لقياس شدة الأمراض الكبدية كالتليف الكبدي وأيضا الأمراض غير الكبدية مثل امراض القلب والأوعية الدموية cardiometabolic diseases ، متلازمة التمثيل الغذائي (MetS) Metabolic Syndrome و مقاومة الانسولين Insulin Resistance ومرض الكبد الدهني اللاكحولي Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) ومرض السكري النوع - 2 Type II diabetes mellitus و تصلب الشرايين Arteriosclerosis و السكتة الدماغية Stroke (Yan et al. ,2023).

2-9-2 انزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline Phosphatase (ALP)

هو أنزيم ذو خصائص فيزيائية وكيميائية مميزة وهو يوجد في جميع انسجة الجسم تقريبا، لكنه متوفر بشكل خاص في الكبد والعظام و القناة الصفراوية وبنسبة قليلة في الأمعاء والكلى فضلا عن تصنيعه من قبل المشيمة ، كما يتواجد أنزيم ALP على الغشاء البلازمي للخلايا الكبدية ويكون مسؤولا عن تنظيم الانشطة الإفرازية في الكبد (Balbaied And Moore , 2019) .

يلعب انزيم ALP دورا هاما في عملية تكلس العظام في المراحل العمرية المبكرة ، إذ يعمل على توفير الفوسفات غير العضوي إلى الخلايا البانية للعظم osteoblasts والخلايا الغضروفية chondrocytes مما يساهم في تخليق الانسجة الصلبة (Cannalire et al. ,2023).

يشير ارتفاع مستويات هذا الانزيم في مصل الدم إلى عدة حالات مرضية غالبا ما تتعلق بانسداد القنوات الصفراوية واصابة الكبد و أورام العظام وأيضا سرطان الغدد اللمفاوية في حين يمثل انخفاض تركيز انزيم ALP علامة بايولوجية مؤكدة للاضطرابات الأيضية مثل مرض ويلسون Wilson's disease أو امراض الدم مثل فقر الدم اللاتنسجي Aplastic anemia و ابيضاض الدم النقوي المزمن chronic myelogenous leukemia (Tang et al.,2019)

3-9-2 الألبومين Albumin

وهو من البروتينات الاساسية والأكثر وفرة في بلازم الدم يبلغ وزنه الجزيئي 66. 348 كيلو دالتون و يشكل تركيزه ما يقارب 30-50 ملغم / مل ، وهو من البروتينات الكروية الشكل وله عمر نصف يبلغ

حوالي 19 يوماً ، حيث يتم تصنيعه في الكبد بشكل ما قبل الألبومين (pre-pro-albumin) ليكمل نضجه في الشبكة الاندوبلازمية الداخلية Endoplasmic Reticulum واجسام كولجي Golgi bodies ثم يفرز من خلايا الكبد إلى الدم ، و يتكون الشكل الناضج لبروتين الألبومين من 585 حامض اميني (2021) , (Mishra And Heath). يمتلك الألبومين العديد من الوظائف الفسيولوجية المهمة في الجسم إذ يدعم ارتباط ونقل الأحماض الدهنية والبيليروبين الصفراء وايونات المعادن مثل الزنك Zn_{2+} والكالسيوم Ca_{2+} والحديد Fe ، حيث يساهم ارتباط الألبومين بأيونات المعادن في الحد من قدرة هذه الأيونات في تحطيم خلايا الجسم ويقلل من تأثيرها كجذور حرة مما يمنح الألبومين نشاط مضاد للأكسدة (Kuten Pella et al. ,2022).

10-2 الكلى Kidney

الكليتان هما عضوان علي شكل حبة الفاصولياء، يقعان في اعلى الجدار البطني على جانبي العمود الفقري بمستوى الفقرات الصدرية الثانية عشر ، وتكون الكلية اليمنى بمستوى منخفض قليلا عن الكلى اليسرى بسبب موقع الكبد ، يبلغ طولها عند البالغين حوالي 12 سم و عرضها 6 سم (Bazira , 2022) ، تزن الكلى في جسم الإنسان حوالي 100-180 غم وهي تظم ما لا يقل عن 16 نوع من الخلايا الظهارية عالية التخصص (Balzer et al. , 2022)

تتلقى الكليتان اليمنى واليسرى معا أكثر من 1 لتر من الدم اي ما يقارب 20 % من النتاج القلبي عبر الشريان الكلوي Renal artery الذي يتفرع إلى شرايين اصغر تسمى الشريينات Arterioles ، يتدفق الدم من الشريان الكلوي الي الشريينات الموجودة داخل الكبيبة glomerulus والتي هي أحد الاجزاء الأساسية للنفرون Nephron وهو الوحدة الوظيفية للكلية (Mahadevan , 2019) ، إذ تحتوي كل كلية على اكثر من مليون نفرون ويتكون كل نفرون من الكبيبة (شبكة من الأوعية الدموية الشعرية محاطة بمحفظة بومان) والنيبيات البولية والتي تشمل النبيب الملتوي القريب proximal convoluted tubule وعروة هنلي loop of Henle والنبيب الملتوي البعيد distal convoluted tubule والنيبيات الجامعة Collecting tubule (Raghubar et al. , 2022) . تتكون كل كلية من جزء خارجي يسمى القشرة وجزء داخلي يسمى اللب، وتوجد الكبيبات البولية في محفظة القشرة في حين توجد النبيبات البولية في منطقة القشرة والللب معا ويوجد بداخل الكلية الحوض الكلوي Ranel pelvis الذي يتصل مع الحالب ureter (El-Zaatari et al. ,2020) .

تعمل الكلى على تصفية الدم من الفضلات عن طريق النفرونات من خلال ثلاث عمليات اساسية هي الترشيح Filtration وإعادة الامتصاص Reabsorption والإفراز Secretion (Alealign And) Glomerular filtration rate (Petros, 2018) ، ويمكن للكليتين من زيادة معدل الترشيح الكبيبي

(GFR) بمعدل يومي يصل إلى 125 مل / الدقيقة (Gronda *et al.* , 2023) ، ويمكن الحفاظ على هذه الوظيفة حتى بعد فقدان نصف العدد من النفرونات وهذا ما يجعل الشخص السليم قادر على التبرع بإحدى الكليتين وفقدان 50% من النفرون الاساسي ، فعندما يكون عدد النفرونات مكتمل لا يحتاج كل نفرون العمل بأقصى سعة والمحافظة على معدل الترشيح الكبيبي الطبيعي (Kramer, 2019) .

كما تقوم الكلى بالعديد من الوظائف الحيوية في الجسم منها تنظيم السوائل الجسمية وتنظيم الضغط الشرياني والحفاظ على التوازن الحامضي القاعدي Acid-base balance ، كما انها تقوم بوظيفة إفرازية إذ تفرز العديد من الهرمونات مثل هرمون الإريثروبويتين Erythropoietin وهرمون الكالسيترون وأنزيم الرينين الذي له دورا هاما في ارتفاع ضغط الدم و انزيم الكاليكريين Kallikrein والذي له دور مهم في تنظيم ضغط الدم والتفاعلات الالتهابية (Gallardo And Vio 2022).

11-2 البيليروبين الكلي (Total Bilirubin (T-BIL)

البيليروبين مادة صفراء رباعية البيروول (مركب كيميائي حاوي على ذرة نتروجين) ناتجة من عملية تحلل الهيم heme الموجودة في الهيموجلوبين داخل كريات الدم الحمراء ، ويتواجد البيليروبين في السوائل الجسمية بشكلين هما البيليروبين الحر والبيليروبين المرتبط وبتراكيز تتراوح من 5-34 ميكروليتر في مصل الأصحاء البالغين ، وبتراكيز اعلى عند الاطفال حديثي الولادة ، إذ تصل حوالي 500 ميكروليتر عند حالات فرط بيليروبين الدم Hyperbilirubinemia أو ما يسمى باليرقان الذي يتميز بتصبغ الجلد والأظافر و العيون بالون الأصفر (Bell *et al.* ,2019) . تتم عملية التخلص من البيليروبين الحر من خلال إفرازه في القناة الصفراوية أو تصفيته في الكلى وإفرازه مع البول أو قد يعاد امتصاصها في الدم بواسطة الانسجة المخاطية المعوية ويعاد تحويله إلى الكبد ثم إلى الأمعاء (Swinkels & Cappellini , 2017) ، ويطلق على مستويات البيليروبين في مصل الدم بمصطلح Total Serum Bilirubin الذي ترتبط مستوياته المرتفعة مع خطر الإصابة بالعديد من الأمراض كأمراض القلب و متلازمة التمثيل الغذائي و النوع الثاني لداء السكري Type II Diabetes Mellitus (Kunutsor *et al.* ,2020) ; Hinds Jr And Stec,2018) ، فضلا على ان مستويات البيليروبين تكون ذات أهمية كبيرة في تقييم كفاءة وظائف الكبد والكشف عن العديد من الأمراض التي تصيب الكبد مثل (NAFLD) Nonalcoholic Fatty Liver Disease (Filiz *et al.* ,2005).

12-2 الكرياتينين Creatinine

الكرياتينين هو مركب كيميائي ثانوي (2-amino-1-methyl-5H-imidazol-4-one) يتم انتاجه عن طريق استقلاب البروتين و عملية ايض فوسفات الكرياتين creatine phosphate في العضلات ، والذي عادة ما يتم تصفيته من الدم والتخلص منه عن طريق الكلى وأفرزاه في البول ، ويعد البروتين و العضلات من العوامل المحددة لمستويات الكرياتينين في الجسم لهذا فأن مستوياته عند الرجال تكون اعلى نسبيا من مستوياته عند النساء والأطفال (Babu *et al.* , 2022)

تحديد مستوى الكرياتينين من الفحوصات المهمة التي تستخدم لتقييم الخلل الوظيفي الكلوي و حالات قصور الغدة الدرقية اضافة إلى دوره في تشخيص الاضطرابات العضلية ، ويكون مستواه الطبيعي في مصل الدم حوالي 40-140 ميكروليتر و معدل إفرازه اليومي في البول بحدود 0.8 - 2.0 مايكروليتر لذا فان المستويات المرتفعة من الكرياتينين تشير إلى انخفاض معدل الترشيح الكبيبي (GFR) وإصابات الكلى الحادة (Acute Kidney Injury (AKI) في حين تشير المستويات المنخفضة من الكرياتينين إلى انخفاض كتلة العضلات ، فضلا عن أنه يعد مؤشر حيوي للتلف العضلي (Pundir *et al.* , 2019) .

13-2 اليوريا Urea

مركب عضوي ذات صيغة كيميائية $CO(NH_2)_2$ يمثل الناتج النهائي التقويضي للبروتينات والاحماض الأمينية ، إذ يتراوح تركيزه في مصل الدم عند الظروف الطبيعية ما بين 15 - 40 ملغرام \ ديسلتر (2.7- 2.5 ملم) وهو مؤشر رئيسي ذات اهمية سريرية لقياس كفاءة ونشاط الكلى والكبد في الظروف المرضية والطبيعية (Quadri *et al.* , 2023) ، ويتم انتاجه من خلال دورة اليوريا التي تحدث في الكبد إذ يتم تحول الأمونيا إلى يوريا كخطوة اساسية للمساعدة في منع الاضرار السامة الناجمة من ارتفاع مستويات الامونيا NH_4 في الجسم (Matsumoto *et al.* , 2019) ، كما وتشير المستويات المرتفعة من اليوريا إلى امراض الكلى المزمنة وحالات الفشل الكلوي ، و هذا يعود احتوائها على النتروجين والتي لها القدرة على تخليق مركبات اخرى شديدة السمية تدعى سموم اليوريا uremic toxins التي تسبب اضطرابات في مستويات السوائل الجسمية والكهارل والهرمونات والتي بدورها تؤدي إلى حدوث ضررا بالغا في مختلف الانسجة (Adeyomoye *et al.* , 2022) .

14-2 الجلوتاثيون (GSH) Glutathione

يعد الجلوتاثيون من أهم مضادات الأكسدة الداخلية التي تساهم في تقليل الضرر التأكسدي الناجم عن تراكم أنواع الأوكسجين والنتروجين التفاعلية الضارة (Aoyama , 2021) ، وهو عبارة تركيب

ثلاثي الببتيد مؤلف من ثلاث أحماض امينية هي السيستين Cysteine و الكلايسين Glycine و حمض الجلوتاميك Glutamic acid ، إذ يتم تصنيعه في جميع خلايا الجسم بما يقارب 90% في العصارة الخلوية و 10% في الميتوكوندريا وكمية قليلا جدا في الشبكة الاندوبلازمية الداخلية (ER) ، وهو يتواجد اما بشكله المختزل Reduced Glutathione (rGSH) أو بشكله المؤكسد Glutathione (GSSG) disulfide (Lu , 2020) .

تتضمن عملية تخليق GSH إنزيمين أساسيين الأول هو glutamate-cysteine ligase (GCL) والذي يعمل على ربط غاما - غلوتاميل gamma-glutamyl مع السيستين cysteine لتكوين مركب glutamyl cysteine- δ و بعدها يقوم الأنزيم الثاني وهو glutathione synthase (GS) بتكوين الجلوتاثايون عن طريق تحفيز ارتباط الحامض الأميني الكلايسين مع مركب glutamyl cysteine- δ ، ثم تحدث عملة أكسدة للجلوتاثايون المختزل بواسطة أنزيم جلوتاثايون بيروكسيد glutathione peroxidase (GPx) الذي يعمل على تحويل الجلوتاثايون من الشكل المختزل الي الشكل المؤكسد GSSG الذي يعمل على إزالة الجذور الحرة خاصة بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 وتقليل الاضرار الخلوية الناتجة بواسطة بيروكسيدات الدهون ، ولاحقا يتم تحول GSSG إلى الصيغة المختزلة rGSH مرة اخرى بواسطة انزيم الجلوتاثايون المختزل Glutathione Reductase (GR) الذي له دور مهم في ازالة السموم الخلوية (Iskusnykh *et al.* ,2022).

كما ويؤدي GSH العديد من الوظائف الهامة في الخلايا بما في ذلك الحفاظ على توازن عمليات الاكسدة والاختزال في داخل الخلية و تقليل الاجهاد التأكسدي و اكتساح الجذور الحرة وتدعيم الجهاز المناعي ، فضلا عن تنظيم عمليات النمو الخلوي والموت المبرمج (Chai And Mieyal , 2023) ، ولذا فإن المستويات المنخفضة لهذا المركب تساهم في حدوث الضرر التأكسدي الشديد والذي يرتبط بظهور و تطور الكثير من الأمراض (Armeni And Principato,2020).

2-15 انزيم أوكسيد الديسموتاز الفائق (SOD) Superoxide dismutase enzyme

وهو من أهم الأنزيمات المضادة للأكسدة في الجسم التي تعمل بكفاءة عالية لتحفيز تفكك جذر الأوكسيد الفائق ($O_2^{\cdot-}$) إلى بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) والذي يتحول فيما بعد إلى ماء (H_2O) و أوكسجين (O_2) بواسطة انزيم الجلوتاثايون بيروكسيداز (GPx) وانزيم الكاتاليز (CAT) ، ولهذا فهو يمثل خط الدفاع الأول في الجسم ضد الأضرار التأكسدية الناجمة من انواع الأوكسجين التفاعلية ROS (Zhao *et al.* , 2021).

يتواجد هذا الأنزيم في حقيقيات النواة وبعض بدائية النواة في داخل وخارج الاغشية الخلوية ، إذ يحدد نشاطه بأيونات المعادن التي ترتبط به كعوامل مساعدة وهي النحاس Cu والزنك Zn والمنغنيز Mn ، إذ يتواجد ال SOD على ثلاث اشكال اعتمادا على نوع المعدن المرتبط به الشكل Cu, Zn-SOD SOD1 هو الذي يوجد في العصارة الخلوية والغشاء البيني للميتوكوندريا و الشكل Mn-SOD SOD2 الذي يوجد في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا في حين يتواجد الشكل الثالث SOD3 والي يعرف ب Cu, Zn- SOD في الحيز خارج الخلية ، إذ تعمل هذا الاشكال الثلاثة متجمعة على حماية الخلية والحمض النووي من التلف الذي تسببه أنواع الجذور الحرة ، كما ويشترك هذا الانزيم في إزالة جذور النيتروجين التفاعلية Reactive Nitrogen Species (RNS) خاصة بيروكسي نترت (ONOO-) peroxynitrite الناتج من تفاعل جذر الأوكسيد الفائق ($O_2^{\cdot-}$) مع أكسيد النترينك NO مما يساهم بشكل كبير في تقليل الضرر التأكسدي (Rosa et al. , 2021) ، كما وجد أن النقص الحاصل في مستويات ال SOD ارتبط بظهور العديد من الاضطرابات العصبية مثل مرض الزهايمر Alzheimer's disease و مرض باركنسون Parkinson's disease وفقدان سلامة غشاء ميتوكوندريا الخلايا العصبية و نضوب الطاقة ATP (Singh et al. , 2021) .

16-2 المألون ثنائي الديهايد (MDA) Malondialdehyde

وهو مركب ثانوي ناتج من عملية الاكسدة الفائقة للدهون الحاصلة في اغشية الخلايا الجسمية و يعد كعلامة حيوية لقياس مستويات الاجهاد التأكسدي و ذلك لقدرته على احداث التفاعلات مع الجزيئات الاخرى كالكربوهيدرات والبروتينات وجزيئات DNA مما يؤدي حدوث اضرار كبيرة للجينات ، إذ تمت الاشارة إلى MDA على انه الجزيء الأكثر ضراوة وتطفيرا من بين انواع الأوكسجين التفاعلية (Toto et al., 2022) ، وتشير المستويات المرتفعة لل MDA في المصل إلى ارتفاع مستويات الاجهاد التأكسدي وبالتالي ظهور العديد من الأمراض التي تسهم في تكوين انواع الجذور الحرة نتيجة لعملية بيروكسيدية الدهون (Tsikas , 2023).

ويشار إلى العملية التي تتفاعل بيها الجذور الحرة مع الاحماض الدهنية غير المشبعة المتواجدة في الاغشية الخلوية إلى بيروكسيدية الدهون Lipid peroxidation وهي تشمل تحلل أو تفكك الاحماض الدهنية غير مشبعة عبر سلسلة من التفاعلات التي من شأنها ان تؤثر على البنية الخلوية ووظيفتها (Sergent et al. , 2018) ، إذ يؤدي هذا التفاعل إلى كسر الروابط المزدوجة للأحماض الدهنية الغير مشبعة وتحويلها إلى مركبات سامة تسبب تلف الاغشية الخلوية (Asni et al. , 2009) ، كما وتؤدي عملية بيروكسيدية الدهون إلى حدوث الاصابة الخلوية والالتهابات و تغيرات في نفاذية وسيولة الاغشية الخلوية مما يؤثر على معدل الايونات الداخلة والخارجة عبر الغشاء وفقدان السلامة الخلوية (Guéraud

(*et al.*, 2010) وتمثل الية تكوين MDA عبر عملية بيروكسيدية الدهون من خلال دورها في إزالة ذرات الهيدروجين H من جزيئات الدهون غير المشبعة بواسطة جذر الهيدروكسيل (OH-) لتكوين جذور الأحماض الدهنية التي تتفاعل مع ذرات الأوكسجين (O₂) لتشكل جذور البيروكسيل (ROO⁻) التي تنتج بعد ذلك جزيئات ال MDA (Yerizel *et al.*, 2019).

يؤدي ال MDA إلى تحطم المكونات الخلوية وذلك لقدرته على احداث تغيرات في النفاذية الانتقائية للأغشية الخلوية عند تفاعله مع البروتينات و الدهون المفسفرة (Phaniendra *et al.*, 2015)، فضلا عن دوره في حدوث الطفرات الجينية وذلك من خلال تأثيرها على جزيئات الحمض النووي DNA والذي له دورا رئيسيا في تطوير الأورام السرطانية (Jelic *et al.*, 2021).

17-2 عامل التنخر الورمي الفا (TNF- α) Tumor Necrosis Factor-

عامل التنخر الورمي الفا TNF- α بروتين ذو وزن جزيئي يبلغ حوالي 17 كيلو دالتون ، وهو من أهم السيتوكينات الالتهابية الذي حدد لأول مرة كعامل يسبب تنخر الورم ويعد وسيطا مركزيا للالتهابات المزمنة وله دور في تطوير الأورام الخبيثة (Tan *et al.*, 2019)، يصنع هذا البروتين بشكل اساسي من قبل خلايا الدم البيضاء والخلايا البلعمية Macrophage و الخلايا اللمفاوية lymphocytes و خلايا العضلات الملساء Smooth muscle cells و الخلايا البطانية endothelial cells و الأورومات الليفية fibroblasts (Cai *et al.*, 2020)، كما ويتم انتاجه بواسطة الانسجة الدهنية Adipose Tissue و خلايا عضل القلب Cardiac Myocytes و خلايا الدماغ Brain cell مثل الخلايا النجمية Astrocytes و الخلايا الدبقية الصغيرة Microglia، وبسبب خصائصه المحرصة للالتهاب فقد وجد بأن له دور اساسي في امراض المناعة الذاتية و التهاب الامعاء و الاضطرابات الابضية كالسمنة و دنف السرطان Cancer Cachexia (فقدان زون الجسم) و الاضطرابات النفسية كمرض الزهايمر و الاكتئاب الشديد و فقدان الشهية العصبي Anorexia Nervosa (Patsalos *et al.*, 2020).

يوجد عامل التنخر الورمي الفا TNF- α بشكلين الشكل القابل للذوبان soluble form والشكل عبر الغشاء transmembrane form، إذ ينتج هذا العامل في بداية الامر بالشكل الأولي الذي يسمى عامل التنخر الورمي الفا عبر الغشاء (tmTNF- α) transmembrane TNF- α ، ذلك بسبب تواجده على غشاء الخلية قبل ان يتحول الشكل القابل للذوبان soluble TNF- α (sTNF- α) بواسطة الانزيم المحول لعامل التنخر الفا (TACE) TNF- α -converting enzyme إلى الشكل القابل للذوبان soluble TNF- α (sTNF- α) (Jang *et al.*, 2021)، ويتم التعبير عن عامل التنخر الورمي الفا TNF- α بواسطة جين يدعى TNF- α (Rolski And Błyszczuk, 2020)، ويرتبط عامل التنخر

الورمي الفا بمستقبلاته الأول (TNFR₁) و TNF Receptor₂ (TNFR₂) والثاني ، إذ يتم التعبير الجيني عن المستقبل الأول في جميع الانسجة لكونه المستقبل الرئيسي للإشارات ، في حين يعبر جينيا عن المستقبل الثاني وبشكل غالب في الخلايا المناعية لتسهيل الاستجابات المناعية المحدودة (Mortaz *et al.*, 2021).

وقد اشارت العديد من الدراسات إلى الادوار البايولوجية الفعالة لعامل التنخر الورمي الفـا TNF- α في تنشيط موت الخلايا المبرمج وتعزيز الفعالية الحيوية للجهاز المناعي، كما وبينت أهميته في الحفاظ على الخلية وتنظيم عمليات التمثيل الغذائي ودوره الوقائي في حالة دفاع المضيف و دوره الضار للخلايا، إذ تختلف تراكيز هذا العامل اعتمادا على مسببات الاصابة (Zhao *et al.*, 2020).

2-18 الإنترلوكين 10 (IL-10) Interleukin-10

الإنترلوكين بروتين قابل للذوبان في السوائل الجسمية ينتمي إلى عائلة السيتوكينات التنظيمية المناعية الهامة التي تعمل على إنهاء العمليات الالتهابية عبر تثبيط عمل الخلايا الدفاعية المسؤولة عن المسارات المحفزة للالتهاب (Saxton *et al.*, 2021) ، إذ يلعب ادورا مهمة واساسية في منع الاستجابات المناعية المفرطة للمسببات المرضية (الميكروبية و الجرثومية) و امراض المناعة الذاتية و الحفاظ على تحقيق الاستتباب الداخلي، بالإضافة إلى دوره في التئام الجروح (Saraiva *et al.*, 2019) ، وعادة ما يشار إلى السيتوكينات على انها جزيئات بروتينية صغيرة مسؤولة عن التفاعلات والاتصال ما بين الخلايا الجسمية ، إذ تنظم نقل الاشارات ما بين الخلايا المجاورة و البعيدة أو تعمل على الخلايا المفترزة لها (Morris *et al.*, 2022)

يتم انتاج IL-10 بواسطة انواع مختلفة من الخلايا من ضمنها الخلايا النخاعية الخلايا المتغصنة Dendritic cells و البلاعم Macrophages و العدلات Neutrophils و الحمضات Eosinophils و الخلايا البدينة Mast cell و الخلايا اللمفاوية Lymphoid cells المتضمنة الخلايا البائية B cell و الخلايا التائية T cell و الخلايا القاتلة الطبيعية (NK) Natural killer cells ، و يتكون هذا البروتين من 160 حامض اميني و يبلغ الوزن الجزيئي له حوالي 37 كيلو دالتون وله عمر نصف قصير نسبيا يقدر ب 2.7 – 4.5 ساعة (Minshawi *et al.*, 2020 ; Li And Yin, 2023) ، يشفر جين الإنترلوكين 10 بروتين IL-10 والذي يرتبط بالمستقبل الرباعي عبر الغشاء و المكون من سلسلتين الفا α -chains للمستقبل الأول (II-10 R₁) وسلسلتين بيتا β - chains للمستقبل الثاني (II-10 R₂) ، إذ يؤدي هذا الارتباط إلى تنشيط مسارات الكيناز janus kinase 1 (Jak1) و tyrosine kinase 2 (Tyk2) التي تحفز عمليات فسفرة بروتين (STAT₃) المنشط لعمليات نسخ الجينات المستهدفة و التي يتم التعبير

عنها للحد من تأثير العمليات الالتهابية والاستجابات المناعية المرتبطة بتطور المرض (Marlow *et al.*, 2013 ; Shah *et al.*, 2012 ; Lin *et al.*, 2018).

يمارس IL-10 تأثيراته المضادة للالتهاب عبر تثبيط تخليق السيتوكينات من الخلايا التائية المساعدة (T-helper 1 cell (Th1) ، ويعمل أيضا على استهداف الخلايا المقدمة للمستضد (antigen-presenting cells (APC) ، كما وله دور تثبيط إنتاج السيتوكينات المحرزة للالتهابات مثل عامل التخر الورمي الفا TNF- α و الانترلوكين IL-6 و الانترلوكين IL-8 ، هذا فضلا عن دوره في منع إنتاج أو إفراز السيتوكينات اللازمة لتمايز الخلايا التائية Cluster of Differentiation (CD4) مثل الانترلوكين IL-12 و الانترلوكين IL-23 ، ويعمل أيضا على تحفز الخلايا المناعية كالخلايا البدينة والخلايا البائية في بعض الاحيان (Neumann *et al.* , 2019) ، كما انه مسؤول عن سلامة الطبقات الظهارية ، إصلاح الأنسجة و التئام الجروح و الحد من الاضطرابات النسجية المرضية و قمع الاستجابات المسببة للالتهاب (Ni *et al.* , 2020) ، وتشير المستويات المرتفعة من IL-10 في مصل الدم إلى وجود حالات مرضية متعلقة بمرض السرطان و نمو الأورام وانتشارها في الجسم (Chang *et al.* , 2021).

19-2 السيتوكروم (CYP) Cytochrome P450

ينتمي السيتوكروم إلى عائلة واسعة من البروتينات المتواجدة في الحيوانات والنباتات وأيضا في الكائنات الحية الدقيقة وتسمى ببروتينات الدم لاحتوائها على جزيئة الهيم Heme ، تشترك جميع أنزيمات السيتوكروم في بنية ثلاثية الأبعاد Three dimensional structure تشبه شكل مثلث مقلوب وهي تنتمي إلى فئة أنزيمات monooxygenase التي تدمج ذرة واحدة فقط من الأوكسجين الجزيئي في المادة الأساس Substrate التي تعمل عليها وهي تتواجد في اغلب الأنسجة الجسمية تقريبا وغالبا في الغشاء الشبكي الإندوبلازمي وكذلك في الميتوكوندريا و على بعض الأسطح الخلوية ولكن يرتكز وجودها بشكل كبير في الكبد والكلى والأمعاء الدقيقة (Elfaki *et al.* , 2018 ; Feng *et al.* , 2021) ، كما وتتواجد في الدماغ والرئتين والأغشية الداخلية للميتوكوندريا للأنسجة الستيرويدية مثل المبيض والمشيمة والثدي وقشرة الغدة الكظرية ، و تلعب أنزيمات السيتوكروم دورا مهما في عملية التخليق الحيوي لأحماض الصفراء وأيضا المركبات المختلفة التي تدخل للجسم مثل الملوثات البيئية والمواد المسرطنة والأدوية ولها دورا رئيسيا في اكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة وتخليق الكوليسترول والعديد من عمليات الأكسدة والاختزال وأيضا دورها في استقلاب الفيتامينات (Manikandan And Nagini 2018 ; Stipp And Acco , 2021)

يتم استقلاب العديد من المركبات عبر عملية التمثيل الغذائي بواسطة السيتوكروم P450 والتي تؤدي إلى نشوء مستقلبات مختلفة ، و قد يؤدي استقلاب وتنشيط المواد الكيميائية بواسطة السيتوكروم إلى تنشيط وتكوين المركبات و المستقلبات التفاعلية الخطرة التي لها القدرة على احداث السمية الخلوية وتطور الأمراض المختلفة (Esteves et al.,2021) ، إذ يمكن ان يتغير تعبير السيتوكروم عند التعرض للأدوية والسموم والمواد الكيميائية المتنوعة وكذلك يمكن أن يتأثر بالعوامل الوراثية والفسولوجية البيئية والمرضية المختلفة (Wu et al.,2021; Lynch And Price,2007) ، كما وتشارك انزيمات السيتوكروم في مجموعة واسعة من العمليات الفيزيولوجية المرضية كأمراض القلب والأوعية الدموية Cardiovascular diseases والسرطان Cancer (Machalz et al.,2021).

20-2 البروتين الجنيني الفا (Alpha-Fetoprotein (AFP

بروتين سكري Glycoprotein ، يتكون من حوالي 600 حامض اميني وكاربوهيدرات بنسبة 40 % ويبلغ وزنه الجزيئي حوالي 67500 كيلو دالتون ، يتم انتاجه بشكل رئيسي عن طريق الكيس المحي خلال الاشهر الثلاثة الأولى من الحمل بعد ذلك يكون كبد الجنين مسؤول عن انتاجه مع كمية ضئيلة تنتجها القناة الهضمية للجنين (Hanif et al. ,2022) ، وهو ينتمي إلى عائلة البروتينات الزلالية التي تشمل الالبومين albumin و البروتين المرتبط بفيتامين Vitamin D Binding Protein (DBP) ، فهو يعد بمثابة بروتين بلازما حامل للعديد من الروابط المهمة منها الأحماض الدهنية و الستيرويدات و الفلافونويدات الستيروجين و ريتنويدات و المعادن الثقيلة و الصبغات المختلفة ويمكن له أن يرتبط بالعديد من المستقلبات الغشائية أو البروتينات السائتوبلازمية لتعزيز أو كبح مسار الاشارات داخل الخلايا (Głowska-Ciemny et al. ,2023).

يمكن تمييز ثلاث اشكال سكرية للبروتين الجنيني الفا ، وهي AFP-L1 و AFP-L2 و AFP-L3 والتي تنتج بكميات متفاوتة في مختلف الحالات الفسيولوجية أو المرضية ، إذ يمثل AFP-L2 الشكل السكري الرئيسي المنتج في مصل الأم اثناء الحمل الطبيعي ويتم انتاجه أيضا في حالة أورام كيس الصفار في حين يلاحظ انتاج AFP-L1 في حالات التهاب الكبد المزمن أو تليف الكبد ، اما الشكل AFP-L3 فيتم انتاجه حصرا من قبل الخلايا الكبد السرطانية (Force et al. ,2022) .

تكون مستويات البروتين الجنيني الفا مرتفعة في مصل الجنين وتبدأ بالانخفاض تدريجيا بعد الولادة ثم تقل عند البلوغ إلى مستويات ضئيلة تقدر بحوالي 5 نانوغرام / مل في الاشخاص الاصحاء باستثناء النساء الحوامل ، هذا يعود لعدم قدرة الخلايا الكبدية الناضجة على تصنيع هذا البروتين ، إلا انها تعاود نشاطها مرة اخرى في حالات حدوث سرطان الكبد، إذ تفرز كميات عالية منه ، ولهذا فإن مستويات المصل

المرتفعة للبروتين الجنيني الفا تعد من العلامات السريرية المهمة لتشخيص سرطان الخلايا الكبدية Hepatocellular carcinoma (HCC) ، كذلك سرطان البنكرياس والمعدة والمبايض والبروستات ، كما ولوحظ ارتفاع مستوياته في مصل المرضى المصابين بسرطان الرئة وسرطان القولون وأيضا سرطان القنوات الصفراوية (Trevisani *et al.*, 2019 ; Wang And Wang , 2018) .

21-2 عامل النمو المتحول بيتا (TGF- β) Transforming Growth Factor

يعد عامل النمو المتحول بيتا (TGF- β) من السيتوكينات الهامة ذات الانشطة البايولوجية المختلفة وتحديدًا في نمو وتكوين الخلايا المناعية و تنظيم الاستجابة المناعية و التمايز الخلوي (Lodygo And Hinz, 2020) ، وهو بروتين متعدد الببتيد ذات وزن جزيئي يبلغ حوالي 25 كيلو دالتون ، يتكون من سلسلتين متعددة الببتيد كل منهما تحوي على 112 حامض اميني ، ويكون موجود في العديد من الانسجة الجسمية ، إذ يتواجد بثلاث اشكال في الثدييات هي TGF- β 1 ، TGF- β 2 ، TGF- β 3 ويمثل الشكل الأول اكثر الاشكال وفرة ، يتم تصنيعه وإفرازه في اغلب انواع الخلايا تقريبا بما في ذلك الخلايا الليفية Fibroblast و الخلايا للمفاوية Lymphocytes و الصفائح الدموية Platelets و الخلايا البلعمية Macrophages و الخلايا الوحيدة Monocytes و الخلايا المتغصنة Dendritic cells و الخلايا الظهارية Epithelial cell و الخلايا التائية المنظمة Regulatory T cell ، كما لوحظ انتاجه بكثرة من قبل الخلايا السرطانية عند البيئة الميكروية للورم (Mouti And Pauklin , 2021)

اشارت الدراسات إلى الدور المزدوج الذي يلعبه TGF- β في حالات الإصابة بأنواع مختلفة من الأورام السرطانية فقد لوحظ ان له دور تثبيطي في المراحل المبكرة من الإصابة بالسرطان ودور تنشيطي للورم في المراحل اللاحقة منه ، بالإضافة إلى دوره الفعال في التمايز و التضاعف الخلوي و تنظيم موت الخلايا المبرمج و الهجرة الخلوية و الالتصاق و توليد الأوعية الدموية (Shiota *et al.*, 2021) ، هذا فضلا عن دوره الرئيسي في تثبيط المسارات المسببة للالتهابات وتحفيز الانماط الضاهرية للخلايا المناعية وقدرته على كبح المستضدات الذاتية وتعزيز التحمل المناعي (Batlle And Immune tolerance 2017) .Massagué, 2019 ; Sanjabi *et al.* , 2017)

يتم تفسير عامل النمو المتحول TGF- β 1 بواسطة جين *TGFBI* (Gichkun *et al.*, 2021) ويؤدي الخلل في التعبير الجيني له TGF- β 1 إلى العديد من الأضرار الوظيفية المرتبطة بالإصابة بالعديد من الأمراض مثل السرطان ، أمراض القلب والأوعية الدموية والالتهابات وغيرها (Cebinelli *et al.* , 2016).

22-2 بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة - Monocyte Chemotactic Protein-1 (MCP-1)

هو بروتين كيميائي ينتمي إلى عائلة الكيموكينات Chemokine ، ويعرف أيضا باسم Chemokine (CC-motif) ligand 2 (CCL2) ، يمتلك أهمية حيوية في العملية الالتهابية وذلك بدوره في تعزيز جذب الخلايا المناعية كالخلايا الوحيدة والضامات والسيتوكينات الأخرى إلى المواقع الالتهابية (Zhao *et al.*, 2019) ، الكيموكينات هي عائلة من السيتوكينات ذات الأوزان الجزيئية الصغيرة المسؤولة عن حركة الخلايا استجابة للتحفيز الكيميائي (الانجذاب الكيميائي chemotaxis) ، وتصنف إلى أربع عوائل رئيسية اعتمادا على عدد وموقع بقايا السيستين في الموقع الطرفي N وتشمل حوالي 50 نوع من البروتينات المكتشفة لغاية الان (Hao *et al.*, 2020).

يبلغ الوزن الجزيئي ل MCP-1 13 كيلو دالتون وهو مكون من 76 حامض أميني يتم إنتاجه بعد تحفيز بعض خلايا الجهاز المناعي مثل الخلايا الوحيدة Monocytes ، الخلايا الليفية Fibroblasts ، الخلايا البلعمية Macrophages ، الخلايا البطانية Endothelial cells الخلايا النجمية Astrocytes ، كذلك تشارك خلايا مسراق الكبيبة Mesangial ، والخلايا العضلية Smooth muscle و الخلايا الدبقية الصغيرة Microglial cells في إنتاج MCP-1 (Taghavi *et al.*, 2019) .

يمارس MCP-1 تأثيراته المتعددة في أنواع مختلفة من الخلايا ففي الجهاز المناعي يعمل كوسيط ينظم هجرة وتسلل الخلايا المناعية خلال الاستجابات الالتهابية ، فهو ينظم التعبير عن الخلايا التائية الالتهابية ويعزز تمايز الخلايا التائية أثناء الالتهابات ، كما ويعمل على تعزيز الحركات الاتجاهية للخلايا التيموسية الناضجة Mature Thymocytes ، وجد بأنه ينظم الم الاعتلال العصبي الناجم من إصابة العصب المحيطي ، إذ يعمل على تجنيد الوحيدات والخلايا البلعمية بعد إصابة الدماغ ، ويلعب أيضا دورا في المسارات الأيضية عبر تنظيم توازن الأنسجة الدهنية ومقاومة الأنسولين (Zhu *et al.*, 2021) ، كما ويشارك MCP-1 في العديد من الاضطرابات و الاعاقات الكبدية والتي تشمل تليف الكبد والتهاب الكبد وأيضا سرطان الخلايا الكبدية والأمراض الأخرى حيث يعمل هذا البروتين مع مستقبله الكيميائي (CCR2) كوسيط نهائي يعمل على تنشيط الخلايا النجمية الكبدية مما يسبب تنخر الخلايا وزيادة ترسب الكولاجين والتغيرات الحاصل في الحمض النووي الناجمة من التعبير الجيني عن CD4 و CD8 التي تؤدي إلى تطور الورم الكبدى و السرطان (Fantuzzi *et al.* 2019) .

و يعد MCP-1 من العلامات التشخيصية الهامة لمعرفة مستوى الالتهاب في العديد من الأمراض كأمراض المسالك البولية والتهاب الكلية الذئبي Lupus Nephritis ، وقد اثبتت الدراسات دور هذا

البروتين في التسبب بالعديد من الحالات المرضية كأعراض القلب والأوعية الدموية Cardiovascular Diseases، التهاب المفاصل الروماتيدي Rheumatoid Arthritis ، فايروس كورونا المستجد ، السرطانات Cancers ، novel corona virus ، الأمراض الالتهابية العصبية . (Singh *et al.* ,2021) Neuroinflammatory Diseases

الفصل الثالث
المواد وطرائق العمل
Materials & Methods

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1-3 المواد

1-1-3 الأجهزة

جدول (1-3) الاجهزة المستخدمة حسب الشركة والمنشأ

الشركة	المنشأ	الأجهزة
Japan	Concord	ثلاجة Refrigerator
England	Hawksley	جهاز الطرد المركزي Centrifuge
Poland	Coramy (Accent 200)	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer
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	فرن كهربائي Oven
Japan	PMPHD 60 f	كاميرا رقمية Camera Digital
Japan	Olympus	مجهر ضوئي Light Microscope
England	Anglia	مشراح يدوي الدوار Rotary Microtome
Germany	Savories BL 3100s	ميزان اعتيادي
Germany	Sartrius AE200 Meter	ميزان حساس Sensitive Balance

2-1-3 الأدوات

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

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

3-1-3 الأدوات الكيميائية

جدول (3-3) الأدوات الكيميائية حسب المنشأ والشركة

المنشأ	الشركة	الأدوات الكيميائية
England	BDH	زايلول Xylene
Germany	Merck	شمع البرافين Paraffin Wax
Germany	Merck	صبغة الإيوسين Eosin Stain
Germany	Merck	صبغة الهيماتوكسولين Hematoxylin Stain
U.S.A	Randox	عدة تقدير مستوى الألبومين في المصل
France	Biomerieux	عدة تحليل اليوريا والكرياتينين
U.S.A	Atlas	عدة تقدير الكوليسترول TG والشحوم البروتيني HDL عالية الكثافة
Italy	Giesse	عدة تقدير SOD
France	Biolabo	عدة تقدير الألبومين Albumin
Spain	Linear chemicals .S.L	عدة تقدير البيليروبين الكلي T-Bil
Japan	Kono bioech	عدة تقدير عامل التنخر الورمي TNF- α

Japan	Kono bioech	عدة قياس الإنترلوكين 10
U.S.A	Bioscience	عدة قياس البروتين الجنيني الفا AFP
Japan	Kono bioech	عدة قياس السيتوكروم p450
U.S.A	Bioscience	عدة قياس بروتين الجاذب الكيميائي أحادي الخلية MCP-1
U.S.A	Houston	عدة قياس عامل النمو المتحول بيتا TGF-β
France	Biomerieux	عدة قياس ALP
England	Randox	عدة قياس AST و ALT
U.S.A	Difco	فورمالين Formalin
Germany	Merck	كحول الإيثانول المطلق Absolute Ethanol
Spain	Scharlau	كلوروفوم Chlorofom
U.S.A	Sigma Chemical CO.	مادة الثيوأسيتاميد TAA

2-3 حيوانات التجربة

تضمنت هذه الدراسة استخدام 180 من ذكور الجرذان البيض *Rattus norvegicus* والتي تراوحت اعمارها ما بين 10-12 اسبوع وأوزانها بمعدل يتراوح 200-250 غرام ، تم الحصول عليها من حقول خاصة من محافظة بابل وتم وضعها في أقفاص بلاستيكية خاصة لتربية الجرذان، و فرشت ارضيتها بنشارة الخشب الناعمة مع عناية مستمرة للحيوانات وتنظيف قناني الإرواء و غرفة الإيواء . تم اخضاع الحيوانات للظروف المختبرية الخاصة و بدرجة حرارة 25 م وبتهووية مناسبة وفترة الضوء والظلام ب 12 ساعة ضوء و 12 ساعة ظلام ، واستعملت في تغذية الجرذان عليقة من البلت المركز concentrate pullet والتي تكونت 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 المشار اليها قبل اخضاعها إلى التجربة .

3-3 تهيئة قشور ولب ثمار الرامبوتان

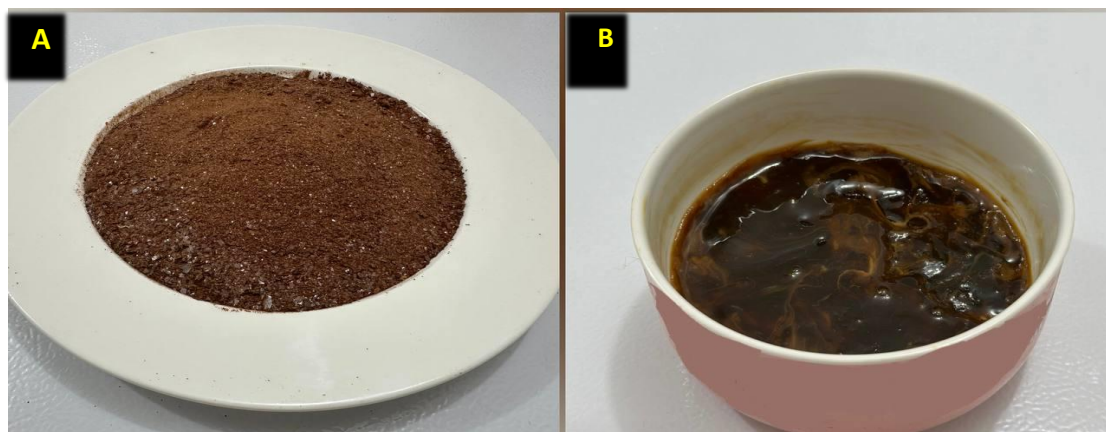
تم شراء ثمار الرامبوتان من علوة الرشيد في محافظة بغداد ، تم تنظيف الثمار من الأتربة والشوائب العالقة بها بالماء ونشفت جيدا ، ثم نزعت القشور عن اللب و أيضا نزع اللب عن البذور ، بعدها قطع كلاً من القشور و اللب إلى شرائح صغيرة ووضعت على ورق الزبدة ، وتم تعريضها إلى اشعة الشمس لفترة تراوحت 14-60 يوماً لتجف الشرائح بشكل تام مع مراعاة التقليل المستمر لضمان التجفيف الجيد ، بعد ذلك تم طحنها بواسطة الخلاط الكهربائي للحصول على مسحوق ناعم جدا من القشور واللب كما هو موضح في الصورة (1-3D) و الصورة (1-3G) ، تم حفظ المسحوق في علب زجاجية في الثلاجة لحين استخدامها في عملية تحضير المستخلص المائي البارد .



صورة (1-3) مراحل تهيئة وتجفيف النبات (A) ثمار نبات الرامبوتان (B) شرائح قشور الرامبوتان الطازجة (C) شرائح قشور الرامبوتان الجافة (D) مسحوق قشور الرامبوتان (E) شرائح لب الرامبوتان الطازجة (F) شرائح لب الرامبوتان الجافة (G) مسحوق لب الرامبوتان

4-3 تحضير المستخلص المائي البارد لقشور ولب ثمار الرامبوتان

تم تحضير المستخلص المائي البارد لقشور ولب ثمار الرامبوتان *N. lappaceum* ، اذ تم استخدام 20غم من المسحوق الجاف للقشور ولب و مزجه مع 300 مل من الماء المقطر ، وترك الخليط بدرجة حرارة الغرفة ولمدة 24 ساعة ، استعملت طبقات عديدة من الشاش الطبي لغرض ترشيح الخليط والتخلص من العوالق ، بعد ذلك طرد مركزيا بسرعة 3000 دورة / الدقيقة لمدة 10 دقائق ، تم ترشيح المستخلص بأوراق الترشيح نوع Whatman No. 0.1 وذلك للحصول على محلول رائق ، تم تجفيف مستخلص القشور واللب بدرجة حرارة الغرفة و بمدة تراوحت 12 ساعة ، بعدها تم الحصول على مستخلص القشور بقوام جاف ومستخلص اللب بقوام لزج هو موضح في صورة (2-3) (A) و (B) ، ثم حفظ مستخلص القشور ومستخلص اللب في قناني زجاجية وتم وضعهما في الثلجة لحين الاستخدام (الذي يتضمن اذابة 25ملغم/كغم من وزن الجسم من مستخلص قشور الرامبوتان مع 1 مل /كغم من وزن الجسم من الماء المقطر وأيضا اذابة 27ملغم/كغم من وزن الجسم من مستخلص لب الرامبوتان مع 1 مل /كغم من وزن الجسم من الماء المقطر وتجريبها فمويا لحيوانات التجربة) .



صورة (2-3) (A) المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان (B) المستخلص المائي لللب ثمار الرامبوتان

5-3 استحداث مرض السرطان

تم استحداث مرض سرطان الكبد والسمية الكلوية في ذكور الجرذان البيض *Rattus norvegicus* عن طريق حقنها تحت الغشاء البريتوني بمادة الثيوأسيتاميد TAA وبجرعة مقدارها (200 مغم/كغم من وزن الجسم) وذلك بإذابتها مع 1 مل/كغم من وزن الجسم من الماء المقطر وبواقع جرعتين في الأسبوع ولمدة 90 يوم (Elshahawy et al., 2023).

6-3 تصميم التجربة

1-6-3 التجربة الأولى Experiment 1

1-1-6-3 تحديد الجرعة المؤثرة النصفية للمستخلص المائي البادر لقشور الرامبوتان

صممت هذه التجربة لتجربة لتحديد الجرعة المؤثرة ED50 من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان *N. lappaceum*، إذ تضمنت هذه التجربة استخدام 60 من جرذان الذكور البيض وقسمت إلى ست مجاميع (10 حيوان / مجموعة) وتم تجريعها فمويًا ويومياً لمدة 30 يوم على النحو التالي :

المجموعة الأولى : جرعت 1مل/كغم من وزن الجسم من الماء المقطر وعدت كمجموعة سيطرة.

المجموعة الثانية : جرعت فمويًا 10 ملغم/ كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان.

الفصل الثالث المواد وطرائق العمل

المجموعة الثالثة : جرعت فمويا 20 ملغم /كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان.

المجموعة الرابعة : جرعت فمويا 30 ملغم / كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان.

المجموعة الخامسة : جرعت فمويا 40 ملغم/كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان.

المجموعة السادسة : جرعت فمويا 50 ملغم /كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان.

3-6-1-2 تحديد الجرعة المؤثرة النصفية للمستخلص المائي البارد للثمار الرامبوتان

صممت هذه التجربة لتجربة لتحديد الجرعة المؤثرة النصفية ED50 من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان *N. lappaceum*، إذ تضمنت هذه التجربة استخدام 60 من جردان الذكور البيض وقسمت إلى ست مجاميع (10 حيوان / مجموعة) وتم تجريعها فمويًا ويوميًا لمدة 30 يوم على النحو التالي:

المجموعة الأولى: جرعت 1 مل/كغم من وزن الجسم من الماء المقطر وعدت كمجموعة سيطرة

المجموعة الثانية: جرعت فمويا 10 ملغم / كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان .

المجموعة الثالثة : جرعت فمويا 20 ملغم /كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان.

المجموعة الرابعة : جرعت فمويا 30 ملغم / كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان.

المجموعة الخامسة : جرعت فمويا 40 ملغم/كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان.

المجموعة السادسة : جرعت فمويا 50 ملغم /كغم من وزن الجسم من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان.

تم سحب عينات الدم بعد مرور 30 يوم ، إذ تم سحب 5 مل من الدم بشكل مباشر من القلب باستخدام محاقن طبية معقمة وبسعة (5 مل)، بعد ذلك وضع الدم في انابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر

الفصل الثالث المواد وطرائق العمل

ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge وبسرعة 3000 دورة / الدقيقة لتقييم المعايير التالية :

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

2- مستوى الكولسترول الكلي (TC) Total Cholesterol

3- مستوى المألون ثنائي الديهايد (MDA) Malondialdehyde

4- مستوى الجلوتاثايون المختزل (GSH) Reduced Glutathione

2-6-3 التجربة الثانية Experiment 2

تم استخدام 60 من ذكور الجرذان البيض والتي قسمت إلى ستة مجاميع بواقع (10 حيوان / المجموعة) واستمرت التجربة 90 يوم .

المجموعة الأولى : جرعت ب 1 مل/كغم من وزن الجسم من الماء المقطر و عدت كمجموعة سيطرة.

المجموعة الثانية : حقنت تحت الغشاء البريتوني ب 200 ملغم /كغم من وزن الجسم من TAA بواقع جرعتين في الاسبوع.

المجموعة الثالثة : جرعت فموياً ويومياً بالجرعة المؤثرة النصفية ED_{50} (25 ملغم/كغم من وزن الجسم) من المستخلص المائي لقسور ثمار الرامبوتان.

المجموعة الرابعة : جرعت فموياً ويومياً بالجرعة المؤثرة النصفية ED_{50} (25 ملغم/كغم من وزن الجسم) من المستخلص المائي لقسور ثمار الرامبوتان وبعد اربع ساعات حقنت تحت الغشاء البريتوني ب (200 ملغم/كغم من وزن الجسم) من TAA بواقع جرعتين في الاسبوع .

المجموعة الخامسة: جرعت فموياً ويومياً بالجرعة المؤثرة النصفية ED_{50} (27 ملغم/كغم من وزن الجسم) من المستخلص المائي للب ثمار الرامبوتان.

المجموعة السادسة : جرعت فموياً ويومياً بالجرعة المؤثرة النصفية ED_{50} (27 ملغم/كغم من وزن الجسم) من المستخلص المائي للب ثمار الرامبوتان وبعد اربع ساعات حقنت تحت الغشاء البريتوني ب (200 ملغم/كغم من وزن الجسم) من TAA بواقع جرعتين في الاسبوع.

3-2-6-3 سحب الدم

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طوال الليل وذلك بعد مرور 90 يوم ، سحب 5 مل من الدم بشكل مباشر من القلب باستخدام محاقن طبية معقمة وبسعة (5 مل) ، بعد ذلك وضع الدم في انابيب خاصة

غير حاوية على مادة مانعة للتخثر (جل تيوب) ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge وبسرعة 3000 دورة / الدقيقة لقياس المعايير التالية :

المعايير الكيموحيوية

- فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) Alkaline phosphatase
- فعالية انزيم الناقل للأمين (ALT) Alanine transaminase
- فعالية انزيم الناقل الأسبارتات (AST) Aspartate transaminase
- فعالية انزيم سوبر أكسيد ديسموتاز (SOD) Superoxide dismutase
- مستوى المألون ثنائي الديهايد (MDA) Malondialdehyde
- مستوى الجلوتاثايون المختزل (GSH) Glutathione
- مستوى البيليروبين الكلي (T-BIL) Total bilirubin
- مستوى الألبومين Albumin
- مستوى اليوريا Urea
- مستوى الكرياتينين Creatinine
- مستوى السيتوكروم (CYP) Cytochrome P450
- مستوى الانترلوكين 10 (IL-10) Interleukin-10
- مستوى عامل التنخر الورمي نوع الفا (TNF- α) Tumor necrosis factor
- مستوى البروتين الجنيني الفا (AFP) alpha-fetoprotein
- مستوى عامل النمو المتحول بيتا (TGF- β) transforming growth factor β
- مستوى البروتين الجذب الكيمائي للخلية الوحيدة Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)

تحضير المستخلص المائي البارد لثمار الرامبوتان *Nephelium Lappaceum*

التجربة الاولى Experiment1 n=120 , مدة التجربة = 30 يوم

تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي البارد للربامبوتان (n= 60)

تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي البارد لثمار الرامبوتان (n= 60)

التجربة الثانية Experiment2 n=60 , مدة التجربة = 90 يوم

G1 (n=10)

1 مل /كغم
من الماء
المقطر

G2 (n=10)

200 ملغم/كغم
TAA

G3 (n=10)

25 ملغم/كغم
من قشور
الرامبوتان

G4 (n=10)

25 ملغم/كغم من
قشور الرامبوتان
200+ ملغم/كغم
من TAA

G5 (n=10)

27 ملغم /كغم
من لب
الرامبوتان

G6 (n=10)

27 ملغم/كغم من
لب الرامبوتان +
200 ملغم/كغم
من TAA

تقطيع نسجي

سحب الدم

كبد

كلى

المعايير الكيموحيوية

الانزيمات

ALP

ALT

AST

SOD

CYP

T-BIL

Urea

Creatinin

albumin

GSH

MDA

TNF-a

TGF-β

IL-10

AFP

MCP-1

شكل (1-3) مخطط تصميم التجربة

7-3 تقييم فعالية الأنزيمات

تم قياس فعالية الانزيمات باستخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة بكل انزيم بالاعتماد على الطريقة المناعية (ELISA) Enzyme – Linked Immunosorbent Assay باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الألماني المنشأ ، وتم اجراء الخطوات لقياس فعالية الانزيمات من خلال اتباع الخطوات المرافقة لكل طقم وكالاتي :

1-7-3 تقدير فعالية الأنزيم الناقل للأمين في مصل الدم **Estimation of Alanine Transaminase (ALT) serum**

تم قياس فعالية ALT اعتمادا على طريقة (2017) AL-Mashhadani *et al* وباستخدام عدة الكشف عن أنزيم ALT التي تتضمن :

- 1- دارى الفوسفات Phosphate buffer بتركز 100 ملي مول\التر و بدرجة حامضية 7.4=PH
- 2- L-alanine بتركيز 200 ملي مول\التر.
- 3- α - oxoglutarate بتركيز 2 ملي\التر
- 4- 2,4- dinitrophenyl-hydrazine بتركيز 2 ملي مول\التر
- 5- هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide بتركيز 4 ملي مول\التر

وتتضمن الخطوة الأساسية للتفاعل كما يلي:



وتتلخص طريقة العمل كالتالي :

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

بعد إضافة هيدروكسيد الصوديوم تم مراقبة تركيز المركب الملون Pyruvate hydrazone بالطول الموجي 546 نانوميتر وباستعمال المطياف الضوئي لقياس فعالية ALT بوحدة عالمية \ لتر

2-7-3 تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصم الدم alkaline phosphatase (ALP) activity in blood serum

المبدأ الأساس

تم تقدير فعالية انزيم ALP اعتمادا على الطريقة الموصوفة من قبل (Engvall And 1971) Perlmann وباستخدام عدة القياس الجاهزة kit واعتماد الطريقة الانزيمية وهي طريقة لونية تعتمد على استخدام المادة الأساس (substrate) التي يعمل عليها انزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP.

المحاليل المستخدمة :

1- محلول المادة المنظمة Substrate Buffer Solution

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

2- المحلول القياسي Standard Solution

يتكون من مركب الفينول و بتركيز (20 ملي مول / لتر)

3- المحلول المثبط Inhibitor Solution

يتكون هذا المحلول 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 و بتركيز 60 ملي مول /لتر

طريقة العمل :

1- محلول الاختبار Test Solution

تم وضع 2 مليلتر في أنبوبة اختبار من المادة الأساس، و تم وضعت في حمام مائي بدرجة 37 سيليزية لمدة 5 دقائق ، بعدها تم إضافة 50 مايكروليتر من مصل الدم وتم اعادة الانبوبة إلى الحمام المائي لمدة 15 دقيقة و بنفس بدرجة الحرارة ، ثم اضيف 0.5 مليلتر من المحلول المثبط اليها و مزج بشكل جيدا و بعدها تم اضافة المحلول الملون بتركيز 0.5 مليلتر .

2- محلول السيطرة Control Solution

تم وضع 2 مليلتر في انبوبة اختبار من المادة الأساس بعدها وضعت في حمام مائي لمدة 5 دقائق وبدرجة حرارة 37 سيليزية ، بعدها تم إضافة 0.5 مليلتر من المحلول المثبط وتم مزجها جيداً ، بعد ذلك 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 ثم وضعها في حمام مائي لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 37 سيليزية ، وبعدها تم إضافة 50 مايكروليتر من المحلول القياسي، ثم اعيدت الأنبوبة إلى الحمام المائي لمدة 15 دقيقة و بدرجة الحرارة نفسها ، بعد ذلك تم إضافة 0.5 مليلتر من المحلول المثبط للانبوبة و مزجت جيدا، ثم اضيف 0.5 مليلتر من المحلول الملون .

4- المحلول الكفئ Blank solution

تم وضع 2 مليلتر من المادة الأساس في انبوبة اختبار ثم نقلت إلى حمام مائي ولمدة 5 دقائق وبدرجة حرارة 37 سيليزية ، ثم اضيف 0.5 مليلتر من المحلول المثبط وبعدها مزجها جيدا اضيف 0.5 مليلتر من المحلول الملون مع استمرار المزج ، بعدها تم إضافة 50 مايكروليتر من الماء المقطر . تم وضع كل الانابيب لمدة 10 دقائق في مكان مظلم بعدها قرأت الامتصاصية عند الطول الموجي 510 نانوميتر.

الحسابات Calculation

لقد تم حساب فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) في العينة اعتمادا على القانون الاتي :

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

3-7-3 تقدير فعالية الانزيم الناقل للأسبارتات في المصل aminotransferase in serum (AST)

تم اعتماد قياس فعالية الانزيم الناقل الاسبارتات على طريقة (AL-Mashhadani *et al.*, 2017).
وذلك باستخدام عدة الفحص الخاصة بالأنزيم والتي تتكون من:-

1- دارى الفوسفات Phosphate buffer بتركيز 100 ملي مول\تر بدرجة حامضية PH=7.4-2

2- oxaloacetate α - بتركيز 2 ملي\تر.

3-L- aspartate بتركيز 100 ملي مول\تر.

4- 2,4 dinitrophenyl-hydrazine بتركيز 2 ملي مول\تر.

5- هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide بتركيز 4 ملي مول\تر.

الخطوة الأساسية للتفاعل:



بعد إضافة هيدروكسيد الصوديوم تم مراقبة التركيز للمركب الملون oxaloacetate hydrazone بالطول الموجي 546 نانومتر واستخدام جهاز المطياف الضوئي.

طريقة العمل:-

تم استخدام المحاليل المبينة 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 الأنايبب وتحفظ عند درجة حرارة 37 °م لمدة 30 دقيقة		
2, 4-dinitrophenylhyd.	0.5 مللتر	0.5 مللتر
ترج الأنايبب وتحفظ عند درجة حرارة 20-25 °م لمدة 20 دقيقة		
هيدروكسيد الصوديوم	5 مللتر	5 مللتر

بعدها رجت الأنابيب جيدا وتم مقارنة امتصاصية العينة مع الكاشف وبالطول الموجي 546 نانوميتر.

4-7-3 تقييم فعالية إنزيم أكسيد الديسموتاز الفائق (SOD) Estimation of (SOD) superoxide dismutase activity in blood (SOD)

المبدأ الأساس:

تم تقدير فعالية إنزيم سوبر أكسيد دسموتاز وذلك باستخدام طريقة التفاعل الضوئي - الكيميائي (Modified photochemical method) باستخدام صبغة Nitroblue Tetrazolum (NBT) ، إذ تضمنت هذه الطريقة استخدام سيانيد الصوديوم كمثبط لانزيم البيروكسيداز ، حيث تكون هذه الطريقة لتقدير فعالية انزيم SOD غير مباشرة عن طريق ظهور تغير في الكثافة الضوئية للفورمازين الذي يتكون من اختزال 0.5 لصبغة نايترولوتترازوليوم (NBT) nitroblue tetrazolium (Chandrakar et al., 2016) ، إذ أن الانخفاض في الكثافة الضوئية للفورمازين دلالة على زيادة فعالية إنزيم (SOD).

تحضير الكواشف:

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 0.2 M L – Methionine Solution
3. محلول 1.75 mM نايترولوتترازوليم 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 حضر 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:

طريقة العمل لتقدير فعالية انزيم أكسيد ديسموتاز الفائق وضعت حسب الجدول الاتي :

السيطرة	الكفى	العينة	المحاليل
3 µl	3 µl	3 ml	محلول التفاعل
40 µl	40 µl	40 µl	سيانيد الصوديوم
–	–	150 µl	المصل
0.15+0.523 ml	0.15+0.52 3 ml	0.523 ml	المحلول المنظم
40 µl	40 µl	40 µl	الرايوفلافين (B2)

تم حضن الأنابيب بدرجة حرارة 37 م ولمدة 6 دقائق ، تم تشيع جميع الأنابيب باستخدام مصباح فلورسنت 20 واط مثبت بصندوق مغلق لمدة 10 دقائق وبدرجة 25 درجة مئوية ، بعدها تم قياس الامتصاصية عند 560 نانوميتر.

50% inhibition =1 Unit of SOD

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

حيث :

A0= امتصاصية المادة القياسية

A1= امتصاصية العينة

(Zhang *etal* .,2016)

8-3 الفحوصات الكيموحيوية

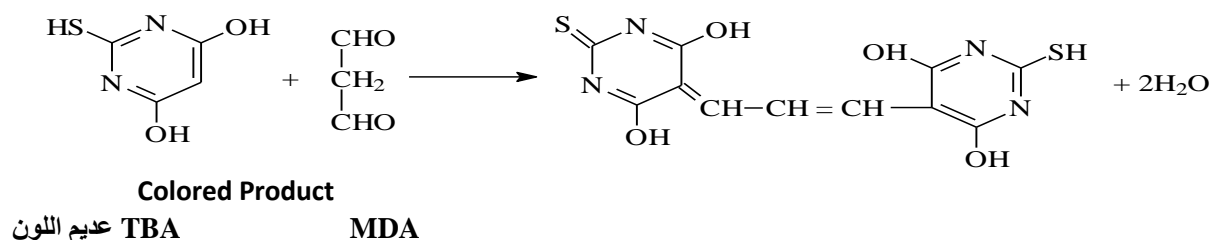
1-8-3 تقدير مستوى المألون ثنائي الدهيد في Malondialdehyde (MDA)

المبدأ الأساس:

تم تقدير مستوى MDA في المصل وذلك باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل (Agramonte *et al.*, 2019)، عن طريق قياس كمية المألون ثنائي الدهيد والذي يمثل أحد النواتج الرئيسية للاكسدة الفائقة للدهون ، حيث تعتمد هذه الطريقة على التفاعل بين بيروكسيدات الدهون وخاصة MDA وحامض

الفصل الثالث المواد وطرائق العمل

ثايوباربيوتريك (Thiobarbituric acid (TBA) ، إذ يتم هذا التفاعل في وسط حامضي ويتكون عنه ناتج ملون كما يلاحظ في المعادلة أدناه، ثم قُيست شدة الامتصاص له عند طول موجي 532 نانوميتر.



تحضير المحاليل :

1- محلول حامض الثايوباربيوتريك (TBA- solution) :

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

2- محلول Trichloroacetic acid Solution (TCA)

تم تحضير حامض الخليك ثلاثي الكلور بتركيزين وتم الاحتفاظ به في الثلاجة لحين الأستخدام، يحضر المحلول الأول بتركيز 17.5% وذلك بإذابة 17.5 غم من مادة TCA في 100 مل من الماء المقطر، ويحضر المحلول الثاني تركيزه 70% ونحصل عليه بإذابة 70 غم من المادة نفسها في 100 مل من الماء المقطر

طريقة العمل:

المحاليل	العينة	الكفى
المصل	150 µl	-
الماء المقطر	-	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 تركت لتبرد في درجة حرارة الغرفة وأضيف إليها :		
TCA (70%)	1 ml	1 ml

تم ترك الأنابيب بدرجة حرارة 37 م° ولمدة 20 دقيقة ، ثم فصل 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 :

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

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

L = light bath 1 cm.

A= Absorbance.

2-8-3 تقدير مستوى الجلوتاثيون المختزل في المصل Reduced glutathione (GSH)

تم قياس مستوى الجلوتاثيون في مصل الدم باستخدام طريقة كاشف المان Ellmans المتبعة من قبل

AL-Zamely واخرون (2001)

المحاليل المستخدمة:

1- محلول حامض السلفوساليسيليك sulfosalicylic acid solution

تم تحضيره بإذابة 4 غم من حامض السلفوساليسيليك في 100 مليلتر في الماء المقطر و تم الحفظ في الثلاجة لحين استعماله .

2- محلول دارئ الفوسفات phosphate buffer solution

تم تحضيره بخلط (0.6 M KH₂PO₄) و (0.08 M Na₂HPO₄)، ثم 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 2-5 dithio bis

(DTNB) nitrobenzoic acid في 100 مليلتر من المحلول المنظم ، ثم حفظ الكاشف في الثلاجة .

طريقة العمل :

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

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

الفصل الثالث المواد وطرائق العمل

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

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

وتم حساب تركيز الجلوتاثايون في مصل وفقاً للمعادلة التالية :

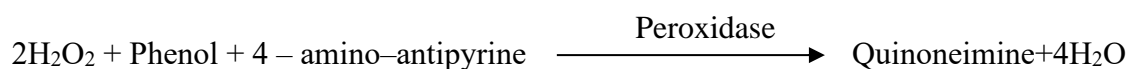
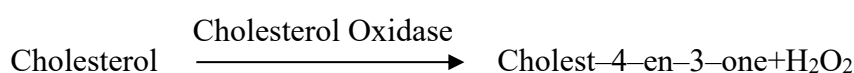
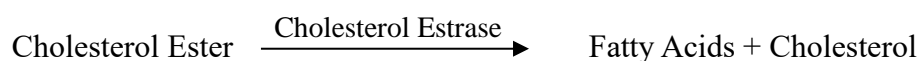
تركيز الجلوتاثايون (ميكرومول / مول) = العينة عند 412 نانوميتر / $E_o \times L$

حيث ان : $E_o = 13600 M^{-1} CM^{-1}$

L= light path (cm)

3-8-3 تقدير مستوى الكوليسترول الكلي في مصل الدم (Total cholesterol (TC)

تم قياس مستوى الكوليسترول في المصل بالطريقة الانزيمية حسب طريقة (Allani 1974)، حيث تعتمد هذه الطريقة على تحويل Cholesterol Esterase بوجود الأوكسجين (O_2) وانزيم Cholesterol Oxidase ، اللذان يعملان على اكسدة الكوليسترول الحر المتكون نتيجة التفاعل الأول إلى (Cholest -4en-3one) و (Hydrogen Peroxidase) وهذا الاخير يعمل على التفاعل مع الفينول Phenol و 4- Aminoantipyrinel وذلك بوجود انزيم Peroxidase ليكون كيتون امين Quinoneimine ذو لون وردي وكما هو موضح في المعادلات الاتية :



طريقة العمل

تم استخدام ثلاث انابيب اختبار تشمل كلا من العينة Sample و المحلول القياسي Standard والكفى Blank ووفقا الجدول التالي :

المحاليل	Standard	Sample	Blank
العينات		10μ	
المحلول القياسي	10μ		
الكفىء			10μ
الكاشف (a)	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

ثم اضيف 1.0 مل من الكاشف إلى العينة والمحلول القياسي والكفىء وتم مزج المحاليل بشكل جيد وتركها لمدة 5 دقائق في حمام المائي بدرجة 37 مئوية ، بعدها تم قراءة الامتصاصية لها بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 510 نانوميتر.

الحسابات :

تم حساب مستوى الكوليسترول الكلي وفقا للقانون الاتي :

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

إذ ان :

$$200 = N \text{ وهو تركيز المحلول القياسي.}$$

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

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

4-8-3 تقدير مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة في مصل الدم High density lipoprotein (HDL)

قدر مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL cholesterol حسب طريقة Burstein واخرون (1970) وهي عبارة عن طريقة انزيمية تعتمد بشكل اساسي على ترسيب دقائق الاستحلاب (الكيلوسية) و LDL و VLDL الذي يتواجد في مصل الدم وذلك بإضافة معامل الترسيب Precipitating reagent إلى المصل و بعد نهاية العملية تم وضع العينات في جهاز الطرد المركزي وبعد عملية الترسيب ينتج محلول رائق يحتوي على HDL والذي يمكن قياس مستوى الكوليسترول فيه باستخدام كاشف Reagent A من عدة تقدير مستوى الكوليسترول .

طريقة العمل :

تتألف عملية تقدير مستوى HDL cholesterol من خطوتين هما :

1- الترسيب

تتضمن هذه الخطوة تحضير الراشح (الرائق)، وذلك بإضافة 0.5 مل من محلول الترسيب Reagent 1 إلى 0.5 مل من مصل الدم وبعد دمج جيداً ثم ترك لمدة 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة، وبعد ذلك تم وضعه في جهاز الطرد المركزي ولمدة 10 دقائق بسرعة 3000 دورة / دقيقة.

2- تقدير كمية HDL cholesterol

تضمنت هذه الخطوة العمل على ثلاثة انابيب اختبار هي العينة والمحلل القياسي و الكفي

المحاليل	Standard	Sample	Blank
محلل رائق من Sample		0.5 µ	
المحلل القياسي			
الكفي			0.5 µ
المحلل المنظم	2.0 ml	2.0 ml	2.0 ml

بعدها تم إضافة 2.0 مل من Reagent A إلى المحاليل الثلاثة المذكورة أعلاه ومزجت جيداً بعدها تركت لمدة 5 دقائق في حمام مائي بدرجة حرارة 37 م وتم قراءة الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 510 نانوميتر .

الحسابات

تم حساب تركيز HDL cholesterol وفقاً للقانون التالي :

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

إذ ان:

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

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

5-8-3 تقدير مستوى البيليروبين الكلي (T-Bil) في مصل الدم bilirubin level in blood serum

تم الاعتماد على طريقة (Burtis And Ashwood ,1994) في تقدير مستوى البيليروبين الكلي .

مبدأ العمل :

تم تحديد الطيف الضوئي للبيليروبين، وذلك من خلال اقتران البيليروبين مع حامض Sulfanilic diazotized بوجود مادة الكافيين للحصول على صبغة الازو (azo) ، كما تم استخدام 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 :

استخدمت الكواشف 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
مزجت الكواشف جيداً ولمدة 5-30 دقيقة عند درجة حرارة 20-25 C وتم قراءة امتصاصية العينة عند الطول الموجي 578 نانوميتر.		

6-8-3 تقدير مستوى الالبومين في مصل الدم Estimating the level of albumin in blood serum

المبدأ الأساس :

تم اعتماد طريقة بروموكريسول الأخضر Bromocresol Green BCG لقياس مستوى الالبومين في المصل ، إذ تعتمد هذه الطريقة على كمية الالبومين الذي يرتبط مع الكاشف (3 , 3 , 5 , 5 , - رباعي برومو - ميتا كريسول كبريتات الفثالين) الذي يدعى برومو كريسول الأخضر Bromocresol green (BCG) الذي يكون معقد البومين - بروموكريسول الأخضر Albumin - BCG Complex ذو اللون الأخضر و الذي تقاس شدته عند الطول الموجي 630 نانوميتر في المطياف الضوئي (Hallbach *et al.*,1991; Tiez, 2006)

المحاليل المستخدمة :

1-محلول بروموكريسول الأخضر BCG Solution

يتكون محلول بروموكريسول الأخضر من 3 ملي مول /لتر من حامض السكسينيك مع 167 مايكرومول /لتر من (BCG) و 50 ملي مول /لتر من هيدروكسيد الصوديوم و تركيز 1 غم/لتر من Polyoxymethylene 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 اليها 5 مايكروليتر من مصل الدم اليها ومزجت جيدا.

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

3- تم وضع 2.5 مليلتر من محلول BCG في انبوبة اختبار وتم اضافة 5 مايكروليتر من الماء المقطر ومزج جيدا .

بعد ان تم مزج الانابيب الثلاث جيداً ، تم قراءة الامتصاصية بعد دقيقة واحدة بطول موجي 630 نانوميتر.

الحسابات :

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

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

3-8-7 تقدير مستوى اليوريا Urea في المصل

المبدأ الأساس :

تم تقدير مستوى اليوريا في المصل بالاعتماد على طريقة (Bishop *et al.*, 2013) و تتضمن المحاليل المستخدمة الاتي :

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

طريقة العمل:-

المحاليل	العينة	القياسي	كاشف بلانك
المحلول القياسي	-----	10 مايكرو لتر	-----
العينة (المصل)	10 مايكرو لتر	-----	-----
المحلول الإنزيمي + الكاشف اللوني	1 مللتر	1 مللتر	1 مللتر
ترج الأنايب و تحفظ عند درجة حرارة 37 مئوية لمدة 3 دقائق			
المحلول القاعدي	200 مايكرو لتر	200 مايكرو لتر	200 مايكرو لتر
رجت الأنايب 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:-

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

(Mg / dl) امتصاصية القياسي

8-8-3 تقدير مستوى الكرياتينين في مصل الدم Estimating of creatinine concentration in blood serum

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

المبدأ الأساس:

تعتمد هذه الطريقة بشكل اساسي على التفاعل ما بين الكرياتينين و حامض البكريك Picric acid في وسط قاعدي ليكون ملحاً ذو لون أصفر محمر . إذ يتناسب معدل تكوين اللون طردياً مع تركيز الكرياتينين في المصل .

المحاليل المستخدمة:

1. المحلول المنظم (R₁)
2. المحلول الأنزيمي (R₂)
3. المحلول القياسي (R₃)

تحضير محلول العمل:

تم تحضير المحلول عن طريق دمج حجم معين من (R₁) مع حجم مماثل من (R₂). إذ مُزج مزجاً جيداً ليستخدم مباشرةً بعد ذلك.

طريقة العمل:

تم تقدير تركيز الكرياتينين في المصل حسب الطريقة في الجدول الآتي :

Blank	Standard	Sample	المحاليل
ml 1	ml 1	ml 1	Working reagent
-	-	100µl	المصل
-	100µl	-	المحلول القياسي
100µl	-	-	الماء المقطر

مُزجت المواد جيداً وبعد 30 ثانية تم تسجيل القراءة الأولى A₁ باستخدام جهاز المطياف الضوئي عند طول موجي 490 نانوميتر وبعد مرور 2 دقيقة على القراءة الأولى سُجلت القراءة الثانية A₂ عند الطول الموجي نفسه .

الحسابات:

تم احتساب تركيز الكرياتينين في المصل وفقاً للمعادلة الآتية:

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

9-8-3 تقييم مستويات عامل التنخر الورمي (TNF-α) tumor necrosis factor ،

الانترلوكين 10 (IL-10) و انزيم Cytochrome P450

تم قياس عامل التنخر الورمي والانترلوكين 10 وانزيم السيوكروم P450 باستخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة بكل منها بالاعتماد على الطريقة المناعية المعروفة Enzyme – Linked Immunosorbent Assay (ELISA) وذلك باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الألماني المنشأ ، إذ تم اجراء خطوات قياس التركيز لكل منها بالاعتماد على الخطوات المرفقة لكل طقم وكما يلي :

3-8-9-1 تقييم مستوى عامل التنخر الورمي TNF- α

طريقة العمل :

1- ربط المستضد Bind antigen

تم اضافة 50 مايكرو لتر من Icubation Buffer إلى حفر العينات ، بعدها تم إضافة 100 مليلتر من العينات إلى الحفر، بعد ذلك تم الضغط على جانب اللوحة للمزج وتم تغطيتها بغطاء اللوحة وحضنت لمدة ساعتين في درجة حرارة الغرفة ، بعدها تم إزالة المكونات من الحفر وتم غسل الحفر اربع مرات وذلك باستخدام wash buffer .

2- إضافة البيوتين المترافق Biotin Conjugate

تم اضافة 100 مايكرو لتر TNF- α محلول البيوتين المترافق إلى كل حفرة ، بعدها تم تغطية اللوحة بالغطاء الخاص بها وحضنت لمدة ساعة واحدة في درجة حرارة الغرفة وتم سحب المحلول جيدا، ثم غسلت الحفر اربع مرات باستخدام Wash Buffer .

3- إضافة Streptavidin-HRP

تم اضافة 100 مايكرو لتر من محلول Streptavidin-HRP في كل حفرة وغطيت اللوحة بغطائها الخاص وحضنت لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة ، ثم سحب المحلول جيدا وغسلت الحفر اربع مرات وذلك باستخدام wash buffer .

4- إضافة الكروموجين المستقر Stabilized Chromogen

اضيف 100 مايكرو لتر من الكروموجين المستقر إلى كل حفرة حتى بدأ محلول المادة الأساس Substrate بالتحول إلى اللون الأزرق، بعد ذلك تم الحضانة لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة في الظلام .

5- إضافة محلول التوقف Stop Solution

اضيف 100 مايكرو لتر من محلول التوقف لكل حفرة بعدها تم الضغط على جانب اللوحة للمزج ، وتم ملاحظة تغير لون المحلول في الحفر من الأزرق إلى الأصفر .

الحسابات :

تم قراءة الامتصاصية بعد ساعتين من إضافة محلول التوقف ، عند الطول الموجي 450 نانومتر.

3-9-8-2 تقييم مستوى الانترلوكين 10 (IL-10)

المحاليل المستخدمة :

- 1- المحلول القياسي Standard
- 2- محلول الغسل wash buffer
- 3- محلول الإيقاف Stop Solution
- 4- محلول Streptavidin-HRP

طريقة العمل :

1- استخدام كاشف الاجسام المضادة Biotinylated

اضيف 50 مايكرو لتر من كاشف الاجسام المضادة Biotinylated إلى كل حفرة . ثم تم إضافة 50 مايكرو لتر من Standard و عينات الاختبار test sample ثم خلطت جيدا عن طريق النقر على اللوحة بلطف ولعدة مرات . بعد ذلك اضيف 50 ميكرو لتر من المخفف القياسي Standard Diluent ، ثم غطيت اللوحة جيدا بغطاء اللوح اللاصق، وتم حضانة الحفر لمدة ساعتين بدرجة حرارة 20-25 مئوية في درجة حرارة الغرفة. بعدها تم إزالة غطاء اللوح اللاصق بعناية وتم غسل اللوحة 3 مرات باستخدام ال wash buffer .

2 – غسل الالواح Plate washing

تم الضغط بعناية على جوانب اللوحة قبل الغسل ، و اضيف محلول الغسل wash buffer للحفر بعد ذلك افرغت محتويات اللوحة وكرر هذا الاجراء 2-3 مرة .

3 - تحضير محلول Streptavidin-HRP

اضيف 100 ميكرو لتر من محلول Streptavidin-HRP المحضر إلى كل حفرة ثم أغلقت اللوحة بغطاء لاصق جديد بصورة محكمة وتم التحضين في درجة حرارة الغرفة 25-20 مئوية لمدة 30 دقيقة . بعد ذلك تم التخلص من غطاء اللوحة اللاصقة بعناية وازيلت مكوناتها وغسلت 3 مرات .

4 – احتضان المادة الأساس وخطوة التوقف Substrate Incubation and Stop Step

تم إضافة 100 ميكرو لتر من المادة الأساس TMB في جميع الحفر ثم ترك تفاعل اللون يتطور بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة في الظلام. إذ ينتج عن تفاعل المادة الأساس لون ازرق ، بعد ذلك تم إضافة 100 ميكرو لتر من محلول الإيقاف Stop Solution وذلك بعد مرور 30 دقيقة لغرض إيقاف التفاعل في جميع الحفرة .

5 – قياس الامتصاصية Absorbance Measurement

تم قياس الامتصاصية من خلال قارئ لوحة ELISA مضبوط على طول موجي 450 نانومتر .

3-9-8-3 تقييم مستوى انزيم Cytochrome P450

الكواشف المستخدمة :

1-الجسم المضاد للبيوتين Biotin- antibody

2 – HRP- avidin

3- wash buffer

4 – القياسي Standard

طريقة العمل :

1- تم اضافة 100 مايكروليتر من المعيار والعينة لجميع الحفرة وتم تغطيتها بشريط لاصق وحضن لمدة ساعتين و بدرجة حرارة 37 مئوية .

2 تم ازالة السائل من كل حفرة مع تجنب الغسل. بعد ذلك اضيف 100 مايكروليتر من الاجسام المضادة للبيوتين لكل حفرة وأغلقت بشريط لاصق جديد وحضنت لمدة ساعة واحدة في درجة حرارة 37 مئوية .

3- تم ترك الحفر بدرجة حرارة الغرفة وخط بعناية حتى اصبح المحلول متجانسا.

4- تم غسل الحفر جيدا باستخدام محلول الغسل wash buffer وكررت العملية ثلاث مرات .

5- غطيت الحفر بشريط لاصق وتم التحضين لمدة ساعة واحدة و بدرجة حرارة 37 مئوية .

6 - تم غسل الحفر 5 مرات كما في الخطوات السابقة بعدها اضيف 90 مايكروليتر من المادة الأساس TMB لكل حفرة وتم حضانة الحفر لمدة 15-30 دقيقة عند 37 درجة مئوية مع الحماية من الضوء .

7- تم اضافة 50 مايكروليتر من محلول التوقف لكل حفرة مع الضغط بلطف على اللوحة لضمان الخلط الشامل، وتم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي على 450 نانومتر.

10-8-3 تقييم مستويات عامل النمو المتحول بيتا transforming growth factor β 1 (TGF- β) و البروتين الجنيني الفا (AFP) و البروتين الجذب الكيمائي للخلية الوحيدة (MCP-1) Monocyte chemotactic protein-1

الكواشف المستخدمة:

- 1 – المحلول القياسي Standard
- 2 – الكاشف A
- 3 – الكاشف B
- 4 – المادة الأساس TMB
- 5 – محلول الغسل Wash Buffer

تحضير الكواشف :

- 1- تم تحضير جميع المكونات والعينات بدرجة حرارة الغرفة.
- 2- تم استخدام 1.0 مل من المادة المخففة القياسية وحفظها لمدة عشر دقائق بدرجة حرارة الغرفة ومن ثم رجها بالطف دون تكوين رغوة، بعدها تم تخفيف المحلول المخزون إلى 50 نانوغرام /مل ويكون تركيز المحلول المخزون 100 نانوغرام /مل.
- 3- تم وضع الكاشف A والكاشف B على التوالي في جهاز الطرد المركزي لمدة دقيقة بعد تخفيفها إلى 100 مرة للحصول على محلول متجانس.
- 4- تم تحضير 600 مل من محلول الغسل بعد تخفيف 20 من المحلول مع 580 من الماء المقطر.

طريقة العمل:

- 1- تم إضافة 100 مايكروليتر من المحلول القياسي المخفف والعينات إلى الحفر ثم تم تغطيتها بشريط لاصق بعناية ثم تم حضانة الحفر لمدة ساعة واحد وبدرجة حرارة 27 مئوية.
- 2- تم إزالة السائل من الحفر وبدون غسل.
- 3- تم إضافة 100 مايكروليتر من الكاشف A وتم تغطية الحفر بشريط لاصق وتم التحضين لمدة ساعة وبدرجة حرارة 37 مئوية .
- 4- تم إزالة المحلول من الحفر وغسلها بواسطة 350 مايكروليتر من محلول الغسل وذلك باستخدام ماصة متعددة القنوات وتركها لمدة دقيقتين، وتم غسل الحفر ثلاث مرات لإزالة مكونات الحفر بعدها تم قلبها على ورق ماص لإزالة السوائل المتبقية .

- 5- تم إضافة 100 مايكروليتر من الكاشف B وتم تغطية الحفر بشريط لاصق وتم التحضين لمدة نصف ساعة وبدرجة حرارة 37 مئوية.
- 6- تم غسل الحفر 5 مرات كما في الخطوات السابقة ، بعدها اضيف 90 مايكروليتر من المادة الأساس TMB لكل حفرة وتم التحضين لمدة 10-20 دقيقة عند 37 مئوية في الظلام.
- 7- تم إضافة 50 مايكروليتر من محلول التوقف لكل حفرة ، إذ يكون ناتج هذا التفاعل تحول لون السائل إلى الاصفر بعد إضافة محلول التوقف ، ثم الضغط بلطف على اللوحة لضمان الخلط الشامل، وتم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي على 450 نانومتر.

9-3 الدراسة النسجية Histological study

تم الاحتفاظ بعينات (الكبد ، الكلية) في البداية بعد استئصالها من ذكور الجرذان البيض في محلول الفورمالين بتركيز 10 %، ثم استخرجت من المحلول بعد 48 ساعة وتم غسلها عدة مرات بالكحول الايثيلي بتركيز 70 %، ثم بعد ذلك تم اجراء سلسلة من العمليات عليها اعتمادا على ما ذكر في طريقة (Bancroft And Stevens, 2010)

1-9-3 الانكاز والترويق Dehydration and Clearing

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

2-9-3 التشريب infiltration

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

3-9-3 الطمر Embedding

تم عمل قوالب من الشمع حاوية على نماذج العينات وذلك عن طريق سكب الشمع في قوالب بلاستيكية خاصة ، بعدها تم طمر النماذج فيها وتركت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ، بعد ذلك تم فصلها عن القالب ثم حفظت بعد ذلك حتى وقت تقطيعها .

4-9-3 التقطيع Sectioning

تم استخدام جهاز المشراح اليدوي Rotary Microtome لغرض تقطيع النماذج وذلك بسمك 5 مايكروميتر تقريبا ، ثم حملت اشربة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة وممسوحة بعد أن تم وضعها في حمام مائي بدرجة حرارة 45-50 مئوية وذلك لمدة دقيقة – دقيقتين لضمان فرش المقاطع ، وبعد ذلك تركت على صفيحة ساخنة Hot Plate لغرض التجفيف 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 خمس دقائق لغرض التخلص من الشمع ، ثم تم تمريرها في سلسلة تنازلية من الكحول الايثيلي (100% ، 100% ، 90% ، 80% ، 70% ، 50%) وذلك لمدة 2 دقيقة في كل تركيز ، و ثم تم تصبغها بصبغة الهيماتوكسيلين لمدة 4 دقائق و باستخدام ماء الحنفية غسلت لمدة دقيقتين بعدها تم تغطيسها بالكحول الحامضي لمرة أو ثلاث مرات وذلك للتخلص من الصبغة الزائدة ثم وضعت بصبغة الايوسين لمدة 7 دقائق وبعدها تم نقلها إلى سلسلة تصاعديّة 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 اجريت عملية التحميل الذي تتضمن استخدام بلسم كندا Canada Balsam لغرض تثبيت غطاء الشريحة ثم وضعت على صفيحة ساخنة لمدة 8 ساعات لغرض تجفيفها و لتصبح جاهزة للفحص المجهرى .

6-9-3 التصوير المجهرى Microphotography

فحصت الشرائح الزجاجية لتحديد التغيرات في المقاطع النسيجية المدروسة باستعمال المجهر الضوئي Light microscope وبقوى تكبير مختلفة، تم تصوير الشرائح الزجاجية باستخدام المجهر الضوئي والمزود بكاميرا رقمية نوع Canon عالية الدقة وتكون موصلة إلى جهاز حاسوب .

10-3 التحليل الاحصائي Statistical Analysis

تم تحليل جميع النتائج للمعايير الفسلجية من خلال استخدام البرنامج الجاهز Spss وتم مقارنة النتائج باستخدام قيمة أقل فرق معنوي (Least Significant difference (LSD) على مستوى احتمالية (0.01) ، كما تم تقدير معامل الارتباط بين بعض المعايير الكيموحيوية والجرع التصاعديّة للمستخلص المائي لقشور ولب ثمار نبات الرامبوتان وإيجاد معادلة الخط المستقيم للمعايير الكيموحيوية على هذه الجرعة التصاعديّة وذلك بيان تأثير الجرعة المؤثرة ED₅₀ على هذه المعايير، معادلة الخط المستقيم هي :

$$Y = a + bx$$

Y = المتغير التابع (المعايير الكيموحيوية)

a = نقطة تقاطع خط الانحدار مع المحور الصادي

b = معامل انحدار المتغير التابع على المتغير المستقل

x = قيمة المتغير المستقل (جرعة المستخلص لقشور ولب نبات الرامبوتان)

واستخدم تحليل التباين Anova table وفق التصميم العشوائي الكامل Complete randomized design (CRD) وذلك لتحليل بيانات التجربة الثانية فضلا عن استخدام اختبار اقل فرق معنوي Least Significant difference (L.S.D) وذلك لإظهار معنوية النتائج (Spss , 1999) .

الفصل الرابع
النتائج
Results

الفصل الرابع

النتائج Results

التجربة الأولى Experiment 1

1-4 التجربة الأولى لتحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان Determination of ED50 of NI peel and pulp aquatic extract

1-1-4 تأثير الجرعة التصاعدية المختلفة للمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان على بعض المعايير الكيموحيوية

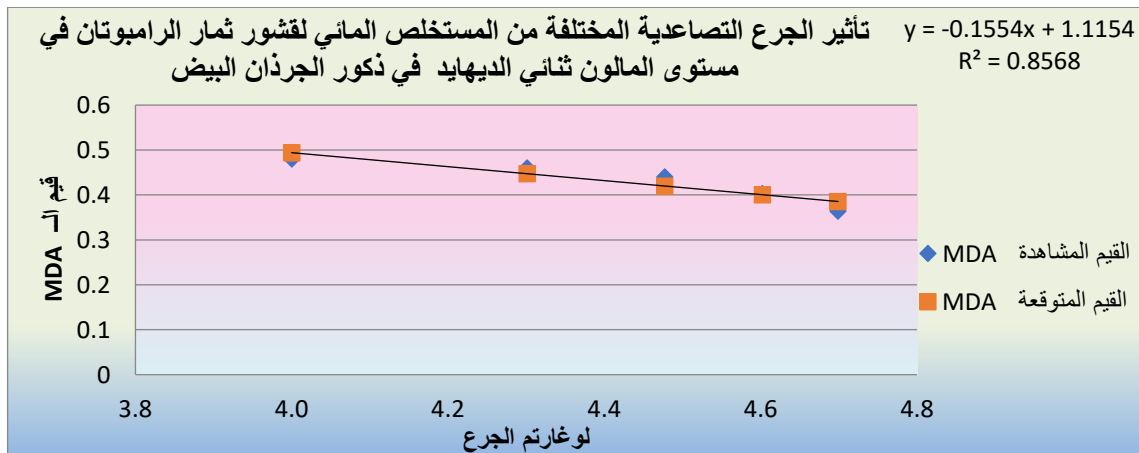
لقد تم قياس الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان وذلك من خلال دراسة منحنى الاستجابة للجرع المختلفة Dose response curve وتم استخدام خمس جرع تصاعدية من المستخلص المائي لقشور ولب الرامبوتان (10 ، 20 ، 30 ، 40 ، 50) وذلك لتحديد الجرعة المؤثرة النصفية للمستخلص ED₅₀ من خلال دراسة تأثيراته على بعض المعايير الوظيفية منها مستوى المألون ثاني الديهايد Malondialdehyde (MDA) ، الجلوتاثايون (GSH) ، الكولسترول الكلي Total cholesterol (TC) و الدهون البروتينية عالية الكثافة High density lipoprotein (HDL) ، إذ أوضحت النتائج ان هنالك تأثير معنوي للمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان على هذه المعايير عند مستوى المعنوية (P<0.01) .

تم استخدام النتائج التي تم الحصول عليها لتحديد الجرعة المؤثرة النصفية (ED₅₀) من المستخلص المائي لقشور الرامبوتان وفقاً لما يلي:

1-1-1-4 تحديد الجرعة المؤثرة النصفية للمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان

1-1-1-1-4 تأثير الجرع التصاعدية المختلفة من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في مستوى المألون ثاني الديهايد MDA في مصل ذكور الجرذان البيض

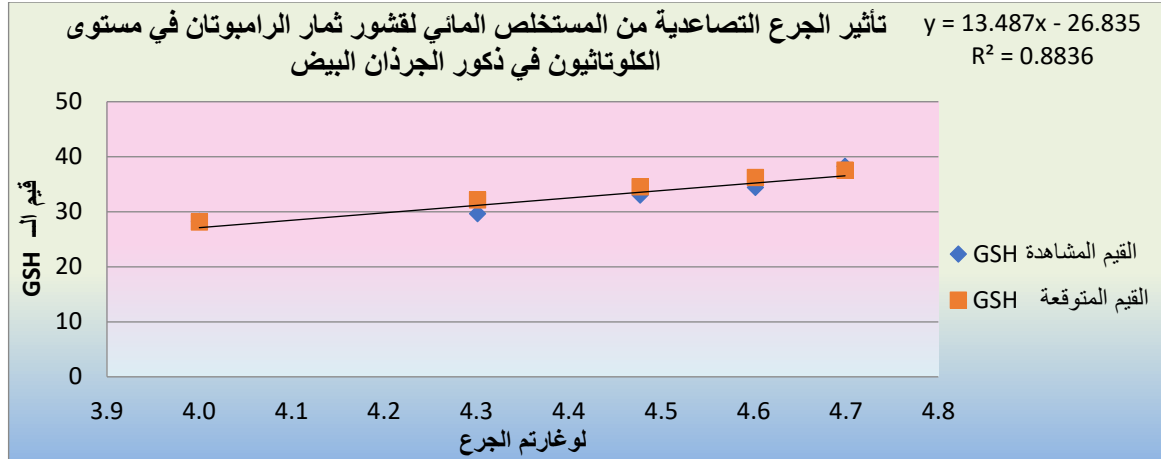
يلاحظ من الشكل (1-4) وجود علاقة خطية عكسية بين المستخلص المائي لقشور الرامبوتان ومستوى المألون ثاني الديهايد، كما وجد ان مقدار الجرعة النصفية المؤثرة لمألون ثاني الديهايد قد بلغت 26.11 ملغم/كغم.



شكل 1-4 تأثير الجرع المختلفة من المستخلص المائي لقشور الرامبوتان في مستويات المألون ثاني الديهايد MDA بعد 30 يوم n=10 ، (26.11) ED₅₀= mg/kg

4-1-1-1-2 تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في مستوى الجلوتاثيون في مصل ذكور الجرذان البيض

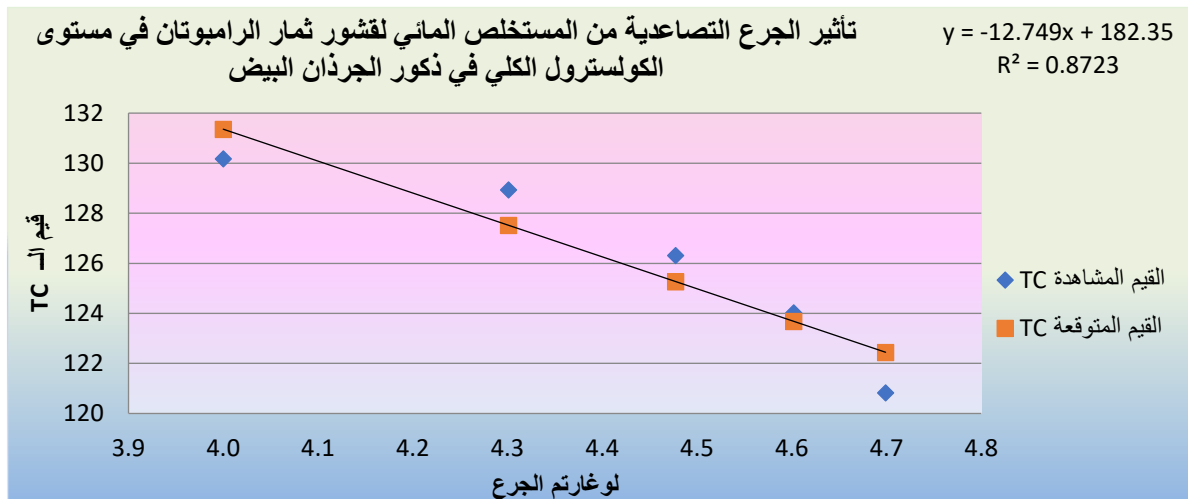
نلاحظ من الشكل (2-4) وجود علاقة طردية بين الجرعة التصاعديّة المختلفة للمستخلص المائي لقشور الرامبوتان ومستوى الجلوتاثيون في المصل، وقد وجد ان الجرعة المؤثرة النصفية بلغت 25.78 ملغم/كغم



شكل (2-4) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لقشور الرامبوتان في مستويات الجلوتاثيون GSH بعد 30 يوم $mg/kg ED50 = (25.78)$ ، $n=10$

4-1-1-1-3 تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في مستوى الكوليسترول الكلي TC في مصل ذكور الجرذان البيض

يوضح الشكل (3-4) وجود علاقة عكسية بين الجرعة التصاعديّة المختلفة لمستخلص قشور الرامبوتان ومعدل مستوى الكوليسترول الكلي، وجد ان الجرعة المؤثرة النصفية من خلال المعادلة الخطية قد بلغت 26.12 ملغم/كغم

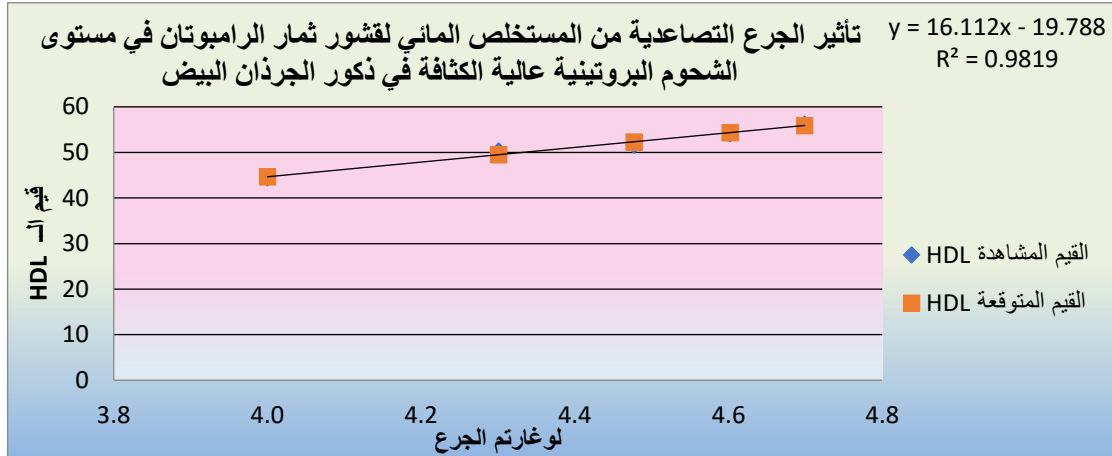


شكل (3-4) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لقشور الرامبوتان في مستويات الكوليسترول الكلي TC بعد 30 يوم $mg/kg ED50 = (26.12)$ ، $n=10$

4-1-1-1-4 تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL في مصل ذكور الجرذان البيض

يلاحظ من الشكل (4-4) وجود علاقة طردية بين المستخلص المائي لقشور الرامبوتان ومعدل مستوى البروتينات عالية الكثافة، وقد وجد ان الجرعة المؤثرة النصفية لمستخلص قشور الرامبوتان تساوي 22.04 ملغم/كغم .

ومن خلال حساب قيم الجرعة المؤثرة النصفية للمعايير الاربعة السابقة (MDA ، GSH ، TC و HDL) تم حساب الجرعة المؤثرة النصفية الكلية للمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان إذ بلغت 25.01 ملغم / كغم .

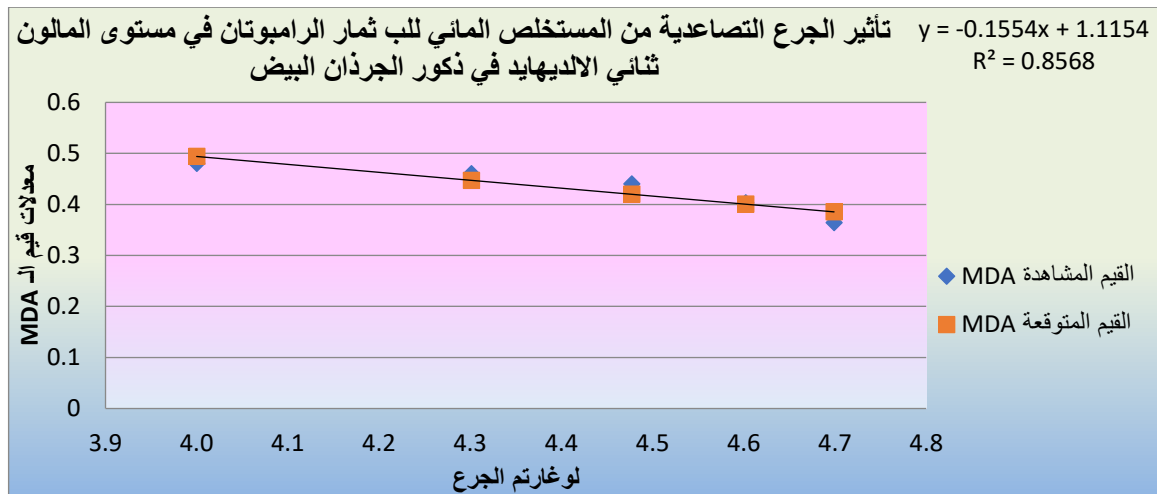


شكل (4-4) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي لقشور الرامبوتان في مستويات الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL بعد 30 يوم n=10 ، ED50= (22.04) mg/kg

4-1-1-2 تحديد الجرعة المؤثرة النصفية للمستخلص المائي للرب ثمار الرامبوتان

4-1-1-1-2 تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي للرب ثمار الرامبوتان في مستوى المألون ثنائي الديهايد MDA في مصل ذكور الجرذان البيض

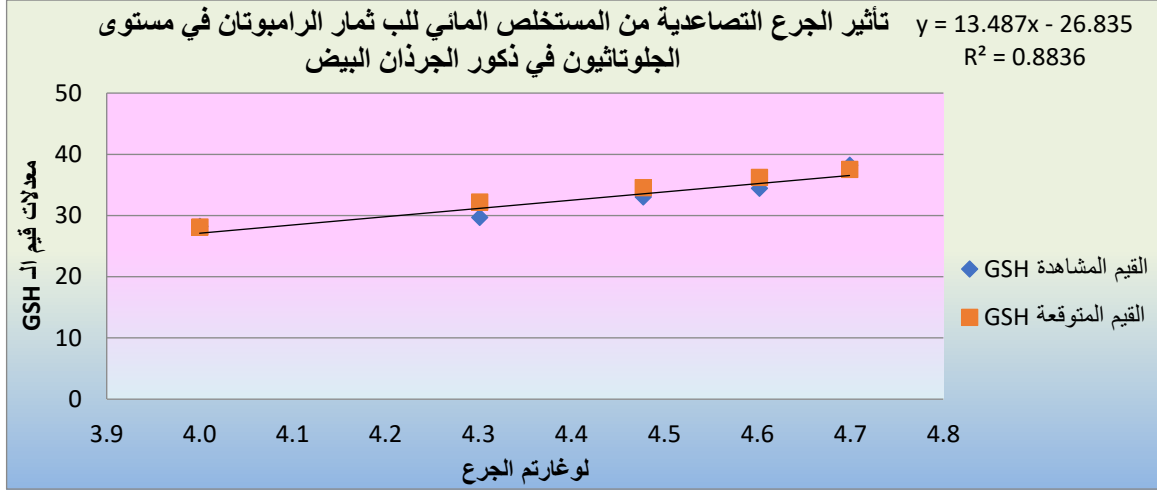
يوضح الشكل (4-5) وجود علاقة خطية عكسية ما بين المستخلص المائي للرب الرامبوتان ومستوى المألون ثنائي الديهايد، كما وجد ان مقدار الجرعة النصفية المؤثرة لمألون ثنائي الديهايد قد بلغت 28.48 ملغم/كغم.



شكل (4-5) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي للرب الرامبوتان في مستويات المألون ثنائي الديهايد MDA بعد 30 يوم n=10 ، ED50= (28.48) mg/kg

2-2-1-1-4 تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان في مستوى الجلوتاثيون في مصل ذكور الجرذان البيض

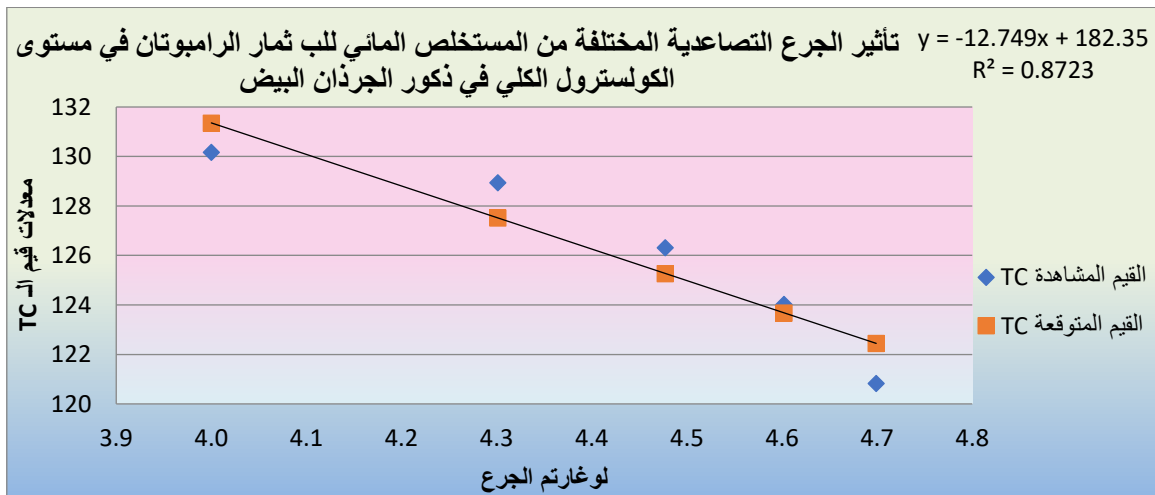
يلاحظ من الشكل (4-6) وجود علاقة طردية بين الجرعة التصاعديّة المختلفة للمستخلص المائي للثمار الرامبوتان ومستوى الجلوتاثيون في المصل، وقد وجد ان الجرعة المؤثرة النصفية بلغت 28.18 ملغم/كغم.



شكل (4-6) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان في مستويات الجلوتاثيون GSH بعد 30 يوم
 $mg/kg ED50 = (28.18)$ ، $n=10$

3-2-1-1-4 تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان في مستوى الكوليسترول الكلي TC في مصل ذكور الجرذان البيض

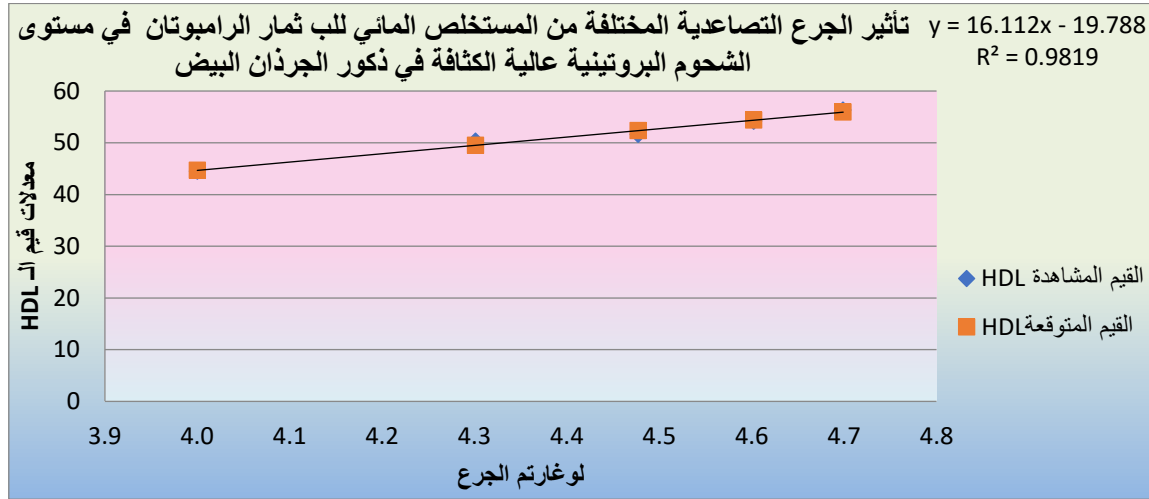
يوضح الشكل (4-7) وجود علاقة عكسية بين الجرعة التصاعديّة المختلفة لمستخلص لثمار الرامبوتان ومعدل مستوى الكوليسترول الكلي، وقد وجد ان الجرعة المؤثرة النصفية من خلال المعادلة الخطية قد بلغت 29.05 ملغم/كغم.



شكل (4-7) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان في مستويات الكوليسترول الكلي TC بعد 30 يوم
 $mg/kg ED50 = (29.05)$ ، $n=10$

4-2-1-1-4 تأثير الجرعة التصاعديّة المختلفة من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان في مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL في مصل ذكور الجرذان البيض

نلاحظ من الشكل (4-8) وجود علاقة طردية بين المستخلص المائي للثمار الرامبوتان ومعدل مستوى البروتينات عالية الكثافة، فقد وجد ان الجرعة المؤثرة النصفية لمستخلص لب الرامبوتان قد بلغت 22.39 ملغم/كغم.



شكل (4-8) تأثير الجرعة المختلفة من المستخلص المائي للثمار الرامبوتان في مستويات الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL بعد 30 يوم n=10 ، ED50= (22.39) mg/kg

ومن خلال حساب قيم الجرعة المؤثرة النصفية للمعايير الاربعة السابقة (MDA ، GSH ، TC و HDL) تم حساب الجرعة المؤثرة النصفية الكلية للمستخلص المائي للثمار الرامبوتان إذ بلغت 27.02 ملغم / كغم.

2-4 التجربة الثانية Experiment

1-2-4 تأثير مادة الثيوأسيتاميد TAA والمستخلص المائي لقمشور ولب ثمار الرامبوتان على انزيمات الكبد والبيلبير وبين الكلي

1-1-2-4 التغييرات في معدل فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) (U/L)

يشير الجدول (1-4) ان المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم في المجموعة الثانية (G2) قد أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في فعالية انزيم ALP مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، في حين لم يلاحظ وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في معدل فعالية انزيم ALP في المجموعة الثالثة G3 التي جرعت بالمستخلص المائي لقمشور ثمار الرامبوتان بتركيز 25 ملغم/كغم والمجموعة الخامسة G5 التي جرعت بالمستخلص المائي للثمار الرامبوتان وبتركيز 27 ملغم/كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويشير الجدول (1-4) إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في فعالية انزيم ALP في المجموعة الرابعة G4 والمجموعة السادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويلاحظ عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.01$) بين المجموعة الرابعة G4 و المجموعة السادسة G6 وبين المجموعة الرابعة G4 والمجموعة الخامسة G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة .

2-1-2-4 التغيرات في معدل فعالية الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين Alanine transaminase (ALT) و (U/L) Aspartate transaminase (AST)

يلاحظ من الجدول (1-4) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل فعالية انزيم ALT وAST في المجموعة الثانية (G2) التي حقنت تحت الغشاء البريتوني مادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول (1-4) إلى عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.01$) في معدل فعالية انزيم ALT وAST في المجموعة الثالثة G3 والمجموعة الرابعة G4 والمجموعة الخامسة G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) كما ويشير الجدول (1-4) إلى عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.01$) بين المجموعة الرابعة G4 والمجموعة السادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

3-1-2-4 التغيرات في معدل المستوى الكلي للبيلبيروبين الكلي (T-BIL)

يلاحظ من الجدول (1-4) حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى البيلبيروبين الكلي في المجموعة الثانية G2 التي حقنت بمادة الثيوأسيتاميد بتركيز 200 ملغم/كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، في حين يشير الجدول (1-4) إلى عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في المجموعة الثالثة (G3) والخامسة (G5) و المجموعة الرابعة (G4) والمجموعة السادسة (G6) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

جدول (1-4) تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في فعالية انزيمات الكبد و البيلبيروبين الكلي في مصل ذكور الجرذان البيض

المعدل ± الانحراف المعياري				المجاميع
T-BIL (mg/ dl)	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	
0.17 ± 0.03 a	44.80 ± 5.31 a	128.10 ± 5.57 a	231.50 ± 7.46 a	G1 1ملغم /كغم ماء مقطر
0.64 ± 0.12 b	114.40 ± 9.62 b	311.70 ± 39.72b	501.80 ± 33.89 b	G2 (200 ملغم/كغم TAA)
0.14 ± 0.04 a	44.50 ± 4.01 a	124.30 ± 5.70 a	232.40 ± 4.77 a	G3 25 ملغم/كغم مستخلص قشور الرامبوتان)
0.18 ± 0.08 a	48.20 ± 4.10 a	132.80 ± 4.37 a	247.40 ± 10.47 cd	G4 200ملغم /كغم TAA+ 25 ملغم/كغم مستخلص قشور الرامبوتان)
0.15 ± 0.04 a	46.20 ± 4.57 a	125.60 ± 5.80 a	234.30 ± 14.41 ac	G5 (27 ملغم/كغم مستخلص لب الرامبوتان)
0.20 ± 0.07 a	49.40 ± 5.32 a	134.00 ± 3.53 a	251.10 ± 11.15 d	G6 (200 ملغم /كغم TAA+ 27 ملغم/كغم مستخلص لب الرامبوتان)
0.06	5.09	14.78	14.62	LSD

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

2-2-4 تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى الكرياتينين واليوريا و الألبومين

1-2-2-4 التغيرات في معدل مستوى الكرياتينين (Um/I) Creatinine

تشير البيانات الموجودة في الجدول (2-4) إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى الكرياتينين في المجموعة الثانية (G2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما ويلاحظ من الجدول حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى الكرياتينين في المجموعة السادسة (G6) المعاملة بجرعة 200 ملغم/كغم من مادة ال TAA والمستخلص المائي للرب الرامبوتان بجرعة 27 ملغم /كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، في حين يشير الجدول (2-4) إلى عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في معدل مستوى الكرياتينين بين المجموعة الثالثة (G3) والمجموعة الرابعة (G4) والمجموعة الخامسة (G5) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

2-2-2-4 التغيرات في معدل مستوى اليوريا (mmol/L) Urea

يلاحظ من الجدول (2-4) ان المعاملة بمادة TAA بتركيز 200ملغم/كغم في المجموعة الثانية G2 قد أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى اليوريا مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، في حين لم يلاحظ فرق معنوي ($P > 0.01$) في المجموعة الثالثة G3 والمجموعة الرابعة G4 والمجموعة الخامسة G5 والمجموعة السادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويلاحظ من الجدول عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) بين المجموعة G4 التي عوملت بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان بتركيز 25 ملغم/كغم مع مادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم وبين المجموعة السادسة G6 المعاملة بالمستخلص المائي للرب الرامبوتان بتركيز 27 ملغم/كغم مع مادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

3-2-2-4 التغيرات في معدل مستوى الألبومين (g/dl) Albumin

يشير الجدول (2-4) إلى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى الألبومين في المجموعة الثانية G2 المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم /كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يلاحظ عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) بين المجموعة الثالثة G3 المعاملة بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان بتركيز 25 ملغم/كغم و المجموعة الرابعة G4 المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم والمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بتركيز 25 ملغم /كغم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويلاحظ عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) وبين المجموعة الخامسة G5 والمجموعة السادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

جدول (2-4) تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى الكرياتينين واليوربا والألبومين في مصل ذكور الجرذان البيض

المعدل ± الانحراف المعياري			المجاميع
Albumin (g/dl)	Urea (mmol/L)	Creatinine μ mol/l	
5.56 ± 1.10 a	5.41 ± 0.45 a	38.70 ± 3.16 a	G1 1ملغم /كغم ماء مقطر
2.67 ± 0.52 b	9.70 ± 0.89 b	80.80 ± 6.43 b	G2 (200 ملغم/كغم TAA)
5.91 ± 0.47 a	5.00 ± 0.59 a	36.40 ± 4.43 a	G3 (25 ملغم/كغم مستخلص قشور الرامبوتان)
4.93 ± 0.50 a	5.72 ± 0.73 a	42.00 ± 6.62 a	G4 (200ملغم /كغم TAA +25 ملغم/كغم مستخلص قشور الرامبوتان)
5.76 ± 0.45 a	5.19 ± 0.61 a	37.60 ± 4.35 a	G5 (27 ملغم/كغم مستخلص لب الرامبوتان)
5.01 ± 0.52 a	5.91 ± 0.71 a	43.30 ± 5.79 d	G6 (200 ملغم /كغم TAA +27 ملغم/كغم مستخلص لب الرامبوتان)
0.56	0.59	4.63	LSD

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

2-4-3 تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى الجلوتاثايون والمالون ثنائي الديهايد وفعالية انزيم الديسموتاز الفائق والسيتوكروم P450.

1-3-2-4 التغييرات في مستوى الجلوتاثايون (GSH) mg/dl

يشير الجدول (3-4) إلى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في مستوى الجلوتاثايون في المجموعة الثانية G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويلاحظ من الجدول (3-4) ان التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان في المجموعة الثالثة G3 و التجريع الفموي بالمستخلص المائي للرب الرامبوتان في المجموعة الخامسة G5 طوال فترة التجربة قد أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى GSH بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، في حين يشير الجدول إلى عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في المجموعة الرابعة G4 والمجموعة السادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

2-3-2-4 التغييرات في مستوى المالون ثنائي الديهايد (MDA) mg/dl

يلاحظ من الجدول (3-4) ان المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد في المجموعة الثانية G2 وبتركيز 200 ملغم/كغم قد أدى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى المالون ثنائي الديهايد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، في حين يلاحظ عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في مستوى MDA بين المجموعة الثالثة G3 والمجموعة الخامسة G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويلاحظ من الجدول (3-4) عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في المجموعة الرابعة G4 المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد 200 ملغم /كغم والمستخلص المائي لقشور الرامبوتان 25ملغم/كغم وبين المجموعة السادسة G6 المعاملة بمادة

الثيوأسيتاميد 200 ملغم/كغم والمستخلص المائي للرب الرامبوتان 27 ملغم/كغم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

3-3-2-4 التغييرات في معدل فعالية انزيم الديسموتاز الفائق (SOD) mg/dl

توضح النتائج الموجودة في الجدول (3-4) إلى حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل فعالية انزيم SOD في المجموعة الثانية G2 المعاملة بمادة TAA بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويلاحظ ان التجريع الفموي للمستخلص المائي لقشور الرامبوتان في المجموعة الثالثة G3 والتجريع الفموي لمستخلص لب الرامبوتان في المجموعة الخامسة G5 لم يؤدي إلى حدوث فرق معنوي ($P > 0.01$) في مستوى انزيم SOD بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويشير الجدول (3-4) أيضا إلى عدم وجود فرق معنوي بين المجموعة الرابعة G4 والمجموعة السادسة G6 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

4-3-3-4 التغييرات في معدل فعالية انزيم السيتوكروم (CYP) Cytochrome p 450

يلاحظ من الجدول (3-4) ان المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم قد أدى إلى حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى السيتوكروم في المجموعة الثانية G2 بالمقارنة مع المجموعة الأولى G1 ، كما يلاحظ من الجدول (3-4) عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في المجموعة الثالثة G3 التي عوملت مع المستخلص المائي لقشور الرامبوتان بتركيز 25 ملغم/كغم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، و عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في مستوى CYP في المجموعة الرابعة G4 والمجموعة الخامسة G5 والمجموعة السادسة G6 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (3-4) تأثير مادة الثيوأسيتاميد TAA والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى SOD و MDA و CYT P 450 في مصّل ذكور الجرذان البيض

المعدل ± الانحراف المعياري				المجاميع
CY P	SOD mg/dl	MDA mg/dl	GSH mg/dl	
1.06 ± 0.26 a	63.70 ± 7.35 a	0.35 ± 0.06 a	16.77 ± 0.61 a	G1 1 ملغم /كغم ماء مقطر
0.69 ± 0.27 b	34.20 ± 7.02 b	0.84 ± 0.11 b	9.70 ± 2.34 b	G2 (200 ملغم/كغم TAA)
1.18 ± 0.24 a	59.60 ± 6.40 a	0.32 ± 0.04 a	22.96 ± 2.06 c	G3 (25 ملغم/كغم مستخلص قشور الرامبوتان)
1.02 ± 0.25 a	64.50 ± 4.06 a	0.37 ± 0.06 a	16.22 ± 0.78 a	G4 (200 ملغم /كغم TAA +25 ملغم/كغم مستخلص قشور الرامبوتان)
1.11 ± 0.19 a	58.60 ± 6.11 a	0.32 ± 0.04 a	22.67 ± 2.03 c	G5 (27 ملغم/كغم مستخلص لب الرامبوتان)
1.16 ± 0.23 a	61.70 ± 3.20 a	0.38 ± 0.05 a	16.10 ± 0.83 a	G6 (200 ملغم /كغم TAA +27 ملغم/كغم مستخلص لب الرامبوتان)
0.21	5.17	0.06	1.41	LSD

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

4-2-4 تأثير مادة الثيوأسيتاميد TAA والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في معدل مستوى عامل التنخر الورمي -الفا والانترلوكين 10 والبروتين الجنيني -الفا وعامل النمو المتحول -بيتا والبروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة

1-4-2-4 التغييرات في معدل مستوى عامل التنخر الورمي (TNF- الفا) (ng/ml)

يشير الجدول (4-4) إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى عامل التنخر الورمي الفا في المجموعة الثانية G2 المعاملة بمادة TAA بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، في حين يشير الجدول (4-4) إلى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في مستوى TNF- α في المجموعة الثالثة G3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1، كما ويلاحظ من الجدول (4-4) عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في المجموعة الرابعة G4 والمجموعة السادسة G6 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويشير الجدول (4-4) الى عدم وجود فرق معنوي في المجموعة الخامسة G5 المعاملة بالمستخلص المائي للبرامبوتان مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما و سجلت النتائج وجود فرق معنوي ($P < 0.01$) بين المجموعتين G3 وG4 وبين المجموعتين G5 وG6.

2-4-2-4 التغييرات في معدل مستوى الانترلوكين 10 (IL-10) (pg/ml)

تشير البيانات الموضحة في الجدول (4-4) إلى ان المعاملة بمادة TAA طوال فترة التجربة قد أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى الانترلوكين IL-10 في المجموعة الثانية مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويشير الجدول (4-4) بأن التجريب الفموي لمستخلص قشور الرامبوتان بتركيز 25 ملغم/كغم في المجموعة الثالثة G3 و أيضا التجريب الفموي لمستخلص لب الرامبوتان بتركيز 27 ملغم/كغم في المجموعة الخامسة G5 لم يؤدي إلى حدوث فرق معنوي ($P > 0.01$) في مستوى الانترلوكين IL-10 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كذلك لم يلاحظ وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في معدل مستوى الانترلوكين IL-10 بين المجموعتين G4 وG6 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

3-4-2-4 التغييرات في معدل مستوى البروتين الجنيني الفا (alpha-fetoprotein (AFP) (ng/ml)

يلاحظ من الجدول (4-4) حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى البروتين الجنيني الفا في المجموعة الثانية G2 والمعاملة ب 200 ملغم /كغم من TAA بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ويلاحظ ان التجريب الفموي للمستخلص المائي لقشور الرامبوتان بجرعة 25 ملغم/كغم في المجموعة الثالثة G3 و التجريب الفموي للمستخلص المائي للبرامبوتان بجرعة 27 ملغم/كغم في المجموعة الخامسة G5 لم يؤدي إلى وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في معدل مستوى AFP بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ولم يلاحظ فرق معنوي ($P > 0.01$) بين المجموعتين G4 وG6 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

4-4-2-4 التغييرات في معدل مستوى عامل النمو المتحول بيتا (transforming growth factor β 1) (ng/ml)

يشير الجدول (4-4) إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى عامل النمو المتحول بيتا في المجموعة الثانية G2 المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم /كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، في حين لم تسجل المجموعة الثالثة G3 والمجموعة الرابعة G4 والمجموعة الخامسة G5 و المجموعة السادسة G6 اي فرق معنوي ($P > 0.01$) في معدل مستوى TGF- β مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

5-4-2-4 التغييرات في معدل مستوى بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) pg/ ml

يلاحظ من الجدول (4-4) حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة MCP-1 في المجموعة الثانية المعاملة مع مادة TAA بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ولم يلاحظ وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في مستوى MCP-1 في المجموعة الثالثة G3 و المجموعة الرابعة G4 والمجموعة G5 والمجموعة السادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-4) تأثير مادة الثيوسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى $TNF \alpha$ و IL-10 و AFP و $TGF-\beta$ و MCP-1 في مصل ذكور الجرذان البيض

المعدل \pm الانحراف المعياري					المجاميع
MCP-1 pg/ ml	AFP ng/ml	IL-10 pg/ml	TGF- β ng/ ml	TNF - α ng/ml	
45.32 \pm 3.68 a	3.34 \pm 2.17 a	4.69 \pm 0.85 a c	0.54 \pm 0.16 a	3.00 \pm 0.46 a d	G1 1ملغم /كغم ماء مقطر
83.88 \pm 37.04 b	41.85 \pm 6.90 b	34.12 \pm 4.61 b	34.28 \pm 7.44 b	9.56 \pm 0.87 b	G2 (200 ملغم/كغم TAA)
41.44 \pm 4.41 a	3.11 \pm 2.11 a	3.71 \pm 0.71 a	0.50 \pm 0.10 a	2.54 \pm 0.30 c	G3 (25 ملغم/كغم مستخلص قشور الرامبوتان)
46.74 \pm 5.52 a	4.42 \pm 2.18 a	5.25 \pm 0.82 c	0.61 \pm 0.23 a	3.20 \pm 0.33 a	G4 (200ملغم /كغم TAA +25 ملغم/كغم مستخلص قشور الرامبوتان)
42.70 \pm 2.13 a	3.33 \pm 2.14 a	3.90 \pm 0.65 a	0.52 \pm 0.10 a	2.65 \pm 0.29 cd	G5 (27 ملغم/كغم مستخلص لب الرامبوتان)
46.99 \pm 5.52 a	4.78 \pm 2.08 a	5.46 \pm 0.79 c	0.64 \pm 0.23 a	3.41 \pm 0.39 a	G6 (200 ملغم /كغم TAA +27 ملغم/كغم مستخلص لب الرامبوتان)
6.1	3.00	1.76	2.67	0.42	LSD

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

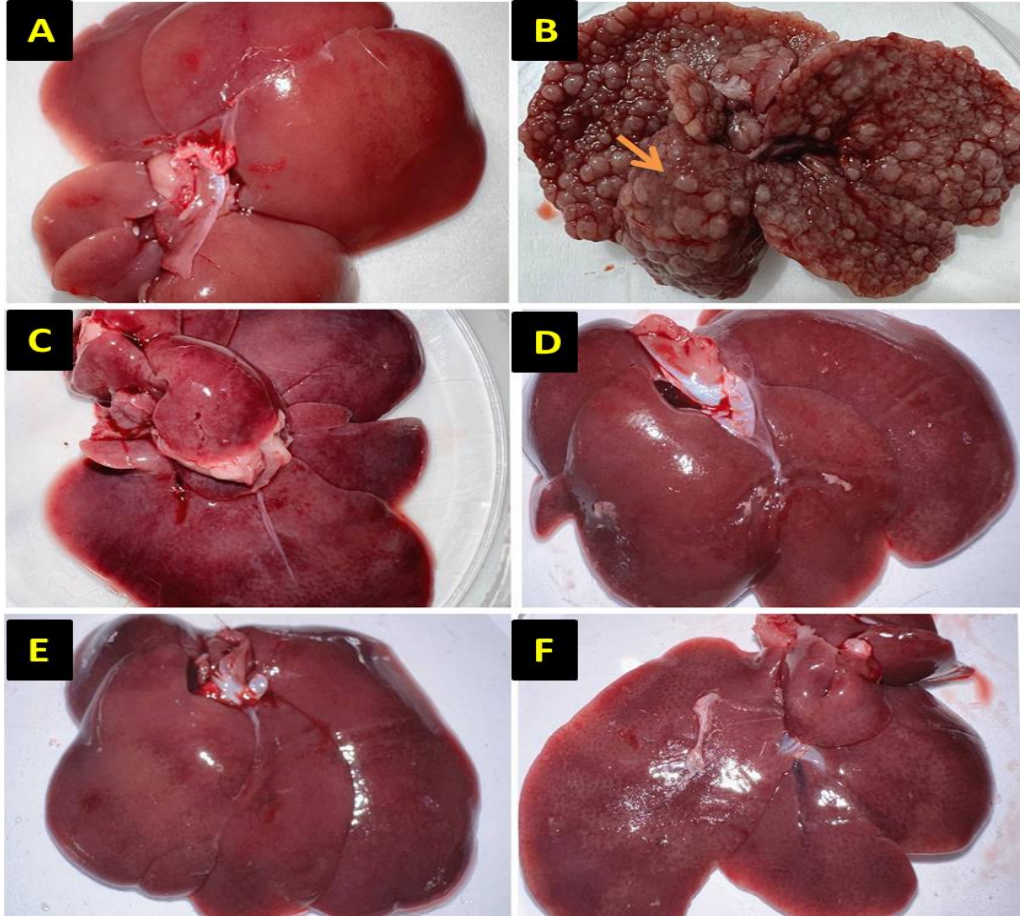
5-2-4 التغييرات النسجية

1-5-2-4 التغييرات العيانية

1-1-5-2-4 التغييرات العيانية في الكبد

نلاحظ من الصورة (A 1-4) المظهر العياني للكبد لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ، إذ يلاحظ المظهر الطبيعي لعضو الكبد ، في حين يلاحظ من الصورة (B 1-4) تأثير مادة الثيوسيتاميد TAA التي حقنت تحت الغشاء البريتوني بتركيز 200ملغم/كغم في ذكور الجرذان البيض في المجموعة الثانية ولمدة ثلاثة اشهر، إذ يلاحظ وجود عقيدات ورمية كبيرة وواضحة مع تضخم عضو الكبد ، كما تبين كلا من

الصورة (C 1-4) و (D 1-4) تأثير التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور ولب الرامبوتان على التوالي ، إذ يلاحظ المظهر الطبيعي لعضو الكبد ، كما يلاحظ من الصورة (E 1-4) تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA بتركيز 200ملغم/كغم مع التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بتركيز 25ملغم/كغم والتي يظهر فيها نسيج الكبد بمظهر طبيعي ، وتبين الصورة (F 1-4) المظهر العياني لعضو الكبد في المجموعة المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA بتركيز 200ملغم/كغم ومستخلص لب الرامبوتان بتركيز 27ملغم/كغم ويلاحظ المظهر الطبيعي لعضو الكبد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

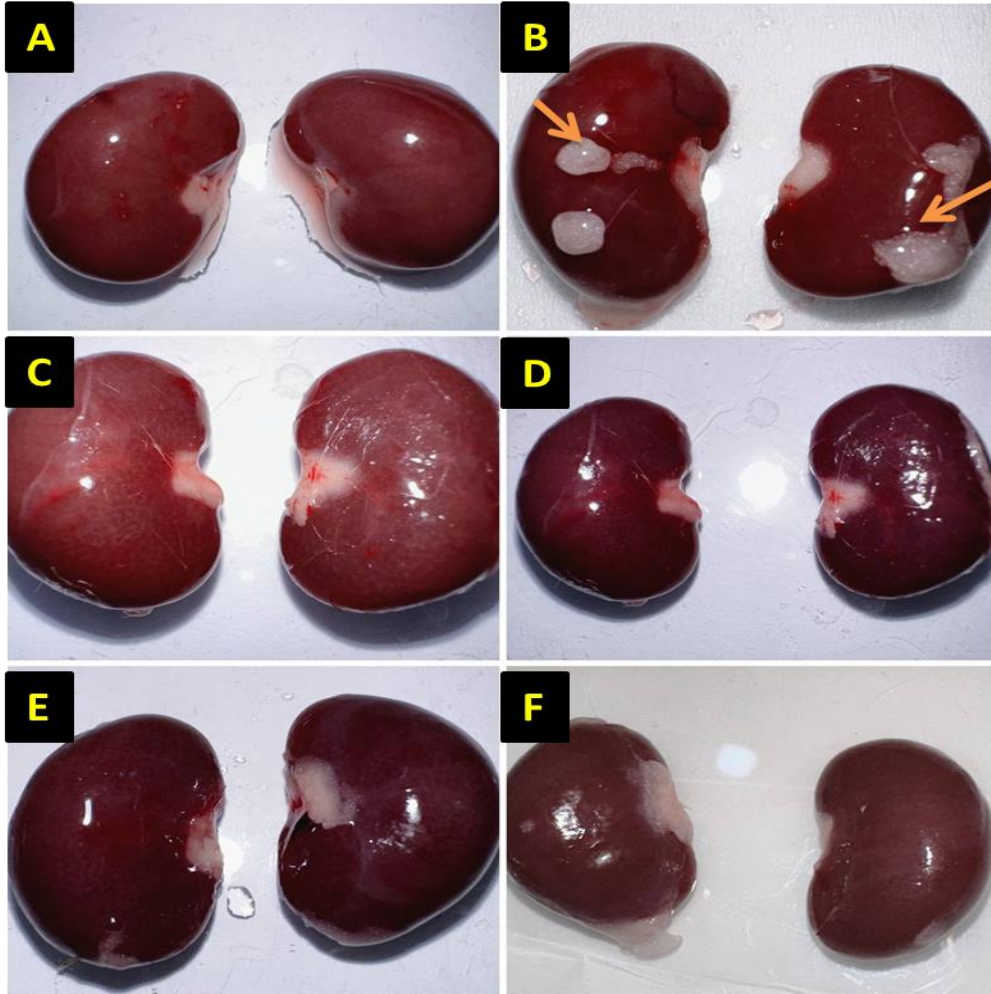


صورة (A1-4) المظهر العياني للكبد لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة ، إذ يلاحظ المظهر الطبيعي لعضو الكبد ، (B) تأثير مادة الثيوأسيتاميد TAA بتركيز 200ملغم/كغم في ذكور الجرذان البيض في المجموعة الثانية ولمدة ثلاثة اشهر ، إذ يلاحظ وجود عقيدات ورمية كبيرة وواضحة مع تضخم عضو الكبد ، (C) و (D) تأثير التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور ولب الرامبوتان على التوالي ، إذ يلاحظ المظهر الطبيعي لعضو الكبد ، (E) تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA بتركيز 200ملغم/كغم مع التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بتركيز 25ملغم/كغم والتي يظهر فيها نسيج الكبد بمظهر طبيعي ، (F) المظهر العياني لعضو الكبد في المجموعة المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA بتركيز 200ملغم/كغم ومستخلص لب الرامبوتان بتركيز 27ملغم/كغم ويلاحظ المظهر الطبيعي لعضو الكبد.

2-1-5-2-4 التغييرات العيانية في الكلى

تبين الصورة (A 2-4) مظهر عياني لعضو الكلى في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة والتي يلاحظ فيها المظهر الطبيعي للكليتين ، في حين يلاحظ من الصورة (B 2-4) تأثير الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة الثيوأسيتاميد وبتتركيز 200ملغم/كغم في المجموعة الثانية ولمدة ثلاث اشهر ، إذ يلاحظ وجود أكياس على السطح الخارجي للكليتين، كما وتبين كلا من الصورة (C 2-4) والصورة (D 2-4) تأثير التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور ولب الرامبوتان على التوالي ، إذ يلاحظ المظهر الطبيعي

لنسيج الكلى ، كما ويلاحظ من الصورة (E 2-4) تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA بتركيز 200ملغم/كغم مع التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بتركيز 25ملغم/كغم والتي يظهر فيها نسيج الكلى بمظهر طبيعي ، كما ويلاحظ من الصورة (F 2-4) تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA بتركيز 200ملغم/كغم ومستخلص لب الرامبوتان بتركيز 27ملغم/كغم والتي يظهر فيها المظهر العياني للكلى بشكل اقرب إلى الطبيعي .



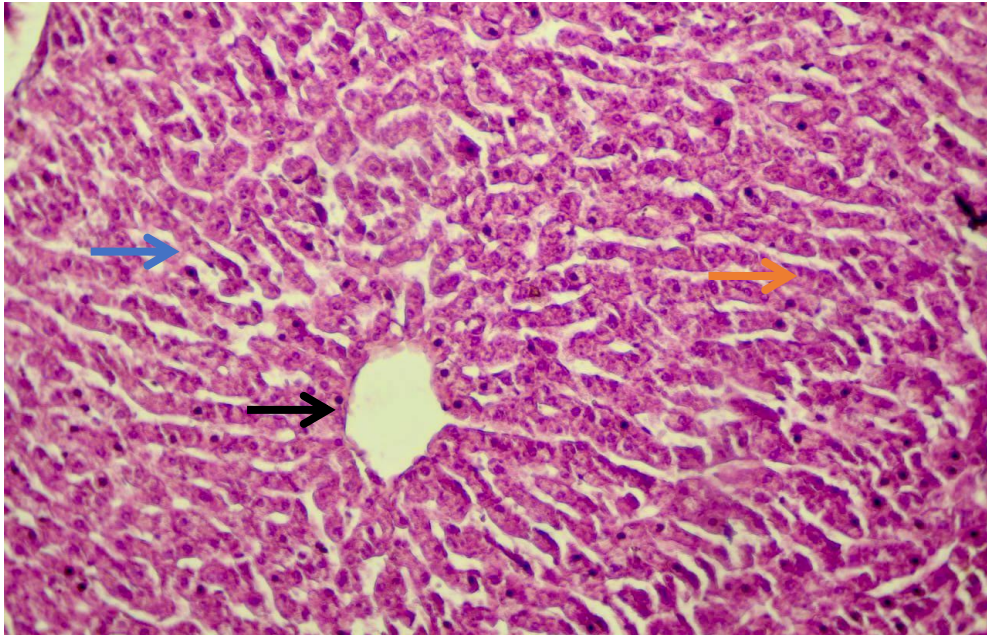
صورة (A 2-4) مظهر عياني لعضو الكلى في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة والتي يلاحظ فيها المظهر الطبيعي للكليتين ، في (B) تأثير الحقن بمادة الثيوأسيتاميد بتركيز 200ملغم/كغم ولمدة ثلاثة اشهر ، إذ يلاحظ وجود أكياس على السطح الخارجي للكليتين Kidney cyst ، (C) و (D) تأثير التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور ولب الرامبوتان على التوالي ، إذ يلاحظ المظهر الطبيعي لنسيج الكلى ، (E) تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA بتركيز 200ملغم/كغم مع التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بتركيز 25ملغم/كغم والتي يظهر فيها نسيج الكلى بمظهر طبيعي ، (F) تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA بتركيز 200ملغم/كغم ومستخلص لب الرامبوتان بتركيز 27ملغم/كغم والتي يظهر فيها المظهر العياني للكلى بشكل اقرب إلى الطبيعي .

2-5-2-4 التغيرات المجهرية

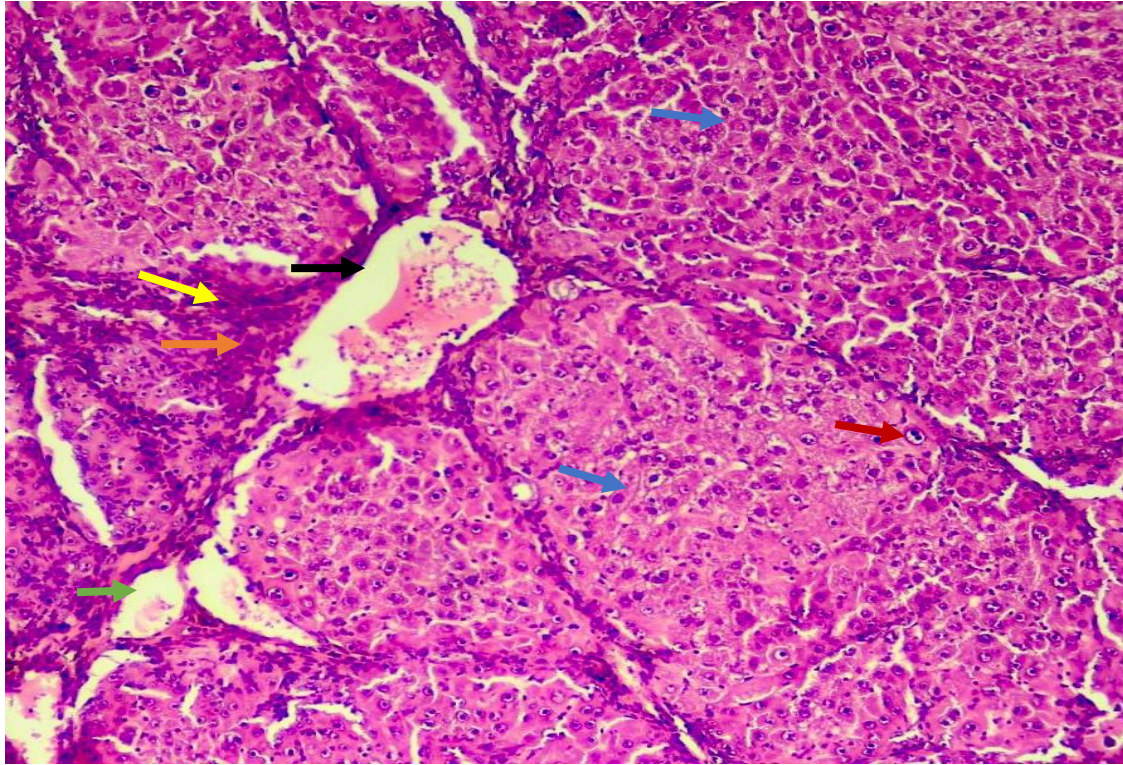
1-2-5-2-4 تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب الرامبوتان في نسيج الكبد

تبين صورة (3-4) مقطع نسجي في نسيج الكبد لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة، إذ يلاحظ انتظام الحبال الكبدية ووجود الوريد المركزي الطبيعي مع فضلا عن انتظام الجيبانيات والخلايا الكبدية، كما يلاحظ من الصورة (4-4) و (5-4) و الصورة (6-4) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من TAA ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E)، إذ يلاحظ ظهور عقيدات ورمية كبيرة لسرطان الكبد الأولي مع حدوث تغيرات تنكسية واضحة في نسيج الكبد و تنخر الخلايا الكبدية مع حدوث نزف دموي وتفجوي واضح ، كذلك حدوث تضاعف لانوية الخلايا الكبدية داخل العقيدة الورمي مع احتقان الوريد المركزي وارتشاح الخلايا الالتهابية حوله.

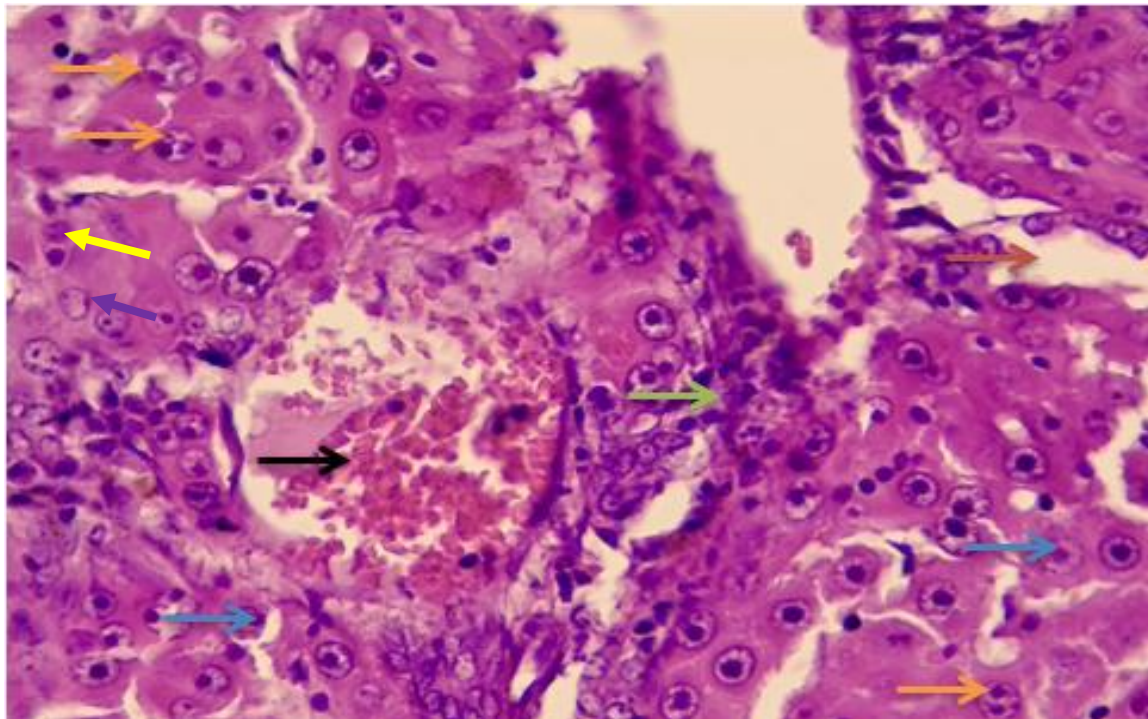
كما يلاحظ من الصورة (7-4) تأثير التجريع الفموي ب 25 ملغم / كغم من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان و الصورة (8-4) تأثير التجريع الفموي ب 27 ملغم / كغم من المستخلص المائي لللب ثمار الرامبوتان ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E)، إذ يلاحظ التركيب الطبيعي للخلايا الكبدية في نسيج الكبد لكلا المجموعتين ، ويلاحظ من الصورة (9-4) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من TAA مع التجريع الفموي ب 25 ملغم / كغم من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E) ، إذ يلاحظ اعادة انتظام الخلايا الكبدية والوريد المركزي الطبيعي مع وجود بعض الفراغات بين الخلايا الكبدية ، في حين تبين الصورة (10-4) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من TAA مع التجريع الفموي ب 27 ملغم / كغم من المستخلص المائي لللب ثمار الرامبوتان ولمدة ثلاثة اشهر إذ يلاحظ وجود نزف دموي داخل الوريد المركزي و اعادة انتظام الجيبانيات والخلايا الكبدية مع ارتشاح لبعض الخلايا الالتهابية داخل النسيج .



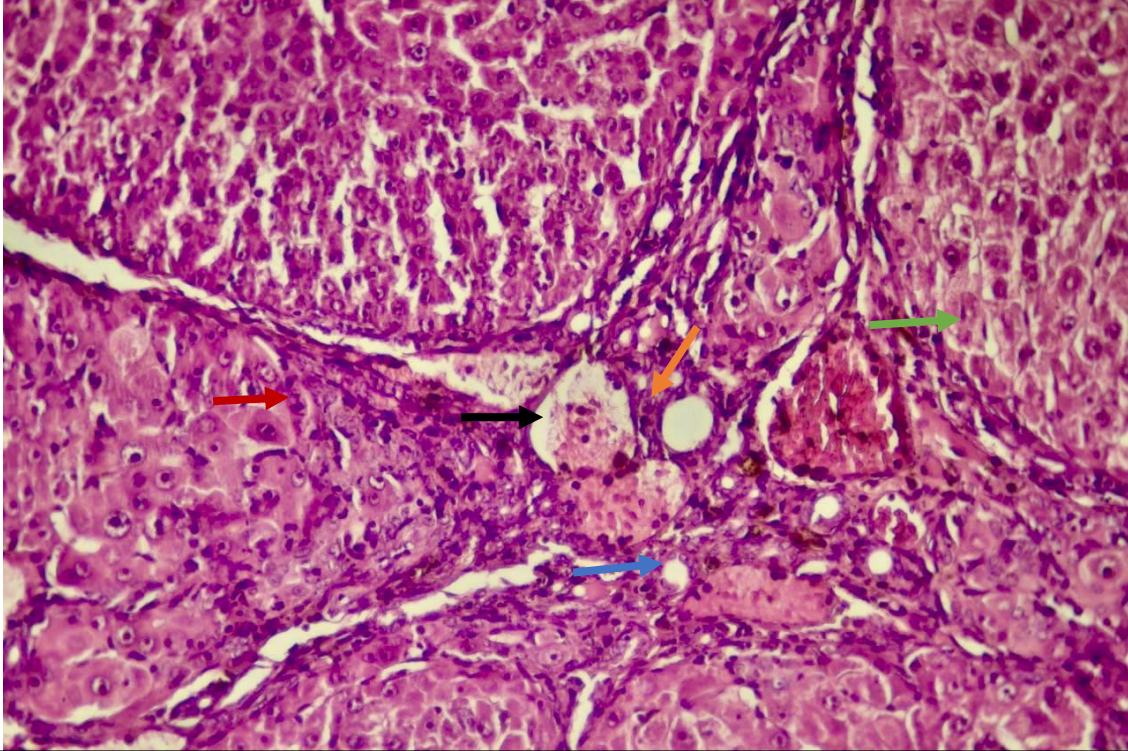
صورة (3-4) تبين مقطع نسجي للكبد في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة، إذ يلاحظ وجود الوريد المركزي الطبيعي (H&E 200 X) ووجود الجيبانيات والخلايا الكبدية (→) وانتظام الحبال الكبدية (→)



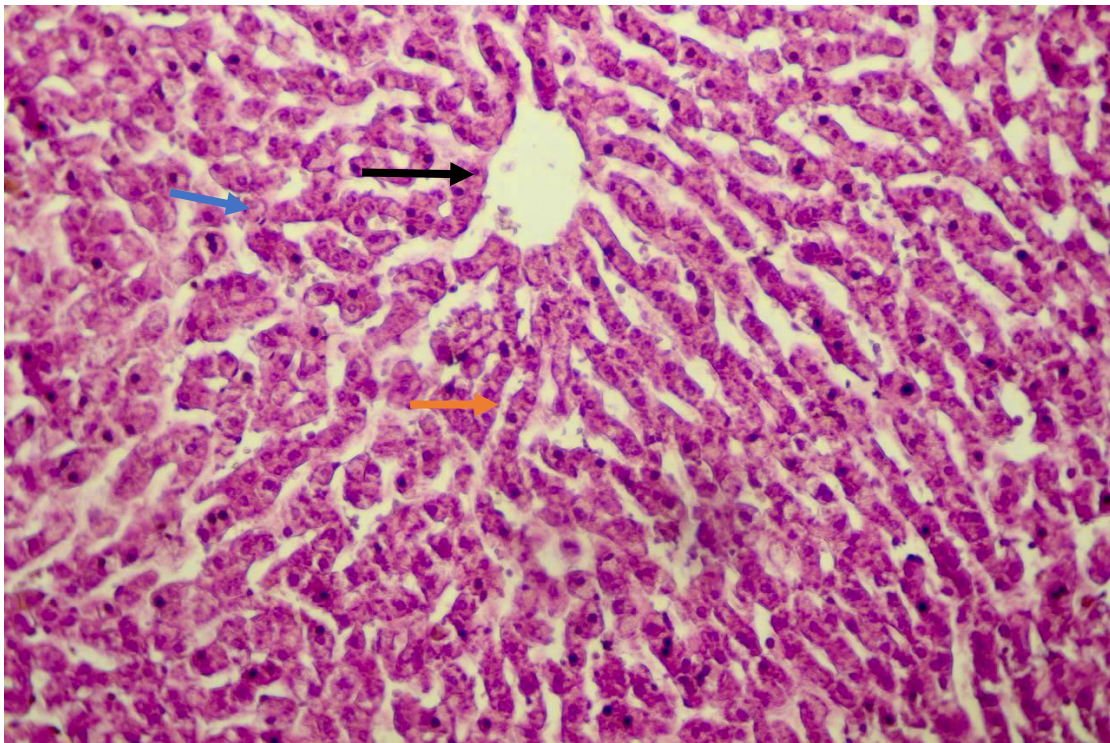
صورة (4-4) تبين تأثير المعاملة مادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد ، إذ يلاحظ ظهور عقيدات ورمية كبيرة → مع حدوث تغيرات تنكسية واضحة في نسيج الكبد → وارتشاح الخلايا الالتهابية → مع احتقان الوريد المركزي وارتشاح الخلايا الالتهابية حوله → و ظهور الخلايا العملاقة → مع تليف الحبال الكبدية → (H&E 200 X)



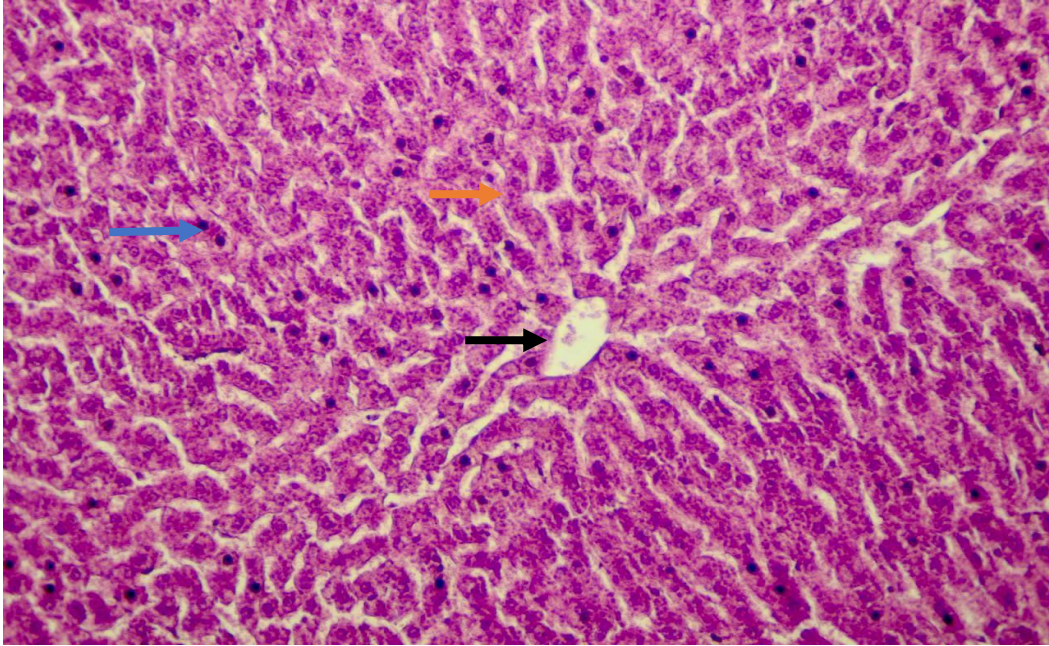
صورة (4-5) تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاث اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد إذ يلاحظ تغيرات تنكسية دهنية في نسيج الكبد → وتنخر الخلايا الكبدية → وارتشاح الخلايا الالتهابية → مع حدوث تضاعف لانوية الخلايا الكبدية داخل العقيدة الوريدية → و ظهور الخلايا كثيفة الكروماتين → مع انكماش خلايا الموت المبرمج → (H&E 400 X)



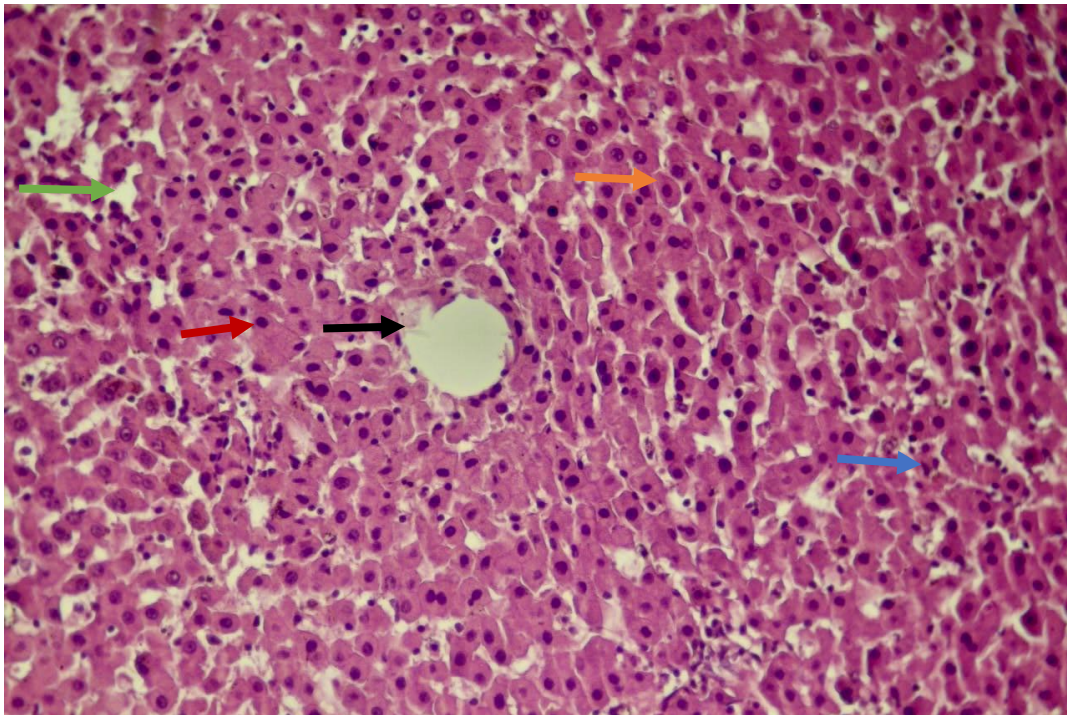
صورة (4-6) تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم / كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد إذ يلاحظ احتقان الوريد المركزي وتحتل انوية الخلايا الكبدية مع حدوث تفجج واضح مع حدوث تضاعف لانوية الخلايا الكبدية داخل العقيدة الوريدية وارتشاح الخلايا الالتهابية (H&E 400x)



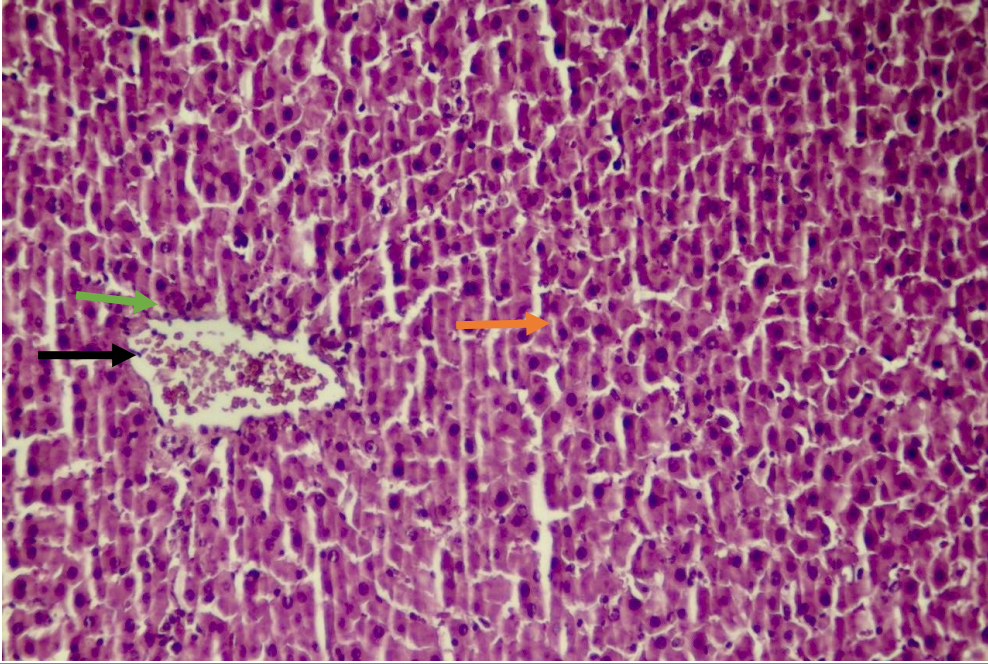
صورة (4-7) تبين تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بجرعة 25 ملغم/كغم ولمدة ثلاث اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد إذ يلاحظ المظهر الطبيعي للنسيج من خلال انتظام بعض الخلايا الكبدية والمظهر الطبيعي للوريد المركزي مع حدوث التنكس الدهني (H&E 200 X)



صورة (4-8) تبين تأثير المعاملة بالمستخلص المائي للثمار الرامبوتان بجرعة 27 ملغم/كغم ولمدة ثلاث اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد إذ يلاحظ المظهر الطبيعي للخلايا الكبدية \rightarrow والوريد المركزي \rightarrow مع بداية لتكثف خيوط الكروماتين \rightarrow (H&E 200 X)



صورة(4-9) تبين تأثير المعاملة ب TAA بتركيز 200 ملغم/كغم والمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان بجرعة 25 ملغم/كغم ولمدة ثلاثة اشهر في ذكور الجرذان البيض في الكبد إذ يلاحظ إعادة انتظام الخلايا الكبدية \rightarrow والوريد المركزي الطبيعي \rightarrow مع وجود بعض الفراغات بين الخلايا الكبدية \rightarrow مع ارتشاح لبعض الخلايا الالتهابية \rightarrow وبداية تكثف لخيوط الكروماتين \rightarrow (H&E200x)

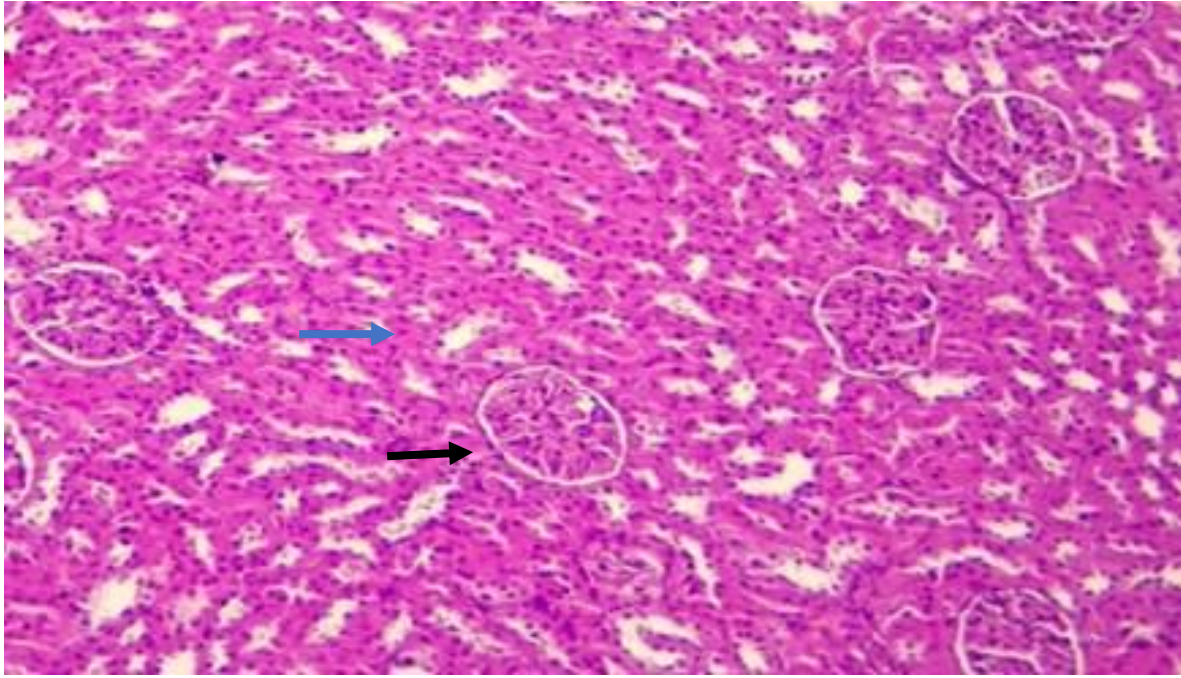


صورة (4-10) تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم والمستخلص المائي للرب الرامبوتان بجرعة 27 ملغم/كغم ولمدة ثلاث اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكبد إذ يلاحظ وجود احتقان داخل الوريد المركزي وإعادة انتظام الجيانيات والخلايا الكبدية مع ارتشاح لبعض الخلايا الالتهابية (H&E200 X) →

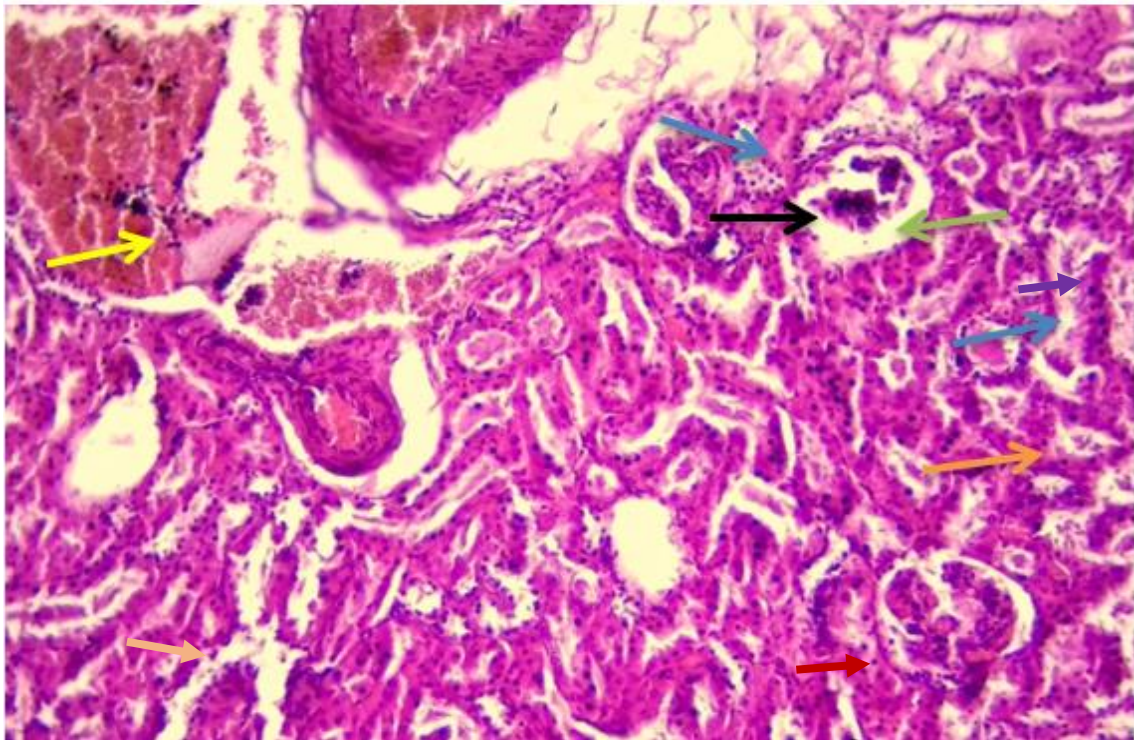
4-2-2-5-2-4 تأثير مادة الثيوأسيتاميد والمستخلص المائي لقشور ولب الرامبوتان في نسيج الكلى

تبين صورة (4-11) مقطع نسجي في نسيج الكلى لذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة إذ يلاحظ التركيب الطبيعي للكبيبة والنيبيات البولية ، كما يلاحظ من الصورة (4-12) و (4-13) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من TAA ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E) إذ يلاحظ ضمور وتحطم الكبيبة البولية وزيادة فسحة بومان مع حدوث تغيرات تنكسية واضحة للنيبيات البولية وارتشاح الخلايا الالتهابية مع وجود نزف دموي داخل النسيج الكلوي وحدث انكماش في مواقع اخرى للكبيبة وحدث تنخر لخلايا النيبيات البولية .

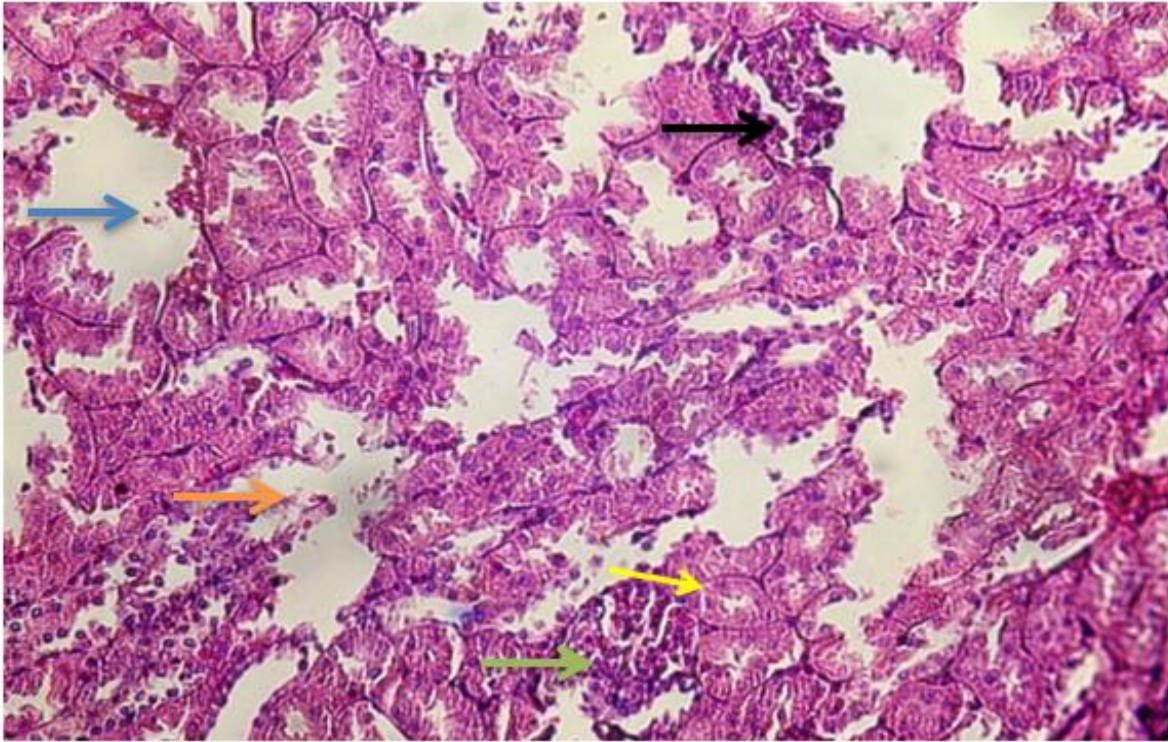
كما يلاحظ من الصورة (4-14) تأثير التجريع الفموي ب 25 ملغم / كغم من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان و الصورة (4-15) تأثير التجريع الفموي ب 27 ملغم / كغم من المستخلص المائي للرب الرامبوتان ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E) ، إذ يلاحظ التركيب الطبيعي للكبيبة والنيبيات البولية لكلا المجموعتين ، ويلاحظ من الصورة (4-16) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من TAA مع التجريع الفموي ب 25 ملغم / كغم من المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E) ، إذ يلاحظ سلامة النسيج الكلوي والمحافظة على التركيب الطبيعي للكبيبة والانابيب الكلوية ، في حين تبين الصورة (4-17) تأثير المعاملة ب 200 ملغم / كغم من TAA مع التجريع الفموي ب 27 ملغم / كغم من المستخلص المائي للرب الرامبوتان ولمدة ثلاثة اشهر ، إذ يلاحظ وجود نزف دموي وتلف لبعض الكبيبات الكلوية مع وجود عدد من الكبيبات الطبيعية وسلامة الانابيب الكلوية الطبيعية .



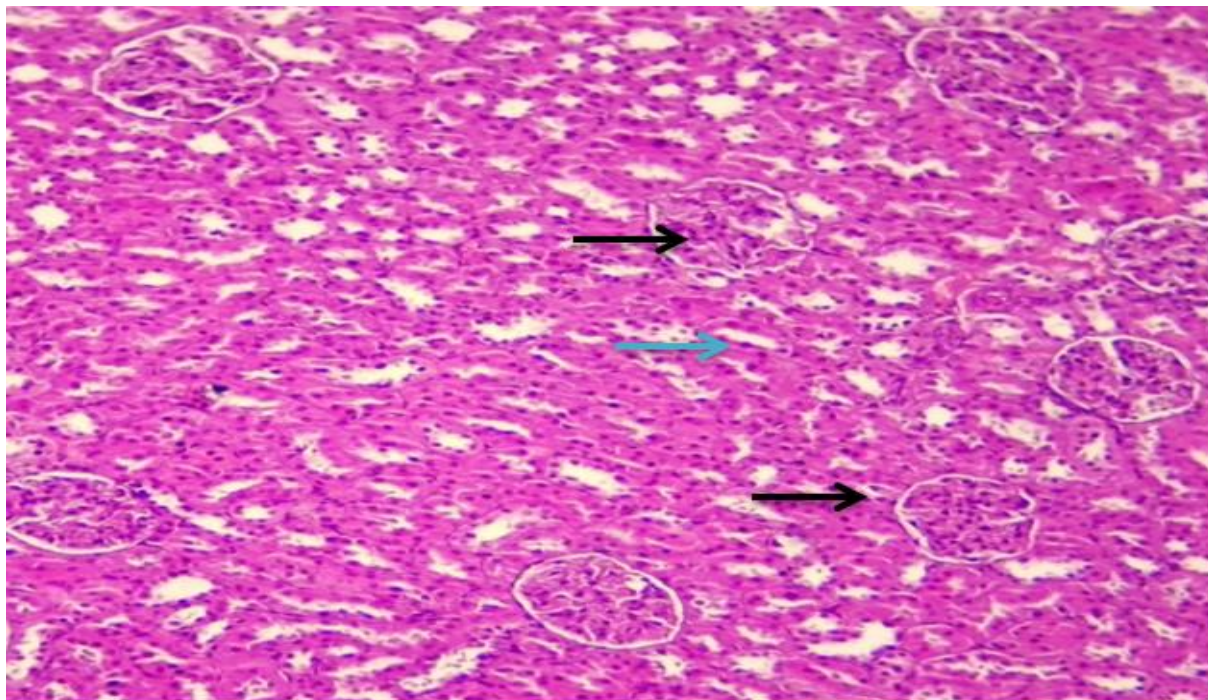
صورة (4-11) تبين مقطع نسجي للكلية في ذكور الجرذان البيض في مجموعة السيطرة، إذ يلاحظ وجود التركيب الطبيعي للكبيبة → وجود النبيبات الكلوية (H&E 200X) →



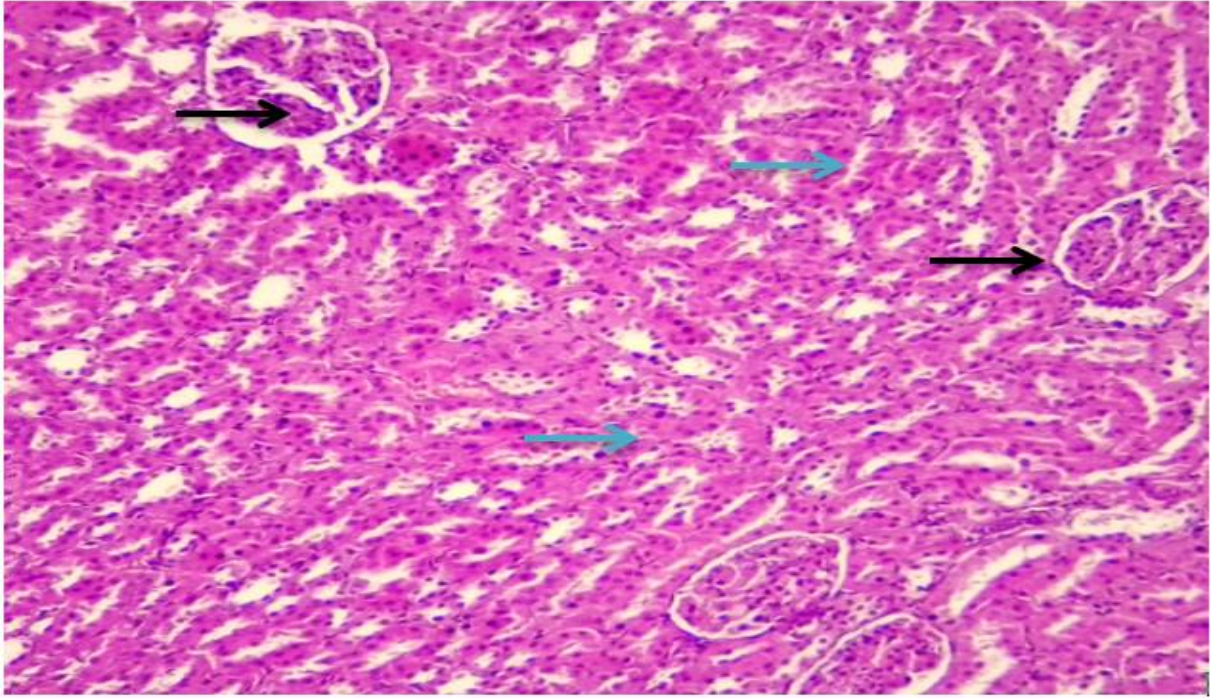
صورة (4-12) تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم ولمدة ثلاث اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكلوية ، إذ يلاحظ
 ضمور الكبيبات البولية → وزيادة فسحة بومان → مع حدوث تغيرات تنكسية واضحة للنبيبات البولية →
 وارتشاح الخلايا الالتهابية → مع وجود نزف واضح في داخل النسيج الكلوي → و تورم لظهارة النبيبات الكلوية →
 و ظهور الخلايا كثيفة الكروماتين → مع توسع النبيبات الكلوية → (H&E 200X)



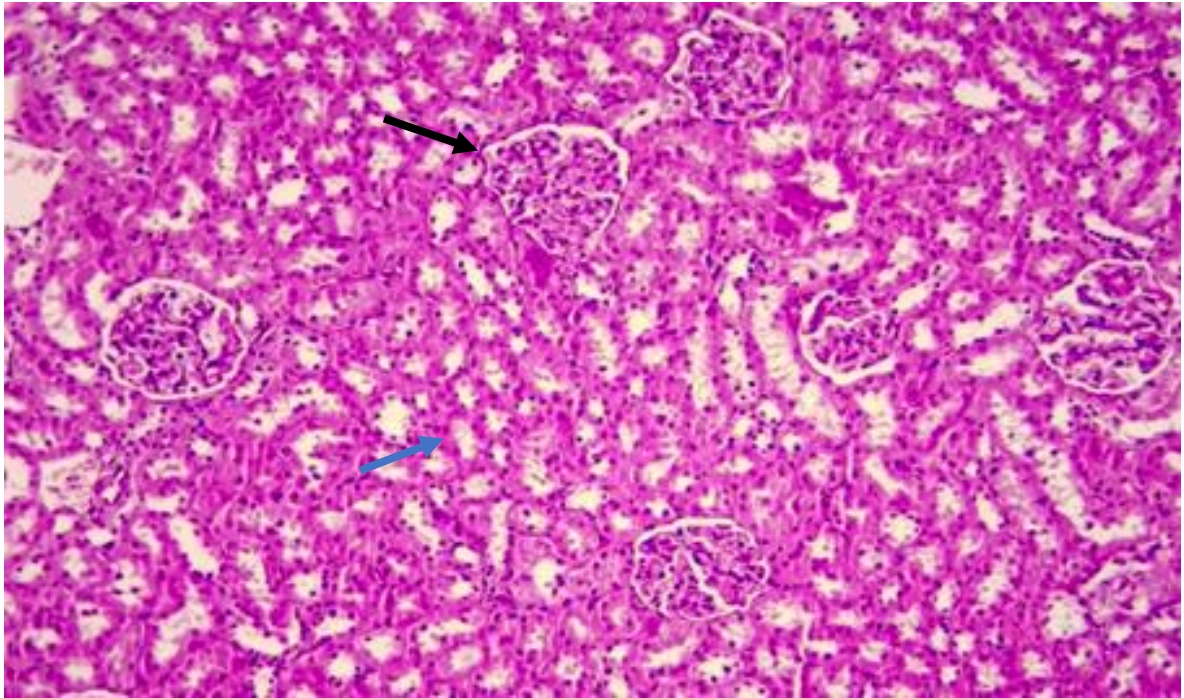
صورة (4-13) تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم ولمدة ثلاث اشهر في ذكور الجرذان البيض في نسيج الكلى ، إذ يلاحظ تحطم الكبيبة البولية \rightarrow وحدوث انكماش في الكبيبة \rightarrow مع وجود نزف دموي \rightarrow وتضرر النبيبات البولية \rightarrow وحدوث تنخر \rightarrow لخلايا النبيبات البولية (H&E 400 X)



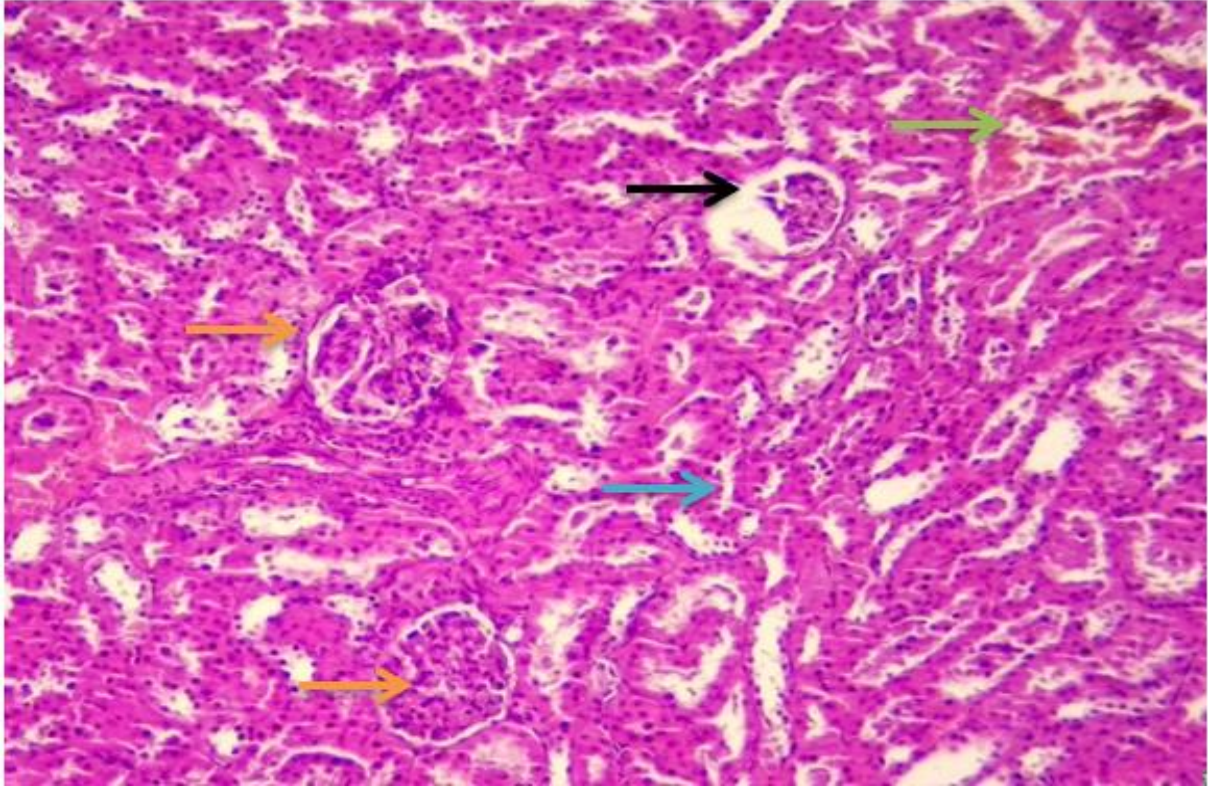
صورة (4-14) تبين تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان بجرعة 25 ملغم/كغم ولمدة ثلاث اشهر في ذكور الجرذان البيض ، إذ يلاحظ المظهر الطبيعي للكبيبة \rightarrow والنبيبات البولية \rightarrow (H&E 200X)



صورة (4-15) تبين تأثير المعاملة بالمستخلص المائي للربامبوتان بجرعة 27 ملغم/كغم ولمدة ثلاث اشهر ، إذ يلاحظ التركيب الطبيعي للكبيبة → والنبيبات اليولية → (H&E 200 X)



صورة (4-16) تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم والمستخلص المائي لقشور الربامبوتان بجرعة 25 ملغم/كغم ولمدة ثلاث اشهر في ذكور الجرذان البيض ، إذ يلاحظ في التركيب الطبيعي للنسيج الكلوي المتمثلة بوجود الكبيبة الطبيعية → والانابيب الكلوية → (H&E 200 X)



صورة (4-17) تبين تأثير المعاملة بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم والمستخلص المائي للثمرة الرامبوتان بجرعة 27 ملغم/كغم ولمدة ثلاث اشهر في ذكور الجرذان البيض ، إذ يلاحظ وجود نزف دموي → وضمور لبعض الكبيبات البولية → مع وجود عدد من الكبيبات الطبيعية → وسلامة الانابيب الكلوية → (H&E 200X)

الفصل الخامس
المناقشة
Discussion

الفصل الخامس

المناقشة Discussion

1-5 تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد في انزيمات الكبد (ALP و AST و ALT) و T-BIL

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى انزيمات الكبد ALP، AST و ALT في المجموعة الثانية G2 والتي تم معاملةها بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/ كغم من وزن الجسم ولمدة 90 يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة واتفقت هذه النتائج مع (Shareef *et al.*, 2022; Sepehrinezhad *et al.*, 2021; Jabbar *et al.*, 2023)

ان الزيادة الحاصلة في فعالية انزيمات الكبد والتي اشارت لها نتائج الدراسة الحالية قد تعود إلى التأثير السمي الحاد الذي سببته مادة TAA والذي أدى إلى حدوث الاجهاد التأكسدي الذي يسبب ضرر للخلايا الكبدية وزيادة مستوى الجذور الحرة ROS وكذلك إلى نفاذ مضادات الاكسدة الداخلية منها الجلوتاثيون الذي له دور في تحطيم المستقلب التفاعلي السام 2 TAASO (Unnisa *et al.*, 2021)، وهذا بدوره يؤدي إلى الأضرار الخلوية و حدوث التنخر في الخلايا الكبدية والتليف الكبدى وتحطم الغشاء الخلوي للخلايا مسبب تسرب انزيمات الكبد إلى خارج الخلايا الكبدية و بالتالي ارتفاع مستوى هذه الأنزيمات في الدم (Dwivedi *et al.*, 2020) ، إذ يشارك نظام السيروتكروم P 450 في التنشيط الحيوي لمركب TAA مما يؤدي إلى توليد المستقلب التفاعلي السام (TAASO₂) الذي يشكل مشتقات الاستايل اميدو لايسين acetylimidolysine derivatives و التي لها دور كبير في حدوث السمية الخلوية وذلك عن طريق الارتباط بالجزيئات الخلوية الكبيرة كالدهون المفسفرة الموجودة في الاغشية الخلوية مؤدية إلى زيادة عملية بيروكسيدية الدهون وتحطم الغشاء البلازمي وبالتالي تحرر الانزيمات الكبدية من هذه الخلايا (Alamri, 2024)

ويعد ارتفاع مستوى انزيمات الكبد في المصل من العلامات التشخيصية المهمة لحدوث الاصابة الكبدية ، وقد يعود تسرب هذه الأنزيمات إلى تلف الغشاء الخلوي للخلايا الكبدية، إذ يسبب المركب التفاعلي TAASO₂ تغييرا في نفاذية الغشاء الخلوي وسيولته بسبب ارتباطه بأيونات الكالسيوم Ca⁺² التي يزداد تركيزها في داخل الخلايا مسببه خلل في النقل والتبادل الأيوني ومؤدية إلى التورم والانحلال الخلوي Cellular swelling الذي بدوره يؤدي إلى حدوث تلف مجموعة الأنزيمات المتواجدة في العصارة

الخلوية وبالتالي اطلاقها في مجرى الدم وزيادة مستوى تركيزها في المصل ، كما وتسبب الزيادة في مستويات الجذور الحرة ROS بفعل المشتقات السامة لمركب TAA تأثيرات ضارة على مستوى الأنوية الخلوية مؤثرة بذلك على تركيبها و عملية تخليق البروتينات و اكسدة القواعد النووية وتحطم المادة الوراثية DNA مما يؤدي إلى تحفيز عملية الموت المبرمج للخلايا (Moustafa *et al.*, 2014)

كما و اشارات نتائج الدراسة الحالية إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى البيليروبين الكلي T-BIL في المجموعة G2 والتي تم معاملتها بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/ كغم من وزن الجسم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة واتفقت هذه النتائج مع (Abul Najmi *et al.*, 2010 ; Shareef *et al.*, 2022)

وقد يعزى السبب في ارتفاع مستوى البيليروبين في المصل إلى الخلل الوظيفي والتكس الخلوي لخلايا الكبد وانخفاض قدرتها على الامتصاص وضعف الوظيفة الاخراجية كونها المسؤولة عن ازالة البيليروبين من الدم عبر ارتباطه بالألومين ونقله إلى الكبد مما يؤدي إلى تحطم المسار الاستقلابي للبيليروبين ، إذ تسبب التأثيرات السامة لمادة TAA بمنع تحول البيليروبين غير قابل للذوبان بواسطة حمض الجلوكورونيك Glucuronic Acid إلى الاشكال المترافقة القابلة للذوبان في الماء وهي البيليروبين احادي جلوكورونيد Bilirubin monoglucuronide و البيليروبين ثنائي جلوكورونيد Diglucuronide bilirubin مما يؤدي إلى عدم إفرازها في القناة الصفراوية وبالتالي تراكم مستوياتها في المصل والانسجة (HadeerAnd AL-Kaisie, 2018) ، كما وان زيادة البيليروبين يمكن ان تكون ناتجة عن حصول انسداد في القناة الصفراوية و الانخفاض في تدفق الصفراء (الركود الصفراوي Cholestasis) ، أو قد تكون بسبب الانخفاض في معدل اقتران البيليروبين في الكبد وانحلال الدم (اليرقان الكبدي) و الذي يسبب ارتفاع مستويات البيليروبين في المصل وما ينتج عنه من اجهاد تأكسدي شديد ناجم من تزايد توليد الجذور الحرة بفعل التأثيرات السمية لمركب TAA (Abouelezz *et al.*, 2023)

2-5 تأثير المستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في فعالية انزيمات الكبد (ALP وAST وALT) و T-BIL

أظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم جود فروق معنوية ($P > 0.01$) في مستوى انزيمات الكبد (ALT وAST) في المجموعة الثالثة G3 والتي تم معاملتها بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان وبتركيز 25 ملغم/كغم وقد اتفقت النتائج مع (Samuagam *et al.*, 2015)، بينما لوحظ حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في فعالية انزيم ALP في المجموعة الرابعة مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة . G1

ان عدم وجود فروق معنوية في مستوى انزيمات الكبد قد يعود إلى الأنشطة المضادة للأكسدة والتي تمتاز بها قشور الرامبوتان واحتوائها على العديد من المركبات الفينولية التي لها القدرة الحد من تأثير الجذور الحرة ، إذ تعمل هذه المركبات كواهب لذرة هيدروجين H+ من مجموعة الهيدروكسيل الخاص بها مما يؤدي تقليل العمليات التفاعلية المنتجة للجذور الحرة وجعلها أكثر استقرارا (Luthfiya et al., 2023) ، كما وتحتوي القشور على العديد من المركبات الفعالة مثل الايلاجيك والكوريلاجين و الغاليك و الفلافونويدات التي لها القدرة على تقليل انواع الأوكسجين التفاعلية ROS وزيادة أنشطة مضادات الأكسدة الداخلية ، فضلا عن وجود مركب الجيرانين الذي يشكل القسم الأكبر من المركبات المتواجدة في قشور ثمار الرامبوتان والذي يمتلك نشاطا عالية في كسح الجذور الحرة وبالتالي تقليل الاجهاد التأكسدي الذي تسببه مادة TAA ومستقبلاتها السامة (de Santana Santos et al., 2021) ، وتعمل المركبات الفينولية لقشور الرامبوتان على تعزيز نضام الدفاع الانزيمي ضد الاجهاد التأكسدي و زيادة مستويات مضادات الأكسدة الداخلية بما في ذلك الجلوتاثيون والاكسيد الفائق وبالتالي الحفاظ على الوظائف الطبيعية للخلايا وتنظيم مستويات انزيمات الكبد ALP و AST و ALT ، مما يشير إلى استقرار الاغشية الخلوية وعدم تسرب هذه الانزيمات من الخلايا الكبدية والحفاظ على المستويات الطبيعية لها في مصل الدم (Samuagam et al., 2015).

كما وبينت نتائج التجريب الفموي بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان وبتركيز 25 ملغم/كغم من وزن الجسم قد أدى إلى عدم وجود فرق معنوية ($P > 0.01$) في مستوى البيليروبين الكلي T-BIL في المجموعة الثالثة G3 و المجموعة الرابعة G4 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1.

ان المستويات الطبيعية للبيليروبين والتي اشارت اليها نتائج الدراسة الحالية قد تعود لفعالية المركبات الحيوية مثل المركبات الفينولية Phenolic compounds و الجيرانين Geraniin والكوريلاجين Corilagin والايلاجيك Ellagic acid والروتين Rutin والكيرسيتين Quersetin وحمض الغاليك Gallic acid للمستخلص المائي لقشور الرامبوتان وتأثيرها الايجابي على سلامة الكبد والوظائف الحيوية التي يقوم بها كونه العضو المسؤول عن التخلص من البيليروبين والحفاظ على المستويات الطبيعية له في المصل ، وأيضا سلامة القناة الصفراوية والحفاظ على الوظائف الإفرازية لخلايا الكبد عبر النشاط المضادة للأكسدة الذي تقدمه المركبات الفعالة المتواجدة في قشور ثمار الرامبوتان وتنظيم مستويات الاجهاد التأكسدي (Sholikhah, 2022) ، إذ اشارت العديد من الدراسات على كفاءة المركبات المتواجدة في المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في اكتساح الجذور الحرة و فعاليتها في تقليل انتاج الجذور الحرة عن طريق كسحها لجذر الهيدروكسيل الحر HO⁻ و جذر النتريت NO⁻ فضلا عن تقليل الضرر التأكسدي الناجم بفعل جذر بيروكسيد الهيدروجين H₂O₂ في الخلايا الكبدية ، مما يشير إلى اداء الكبد لوظائفه الطبيعية

في المجموعة الثالثة G3 وبالتالي الحفاظ على مستويات البيليروبين ضمن الحدود الطبيعية في الدم (Tingting *et al.*, 2022).

أظهرت نتائج التجريع الفموي بالمستخلص المائي للثمرة الرامبوتان إلى عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في فعالية انزيمات الكبد ALT، AST وALP في المجموعة الخامسة G5، بينما لوحظ حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل فعالية انزيم ALP في المجموعة السادسة G6 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1.

أظهرت العديد من الدراسات ان العديد من الفواكه الاستوائية بضمنها الرامبوتان تمتلك فعالية عالية في علاج العديد من الامراض، نتيجة لاحتوائها على مجموعة واسعة من المركبات والتي تسهم وبشكل فعال في منع الاضرار الخلوية (Sayago-Ayerdi *et al.*, 2021)، فقد يعزى الدور المهم الذي يقدمه مستخلص لب ثمرة الرامبوتان إلى وجود كلاً من الفينولات Phenol و الفلافونويدات Flavonoids والصابونين Saponins والأوكسالات Oxalate التي تحسن من وظائف الكبد وتزيد من قدرته على مقاومة الاجهاد التأكسدي الذي يحصل بفعل التأثير السام للمركبات الكيميائية الداخلة للجسم ومنها مادة TAA (Fila *et al.*, 2012)، كما وان لوجود مركبات الفلافونويدات دور رئيسيا في تخفيف الاصابة الكبدية، حيث تشير العديد من الدراسات إلى تأثيراته الوقائية التي يقدمها ضد اصابة الكبد الناجمة عن السموم المختلفة وذلك عبر تقليل انتاج انواع الأوكسجين التفاعلية ROS وتجديد النظام الانزيمي المضاد للأكسدة بما في ذلك الجلوتاثيون GSH وانزيم ديسموتاز الفائق SOD، فضلا عن دوره في تنظيم التعبير الجيني للبروتينات والدهون في الكبد وهو ما يخفف وبشكل ملحوظ من عمليات الاكسدة و بيروكسيدية الدهون الضارة وهذا بدوره يؤدي إلى الحفاظ على مكونات الاغشية الخلوية واستقرارها ويمنع التسرب الخلوي لأنزيمات الكبد وبالتالي الحفاظ على معدل مستواها الطبيعي في مصل الدم (Li *et al.*, 2018).

كما اشارت نتائج الدراسة الحالية إلى ان التجريع الفموي بمستخلص لب ثمرة الرامبوتان قد أدى إلى عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.01$) في مستوى البيليروبين الكلي في المجموعة الخامسة G5 والسادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة.

ان عدم وجود فرق معنوي في مستوى البيليروبين في الجرذان التي جرعت بالمستخلص المائي للثمرة الرامبوتان والتي استحثت بها مرض السرطان الكبد عن طريق الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة TAA قد يعود للتأثير الايجابي لمركبات لب الرامبوتان بما ذلك الفانيلين vanillin و حمض السينامك cinnamic acid والتي تمتلك نشاطا وقائيا و مضادا للأكسدة للكبد قد تخفف من التأثيرات الضارة للجذور الحرة مما يسهم في الحفاظ على مستوى البيليروبين في الكبد (Murthy And Bapat, 2020)، إذ تشير المستويات

الطبيعية للبيليروبين في المجموعة الخامسة G5 إلى دور هذه المكونات النشطة للبرامبوتان في المحافظة على سلامة القنوات الصفراوية الكبدية فضلا عن الحفاظ على الية الإفراز للخلايا الكبدية والبنية التركيبية للخلايا واغشيتها وهو ما قد يسهم في تنظيم المسار الاستقلابي للبيليروبين وتحقيق التوازن لمستوياته في مصل الدم (Babaenezhad *et al.*,2021; Sefi *et al.*,2019) ، إضافة إلى ذلك فإن دور المركبات النشطة الأخرى للبرامبوتان مثل الفينولات Phenol والفلافونويدات Flavonoid تعمل على كسح أنواع الأوكسجين التفاعلية والحد من إنتاجها مما يؤدي إلى تحسن الوظائف الخلوية لعضو الكبد ويرفع من قدرته على التخلص من البيليروبين وإفرازه في الصفراء بصورة طبيعية (Kaur *et al.*,2022).

3-5 تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد في مستويات اليوريا Urea والكرياتينين Creatinine والألبومين Albumin

أظهرت النتائج الدراسة الحالية ان الحقن بمادة TAA أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في مستويات اليوريا والكرياتينين في المجموعة الثانية G2 التي تم حقنها تحت الغشاء البريتوني بجرعة 200ملغم/كغم من وزن الجسم من مادة TAA مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة وقد اتفقت هذه النتائج مع (Al-Hashem,2023; Ebaid *et al.*, 2023)

تعد الكلى من أكثر أعضاء الجسم تعرضا للإصابة بسبب وظيفتها الفسيولوجية في تصفية الدم من السموم الداخلة للجسم ، إذ تحدث السمية الكلوية بفعل مادة TAA كونها تسبب التخر الشديد في الخلايا الظهارية للأنايب الكلوية مما يؤدي إلى انخفاض معدل الترشيح الكبيبي GFR وبالتالي عدم ترشيح اليوريا والكرياتينين من الدم و ارتفاع مستواها في المصل (El-Hameed *et al.*, 2023) ، إذ تعد مستويات اليوريا والكرياتينين من العلامات التشخيصية الهامة لتقييم الضرر الكلوي وهي تمثل المنتجات النهائية لاستقلاب البروتين و التي عادة ما يتم التخلص منها وإفرازها عن طريق الكلى وبالتالي فإن ارتفاع مستواها في الدم يدل على اضطراب في معدل الترشيح الكلوي وفي عملية إعادة الامتصاص الانبوبي للخلايا الكلوية بفعل التأثير السام لمادة TAA (Alomar,2020) ، إذ يؤدي استقلاب مادة TAA في نظام السيتوكروم P450 إلى تكوين مستقلبات سامة هي TAASO و TAASO₂ في المجرى الدموي والتي تفرز في النهاية على شكل خلات Acetate في البول خلال 24 ساعة ، إذ تزيد هذه المركبات من توليد الجذور الحرة ومنتجات عملية بيروكسيدية الدهون التي تسبب ارتفاع معدل MAD التي تؤدي إلى تحطم الاغشية الخلوية والحد من وظائف الخلايا الكلوية في الترشيح الكبيبي مع انخفاض مترامن لمضادات الاكسدة الداخلية مما يؤدي ذلك للسمية الكلوية و التي تؤدي في النهاية إلى الفشل الكلوي وبالتالي المساهمة على بقاء مستويات كلاً من اليوريا والكرياتينين في الدم (Begum *et al.*,2011) وقد يعزى ارتفاع مستويات

اليوريا والكرياتينين إلى الانسداد الحاصل في تجويف النبيبات الكلوية بسبب تراكم الخلايا المتتخرة مما يتسبب في فشل لعملية الترشيح الكلوي بفعل المشتقات السامة لمادة TAA مما يزيد من الاضرار التأكسدية وتحفيز مسارات الالتهابات التي تعزز من الاصابة الكلوية وحدث التليف النسجي للكلى ، إذ ان الانتاج المتزايد لأنواع الأوكسجين التفاعلية يحفز انتاج السيتوكينات المسببة للالتهاب مما يؤدي اضطراب ما بين هذه العوامل الالتهابية والأنظمة المضادة للأكسدة محدثة بذلك تأثيرات تحطيمه لخلايا النبيبات الكلوية و معززة بذلك ارتفاع مستويات اليوريا والكرياتينين في المصل (Jorgačević et al., 2022) ،

كما اشارت نتائج الدراسة الحالية إلى حصول انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في مستوى الالبومين في المجموعة الثانية G2 والتي تم معاملتها بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة وهذه النتائج اتفقت مع (Mousa et al. , 2019; Saleh et al. , 2021)

ان المستويات الالبومين الطبيعية في المصل تتم المحافظة عليها عن طريق تحقيق التوازن بين معدلات الترشيح الكبيبي واعادة الامتصاص الانبوبي وبما ان مادة TAA تؤثر وبشكل سلبي على وظائف الخلايا الكلوية وتعمل على حدوث تلف وتحطم النبيبات البولية وهذا بدوره يساهم في اضطراب عملية إعادة امتصاص الالبومين عن طريق الكلى وبالتالي فقدان هذا البروتين من الدم (Khawar et al. 2016)، إذ اشارت العديد من الدراسات إلى الدور السمي لمادة TAA ودورها في الانتاج المتزايد للجذور الحرة واحداث اضرار تأكسدية كبيرة تؤدي إلى فقدان السلامة الهيكلية للنيفرون وحدث التخر الخلوي للأنايبب و الكبيبة الكلوية وضعف عمل الكلى مما يساهم في زيادة إفراز الألبومين مع البول وانخفاض مستوياته في الدم (Radwan et al., 2023)، كما وقد يعود انخفاض مستوى الالبومين لانخفاض كفاءة الخلايا الكبدية في تخليق الالبومين لان الكبد هو العضو المسؤول عن التخليق الحيوي لبروتين الالبومين والذي يعد من البروتينات المهمة والاكثر وفرة في الدم، حيث تسبب الاصابة الناجمة عن مركب TAA والتأثيرات السامة التي يحدثها بفعل مستقلبته السامة تحطم الاغشية الخلوية عن طريق تغيير نفاذية وسيولة هذه الاغشية وتنشيط نشاط الميتوكوندريا ، فضلا عن تناقص الوظائف الإفرازية للخلايا مما يؤدي إلى تلف الخلايا الكبدية وبالتالي انخفاض كبير في مستوى الالبومين في المصل (Ramadan et al 2018)، فقد وجد ان التسمم بمادة TAA يؤدي إلى تدهور بروتين الألبومين وذلك عبر تحفيز مسار اليوبيكويتين بروتوسوم ubiquitin proteasome pathway والذي يتضمن ارتباط اليوبيكويتين Ubiquitin بالبروتينات الخلوية المراد تحطيمها والتخلص منها بواسطة انزيم يوبيكويتين لايكيز ubiquitin ligase مما يؤدي إلى انخفاض المستوى الاجمالي لبروتين الالبومين في مصل الدم (Abdel-Rahmanr et al. ,2021)

4-5 تأثير المستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستويات اليوريا Urea والكرياتينين Creatinine والألبومين Albumin

أظهرت النتائج إن التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور نبات الرامبوتان في المجموعة الثالثة G3 والمجموعة الرابعة G4 أدى إلى عدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في مستوى اليوريا والكرياتينين مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة.

إن المستوى الطبيعي لليوريا والكرياتينين بعد المعاملة بالمستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان تعود لاحتواء مستخلصات القشور على كمية كبيرة من المركبات الفعالة النشطة مثل حمض الايلاجيك Ellagic acid و الجيرانين Geraniin الرايوفلافين Riboflavin فضلا عن العديد من المركبات النشطة الأخرى التي تشترك في الحد من تأثيرات الجذور الحرة عن طريق كسح نشاط هذه الجذور وتنشيط مضادات الاكسدة الداخلية الانزيمية وبالتالي تثبيط مستويات الاجهاد التأكسدي ، إذ يمكن القول ان المركبات الطبيعية للنباتات تعد كعوامل وقائية تقلل من التأثيرات السمية على الخلايا الكلوية مما يعزز الوظائف هذه الخلايا في التخلص من اليوريا والكرياتينين بصورة طبيعية (Afzaal et al., 2023) ، وقد يعزى انخفاض اليوريا والكرياتينين إلى المحتوى العالي من حمض الايلاجيك Ellagic acid والكورلاجين Corilagin في قشور ثمار الرامبوتان الذي اثبت فعاليتها في المحافظة على سلامة الوظائف الحيوية للخلايا وتقليل تراكم الجذور الحرة فضلا عن قدرتها في الحد من التلف التأكسدي للخلايا والكبيبات الكلوية والمحافظة على معدل الترشيح الكبيبي (GFR) وبالتالي المساهمة في حماية الكلى من الاصابة (Sukmandari et al., 2017)

كما و اشارات النتائج إلى عدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في مستوى الألبومين في المجموعة الثالثة G3 والمجموعة الرابعة G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة.

إن المستويات الطبيعية للألبومين في المجاميع الوقائية التي جرعت فمويا بالمستخلص المائي لقشور نبات الرامبوتان قد تشير للدور الوقائي للمركبات النشطة لقشور الرامبوتان التي ساهمت في الحفاظ على الوظائف الإفرازية للكلى ومعدلات الترشيح الكبيبي GFR ، إذ تعمل هذه المركبات كالجيرانين Geranin كمضادات اكسدة طبيعية تساهم في التخلص من الانتاج المتزايد للجذور الحرة بفعل المواد السمية الداخلة للجسم كمادة TAA وبالتالي الحفاظ على الخلايا وتنظيم الوظائف الكلوية، إذ يسمح هذه التنظيم الإيجابي على إعادة امتصاص بروتين الالبومين على طول الانابيب البولية مما يسبب بدوره الحفاظ على المستويات الطبيعية للألبومين في المصل (Tingting et al., 2022) ، فضلا عن دور المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان في المساهمة بتنظيم الوظائف الحيوية لعضو الكبد لكونه المسؤول عن التخليق الحيوي

لبروتين الألبومين لذا فان المستويات الطبيعية لهذا البروتين تشير إلى الدور الوقائي للمركبات الفعالة في قشور الرامبوتان ودورها الايجابي في تنظيم الوظائف الحيوية للكبد (Samuagam *et al.*, 2015).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالمستخلص المائي للثمرة الرامبوتان قد أدى إلى عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في مستوى كلاً من اليوريا والكرياتينين في المجموعة الخامسة G5 بينما لوحظ وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى الكرياتينين في المجموعة السادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة.

إن عدم وجود فرق معنوي في مستويات اليوريا والكرياتينين بعد المعاملة بالمستخلص المائي للثمرة الرامبوتان قد يعود لوجود العديد من المركبات الفعالة النشطة في لب الرامبوتان مثل الفينولات phenols و حمض الاسكوربك Ascorbic Acid (فيتامين C) و الأوكسالات Oxalates و الصابونين Saponins و النياسين Niacin الريبوفلافين Riboflavin إضافة لوجود المعادن كالححاس والمنغنيز والعديد من المركبات النشطة الأخرى التي تعمل على كسح نشاط الجذور الحرة وتنشيط مضادات الاكسدة الداخلية الانزيمية التي تعمل على تقليل انتاج الجذور والتخلص منها (Afzaal *et al.*, 2023 ; Kaur *etal.*, 2022) ، فقد يعزى استقرار مستويات اليوريا والكرياتينين إلى احتواء المستخلص المائي للثمرة الرامبوتان على حمض الاسكوربك الذي يعمل على المحافظة على سلامة الوظائف الحيوية للخلايا الكلوية وتقليل تراكم الجذور الحرة فضلا عن تثبيط عملية تليف الانسجة الكلوية ودوره في شفاء الانسجة المتضررة وبالتالي المساهمة في حماية الكلى من الاصابة وهذا ما يعكس الدور المهم للحمض الاسكوربك في تخفيض مستويات اليوريا والكرياتينين في المصل (Korkmaz And Kolankaya, 2009)، إذ تشير العديد من الدراسات إلى الدور الوقائي لحمض الاسكوربك و في حماية خلايا الجسم من تأثير الجذور الحرة وذلك عن طريق كسح الجذور المتولدة وتفعيل التخليق الحيوي لمضادات الاكسدة الداخلية ، فضلا عن اصلاح الاضرار التأكسدية وتقليل الأذى الناتج عن الجذور الحرة وقد ثبت ان حمض الاسكوربك يشارك في كل هذه المراحل وهكذا فان ثمار الرامبوتان لها تأثير ايجابي في تنظيم وظائف الكلى ومختلف العمليات الحيوية التي تحدث داخل الجسم (Gęgotek And Skrzydlewska, 2022).

كما وأشارت نتائج التجريع الفموي بالمستخلص المائي للثمرة الرامبوتان قد أدى إلى عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في معدل مستوى الألبومين في المجموعة الخامسة G5 و السادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

إن احتواء ثمار الرامبوتان وتحديدا اللب على مكونات فعالة مثل حمض الاسكوربك Ascorbic Acid الريبوفلافين Riboflavin الفلافونويدات Flavonoid والفانيلين vanillin ذات تأثير وقائي

على عضو الكبد قد اسهم في تنظيم مستويات الالبومين وذلك عبر الحد من التأثيرات التحطيمية للجذور الحرة على الخلايا الجسمية، فقد أدى تجريع المستخلص المائي للب ثمار الرامبوتان إلى تقليل التليف الكبدي التي احدثته المستقبلات السامة لمادة TAA والحد من عملية بيروكسيدية الدهون المنتجة للبيروكسيدات الضارة مما اسهم في الحفاظ على الوظائف التخليقية للخلايا الكبدية المنتجة للالبومين وهذا ما يفسر توازن مستويات الالبومين في المصل (Bhat , 2020)، فضلا عن تأثير هذه المركبات الفعالة على الخلايا الكلوية ووظائفها ودورها في تقليل العوامل السامة على عضو الكلى، فإن لب الرامبوتان وما يحتويه من مركبات فعالة كالنياسين Niacin والثيامين Thiamine ذات الخصائص المضادة للأكسدة و التي قد تسمح بإعادة امتصاص الألبومين وتنظيم مستوياته في مجرى الدم مما يحافظ على مستواه الطبيعي في المصل ويمنع فقدانه مع البول (Johnson *et al* , 2013)

5-5 تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد في مستويات المألون ثنائي الديهايد MAD الجلوتاثايون GSH وانزيم الديسموتاز الفائق SOD والسيتوكروم p450

أظهرت النتائج ان الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة TAA وبتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم قد أدى إلى وحصول انخفاض معنوي ($P<0.01$) في مستويات GSH وSOD وحصول ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في مستوى المألون ثنائي الديهايد MDA في المجموعة الثانية G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة وقد اتفق هذه النتائج (Zhao *et ElBaset et al* ,2022 ; Radwan *et al* ,2023) (*al* ,2021;

ان التنشيط الحيوي لمادة TAA في الكبد بواسطة نظام السيتوكروم P450 أو عبر النظام الأنزيمي احادي الأوكسجين المحتوي على الفلافين (FMOs) flavin-containing monooxygenase أدى إلى زيادة مستويات الاجهاد التأكسدي واحداث العديد من التأثيرات السمية و ما يؤكد هو انخفاض مستوى كلاً من GSH وSOD في المجموعة الثانية والتي حقنت بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/كغم ، إذ يعد نظام مضادات الاكسدة الانزيمي وغير انزيمي ضروريا لحماية خلايا الجسم و تحسين الاستجابات الخلوية والتقليل من حالات الاجهاد التأكسدي (Alomar,2020) ، إذ يعمل GSH على اكتساح الجذور الحرة مباشرة أو عن طريق تحويل جذر بيروكسيد الهيدروجين H2O2 إلى ماء H2O بفعل انزيم الجلوتاثايون بيروكسيداز GPX مما يساهم في التخلص من التأثير الضار للجذور الحرة بمختلف أنواعها وبالتالي فان انخفاض مستوياته والتي اشارت اليه نتائج الدراسة الحالية يدل على استنزاف هذا الجزيء وفقدان اليات الدفاع التي يقدمها مما يؤدي إلى زيادة الاضرار الخلوية بفعل سمية مادة TAA ومشتقاتها السامة التي تزيد الاضرار التأكسدية (Begum *et al* ,2011) ، كما تؤدي الزيادة في معدل تأكسد GSH وتحويله إلى

الصيغة المؤكسدة GSSG بسبب الإنتاج المفرط للجذور الحرة إلى ارتفاع استهلاك الجلوتاثيون واحداث اضرار تأكسدية كبيرة ، إذ ان مادة TAA هي مسؤولة عن الإنتاج المتزايد لهذه الجذور مما يعزز تكوين أنواع الأوكسجين التفاعلية ROS، كما يؤدي إلى نضوب مضادات الأكسدة الداخلية الأخرى بما في ذلك انزيم الديسموتاز الفائق SOD والذي يعد خط الدفاع الأنزيمي الأول في الجسم والذي يعمل بشكل مباشر على تفكيك جذر ايون الاكسيد الفائق O_2^- إلى ماء و أوكسجين مما يقلل من مستويات الاجهاد التأكسدي التي تسببها هذه الجذور لذا فان حدوث خلل في توازن نضام مضادات الاكسدة الداخلية يؤدي إلى تأثيرات سلبية تشمل تفاعل أنواع الأوكسجين التفاعلية ROS مع الجزيئات الكبيرة للكبد (الدهون ، الاحماض النووية ، البروتينات) ودورها في حدوث التنخر الخلوي واتلاف انسجة الكبد والكلى مؤدية إلى فشل هذه الاعضاء تدريجيا وتطور الحالات المرضية المرتبطة بظهور السرطان (Hadeer And AL-Kaisie, 2018).

يعد مركب المألون ثنائي الديهايد MDA احد منتجات عملية بيروكسيد الدهون التي تتفاعل بها الجذور الحرة مع الاحماض الدهنية غير مشبعة في الاغشية الخلوية مؤدية إلى انتاج مركبات MDA الذي يسبب فقدان السلامة للأغشية الخلوية وتلف الخلايا ، إذ تلعب الجذور الحرة وخاصة جذور الالكيل Alkyl والهيدروكسيل OH دورا أساسيا في تحلل الدهون عن طريق كسر الرابطة المزدوجة ما بين الدهون غير المشبعة وتحويلها إلى دهون الهيدروبيروكسيد والمواد التفاعلية لحمض الثيوبوتريك thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) والذي يمثل MDA احد منتجاته الضارة (Kaur et al., 2019) ، إذ يتم تحفيز الأكسدة الفائقة للدهون عن طريق زيادة الجذور الحرة بسبب التأثير السام TAA على انسجة الكبد، حيث تؤدي الجذور الحرة المشتقة من TAA و مستقلبته السامة إلى زيادة عملية بيروكسيد الدهون في الاغشية الخلوية منتجة مركبات MDA الضارة التي تؤثر على مضادات الاكسدة الداخلية وتخفف من مستوياتها في الخلايا ، اضافة إلى الضرر الذي تلحقه بمكونات الاغشية الخلوية و الخلل الحاصل في التنظيم الوظيفي لخلايا الكبد بسبب التغيير في سيوليه و نفاذية هذه الاغشية مما يسبب تحطمها وتسرب الانزيمات الكبدية منها وبالتالي تلف الخلايا وما يصحبها من اضرار نسجية كبيرة ناتجة من مادة TAA (Alamri, 2024)

كما وبينت نتائج الدراسة الحالية أن الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة TAA بتركيز 200 ملغم/ كغم من وزن الجسم قد أدى إلى حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل مستوى انزيم السيتوكروم Cytochrome P 450 في المجموعة الثانية G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة وقد اتفقت هذه النتائج مع (Low et al., 2004 ; Xie et al., 2012; Chandrashekar et al., 2023)

يشارك النظام الأنزيمي للسيتوكروم P450 الكبد في التنشيط الحيوي لمادة TAA السامة كونه المسؤول عن استقلاب المركبات الكيميائية والأدوية الداخلة إلى الجسم حيث يؤدي تنشيط مثل هذه المركبات

إلى تكوين مستقلبات تفاعلية خطيرة لها القدرة على احداث السمية الخلوية (Esteves *et al.*,2021) ، إذ يعمل هذا النظام على استقلاب مادة TAA وذلك بإنتاج الثيوأسيتاميد أو أكسيد (TAASO) Taioacetamide S- oxide و مركب الثيوأسيتاميد ثاني الأوكسيد Taioacetamide S-2 oxide (TAASO₂) والذي يمثل المستقلب التفاعلي السام المحفز لعملية الاجهاد التأكسدي في الكبد مما يؤثر على مستوى تعبير السيتوكروم وانخفاض معدل تخليقه (Akhtar and Sheikh , 2013)، فقد يعزى سبب انخفاض مستوى السيتوكروم P450 إلى تأثير مادة TAA ومستقلبه التفاعلي السام TAASO₂ والذي يعمل على تثبيط نشاط حمض دي – أمينوليفولينيك d-aminolaevulinic acid والذي يشارك في التخليق الحيوي لجزي الهيم heme في الكبد ، إذ تتكون بنية انزيم السيتوكروم من جزيئة الهيم التي تعد كمنظم ايجابي لنسخ جينات السيتوكروم P450 وبالتالي فان الانخفاض في معدل تخليق الهيم بفعل التأثير السمي لمادة TAA بدوره قد يؤدي إلى انخفاض التعبير الجيني عن السيتوكروم P450 مما يسبب انخفاض مستويات انتاجه و تقليل انشطته في الكبد (Venkatapura Chandrashekar *et al.* ,2022) .

5-6 تأثير المستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في مستويات المألون ثنائي الديهايد MAD والجلوتاثيون GSH وانزيم الديسموتاز الفائق SOD والسيتوكروم p450

أظهرت النتائج بأن المعاملة بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان قد أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى GSH في المجموعة الثالثة G3 وعدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في مستوى GSH في المجموعة الرابعة G4، كما وأشارت النتائج إلى عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في مستوى SOD و MDA في المجموعة الثالثة G3 والمجموعة الرابعة G4 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1 وقد اتفقت هذه النتائج مع (Zhuang *et al.* ,2017)

يعد نظام مضادات الاكسدة الداخلية الذي يتضمن SOD و GSH مهما للغاية لان يلعب دورا أساسيا في تحقيق التوازن في انتاج الجذور الحرة وانواع الأوكسجين التفاعلية الضارة بجسم الإنسان ، إذ اشارات العديد من الدراسات إلى النشاط المضاد للأكسدة الذي تمتلكه مستخلصات قشور ثمار الرامبوتان وقد يكون السبب في ذلك احتواء هذه القشور على العديد من المركبات الفينولية الفعالة التي تعمل بشكل مباشر كمضادات أكسدة طبيعية أو عن طريق تعزيز تخليق مضادات الاكسدة الداخلية في الجسم وزيادة انشطتها ، إذ يحدد عدد مجموعات الهيدروكسيل للحلقة العطرية في بنية المركبات الفينولية مدى قدرتها على تحييد و تثبيط انتاج انواع الأوكسجين التفاعلية وجعلها اكثر استقرارا (Kumar And Goel,2019) (Zhuang *et al.* ,2017) ؛ ، فضلا عن قدرة المركبات الفينولية في الحد من الانتاج المتزايد للجذور

الحررة عن طريق منح ذرة الهيدروجين H وبالتالي تثبيط عمليات الاجهاد التأكسدي وبيروكسيدية الدهون (Luthfiya et al., 2023) ، وقد يرجع السبب في ارتفاع مستوى الجلوتاثيون إلى فعالية مستخلص القشور في تحفيز التخليق الحيوي لهذا الجزيء ، إذ يشكل وجود المركبات الفعالة في قشور الرامبوتان كمركب الايلاجيك اهمية في تعزيز انتاج الجلوتاثيون وذلك عن طريق تحفيز المسار الانزيمي gamma-glutamylcysteine synthetase الذي يعمل مع الاضافة اللاحقة لجزيئة الكلايسين Glycine على تخليق جزيئة الجلوتاثيون وبهذا فانه يشارك في تعزيز مستويات مضادات الاكسدة الداخلية (Hussein And Khalifa, 2014)، كما اشارت العديد من الدراسات على وجود نسبة عالية من محتوى الفينول في مستخلص قشور الرامبوتان والذي له دور في تقليل انواع الأوكسجين التفاعلية ROS فعلى الرغم من اهميتها في مسارات الطاقة والأشارات الكيميائية وازالة السموم الا ان الانتاج المفرط أنواع الأوكسجين التفاعلية تحت الظروف غير طبيعية يؤدي نضوب SOD وGSH فضلا عن اضرار خلوية كبيرة تصل إلى مستوى DNA واكسدة القواعد النووية وتثبيط نشاط لميتوكوندريا والبروتينات الوظيفية ، ولذا فان تواجد المركبات الفينولية كحمض الغاليك Gallic Acide الفلافونويدات Flavonoid قد ساهم في الحد من انتاج الجذور الحررة و تقليل الاصابات الكبدية والكلىة وبالتالي الحفاظ على مستويات مضادات الاكسدة الداخلية وزيادة انشطتها (Sukmandari et al., 2017).

إن عدم وجود فرق معنوي في مستوى المألون ثنائي الديهايد بعد المعاملة بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان قد يعود إلى دور النبات في الحد من بيروكسيدية الدهون ومكافحة الجذور الحررة (Zhuang et al., 2017) ، إذ يسبب تفاعل هذه الجذور مع الاحماض الدهنية غير المشبعة إلى انتاج مركبات MDA التفاعلية والتي تحدث اضرار كبيرة تشمل تغيرات في نفاذية وسيولة الاغشية الخلوية مما يؤثر على معدل الايونات الداخلة والخارجة عبر الغشاء الخلوي وفقدان السلامة الخلوية وبالتالي ظهور العديد من التأثيرات التحطمية (Toto et al., 2022)، وقد يعزى الحفاظ على مستويات MDA ضمن الحدود الطبيعية إلى دور قشور الرامبوتان وما تحويه من مركبات فعالة وخاصة الجيرانين Geranin والذي يعد من اقوى مضادات الاكسدة الموجودة في القشور والذي يمتلك فعالية في الحد من انتاج MDA، إذ يعمل هذا المركب على تثبيط التعبير الجيني لمستقبل البيروكسيسوم نوع غاما peroxisome proliferator activating receptor γ والذي يتم تحفيزه استجابة لتفعيل الروابط المحبة الدهون و انتاج البيروكسيدات وزيادة مستوى MDA الضارة ، ولذا فإن وجود المركبات الفعالة في قشور الرامبوتان لها دور اساسي في الحفاظ على استقرار الخلايا وتثبيط عملية الاكسدة الفائقة للدهون ومنع تلف الانسجة من الأجهاد التأكسدي الذي تسببه المنتجات الضارة لهذه العملية (Setyawati et al., 2015).

كما شارح نتائج الدراسة الحالية إلى عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في مستوى السيتوكروم p450 عند التجريب الفموي بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان في المجموعة الثالثة G3 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

يشكل السيتوكروم فصيلة من الانزيمات الأوكسجين الاحادية المحتوية على الهيم والتي تشارك في الايض التأكسدي للعديد من الادوية و المواد الحيوية إضافة للمركبات الكيميائية ومنها المستقلبات الثانوية للمركبات النباتية والتي تخضع لعمليات الاقتران الغلوكورني glucuronidation والذي يحدث غالباً في الكبد والامعاء ، إذ يشمل الاقتران تفاعل المادة الحيوية للمركب النباتي مع حمض الغلوكورنيك لتحويلها إلى مواد قابلة للذوبان يمكن الاستفادة منها، إذ تمر هذه المركبات ومنا الفلافونويدات بعدة مسارات ايضية وصولاً للكبد حيث تساهم في الحفاظ على استقرار الخلايا والسيطرة على الحالات السمية ، فقد تبين ان الفلافونويدات لها تأثير وقائي و منظم لمستويات السيتوكروم الكبدي (Yang ,2008 ; Cermak) (Yong et al.,2014) ، ان توفر المركبات الفعالة في المستخلصات النباتية يساهم وبشكل كبير في التخلص من السموم وتقليل الجذور الحرة والاجهاد التأكسدي وبالتالي الحفاظ على التفاعلات الايضية المحفزة بواسطة انزيمات السيتوكروم CYP ، فقد وجد بأن المحتوى الفينولي والذي يشكل احد مكونات قشور ثمار الرامبوتان له القدرة على تنظيم مستويات انزيم Cytochrome وذلك عن طريق تعديل مستوى التعبير الجيني لهذه الانزيمات أو عن طريق الارتباط المباشر بمراكزها التحفيزية وبالتالي المساهمة في الحفاظ على مستويات السيتوكروم وتنظيم فعاليته والسيطرة على التعبير الجيني له (Korobkova, 2015) .

أظهرت نتائج التجريب الفموي بالمستخلص المائي للثمرة الرامبوتان حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) مستوى الجلوتاثايون GSH في المجموعة الخامسة G5 وعدم وجود فرق معنوي ($P < 0.01$) في مستوى الجلوتاثايون في المجموعة السادسة G6 ، كما ولوحظ عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.01$) في مستوى SOD و MDA في المجموعة الخامسة G5 والمجموعة السادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

و من المعروف ان الدور الفسيولوجي لأعضاء الجسم وتحديد الكلى والكبد في ازالة السموم يكون مرتبط وبشكل وثيق مع نشاط مضادات الاكسدة الداخلية الجلوتاثايون وانزيم السوبر اكسيد ديسموتاز فضلاً عن انزيم الكاتاليز ، إذ ان حدوث الاضرار الخلوية في هذه الاعضاء بواسطة الجذور الحرة يؤدي إلى تحفيز الاجهاد التأكسدي واصابة الانسجة مما يؤدي إلى تعطيل الاليات الدفاع والتي تستنفذ اثناء منعها للإنتاج المفرط للجذور الحرة ، وبالتالي فان الية الحماية التي يقدمها مستخلص لب الرامبوتان لأعضاء الجسم قد تعزى لدوره في تعزيز نظام مضادات الاكسدة الداخلية ، فقد وجد ان العديد من مركبات لب الرامبوتان لها ادوار تحفيزية لتخليق مضادات الاكسدة الداخلية ومنها مركب الرايبوفلافين Riboflavin

الذي يعمل على تنظيم التعبير الجيني للأنزيمات المضادة للأكسدة عن طريق تحفيز مسار Nuclear Factor E2-Related Factor 2 signaling pathway الذي يمثل عامل نسخي ينشط نسخ العديد من مضادات الأكسدة الداخلية و هو مسؤول عن تنظيم التوازن الفسيولوجي لحالات الأكسدة والاختزال وتنظيم الاستجابة الخلوية للأجهاد (Olfat et al.,2022; Afzaal et al.,2023) ، كما ويعد وجود مركبات الفينولات و الفلافونويدات في لب الرامبوتان مساهم فعلي في كسح انواع الأوكسجين التفاعلية وتقليل التفاعلات الالتهابية عن طريق تثبيط اطلاق السيتوكينات المحفزة للالتهاب ، إذ تشارك البنية التركيبية لهذه المركبات النشطة في الحد من انتاج الجذور الحرة فهي تعد بمثابة مانح أو مستقبل للإلكترونات مما يؤدي استقرار هذه الجذور وتحويلها إلى ماء وهو ما يؤدي إلى عدم استنزاف النظام الانزيمي للدفاع والمحافظة على مستويات GSH و SOD مما يساهم في منع أو تقليل الاصابات الكبدية والكولية (Kaur et al.,2022; Bhat , 2020)

ان عدم وجود فرق معنوي في مستوى المألون ثنائي الديهايد والتي اشارت اليها نتائج الدراسة الحالية قد يعزى إلى التأثيرات المثبطة للرب فاكهة الرامبوتان ضد توليد انواع الأوكسجين التفاعلية و MDA الذي يمثل المنتج البيروكسيدي للأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة وهو علامة حيوية تعكس مدى الضرر التأكسدي للأغشية الخلوية والذي يسبب تحطامات للهيكل الخلوي وما يلحقها من تسرب للأنزيمات الكبدية و حدوث التخرات (Fila et al.,2012) ، إذ يتضح من نتائج الدراسة الحالية ان لب الرامبوتان قد خفف من انتاج الجذور الحرة نتيجة استقرار المستويات المضادة للأكسدة وقد يعزى هذا للمحتوى العالي من الفلافونويدات والفيتامينات ومنها فيتامين C والذي اثبت مساهمته أيضا في الحد من انتاج MDA عن طريق تعزيز مضادات الأكسدة التي من شأنها ان تثبط عمليات الأكسدة الفائقة للدهون وبالتالي تحقيق استقرار الاغشية الخلوية والمحافظة على استتبابها مما يؤكد فعالية مستخلص لب الرامبوتان في تثبيط العديد من العمليات الضارة التي تحدث في الجسم (Iskender et al.,2016).

واشارت نتائج التجريب الفموي بالمستخلص المائي للرب ثمار الرامبوتان إلى عدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في مستوى السيتوكروم p450 في المجموعة الخامسة G5 والمجموعة السادسة G6 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة G1 .

ان المحافظة على مستوى انزيم السيتوكروم الكبدي قد يعزى للدور التثبيطي للرب الرامبوتان في مكافحة انتاج انواع الأوكسجين التفاعلية ROS التي تسبب فقدان وضائف الخلايا الكبدية ومن ضمنها وظائف السيتوكروم في استقلاب المركبات الكيميائية وازالة السموم المختلفة، إذ تشير نتائج الدراسة الحالية ان لب الرامبوتان وما يحتويه من تركيزات عالية لحمض الاسكوريك قد يساهم في تنظيم وتحفيز التعبير الجيني للسيتوكروم الكبدي وبالتالي المساهمة في الحفاظ على المستويات الطبيعية له في المجاميع G5 و G6

(Ramanathan *etal.*, 2003) ، فقد أصبح من الواضح أن لب فاكهة الرامبوتان تظهر تعزيزات عالية و دور فعال في تحسن واصلاح ضائف الخلايا الكبدية سواء كان ذلك عبر الحد من تكوين الجذور الحرة أو عن طريق زيادة نشاط مضادات الاكسدة الداخلية بما في ذلك الجلوتاثايون و انزيم السوبر اكسيد الديسموتاز وهذا قد يعزى لوجود مركبات فعالة ونشطة مثل الفينولات Phenols و القلويدات Alklaoid و الستيرويدات Steroids الفلافونويدات Flavonoid والترائيتيربينويدات Triterpenoids التي اسهمت في المحافظة وظائف الكبد وبالتالي استقرار نشاط السييتوكروم p450 وزيادة التعبير الجيني له (Perumal *et al.*, 2021).

7-5 تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد في مستوى عامل التنخر الورمي الفا (Tumor necrosis factor- α (TNF- α) و الإنترولكين 10 (IL-10) و عامل النمو المتحول بيتا transforming growth factor β 1 (TGF- β) و البروتين الجنيني الفا- alpha- fetoprotein (AFP) و بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)

أظهرت النتائج ان الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة TAA وبتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم قد أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى عامل التنخر الورمي الفا TNF- α و عامل النمو المتحول بيتا TGF- β في المجموعة الثانية G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة و هذه النتائج اتفقت مع (Elmfarawy *et al.*, 2021; Jorgačević *et al.*, 2022)

إن الارتفاع الحاصل في مستوى عامل التنخر الورمي الفا TNF- α قد يعود إلى التأثيرات السمية التي يحدثها مركب TAA على عضو الكبد كونه يعد من اهم الاعضاء التي تشارك في تنظيم السييتوكينات وتخليقها ، إذ يؤدي التعرض لمادة TAA إلى تحفيز الخلايا الدفاعية الموجودة في الكبد ومنها خلايا كوففر Kupffer cells والبلاعم macrophages إلى انتاج مادة وسطية تعزز حدوث الالتهاب إضافة إلى السييتوكينات بما في ذلك TNF- α والذي يلعب دورا هاما في تطور الالتهاب الكبدي واحداث المزيد من الاضرار الخلوية (ElBaset *et al.*, 2022)، إضافة إلى ذلك فان الاجهاد التأكسدي الذي ينتج من التنشيط الحيوي لمادة TAA ومستقبلاته التفاعلية السامة يؤدي إلى زيادة انتاج انواع الأوكسجين التفاعلية ROS إلى جانب انخفاض المحتوى الكبدي للمضادات الاكسدة الداخلية مما يؤدي إلى تدمير الخلايا والحمض النووي DNA وتغيرات في معدل التعبير الجيني للبروتينات واحداث الطفرات الجينية ومن ثم ارتفاع مستوى TNF- α (Mansour *et al.*, 2018)

إن عامل النمو المتحول بيتا $TGF-\beta$ هو السيتوكينات متعددة التوجه، ينظم العديد من وظائف الخلية الأساسية بما في ذلك الانتشار، والتميز، والهجرة، أو موت الخلايا، والتي تعد ضرورية لاستقرار وضائف الخلايا والأنسجة والأعضاء ، وبسبب وظائف $TGF-\beta$ المتعددة والمتنوعة المظاهر قد يؤدي تحررها وبكميات كبيرة إلى المساهمة في مسارات الالتهاب والتليف الكبدي (Ling *et al.* 2013) ، إذ تؤدي المعاملة بمادة TAA إلى تنشيط مسار اشارات $TGF-\beta$ و زيادة تحررها مما يعمل على زيادة التلف الكبدي ، كما و يسبب $TGF-\beta$ المتحرر بكميات كبيرة إلى تنشيط الخلايا الكبدية النجمية hepatic stellate cells (HSCs) عبر الارتباط بمستقبله receptors cognate to Smad proteins ، حيث يؤدي هذا التنشيط إلى انتاج كميات كبيرة من الكولاجين والذي مثل احد علامات التليف الكبدي مما يسبب حدوث تخرر وتحطم الخلايا الكبدية و تنكس الكبد الدهني وتسلسل الخلايا الالتهابية ،فضلا عن انتاج المزيد من السيتوكينات الالتهابية (Mansour *et al.* ,2018) ، فضلا عن ذلك فان الإصابة الكبدية والتي تحصل بفعل العديد من المواد السامة الداخلة للجسم ومنها مادة الثيوأسيتاميد تؤدي إلى زيادة الجذور الحرة والاضرار التأكسدية مما يثير الاستجابة الالتهابية وينشط الخلايا المناعية في الكبد لإطلاق المزيد من $TGF-\beta$ والذي بدوره يسبب ارتفاع مستوياته في مصل الدم (Handayani *et al.* ,2018).

اشارت النتائج بأن الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة الثيوإسيتاميد وبتركيز 200ملغم/كغم من وزن الجسم في المجموعة الثانية G2 قد أدى إلى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في مستوى الانترلوكين (IL- 10) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

إن الارتفاع الحاصل في مستوى الانترلوكين 10 (IL-10) قد يعزى إلى الوظيفة الحيوية التي يقوم بها كونه يعمل كمثبط عام للعمليات الالتهابية والتفاعلات المناعية وبما ان مادة TAA تعمل على زيادة هذا العمليات عبر الانتاج المتزايد للجذور الحرة و تحفيز زيادة مستوى الاجهاد التأكسدي وهذا بدوره قد يؤدي إلى تحرر كميات كبيرة من الانترلوكين 10 (Alamri , 2024) ،فضلا عن ذلك فان اطلاق مادة أوكسيد النتريك السامة NO نتيجة المعاملة بمادة TAA تؤدي إلى الافراط في التعبير الجيني لل انترلوكين 10 مما يعزز تدمير التحمل المناعي للخلايا واختلال التوازن بين مضادات الاكسدة والجذور الحرة مما يؤدي إلى تدهور الأنسجة وتحطمها وخصوصا نسيج الكبد كونه يمثل مواقع لاستقلاب TAA عن طريق نظام CYP450 (Shaker *et al.* ,2016) ، إذ تشير المستويات المرتفعة لل انترلوكين 10 إلى دوره المزدوج في تثبط وتحفيز الاستجابة المناعية ، فقد بينت العديد من الدراسات الدور المهم الذي يقدمه في قمع نشاط السيتوكينات والحد من عملية الالتهاب وتثبيط التليف الكبدي الا ان و مع انخفاض قدرة الخلايا الكبدية في ازالة هذه العوامل الالتهابية وحصول التخرات الخلوية وظهور الأورام السرطانية قد ينعكس تأثير الانترلوكين 10 وتكون الخلايا السرطانية هي المسؤولة عن زيادة إفرازه في البيئة الميكروية للورم وهذا

ما قد يفسر ارتفاع مستوياته في المصل (Shakiba *et al.*, 2018) ، كما و تؤدي المستويات المرتفعة ل IL-10 إلى قمع فعالية الخلايا المناعية ، بما في ذلك خلايا Natural killer cell NK و CD8T و cytotoxic T lymphocytes والتي تعد ضرورية لقتل الخلايا السرطانية والتحكم في نمو الورم ، وهذا ما يسبب عجز الجهاز المناعي عن محاربة الخلايا السرطانية وبالتالي الاستمرار في إنتاج IL-10 وزيادة مستواه في مصل الدم (Mirlekar, 2022) .

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى أن الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة الثيوأسيتاميد بتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم قد أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى البروتين الجنيني الفا AFP في المجموعة الثانية G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة وقد اتفقت هذه النتائج مع (Magdy *et al.*, 2021; Hammam *et al.*, 2021)

يمثل البروتين الجنيني الفا AFP أحد أهم العلامات الدقيقة لكشف عن سرطان الكبد وأن ارتفاع مستواه قد يعزى للتأثير السام الذي يتعرض له عضو الكبد بفعل مادة TAA الي تزيد من نسخ جينات البروتين الجنيني الفا مما يسبب ارتفاع مستواه في الدم (Magdy *et al.*, 2021) ، إذ يلعب الإجهاد التأكسدي الذي تسببه المستقبلات التفاعلية السامة TAASO و TAASO2 دورا رئيسياً في تطور سرطان الكبد من خلال التأثير على تكاثر الخلايا و تثبيط مسار موت الخلايا المبرمج وأحداث تأثيرات تحطيمه للخلايا فعندما تبدأ حالة الاجهاد التأكسدي يؤدي ذلك إلى زيادة حساسية الخلايا وتنشأ حالة من الخلل بين تكوين الجذور الحرة وقدرة هذه الخلايا على التخلص منها وباستمرار المؤثر الضار (مستقلبات مادة TAA) بدوره يؤدي إلى الإفراط في إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية ROS والتي يصل تأثيرها حتى إلى المادة الوراثية DNA مسببه بذلك حدوث الطفرات الوراثية وتفعيل العديد من عوامل النسخ وهذا ما قد يسبب زيادة في التعبير الجيني لبروتين AFP وتعزيز مستوياته (Bagalagel *et al.*, 2022).

إن الزيادة الحاصلة في مستوى AFP خلال المرحلة المبكرة من التحول غير الطبيعي لخلايا الكبد، تؤدي إلى تثبيط مهاجمة الخلايا المناعية على خلايا الكبد التي ستصبح خلايا سرطانية ، مما يؤدي إلى إفراز المزيد من AFP و الذي يتسبب في نمو هذه الخلايا وتكاثرها فضلا عن منع نقل إشارات موت الخلايا المبرمج وذلك لمنع موت الخلايا المبرمج للخلايا السرطانية وبالتالي تطور الورم وتعزيز انتشاره وهذا ما يفسر الانتاج المستمر والمتزايد للبروتين الجنيني الفا في حالات سرطان الكبد Hepatocellular carcinoma (HCC) (Zheng *et al.*, 2020).

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى و بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة MCP-1 Monocyte chemotactic protein-1 في المجموعة الثانية

G2 المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة وهذه النتائج اتفقت مع (Shin *et al.* ,2022 ; Babuta And Szabo,2022)

إن الزيادة الحاصلة في مستوى بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة MCP-1 يمكن تعزي للسمية الناجمة من مادة TAA والذي اثبتت العديد من الدراسات التأثيرات التحطمية التي تحدثها هذه المادة وذلك بالإنتاج المفرط لأنواع الأوكسجين التفاعلية ROS وتعزيز عملية بيروكسيدية الدهون ونتاج مركبات MDA الضارة مما يؤدي إلى انهيار اليات الدفاع المضادة للأكسدة والتسبب في تلف اغشية الميتوكوندريا و التغيير في البروتينات وحدث الطفرات الجينية في الحمض النووي DNA مما يؤدي إلى تنخر الخلايا وتحفيز العمليات الالتهابية وإلى تعزيز إفراز السيتوكينات المؤدية للالتهابات فضلا عن انتاج مركبات كيميائية مثل MCP-1 والتي تزيد من تجنيد الخلايا الالتهابية إلى موقع الإصابة وهذا ما قد يسبب زيادة تركيزه (Zhang And Xu, 2024)، إذ يعمل MCP-1 في الحالات المرضية كعمل جذب كيميائي لجذب البلاعم إلى مواقع الإصابة فقد يعزى ارتفاع مستواه في مجموعة الثانية G2 بسبب تحفيز التعبير الجيني المفرط له بعد التعرض لمادة TAA والتي تعمل على تنشيط الخلايا النجمية الكبدية التي لها القدرة على اطلاق MCP-1 في الكبد المصاب معززا بذلك زيادة تركيزه (Mori *et al.* , 2009) ، كما وقد يعزى ارتفاع مستوى MCP-1 إلى التليف الانبوبي للخلايا الكلوية بسبب الاجهاد التأكسدي الحاصل بفعل مادة TAA والذي يعمل على انتاج MCP-1 بعد تحفيز مسار العامل النووي كابا nuclear factor-kappa B (NF-KB) ، إذ يؤدي نشاطه غير المنظم إلى زيادة انتاج البروتينات الالتهابية بما في ذلك MCP-1 والذي يرافقه زيادة في تسلل البلاعم مما يسبب اصابة الكلى وتكوين الندوب الكلوية (Keshk And Zahran , 2019)

8-5 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لقمشور ولب ثمار الرامبوتان في مستوى عامل التنخر الورمي الفا (TNF- α) و Tumor necrosis factor- α و الانترلوكين IL- 10 Interleukin-10 و عامل النمو المتحول بيتا (TGF-β) و transforming growth factor β1 و البروتين الجنيني الفا (AFP) و بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)

اشارت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقمشور الرامبوتان قد أدى إلى حدوث انخفاض معنوي (P<0.01) في مستوى عامل التنخر الورمي الفا TNF- α وعدم وجود فرق معنوي (P>0.01) في مستوى عامل النمو المتحول بيتا TGF-β و الانترلوكين 10 في المجموعة الثالثة

G3 ، وظهرت النتائج عدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في مستوى عامل النمو المتحول بيتا $TGF-\beta$ و $TNF-\alpha$ و الانترلوكين 10 في المجموعة الرابعة G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

تحتوي قشور نبات الرامبوتان على نسبة عالية من مضادات الاكسدة والتي تعمل بشكل مباشر على التخلص من تأثير انواع الأوكسجين التفاعلية ROS فهي تحتوي العديد من المركبات الفعالة التي لها القدرة على تعزيز تخليق مضادات الاكسدة الداخلية وهذا بدوره يثبط الاجهاد التأكسدي ويقلل من الاضرار التأكسدية ويحافظ على سلامة الخلايا والاعضاء (de Santana Santos *et al.*, 2021) ، كما وان لوجود المحتوى العالي من الفينولات Phenols الفلافونويدات Flavonoids في قشور ثمار الرامبوتان أهمية كبيرة في كسح الجذور الحرة من خلال عملها كواهب لذرة الهيدروجين مما يساهم في تقليل ضرر الجذور الحرة واستقرارها وبدوره يقلل من العمليات الالتهابية الناتجة عنها ويثبط من الإنتاج غير الطبيعي للسيتوكينات المحفزة للعمليات الالتهابية (Uduwela *et al.*, 2019).

فقد يعزى النشاط المضاد للالتهاب لمستخلص قشور الرامبوتان إلى وجود حمض الغاليك Gallic acid وحمض الايلاجيك Ellagic acid وما لهما من اهمية بالغة وخصائص هامة ضد العمليات الالتهابية التي تحدث في الجسم بفعل العديد من المواد السامة ، إذ تظهر هذه المركبات فعالية عالية في تقليل مختلف الالتهابات والاصابات الخلوية عبر تثبيط تنشيط السيبتوكينات الالتهابية مثل $TNF-\alpha$ و $TGF-\beta$ و الانترلوكين 10 وتنظيم التعبير الجيني لها (Bai *et al.*, 2021) ، إذ اشارات العديد من الدراسات إلى دور حمض الغاليك في قمع السمية الكبدية عبر تقليل التعبير عن السيبتوكينات المحفزة للالتهابات وتنظيم مستوياتها فضلا عن دوره في تحفيز التعبير الجيني لأنزيمات مضادات الاكسدة الداخلية وتعزيز انشطتها في الخلايا وهذا يبين الدور الوقائي للمكونات الفعالة لقشور الرامبوتان وتأثيراتها الايجابية على عضو الكبد (Ojeaburu And Oriakhi , 2021).

كما وبينت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان قد أدى إلى عدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في مستوى البروتين الجنيني الفا (AFP) و بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة (MCP-1) في المجموعة الثالثة G3 و المجموعة الرابعة G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة.

ان كفاءة المكونات الفعالة لقشور الرامبوتان كالفلافونويدات Flavonoid و الفينولات Phenols اثبت انها تساهم في تقليل الالتهابات والامراض المختلفة ، فقد اصبح من الواضح ان انتاج الجذور الحرة بأنواعها المختلفة يمثل سببا رئيسيا لحصول الاصابة الخلوية نتيجة التفاعلات الكيميائية داخل الانسجة الجسمية مما يسبب اعاقه وظائفها وتحفيز موتها ، وهنا يأتي دور المستخلص المائي لقشور ثمار الرامبوتان

في حماية الجسم من التأثيرات المرضية الحاصلة بسبب توليد هذه الجذور الحرة ومكافحتها وبالتالي المحافظة على وظائف الاعضاء وبالأخص الكبد والكلى (Uduwela et al., 2019).

فقد يعود الاستقرار الحاصل في مستوى البروتين الجنيني الفا (AFP) و بروتين الجذب الكيميائي للخلاية الوحيدة (MCP-1) بعد التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان وبتركيز 25 ملغم/كغم إلى دور قشور الرامبوتان في القضاء على العوامل المسببة للالتهابات بفضل عديد من المركبات الفعالة والتي تساهم في التقليل من انتاج العوامل المسببة للالتهاب مثل AFP و MCP-1 ، إذ تمتلك مركبات الفلافونويدات Flavonoids والكورلاجين Corilagin القدرة على كسح نشاط الجذور الحرة ومنها أكسيد النتريك NO فضلا عن مركب الجيرانين geraniin و حمض الغاليك Gallic acid والذان يظهران فعالية عالية في تخفيف عملية الالتهاب عبر تثبيط تحفيز العامل النووي كابا (NF-KB) المسؤول عن انتاج السيتوكينات و العوامل الالتهابية البروتينية بما في ذلك AFP و MCP-1 وهذا ما يساهم هذا تنظيم التعبير الجيني لهذه البروتينات والحفاظ على مستوياتها الطبيعية (Albuquerque et al., 2023) ، كما وقد يعزى عدم وجود فرق معنوي في مستوى AFP و MCP-1 إلى احتواء القشور على مركب الايلاجيك Ellagic acid ذو الخصائص المضادة للالتهاب ، فقد تبين ان هذا المركب له القدرة على خفض مستويات البروتين الجنيني الفا والذي يعد كعلامة مهمة في تشخيص سرطان الكبد عن طريق تثبيط التعبير الجيني له ، فضلا عن دور هذا الحمض في منع تنشيط الخلايا النجمية الكبدية (HSC) المحفزة لإطلاق MCP-1 والتي تسبب حدوث التليف في نسيج الكبد ، وهو ما يبين مساهمة مستخلص قشور الرامبوتان في تقليل الاصابة الحاصلة والحد من الأورام الكبدية وظهور الأورام السرطانية (Aishwarya et al., 2021) ، فضلا عن احتواء المستخلص المائي لقشور الرامبوتان على مركبات الكريستين quercetin والروتين Rutin والتي لها القدرة في خفض مستوى AFP عن طريق تثبيط تخليقه في الخلايا الورمية و تحفيز مسار الموت المبرمج لخلايا وبالتالي منع انتشار الورم اضافة إلى التقليل من احتمالية الاصابة بسرطان الكبد ، إذ تبين المقاطع النسجية للمجموعة الوقائية الرابعة G4 التي جرعت بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان مع الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة TAA إلى المحافظة على البنية النسجية للكبد وعدم وجود العقيدات الورمية (Ahmed et al., 2022)

كما بينت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالمستخلص المائي للثمار الرامبوتان قد أدى إلى عدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في معدل مستوى عامل التنخر الورمي $TNF-\alpha$ و عامل النمو المنحول بيتا $TGF-\beta$ و الانترلوكين 10 في المجموعة الخامسة G5 و المجموعة السادسة G6 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

ان وجود المركبات الكيميائية النشطة في لب ثمار الرامبوتان تكون مسؤولة عن التأثيرات الوقائية والحد من العديد من التأثيرات السمية في الجسم ، إذ يمثل محتوى اللب من الفينولات الفلافونويدات مصدرا رئيسيا لتقليل التفاعلات الالتهابية والحد من انتاج السيتوكينات المحفزة للالتهاب مثل $TNF-\alpha$ و $TGF-\beta$ وقد يكون هذا عن طريق تثبيط التعبير الجيني لها وبالتالي تنظيمها وإصلاح الإصابات الحاصلة بسببها (Chohan *etal.*,2012;Kaur *etal.*,2022) ، فغالبا ما تشير الدراسات إلى وجود علاقة ما بين المستويات العالية من مركبات الفينولات في المستخلصات النباتية مع انشطتها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب ، حيث تعمل هذه المركبات الفعالة للرب الرامبوتان بشكل اساسي على الحد من انتاج انواع الأوكسجين التفاعلية ROS التي تعد من اهم مسببات الضرر الخلوي ومن محفزات حدوث الالتهاب واحداث خلل في مختلف خلايا الجسم ، وبهذا فان المستخلص وما يحتويه من مركبات فعالة قد اسهم في تقليل فرصة حصول الالتهاب فضلا عن قمعه وتثبيط اطلاق السيتوكينات المفرط والذي يتأثر بالمستويات العالية من الاجهاد التأكسدي الذي حفزته السموم الخارجية (Tripathi,2021) ، فمن المعروف ان الالتهاب هو عملية ضرورية تحدث استجابا لمجموعة واسعة من الظروف غير الطبيعية وتهدف لإعادة التوازن الخلوي ومع ذلك فان الالتهاب المفرط واستمراره يؤدي إلى تدمير الخلايا واحداث المزيد من الاضرار التأكسدية وتحفيز انتاج السيتوكينات الالتهابية وهذا ما يسبب ظهور الامراض التنكسية والأورام السرطانية وهنا يأتي دور المستخلص المائي للرب الرامبوتان وما يحويه من مركبات الريبوفلافين Riboflavin وحمض الاسكوريك Ascorbic acid ذات الخصائص الفعالة في قمع العمليات الالتهابية فضلا عن دورها في تنظيم البروتينات المشاركة في مسار الإشارة (NF-Kb) وهذا بدوره يؤدي إلى توازن مستويات $TNF-\alpha$ و IL-10 (Suwannasom *etal.*,2020; Totan *etal.*,2019) ، كما وقد يعزى عدم وجود فرق معنوي في مستوى $TGF-\beta$ إلى الدور الايجابي لمستخلص اللب الذي يمارسه على خلايا الكبد واحتوائه على مركبات الفلافونويدات والفينولات ذات الخصائص المضادة للالتهاب والمضادة للأكسدة والتي قد تعمل على تقليل نشاط الخلايا النجمية المسببة لحدوث التليف الكبدي إذ يؤدي تنشيط هذه الخلايا بفعل العديد من المستقلبات السامة إلى تحفيز اطلاق المزيد السيتوكينات بما في ذلك $TGF-\beta$ لذا فان قمع نشاط الخلايا النجمية يؤدي إلى عدم اطلاق السيتوكينات الالتهابية وبالتالي تنظيم مستوى $TGF-\beta$ (Li *etal.*, 2020) ، اضافة إلى ذلك فان وجود الأوكسالات والعفص في لب الرامبوتان قد يكون لها دور في تنظيم مضادات الاكسدة الداخلية ورفع مستواها مما يعزز مكافحة انواع الأوكسجين التفاعلية وبالتالي تقليل اطلاق المحفزات الالتهابية والسيتوكينات (Shahrajabian *etal.*,2020) .

كما وأظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع بالمستخلص المائي للرب الرامبوتان قد أدى إلى عدم وجود فرق معنوي ($P>0.01$) في مستويات كلاً من البروتين الجيني الفا (AFP) و بروتين الجذب

الكيميائي للخلية الوحيدة (MCP-1) في المجموعة الخامسة G5 والمجموعة السادسة G6 مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة .

إن البروتين الجنيني الفا AFP هو احد البروتينات السكرية التي ترتبط مستوياته المرتفعة بالنمو الورمي وتحطم خلايا الكبد وتليفه فهو عادة ما يتم انتاجه بكميات قليلة جدا الا انه يتم التعبير عنه بشكل مفرط في حالات ظهور الأورام وتحديدًا سرطان الخلايا الكبدية، إذ يمكن ان تسبب الاضطرابات الوراثية والاصابات الخلوية التي تحصل بفعل المواد السامة ومنها مادة الثيوأسيتاميد إلى تعزيز ارتفاع مستوياته (Jorgačević *et al.*,2022) ، فقد يعزى عدم وجود فرق معنوي في مستوى AFP إلى كفاءة لب الرامبوتان في المحافظة على الخلايا في الحد من حالات الاجهاد التأكسدي والمساهمة في تنظيم التعبير الجيني لعدد من البروتينات التي تشارك في مختلف العمليات الحيوية ، إذ يؤدي قمع انتاج الجذور الحرة بفضل المركبات النشطة لثمار الرامبوتان إلى تحقيق الاستتباب والتوازن الفسيولوجي للخلايا وتهيئة الضرف الخلوية الطبيعية مما يمكن الخلايا من القيام بأنشطتها المختلفة فغالبا ما تعمل مركبات الصابونين و الفينولات والقلويدات والأوكسالات إلى تحقيق هذا الاستقرار الوظيفي كما وتعمل على الحد من عمليات بيروكسيدية الدهون التي تحطم الاغشية الخلوية و الحد من انتاج الجذور الحرة التي تلحق الضرر بالمادة الوراثية وتحفز حدوث الطفرات الجينية (Perumal *et al.*,2021) ، فضلا عن دور حمض الاسكوربك في خفض العمليات الالتهابية عن طريق تنظيم التعبير الجيني للسيتوكينات والحد من انتاجها ومساهمتها في تنشيط النظام المضاد للأكسدة وهذا ما قد يقلل من تأثير الاجهاد التأكسدي ويساهم وبشكل واضح في تنظيم التعبير الجيني لمختلف البروتينات ومنها البروتين الجنيني الفا وهو ما يبين فعالية المستخلص في التخلص من الالتهابات و تقليل انتاج AFP وتثبيط انتاجه في المجموعة الخامسة G5 والمجموعة السادسة G6 (Kaur *et al.*,2022) ، كما وتؤدي المركبات الكيميائية النباتية النشطة المتواجدة في ثمار الرامبوتان الاستوائية دورا وتأثيرا ايجابيا لأعضاء الجسم كافة، فهي بما تحتويه من مضادات اكسدة كالفينولات Phenols والفلافونويدات Flavonoids والتانينات tannins وغيرها تعمل على تقليل انتاج الجذور الحرة وتقليل تأثر الخلايا بمستويات الاجهاد التأكسدي وهذا ما يؤدي إلى المحافظة على التراكيب الخلوية والمادة النووية مما يساهم في الحد من حدوث الطفرات و ظهور الأورام السرطانية (Perumal *et al.*,2021)

وأن المستويات الطبيعية لبروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة (MCP-1) قد تعود لوجود حمض الاسكوربك و الرايبوفلافين riboflavin والثايمين thiamine كمركبات رئيسية في لب الرامبوتان و التي لها دور في تثبيط التعبير الجيني لل MCP-1 وتعطيل اطلاقه مما يساهم في الحفاظ على مستوياته ضمن الحدود الطبيعية (Mahmood *et al.*,2018) ، كما وان وجود العديد من المركبات الفعالة الاخرى في

لب ثمار الرامبوتان كالنياسين Niacin له دور مهم في خفض مستوى الكيموكينات الالتهابية بما في ذلك MCP-1 ، إذ اشارت الدراسات إلى ان النياسين يمارس دورا في خفض نشاط البروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة عن حدوث الاصابات الكلوية وقد يعزى هذا التأثير إلى تثبيطه لمسار اشارة العامل النووي كابا NF-Kb المسؤول عن اطلاق السيتوكينات و الكيموكينات مما ساهم في تقليل الالتهاب الحاصل (Cho *etal.*,2009) ، كما وان للمستخلص المائي للرب الرامبوتان دورا ايجابيا على نسيج الكبد وذلك من خلال الفعالية الحيوية لمركب الفانيلين vanillin المتواجد في لب الفاكهة ودوره في رفع مضادات الاكسدة الداخلية وتعزيز تخليقها فضلا عن نشاطه في كسح انواع الأوكسجين التفاعلية وتنظيم انتاج المحفزات الالتهابية مما يعطي للرب الرامبوتان ومركباته النشطة دورا كبيرا في حماية الخلايا من تأثير الجذور الحرة وبالتالي يمنع الضرر الحاصل على الكبد والكلية (Sefi *etal.*,2019).

9-5 الدراسة النسجية

9-5-1 تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA في نسيج الكبد

لقد أظهرت نتائج الفحص النسجي في مجموعة السيطرة عن التركيب الطبيعي لنسيج الكبد مع وجود الفصيصات والتي تحوي كل منها على وريد المركزي ، إضافة إلى انتظام الخلايا الكبدية المكونة للأربطة التي تفصل ما بين الفصوص ووجود الفسح ما بين الخلايا المسمى بالجيبانيات sinusoids بشكل طبيعي و ظهور انوية الخلايا الكبدية بشكل واضح ، في حين أظهرت انسجة الكبد في المجموعة الثانية التي عوملت مع مادة TAA ظهور عقيدات ورمية كبيرة لسرطان الكبد الأولي مع حدوث تغيرات تنكسية واضحة في نسيج الكبد و تنخر الخلايا الكبدية مع حدوث نزف دموي وتقجي واضح ، كذلك حدوث تضاعف لإنويه الخلايا الكبدية داخل العقيدة الورمية مع احتقان الوريد المركزي وارتشاح الخلايا الالتهابية حوله و اتفق هذا مع (Czechowska *et al.* ,2015; Magdy *et al.* ,2021; Hammam *et al.*) (,2021).

إن تعرض عضو الكبد لمادة TAA بشكل متكرر قد أدى إلى حث السمية الخلوية وهذا يعزى لسمية المستقلبات التفاعلية السامة لمادة TAA المتمثلة بمركب الثيوأسيتاميد أو أكسيد TAASO و مركب الثيوأسيتاميد ثاني الأوكسيد TAASO₂ والتي تنتج بعد التنشيط الحيوي لمادة TAA بواسطة انزيم السيتوكروم P450 ، إذ يعد المستقلب الثاني TAASO₂ ذو طبيعة سامة لما له من قابلية على انتاج مشتقات أسيتيليميدوليزين acetylimidolysine derivatives والذي ترتبط بالجزيئات الخلوية الكبيرة في الكبد محدثة بذلك تحطم الاغشية الخلوية وتلف البروتينات الخلوية واكسدة القواعد النووية للحمض النووي DNA فضلا عن تثبيط أنشطة الميتوكوندريا مما يؤدي إلى تلف الخلايا وتحطمت كبيرة لنسيج

الكبد (Alamri,2024)، فضلا عن قدرة TAASO2 على تنشيط الخلايا النجمية الكبدية التي لها القدرة على احداث التليف الخلوي في نسيج الكبد وتحفيز العمليات الالتهابية والسيتوكينات المحفزة للالتهابات بما في ذلك $TNF-\alpha$ و $TGF-\beta$ والانتروكين 10 في موقع الاصابة وهو ما يساهم في تطور هذه حالات التليف إلى تكوين الأورام مما يؤدي إلى ظهور العقيدات الورمية التي تعد من العلامات التشخيصية لحدوث سرطان الكبد (Mansour et al., 2018).

ويمكن أن تعزى التغييرات في نسيج الكبد إلى دور مادة TAA في رفع مستوى الاجهاد التأكسدي عن طريق الافراط في انتاج انواع الأوكسجين التفاعلية مما يعزز عملية الاكسدة الفائقة للدهون و انتاج مركبات MDA الضارة التي تسبب تدهور الاغشية الخلوية وزيادة نفاذيتها مما يؤدي إلى تحطيمها وتحرر المكونات الخلوية منها (Kaur et al., 2019)، اضافة إلى احداث المزيد من التأثيرات التحطيمية في خلايا الكبد بعد التعرض لمادة TAA ومستقلباتها السامة التي تؤدي إلى استنزاف وتعطيل مضادات الاكسدة الداخلية GSH و SOD والتي تعمل على تثبيط انتاج الجذور الحرة وتعطيلها مما يؤدي نضوبها وفقدان اليات الدفاع الخلوية و بالتالي زيادة الضرر على نسيج الكبد وهذا ما بينته نتائج الفحص المجهرى للدراسة الحالية في مجموعة الحيوانات المعاملة بالمادة السامة TAA (ElBaset et al., 2022).

5-9-2 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لقشور ولب ثمار الرامبوتان في نسيج الكبد

أظهرت نتائج الفحص المجهرى في المجموعة التي عوملت بالجرعة المؤثرة لمستخلص قشور الرامبوتان وبتركيز 25 ملغم/كغم من وزن الجسم إلى المحافظة على التركيب الطبيعي للخلايا الكبدية وهو ما يبين التأثيرات الايجابية لقشور الرامبوتان ودورها الوقائي ضد الإصابة الكبدية، وقد يعزى هذا التأثير لما تحويه قشور ثمار الرامبوتان من مركبات فعالة مثل الفينولات Phenole والفلافونيدات Flavonoide والجيرانين Geranin وحمض الغاليك Gallic acid وحمض الايلاجيك Ellagice acid والتي اثبتت مساهمتها في مكافحة الجذور الحرة والتخلص منها لكونها قادرة على منح ذرة الهيدروجين مما يسمح بإيقاف الضرر الذي تحدثه هذه الجذور في خلايا انسجة الكبد (de Santana Santos et al., 2021)، فضلا عن دورها في تعزيز انتاج مضادات الاكسدة الداخلية و تحسين انشطتها وبالتالي تثبيط التأثير السلبي للاجهاد التأكسدي، مما يؤدي إلى تحقيق السلامة الخلوية وتأدية الوظائف الحيوية والحفاظ على بنية طبيعية لنسيج الكبد (Samuagam et al., 2015).

إن المحافظة على اداء الوظائف الحيوية لعضو الكبد تتحقق عند استقرار الاغشية الخلوية والمحافظة على الانشطة الإفرازية التي تقوم بيها الخلايا الكبدية، فقد يعزى السبب في تحقيق هذا الاستقرار الوظيفي إلى قدرة مستخلص قشور الرامبوتان على تثبيط استقلاب المواد السامة منها مادة TAA وبالتالي منع اطلاق

مستقبلتها التفاعلية الضارة TAASO و TAASO2 المسؤولة عن أحداث تأثيرات تحطيمه لخلايا الكبد واطلافاها ، إذ تكتسب قشور ثمار الرامبوتان هذا الخصائص المتميزة من وجود مركباتها النشطة المختلفة كالفينولات والجيرانين (Ma *etal.*,2017)، كما وقد يعزى الدور الوقائي لمستخلص قشور الرامبوتان في الحد من الإصابة الكبدية إلى احتواءه على حمض الغاليك Gallic acid وحمض الايلاجيك Ellagic acid و التي تسهم في منع اطلاق السيوكينات المحفزة للتهاب وبالتالي الحد من العمليات الالتهابية وتقليلها فضلا إلى دور هذه المكونات في تثبيط تنشيط الخلايا النجمية في الكبد مما يساهم في الحد من حدوث التليف والتخر في نسيج الكبد وهذا ما يكسب المستخلص المائي لقشور ثمار نبات الرامبوتان خصائصه المضادة للتهاب وفعالية في خفض العوامل المشاركة في الإصابات الخلوية و تطور الامراض ومنها سرطان الكبد (Estrada-Gil *etal.*,2022) .

كما بينت نتائج الفحص المجهرى للدراسة الحالية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي للربامبوتان التركيب الطبيعي للخلايا الكبدية في نسيج الكبد واعادة انتظام الجيبيانيات والخلايا الكبدية مع ارتشاح لبعض الخلايا الالتهابية داخل النسيج.

قد يرجع السبب في ذلك إلى دور ثمار الرامبوتان وما يحتويه اللب على مركبات ذو خصائص نشطة مثل الفينولات الفلافونويدات والأوكسالات والصابونين والتانين والفيئات والتي تعمل على توفير الحماية لنسيج الكبد وخلاياه لما لها من أنشطة عالية كمضادات اكسدة ودوره الفعال في ازالة الجذور الحرة ومنع حدوث الاجهاد التأكسدي وبالتالي التقليل من حدوث الالتهابات والأورام السرطانية (Kaur *etal.*,2022) ، كما وقد يرجع التأثير الايجابي لمستخلص لب الرامبوتان إلى وجود مركب الفانيلين vanillin والذي اثبتت الدراسات فعاليته في حماية النسيج الكبدى عن طريق دوره المهم في منع عمليات الاكسدة الفائقة للدهون والحد من إنتاج الجذور الحرة و مركبات المألون ثنائي الديهايد ، مما يوفر الحماية لأغشية الخلوية ويحقق السلامة الوظيفية للنسيج ، فضلا عن دور هذا المركب في منع أو تقليل الاثار التحطمية للمادة الوراثية فقد يكون تلف الحمض النووي DNA والتغييرات البايوكيميائية التي تحدث بسبب العديد من السموم ومنها TAA المسؤولة عن حدوث التغييرات التنكسية والمرضية لنسيج الكبد وهنا يتضح تأثير المستخلص المائي للربامبوتان ومركبه النشط الفانيلين في المساهمة بتوفير الحماية لخلايا الكبد والنسيج الكبدى (Sefi *etal.*,2019) .

اضافة إلى ذلك فان لب الرامبوتان يكون غني بحمض الاسكوربك الذي له دور رئيسي في الحد من تضرر نسيج الكبد ، فقد ثبت نشاطه الكبير في كسح انواع الجذور الحرة بما في ذلك جذر الهيدروكسيل OH وجذر الاكسيد الفائق O₂⁻ مما يمنع هذه الجذور من التفاعل مع الجزيئات الخلوية ويحد من تأثيرها الضار وتكوين جذور مستقرة ، فضلا عن دوره في تفعيل التخليق الحيوي لمضادات الاكسدة الداخلية

وتعزيزه وهذا ما يمكن الخلايا الكبدية من اداء وظائفها بصورة سليمة كما ويقلل من الاصابات الخلوية الكبدية والاضرار التأكسدية للنسيج (Geçotek, And Skrzydlewska, 2022) ، وان لوجود الريبوفلافين Riboflavin والثايمين Thiamin في مستخلص لب الرامبوتان قد يكون له دورا مهما في تقليل حدوث حصول الالتهابات ، إذ يمكن ان يمنع وجود هذه المركبات ذات الانشطة المضادة للالتهاب من انتاج السيتوكينات الالتهابية التي يؤدي استمرار انتاجها إلى ظهور العقيدات الورمية والسرطانات (Afzaal *et al.*,2023) .

3-9-5 تأثير المعاملة بمادة الثيوأسيتاميد TAA في نسيج الكلية

أظهرت نتائج الفحص المجهرى لمجموعة السيطرة عن تركيب طبيعي لنسيج الكلى وخلاياه وذلك بوجود الكبيبة والتي تظهر وهي محاطة بمحفظة ظهارية مزدوجة الطبقة تدعى محفظة بومان مع وجود فسحة واقعة بين طبقتي المحفظة تدعى فسحة بومان ، في حين أظهرت نتائج الفحص المجهرى للمجموعة الثانية التي عوملت بمادة الثيوأسيتاميد ولمدة 90 يوماً ضمور وتحطم الكبيبة البولية وزيادة فسحة بومان مع حدوث تغيرات تنكسية واضحة للنبيبات البولية وارتشاح الخلايا الالتهابية مع وجود نزف دموي داخل النسيج الكلوي وحدث انكماش في مواقع اخرى للكبيبة وحدث تنخر لخلايا النبيبات البولية وهذا اتفق مع (Omar,2018 ;Samar *et al.*,2020; Radwan *et al.*,2023) .

تتأثر الكلى بالعديد من المركبات الكيميائية التي تدخل إلى الجسم وهذا يعود لوظيفتها الحيوية التي تسهم في التخلص من هذه المركبات أو مستقبلتها السامة وبالتالي فان التعرض الكلى لمثل هذه المركبات ومنها مادة TAA وبشكل متكرر ولفترات طويلة يسبب زيادة تركيزها في الكلى مما يؤدي إلى احداث العديد من التغييرات النسيجية المرضية للكلى وهذا ما يعززه ارتفاع مستويات اليوريا والكرياتينين ، إذ تؤدي المستقلبات السامة لمادة TAA إلى حدوث انسداد في الانابيب الكلوية وذلك بسبب تراكم الخلايا التنخرية والتي تنسلخ من بطانة هذه الانابيب مما يؤدي إلى انسدادها مسببا بذلك تلف انسجة الكلى التي تؤدي في النهاية إلى الفشل الكلوي (Jorgačević *et al.* ,2022 ; El-Hameed *et al.* ,2023).

كما ان ارتفاع مستويات الاجهاد التأكسدي التي تحدثه مادة TAA يلعب دور رئيسي في حدوث السمية الكلوية ، فان الانتاج المفرط لأنواع الأوكسجين التفاعلية ROS وما يرافقه من استنزاف لمضادة الاكسدة الداخلية يسبب تحطم الاغشية الخلوية عن طريق زيادة مستويات الكالسيوم وهذا يؤدي إلى حدوث تغيير في نفاذيتها ، فضلا عن ارتباط ROS بالحوامض الدهنية غير المشبعة المتواجدة في هذه الاغشية وبالتالي زيادة الاكسدة الفائقة للدهون Lipid Peroxidation مما يؤدي في النهاية إلى تحطم الاغشية الخلوية للنبيبات البولية والكبيبات وزيادة التنخر للنبيبات الكلوية (Begum *et al.* ,2011) ، إضافة إلى ذلك فان

التعرض لمادة TAA يساهم في تحفيز العديد من المسارات والعوامل التي تساهم في حدوث تلف الكلى ومنها تحفيز إنتاج السيتوكينات المسببة للالتهاب مثل بروتين الجذب الكيميائي للخلية الوحيدة MCP-1 و عامل التنخر الورمي الفا $TNF-\alpha$ والذي يلعب ادوارا مهمة في حدوث الالتهابات والاعتلالات الكلوية (Elmfarawy *et al.*,2021) ، كما وان زيادة الاضرار التأكسدية في نسيج الكلى بسبب التنشيط الحيوي لمادة TAA تؤدي حدوث تقلص وانكماش في خلايا مسراق الكلى Mesangial cell وتغير في مساحة سطح الترشيح مما يسبب خفض معدلات الترشيح الكبيبي GFR وبالتالي تفقد الخلايا الكلوية خاصيتها في التخلص من السموم والمنتجات الايضية السامة ويسبب تراكمها في الدم ، مما يؤدي حدوث المزيد من الاضرار الخلوية والتغيرات التحطمية التي تسبب الضرر النسيجي للنفرونات وفشل العمليات الحيوية للكلى (Jorgačević *et al.*,2022).

5-9-4 تأثير المعاملة بالمستخلص المائي لقشور ولب الرامبوتان في نسيج الكلى

أوضحت نتائج الفحص المجهرى بعد التجريع الفموي بالمستخلص المائي لقشور الرامبوتان التركيب الطبيعي للكبيبة والنيبيات البولية

إن نتائج الدراسة الحالية والتي اشارت لوجود الكبيبات والنيبيات البولية بتركيب طبيعي قد يعزى لدور المستخلص المائي لقشور الرامبوتان في التقليل من حالات الاجهاد التأكسدي ، إذ تعمل المركبات النشطة مثل الجيرانين Geranin الفلافونويدات Flavonoid المتواجدة في القشور وبشكل متناسق مع مضادة الاكسدة الداخلية من اجل تقليل انتاج انواع الأوكسجين التفاعلية ROS وبالتالي السيطرة عليها وتقليل الاضرار التأكسدية مما يساهم في المحافظة على سلامة وظائف الخلايا الانبوبية والكبيبات (Tingting *et al.*,2022) ، إذ تمتلك هذا المركبات وبالأخص الفينولية منها خصائص مضادة للأكسدة تمكنها من منح ذرة الهيدروجين H مما يؤدي ازالة واستقرار الجذور الحرة وتعطيل فعاليتها مما يوقف تأثيرها الضار على النسيج ، وهذا بدوره يقلل من عملية بيروكسيدية الدهون ويعمل على حماية الاغشية الخلوية من الاضرار التأكسدية (Luthfiya *et al.*,2023) ، فضلا عن ان المستخلص المائي لقشور الرامبوتان يمتلك فعالية في تعزيز النظام الداخلي لمضادات الأكسدة والمساهمة في تخليقها مما يؤدي إلى تقليل العمليات الالتهابية وعمليات الاكسدة داخل الخلايا وهذا يساهم في رفع مستوى مضادات الاكسدة الداخلية وحماية نسيج الكلى من الاصابة (Zhuang *et al.*,2017) ، إذ تشير العديد من الدراسات إلى كفاءة المركبات الفعالة لقشور الرامبوتان كالفينولات وقدرتها على كسح نشاط الجذور الحرة كجذر OH^- و H_2O_2 مما يحافظ على توازن مضادات الاكسدة الداخلية والحفاظ على وظائف النفرونات الكلوية والخلايا الانبوبية

فضلا عن المحافظة على معدلات الترشيح الكبيبي GFR وبالتالي حماية الكلى من التلف و تقليل الاصابة بالأورام السرطانية الناتجة عن الجذور الحرة (Sukmandari *et al.*, 2017).

كما ويمكن أن تعزى التأثيرات الوقائية في نسيج الكلى بعد المعاملة بقشور ثمار الرامبوتان إلى وجود حمض الغاليك Gallic acid وحمض الايلاجيك Ellagic acid في مستخلص القشور والتي تحد من تحفيز العمليات الالتهابية عبر تثبيط نشاط العامل النووي كابا (NF-Kb) المسؤول عن اطلاق السيتوكينات الالتهابية و هذا ما يسهم في تقليل الإصابات و التنتخرات في النسيج الكلوي ويعمل على اصلاح التلف الخلوي فضلا عن ترميم الانسجة التالفة (Ma *et al.*, 2017)

أظهرت نتائج الفحص المجهرى لمجموعة الحيوانات التي جرعت بالمستخلص المائي للرب الرامبوتان سلامة النسيج الكلوي والمحافظة على التركيب الطبيعي للكبيبة والانابيب الكلوية ، كما ان المجموعة التي تم معاملتها ب 200 ملغم / كغم من TAA من وزن الجسم مع التجريع الفموي ب 25 ملغم / كغم من زون الجسم من المستخلص المائي للرب الرامبوتان ولمدة ثلاثة اشهر يلاحظ فيها وجود نزف دموي مع وجود عدد من الكبيبات الطبيعية وسلامة الانابيب الكلوية الطبيعية

إن لوجود المركبات ذات الخصائص النشطة مثل الرايبوفلافين Ribovflavine والنياسين Niacine والثايمين Thaimin وحمض الاسكوربك والعديد من المعادن في مستخلص لب الرامبوتان قد يساهم في الحد من الاصابات الكلوية ، وبسبب الوظيفة الحيوية لعضو الكلى في تصفية السموم من الدم اضافة إلى تحقيق توازن البروتينات والمعادن في الجسم هو ما يجعلها اكثر عرضة للتلف ، لذا فان وجود مثل هذه المركبات النشطة التي تثبت فعاليتها في مكافحة انواع الأوكسجين التفاعلية والحد من ارتفاع مستوى الاجهاد التأكسدي يمكن الخلايا الكلوية ويجعلها قادرة على القيام بوظائفها كإعادة الامتصاص والإفراز النيببي (Bhat,2020) ، كما وأن كفاءة وفعالية المستخلص في حماية الانسجة الكلوية قد ترجع إلى احتواء لب ثمار الرامبوتان على حمض السيناميك Cinnamic acid الذي له دورا مهما في حماية وضائف الخلايا الأنبوبية فقد اشارات العديد من الدراسات إلى ان حمض السيناميك له تأثيرات وقائية ضد السمية الكلوية بفضل دوره المضاد للأكسدة الذي يحسن من معدلات الترشيح الكبيبي GFR ويسمح للخلايا بإداء وظائفها كإعادة امتصاص البروتينات اللازمة مثل الالبومين فضلا عن المحافظة على عملية إفراز اليوريا والكرياتينين من الدم وطرحها مع البول وهذا ما يبين دور لب ومركباته الوقائية في حماية الأنسجة الكلوية وتنظيم الوظائف الكلوية (Babaenezhad *etal.*,2021) .

كما وقد يرجع السبب في المحافظة على النسيج الكلوي من التأثيرات التحطيمية الشديدة التي تحدثها مادة TAA إلى الدور الوقائي لمركب النياسين Niacin والذي يشارك في خفض إنتاج أنواع الأوكسجين

التفاعلية ويعمل على قمع تحفيز السيتوكينات والكيموكينات الالتهابية مثل TNF-a و MCP-1 وذلك عبر تثبيط الاشارات المحفزة لهذه البروتينات الالتهابية ولذا فان دور النياسين ومساهمته في تنظيم هذه العوامل يجعل من لب الرامبوتان محتوى مضادا للالتهابات وفعالا ضد حصول الاصابات الخلوية و تقليل الاضرار التأكسدية لنسيج الكلى (Cho *etal.*,2009).

فضلا عن دور مركب الرايبوفلافين Riboflavin الذي يمتلك نشاطا مضادا للالتهاب و دوره في منع تلف الانسجة وذلك عن طريق تقليل تحفيز الخلايا المناعية كالعديلات إلى موقع الاصابة وبهذا فانه يحمي النسيج من التأثيرات الالتهابية ، إذ تظهر المقاطع النسجية للمجموعة المعاملة بالمستخلص سلامة الخلايا وعضياتها الحيوية ، فضلا عن المحافظة على مكونات الاغشية الخلوية من بيروكسيدية الدهون وتثبيطها وبالتالي يؤدي هذا إلى تحسين بنية الخلايا الكلوية وسلامة النسيج الكلوي والسيطرة على العوامل التي تشارك في تطور الإصابة وظهور التأثيرات التحطمية على الأنسجة (Adakul *etal.*,2019).

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Concolusion&Recommendation

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommendations

الاستنتاجات: Conclusions

1. بعد تحضير المستخلص المائي البارد لقشور ولب ثمار نبات الرامبوتان وجد أن الجرعة المؤثرة النصفية ED₅₀ كانت كالآتي :

A- بلغت الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي البارد لقشور الرامبوتان 25 ملغم/كغم

B – بلغت الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي البارد لللب الرامبوتان 27 ملغم/كغم

2. أحدث الحقن تحت الغشاء البريتوني بمادة الثيوأسيتاميد بتركيز 200 ملغم/كغم اضرارا فسيولوجية بالغة شملت ما يأتي :

A. خلل في الوظائف الفسيولوجية للكبد من خلال الارتفاع المعنوي في مستوى انزيمات الكبد ALP ، ALT ، AST ، و T-BIL .

B. خلل في الوظائف الفسيولوجية للكلية من خلال الارتفاع المعنوي في معدل مستوى اليوريا Urea والكرياتينين creatinine و الالبومين Albumin .

C. حصول اجهادا تأكسديا كبيرا وإنتاج مفرط للجذور الحرة والذي تم قياسه من ارتفاع مستوى MDA وانخفاضا في معدل مستوى GSH و SOD .

D. ارتفاع معنوي في مستوى IL-10 و TNF-a و TGF-β و AFP و MCP-1 وانخفاضا معنوي في معدل مستوى Cytochrome p450 .

E. ظهور عقيدات ورمية كبيرة و واضحة في نسيج الكبد و اكياس على السطح الخارجي للكليتين.

3. تبين أن التجريع الفموي للمستخلص المائي البارد لقشور ثمار الرامبوتان بتركيز 25 ملغم/كغم قد كانت له الفعالية الأقوى في خفض التأثيرات السمية لمادة TAA بالمقارنة مع مستخلص اللب كما وقد قلل وبشكل ملحوظ من التلف الحاصل في نسيج الكبد والكلية إضافة إلى دور المستخلص في تنظيم المستويات الطبيعية للمعايير الفسلجية المدروسة .

4. ان المعاملة بالمستخلص المائي البارد لللب ثمار الرامبوتان بتركيز 27 ملغم/كغم كان له دور وقائي ضد التأثير السمي لمادة TAA من خلال المحافظة على المعدل الطبيعي للمستويات الكيموحيوية والتقليل من الضرر الحاصل لأنسجة الكبد والكلية .

التوصيات

Recommendations

- 1 -استخدام ثمار الرامبوتان الطازجة كمادة وقائية ضد احتمالية الإصابة بأمراض السرطان وبالأخص سرطان الكبد والكلى .
- 2 – دراسة التأثير الوقائي للمستخلص الكحولي لقشور ولب الرامبوتان في بعض امراض المناعة مثل التهابات الجهاز الهضمي والتهاب المفاصل والعظام والتهاب القلب العضلي .
- 3 – اجراء دراسات نسجية لمعرفة تأثير ثمار الرامبوتان في أعضاء أخرى في الجسم مثل القلب والدماغ والبنكرياس.
- 4 – اجراء دراسة نسجية وفسلجية حول التأثير الوقائي لمستخلص قشور ولب الرامبوتان على الجهاز التكاثري الذكري في الجرذان البيض .
- 5 -اجراء دراسة نسجية ووظيفية لمعرفة تأثير مادة TAA كمادة مسرطنة في الرئة والغدة الدرقية والطحال.
- 6 – زيادة الجانب التثقيفي والوعي الصحي بأهمية طب الأعشاب وإمكانية استخدام الثمار الاستوائية وتحديدا ثمار الرامبوتان في العلاجات الدوائية وذلك لتقليل الاثار الجانبية الناتجة عن العلاجات الكيميائية المستخدمة في علاج السرطان وغيرها من الامراض .

المصادر
References

References.....

- Abdel-Rahman, R. F., Fayed, H. M., Asaad, G. F., Ogaly, H. A., Hessin, A. F., Salama, A. A., & Mohamed, M. A. E. (2021). The involvement of TGF- β 1/FAK/ α -SMA pathway in the antifibrotic impact of rice bran oil on thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *PLoS One*, *16*(12), e0260130.
- Abdul Ahmad, S. A., Palanisamy, U. D., Tejo, B. A., Chew, M. F., Tham, H. W., & Syed Hassan, S. (2017). Geraniin extracted from the rind of *Nephelium lappaceum* binds to dengue virus type-2 envelope protein and inhibits early stage of virus replication. *Virology journal*, *14*, 1-13.
- Abouelezz, H. M., Shehatou, G. S., Shebl, A. M., & Salem, H. A. (2023). A standardized pomegranate fruit extract ameliorates thioacetamide-induced liver fibrosis in rats via AGE-RAGE-ROS signaling. *Heliyon*, *9*(3).
- Abul Najmi K, Pillai KK, Palv SN, Akhtar M, Aqil M, Sharma M. (2010) .Effect of l-ornithine l-aspartate against thioacetamide induced hepatic damage in rats, *Indian Journal of Pharmacology*.; *42*(6):384-387.
- Adakul, B. A., Ertas, B., & Çevikelli, Z. A. (2019). The effects of riboflavin on ischemia/reperfusion induced renal injury: role on caspase-3 expression. *J Res Pharm*, *23*, 379-386.
- Adeyomoye, O. I., Akintayo, C. O., Omotuyi, K. P., & Adewumi, A. N. (2022). The biological roles of urea: A review of preclinical studies. *Indian Journal of Nephrology*, *32*(6), 539.
- Afzaal, M., Saeed, F., Bibi, M., Ejaz, A., Shah, Y. A., Faisal, Z., & Shah, M. A. (2023). Nutritional, pharmaceutical, and functional aspects of rambutan in industrial perspective: An updated review. *Food Science & Nutrition*, *11*(7), 3675-3685.
- Agramonte, M. D. L. A. R., Gonçalves, C. A., & Siniscalco, D. (Eds.). (2019). *Selected Papers from CUBANNI 2017—“The Fourth International Workshop of Neuroimmunology”*. MDPI.
- Ahmed, O. M., Elkomy, M. H., Fahim, H. I., Ashour, M. B., Naguib, I. A., Alghamdi, B. S., & Ahmed, N. A. (2022). Rutin and quercetin counter doxorubicin-induced liver toxicity in Wistar rats via their modulatory effects on inflammation, oxidative stress, apoptosis, and Nrf2. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022.
- Aishwarya, V., Solaipriya, S., & Sivaramakrishnan, V. (2021). Role of ellagic acid for the prevention and treatment of liver diseases. *Phytotherapy Research*, *35*(6), 2925-2944.
- Ajjawi , R . (2022). Study of Liver Anatomy and its Functions . *Journal of Contemporary Medical Education* , *12* (1): 1

References.....

- Akhtar, T., & Sheikh, N. (2013). An overview of thioacetamide-induced hepatotoxicity. *Toxin Reviews*, 32(3), 43-46.
- Alamri, Z. Z. (2024). Protective and therapeutic effects of apigenin on thioacetamide-induced hepatotoxicity in male rats: physiological and morphological study. *Egyptian Liver Journal*, 14(1), 1-14.
- Albuquerque, B. R., Pinela, J., Dias, M. I., Pereira, C., Petrović, J., Soković, M., & Barros, L. (2023). Valorization of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel: Chemical composition, biological activity, and optimized recovery of anthocyanins. *Food Research International*, 165, 112574.
- Alelign, T., & Petros, B. (2018). Kidney stone disease: an update on current concepts. *Advances in urology*, 1(1): 1-12 .
- Algandaby, M. M. (2018). Antifibrotic effects of crocin on thioacetamide-induced liver fibrosis in mice. *Saudi journal of biological sciences*, 25(4), 747-754.
- Al-Hashem, F. (2023). Metformin Inhibits ROS/TNF- α Axis-Mediated Chronic Kidney Disease Induced by TAA Independent of Leukocyte Infiltration in Association with the Inhibition of Kidney Injury Biomarkers. *International Journal of Morphology*, 41(4).
- Allani. (1974). Measurement of cholesterol. *Clin. Chem.* ,20:470-475.
- AL-Mashhadani, Z. I., Mukhlis, A. J. A., & AL-Faraji, A. A. R. (2017). Estimation of ALP, GPT and GOT Activities in Iraqi Patients Female With Breast Cancer. *Ibn AL-Haitham Journal For Pure and Applied Science*, 25(1).
- Almeida, J. I., Tenreiro, M. F., Martinez-Santamaria, L., Guerrero-Aspizua, S., Gisbert, J. P., Alves, P. M., & Baptista, P. M. (2022). Hallmarks of the human intestinal microbiome on liver maturation and function. *Journal of Hepatology*, 76(3), 694-725.
- Al-Noshokaty, T. M., Mesbah, N. M., Abo-Elmatty, D. M., Abulsoud, A. I., & Abdel-Hamed, A. R. (2022). Selenium nanoparticles overcomes sorafenib resistance in thioacetamide induced hepatocellular carcinoma in rats by modulation of mTOR, NF- κ B pathways and LncRNA-AF085935/GPC3 axis. *Life Sciences*, 303, 120675.
- Alomar, M. Y. (2020). Physiological and histopathological study on the influence of *Ocimum basilicum* leaves extract on thioacetamide-induced nephrotoxicity in male rats. *Saudi journal of biological sciences*, 27(7), 1843-1849.

References.....

- Al-Zamely, O. Y., Al-Nimer, M. S., & Al-Muslih, R. K. (2001). Detection the level of peroxynitrite and related antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction. *Nation. J. Chem*, 4(1), 625-637.
- Amalia, R., Paramita, V., Kusumayanti, H., Sembiring, M., & Rani, D. E. (2019). Formulation of Natural Dye Stock Solution Extracted from Rambutan's Peel (*Nephelium lappaceum* L) and Evaluation of its Colour Fastness Properties on Cotton Fabric. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1295, No. 1, p. 012024). IOP Publishing.
- Aoyama, K. 2021 Glutathione in the Brain. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 5010.
- Armeni, T., & Principato, G. (2020). Glutathione, an over one billion years ancient molecule, is still actively involved in cell regulatory pathways. *The First Outstanding 50 Years of "Università Politecnica delle Marche" Research Achievements in Life Sciences*, 417-429.
- Asni, E., Harahap, I. P., Prijanti, A. R., Wanandi, S. I., Jusman, S. W. A., & Sadikin, M. (2009). Pengaruh hipoksia berkelanjutan terhadap kadar malondialdehid, glutation tereduksi dan aktivitas katalase ginjal tikus. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 59(12), 595-600.
- Aulbach, A. D., & Amuzie, C. J. (2017). Biomarkers in nonclinical drug development. In *A Comprehensive guide to toxicology in nonclinical drug development* (pp. 447-471). Academic Press.
- Babaenezhad, E., Nouryazdan, N., Nasri, M., Ahmadvand, H., & Sarabi, M. M. (2021). Cinnamic acid ameliorate gentamicin-induced liver dysfunctions and nephrotoxicity in rats through induction of antioxidant activities. *Heliyon*, 7(7).
- Babu, P. J., Tirkey, A., Rao, T. J. M., Chanu, N. B., Lalchhandama, K., & Singh, Y. D. (2022). Conventional and nanotechnology based sensors for creatinine (A kidney biomarker) detection: A consolidated review. *Analytical Biochemistry*, 645, 114622.
- Babuta, M., & Szabo, G. (2022). Extracellular vesicles in inflammation: focus on the microRNA cargo of EVs in modulation of liver diseases. *Journal of leukocyte biology*, 111(1), 75-92.
- Bagalagel, A., Diri, R., Noor, A., Almasri, D., Bakhsh, H., Kutbi, H. I., & Kutbi, H. (2022). Evaluating the anticancer activity of blocking TNF type 1 receptors in thioacetamide-induced hepatocellular carcinoma in a rat model. *Cureus*, 14(12).
- Bai, J., Zhang, Y., Tang, C., Hou, Y., Ai, X., Chen, X., & Meng, X. (2021). Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133, 110985.

References.....

- Balbaied, T., & Moore, E. (2019). Overview of optical and electrochemical alkaline phosphatase (ALP) biosensors: Recent approaches in cells culture techniques. *Biosensors*, 9(3), 102.
- Balzer, M. S., Rohacs, T., & Susztak, K. (2022). How many cell types are in the kidney and what do they do?. *Annual review of physiology*, 84, 507-531.
- Bancroft, J. D., and Stevens, A. (2010). Theory and practice of histological techniques 2nded. churchill livingstone. XiV+ 647. Am .Fam. Physician 54(3), 986–992.
- Battle, E., & Massagué, J. (2019). Transforming growth factor- β signaling in immunity and cancer. *Immunity*, 50(4), 924-940.
- Bazira, P. J. (2022). Anatomy of the kidney and ureter. *Surgery (Oxford)*, 40(8), 481-488.
- Begum, Q., Noori, S., & Mahboob, T. (2011). Antioxidant effect of sodium selenite on thioacetamide-induced renal toxicity. *Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 44(1), 21-26.
- Bell, J. G., Mousavi, M. P., Abd El-Rahman, M. K., Tan, E. K., Homer-Vanniasinkam, S., & Whitesides, G. M. (2019). based potentiometric sensing of free bilirubin in blood serum. *Biosensors and Bioelectronics*, 126, 115-121.
- Ben-Moshe, S., & Itzkovitz, S. (2019). Spatial heterogeneity in the mammalian liver. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 16(7), 395-410.
- Bhat, R. (2020). Bioactive compounds of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). *Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts*, 145-156.
- 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.
- Burstein, M. S. H. R., Scholnick, H. R., & Morfin, R. (1970). Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Journal of lipid research*, 11(6), 583-595.
- Burtis, C. A., & Ashwood, E. R. (1994). Tietz Textbook of Clinical Chemistry, ed, W. B. Saunders Com, Philadelphia, 735-888.
- Cadiz-Gurrea de la Luz, M., del Carmen Villegas-Aguilar, M., Leyva-Jiménez, F. J., Pimentel-Moral, S., Fernandez-Ochoa, A., Alañón, M. E., & Segura-Carretero, A. (2020). Revalorization of bioactive compounds from tropical fruit by-products and industrial applications by means of sustainable approaches. *Food research international*, 138, 109786.

References.....

- 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 .
- Cannalire, G., Pilloni, S., Esposito, S., Biasucci, G., Di Franco, A., & Street, M. E. (2023). Alkaline phosphatase in clinical practice in childhood: Focus on rickets. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1111445.
- Cappellini, M. D., Lo, S. F., & Swinkels, D. W. (2017). 38–Hemoglobin, iron, bilirubin. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*.
- Cebinelli, G. C. M., Trugilo, K. P., Garcia, S. B., & de Oliveira, K. B. (2016). TGF- β 1 functional polymorphisms: a review. *European cytokine network*, 27, 81-89.
- Cermak, R. (2008). Effect of dietary flavonoids on pathways involved in drug metabolism. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 4(1), 17-35.
- Chai KF, Adzahan NM, Karim R, Rukayadi Y, Ghazali HM (2018a) Selected physicochemical properties of registered clones and wild types rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) fruits and their potentials in food products. *Sains Malays* 47:1483–1489
- Chai KF, Adzahan NM, Karim R, Rukayadi Y, Ghazali HM (2018b) Characteristics of fat, and saponin and tannin contents of 11 varieties of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) seed. *Int J Food Prop* 21(1):1091–1106
- Chai, Y. C., & Mieyal, J. J. (2023). Glutathione and Glutaredoxin—Key Players in Cellular Redox Homeostasis and Signaling. *Antioxidants*, 12(8), 1553.
- Chandrakar, V., Dubey, A., & 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.
- Chandrashekar, D. V., DuBois, B. N., Rashid, M., & Mehvar, R. (2023). Effects of chronic cirrhosis induced by intraperitoneal thioacetamide injection on the protein content and Michaelis–Menten kinetics of cytochrome P450 enzymes in the rat liver microsomes. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 132(2), 197-210.
- Chang, C. M., Lam, H. Y. P., Hsu, H. J., & Jiang, S. J. (2021). Interleukin-10: A double-edged sword in breast cancer. *Tzu-Chi Medical Journal*, 33(3), 203.
- Cheng, H. S., Goh, B. H., Phang, S. C. W., Amanullah, M. M., Ton, S. H., Palanisamy, U. D., & Tan, J. B. L. (2020). Pleiotropic ameliorative effects of ellagitannin

References.....

- geraniin against metabolic syndrome induced by high-fat diet in rats. *Nutrition*, 79, 110973.
- Cho, K. H., Kim, H. J., Rodriguez-Iturbe, B., & Vaziri, N. D. (2009). Niacin ameliorates oxidative stress, inflammation, proteinuria, and hypertension in rats with chronic renal failure. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 297(1), F106-F113.
- Chohan, M., Naughton, D. P., Jones, L., & Opara, E. I. (2012). An investigation of the relationship between the anti-inflammatory activity, polyphenolic content, and antioxidant activities of cooked and in vitro digested culinary herbs. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012.
- Choubey, S., Goyal, S., Varughese, L.R., Kumar, V., Sharma, A.K., Beniwal, V. (2018). Probing gallic acid for its broad spectrum applications. *Mini Rev. Med. Chem*18, 1283–1293.
- Czechowska, G., Celinski, K., Korolczuk, A., Wojcicka, G., Dudka, J., Bojarska, A., & Reiter, R. J. (2015). Protective effects of melatonin against thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *J Physiol Pharmacol*, 66(4), 567-579.
- de Santana Santos, A., de Souza Oliveira, A. K., Pereira, R. O., Junior, E. V. B., de Lima Sayão, A., & de Oliveira e Silva, A. M. (2021). Composition and Biological Properties of Rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Phytopharmaceuticals: Potential Therapeutic Applications*, 403-436.
- Dewi, F. K. (2017). Effects of rambutan peel extract to the number of erythrocytes and haemoglobin in rats exposed to cigarette smoke. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 824, No. 1, p. 012060). IOP Publishing.
- Dwivedi, D. K., Jena, G., & Kumar, V. (2020). Dimethyl fumarate protects thioacetamide-induced liver damage in rats: Studies on Nrf2, NLRP3, and NF- κ B. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 34(6), e22476.
- Ebaid, H., Bashandy, S. A., Morsy, F. A., Al-Tamimi, J., Hassan, I., & Alhazza, I. M. (2023). Protective effect of gallic acid against thioacetamide-induced metabolic dysfunction of lipids in hepatic and renal toxicity. *Journal of King Saud University-Science*, 35(3), 102531.
- ElBaset, M. A., Salem, R. S., Ayman, F., Ayman, N., Shaban, N., Afifi, S. M., & Elalfy, Z. S. (2022). Effect of empagliflozin on thioacetamide-induced liver injury in rats: role of AMPK/SIRT-1/HIF-1 α pathway in halting liver fibrosis. *Antioxidants*, 11(11), 2152.

References.....

- El-Baz, F. K., Salama, A., & Salama, R. A. (2019). Therapeutic effect of *Dunaliella salina* microalgae on thioacetamide-(TAA-) induced hepatic liver fibrosis in rats: role of TGF- β and MMP9. *BioMed research international*, 2019, 1-9.
- Elfaki, I., Mir, R., Almutairi, F. M., & Duhier, F. M. A. (2018). Cytochrome P450: polymorphisms and roles in cancer, diabetes and atherosclerosis. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 19(8), 2057.
- El-Hameed, S. A., Ibrahim, I., & Awadin, W. (2023). Thioacetamide: Definition, Exposure, Hepatic and Renal Toxicity. *Mansoura Veterinary Medical Journal*, 24(4), 3.
- Elnfarawy, A. A., Nashy, A. E., Abozaid, A. M., Komber, I. F., Elweshahy, R. H., & Abdelrahman, R. S. (2021). Vinpocetine attenuates thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Human & experimental toxicology*, 40(2), 355-368.
- Elshahawy, Z. R., Saad, E. A., & El-Sadda, R. R. (2023). Synergistic impacts of rifampicin and doxorubicin against thioacetamide-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Liver Research*, 7(4), 352-360.
- El-Zaatari, Z. M., Arora, K., Divatia, M. K., & Ro, J. Y. (2020). Normal Anatomy and Histology of the Kidney: Importance for Kidney Tumors. *Kidney Cancer: Recent Advances in Surgical and Molecular Pathology*, 33-45.
- Engvall, E., & Perlmann, P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8(9), 871-874.
- Esteves, F., Rueff, J., & Kranendonk, M. (2021). The central role of cytochrome P450 in xenobiotic metabolism—a brief review on a fascinating enzyme family. *Journal of xenobiotics*, 11(3), 94-114.
- Estrada-Gil, L., Contreras-Esquivel, J. C., Flores-Gallegos, C., Zugasti-Cruz, A., Govea-Salas, M., Mata-Gómez, M. A., & Ascacio-Valdés, J. A. (2022). Recovery of bioactive ellagitannins by ultrasound/microwave-assisted extraction from mexican rambutan peel (*Nephelium lappaceum* L.). *Molecules*, 27(5), 1592.
- Ezhilarasan, D. (2023). Molecular mechanisms in thioacetamide-induced acute and chronic liver injury models. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 104093.
- Fantuzzi, L., Tagliamonte, M., Gauzzi, M. C., & Lopalco, L. (2019). Dual CCR5/CCR2 targeting: opportunities for the cure of complex disorders. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76(24)

References.....

- Feng, L., Ning, J., Tian, X., Wang, C., Yu, Z., Huo, X., & Ma, X. (2021). Fluorescent probes for the detection and imaging of Cytochrome P450. *Coordination Chemistry Reviews*, 437, 213740.
- Fila, W. O., Johnson, J. T., Edem, P. N., Odey, M. O., Ekam, V. S., Ujong, U. P., & Eteng, O. E. (2012). Comparative anti-nutrients assessment of pulp, seed and rind of rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Annals of Biological Research*, 3(11), 5151-5156.
- 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.
- Fitzhugh, O. G., & Nelson, A. A. (1948). Liver tumors in rats fed thiourea or thioacetamide. *Science*, 108(2814), 626-628.
- Force, M., Park, G., Chalikonda, D., Roth, C., Cohen, M., Halegoua-DeMarzio, D., & Hann, H. W. (2022). Alpha-fetoprotein (AFP) and AFP-L3 is most useful in detection of recurrence of hepatocellular carcinoma in patients after tumor ablation and with low AFP level. *Viruses*, 14(4), 775.
- Gallardo, P. A., & Vio, C. P. (2022). General Kidney Functions. In *Renal Physiology and Hydrosaline Metabolism* (pp. 1-5). Cham: Springer International Publishing.
- Gapsari, F., Darmadi, D. B., Setyarini, P. H., Izzuddin, H., Madurani, K. A., Tanji, A., & Hermawan, H. (2021). *Nephelium lappaceum* extract as an organic inhibitor to control the corrosion of carbon steel weldment in the acidic environment. *Sustainability*, 13(21), 12135.
- Gęgotek, A., & Skrzydlewska, E. (2022). Antioxidative and anti-inflammatory activity of ascorbic acid. *Antioxidants*, 11(10), 1993.
- Gichkun, O. E., Shevchenko, O. P., Kurabekova, R. M., Mozheiko, N. P., & Shevchenko, A. O. (2021). The rs1800470 polymorphism of the TGFB1 gene is associated with myocardial fibrosis in heart transplant recipients. *Acta Naturae*, 13(4), 42.
- Głowska-Ciemny, J., Szymański, M., Kuszarska, A., Malewski, Z., von Kaisenberg, C., & Kocyłowski, R. (2023). The role of alpha-fetoprotein (AFP) in contemporary oncology: The path from a diagnostic biomarker to an anticancer drug. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2539.
- Góbi, S., Nunes, C. M., Reva, I., Tarczay, G., & Fausto, R. (2019). S–H rotamerization via tunneling in a thiol form of thioacetamide. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 21(31), 17063-17071.

References.....

- Gracia-Sancho, J., Marrone, G., & Fernández-Iglesias, A. (2019). Hepatic microcirculation and mechanisms of portal hypertension. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 16(4), 221-234.
- Grant, S.; McMillin, M.; Frampton, G.; Petrescu, A.D.; Williams, E.; Jaeger, V.; Kain, J.; DeMorrow, S. (2018). Direct comparison of the thioacetamide and azoxymethane models of type A hepatic encephalopathy in mice *Gene Expr.*, 18, 171–185
- Gronda, E., Palazzuoli, A., Iacoviello, M., Benevenuto, M., Gabrielli, D., & Arduini, A. (2023). Renal Oxygen Demand and Nephron Function: Is Glucose a Friend or Foe?. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 9957.
- Guéraud, F., Atalay, M., Bresgen, N., Cipak, A., Eckl, P. M., Huc, L., & Uchida, K. (2010). Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free radical research*, 44(10), 1098-1124.
- Hadeer, A. A., & AL-Kaisie, B. I. (2018). Pathological and biochemical study on liver of male mice intoxicated with thioacetamide. *J Entomol Zool Stud*, 6, 1436-1441.
- Hallbach ,J. , Hoffman,G.E.,and Guder,W.G.(1991) .Over estimation of albumin heparinized plasma.*Clin.Chem.*22(5):616-622.
- Hammam, O., Hussein, S. A. A., & Magdi, W. (2021). Thioacetamide-induced acute liver failure and prospect of nano antioxidant based therapy [herbal approach]. *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(11), 6835-6856.
- Handayani, D. S., Ulfa, M., Wikanendra, G. B., & Arozal, W. (2018). Effect of mangiferin on mRNA expression of transforming growth factor beta in rats with liver fibrosis induced by thioacetamide. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1073, p. 032076). IOP Publishing.
- Hanif, H., Ali, M. J., Susheela, A. T., Khan, I. W., Luna-Cuadros, M. A., Khan, M. M., & Lau, D. T. Y. (2022). Update on the applications and limitations of alpha-fetoprotein for hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 28(2), 216.
- Hao, Q., Vadgama, J. V., & Wang, P. (2020). CCL2/CCR2 signaling in cancer pathogenesis. *Cell Communication and Signaling*, 18, 1-13.
- Hernández, C., Ascacio-Valdés, J., De la Garza, H., Wong-Paz, J., Aguilar, C. N., Martínez-Ávila, G. C., & Aguilera-Carbó, A. (2017). Polyphenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of extract from *Nephelium lappaceum* L.(Mexican rambutan) husk. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 10(12), 1201-1205.

References.....

- Hernandez-Blazquez, F., Dagli, M., Cogliati, B., Silva, A Portela, T., Silva, T., Silva, E., Rui, L. (2018). Cirrhosis in rats does not resolve in the long-term after induction by thioacetamide model. *J. Morphol. Sci.* 31(01): 033-041.
- Hernández-Hernández, C., Aguilar, C. N., Rodríguez-Herrera, R., Flores-Gallegos, A. C., Morlett-Chávez, J., Govea-Salas, M., & Ascacio- Valdés, J. A. (2019). Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.): Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 85, 2 01– 210
- Hinds Jr, T. D., & Stec, D. E. (2018). Bilirubin, a cardiometabolic signaling molecule. *Hypertension*, 72(4), 788-795.
- Huppert, S. S., & Iwafuchi-Doi, M. (2019). Molecular regulation of mammalian hepatic architecture. *Current topics in developmental biology*, 132, 91-136.
- Hussein, R. H., & Khalifa, F. K. (2014). The protective role of ellagitannins flavonoids pretreatment against N-nitrosodiethylamine induced-hepatocellular carcinoma. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(6), 589-596.
- Ibrahim, M. Y., Alamri, Z. Z., Juma, A. S., Hamood, S. A., Shareef, S. H., Abdulla, M. A., & Jayash, S. N. (2023). Hepatoprotective Effects of Biochanin A on Thioacetamide-Induced Liver Cirrhosis in Experimental Rats. *Molecules*, 28(22), 7608.
- İskender, H., Yenice, G., Dokumacioglu, E., Kaynar, O., Hayirli, A., & Kaya, A. (2016). The effects of dietary flavonoid supplementation on the antioxidant status of laying hens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 18, 663-668.
- Iskusnykh, I. Y., Zakharova, A. A., & Pathak, D. (2022). Glutathione in brain disorders and aging. *Molecules*, 27(1), 324.
- Jabbar, A. A., Alamri, Z. Z., Abdulla, M. A., AlRashdi, A. S., Najmaldin, S. K., & Zainel, M. A. (2023). Sinapic Acid Attenuate Liver Injury by Modulating Antioxidant Activity and Inflammatory Cytokines in Thioacetamide-Induced Liver Cirrhosis in Rats. *Biomedicines*, 11(5), 1447.
- Jahurul, M. H. A., Azzatul, F. S., Sharifudin, M. S., Norliza, M. J., Hasmadi, M., Lee, J. S., Patricia, M., Jinap, S., George, M. R., Khan, M. F., & Zaidul, I. S. M. (2020). Functional and nutritional properties of ram-butan (*Nephelium lappaceum* L.) seed and its industrial application: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 367– 374.
- 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- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics. *International journal of molecular sciences*, 22(5), 2719.

References.....

- 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), 22-28.
- Jideani, A. I., Silungwe, H., Takalani, T., Omolola, A. O., Udeh, H. O., & Anyasi, T. A. (2021). Antioxidant-rich natural fruit and vegetable products and human health. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 41-67.
- Johnson, J. T., Abam, K. I., Ujong, U. P., Odey, M. O., Inekwe, V. U., Dasofunjo, K., & Inah, G. M. (2013). Vitamins composition of pulp, seed and rind of fresh and dry Rambutan *Nephelium lappaceum* and squash *Cucurbita pepo* L. *International Journal of Science and Technology*, 2(1), 71-76.
- Jorgačević, B., Stanković, S., Filipović, J., Samardžić, J., Vučević, D., & Radosavljević, T. (2022). Betaine modulating MIF-mediated oxidative stress, inflammation and fibrogenesis in thioacetamide-induced nephrotoxicity. *Current Medicinal Chemistry*, 29(31), 5254-5267.
- K. Rakariyatham, D. Zhou, N. Rakariyatham F. Shahidi (2020). Sapindaceae (*Dimocarpus longan* and *Nephelium lappaceum*) seed and peel by-products: potential sources for phenolic compounds and use as functional ingredients in food and health applications *J. Funct. Foods*, 67, 103846
- Kaur, G., Chaudhary, M. N., & Zorempuii. (2022). A review paper on rambutan. *The Pharma Innovation Journal*.; 11(1S): 1052-1060.
- Kaur, S., Sharma, D., Singh, A. P., & Kaur, S. (2019). Amelioration of hepatic function, oxidative stress, and histopathologic damages by *Cassia fistula* L. fraction in thioacetamide-induced liver toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 29930-29945.
- Keshk, W. A., & Zahran, S. M. (2019). Mechanistic role of cAMP and hepatocyte growth factor signaling in thioacetamide-induced nephrotoxicity: Unraveling the role of platelet rich plasma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1078-1084.
- Khaizil Emylia, Z., Aina, S. N., & Dasuki, S. M. (2013). Preliminary study on anti-proliferative activity of methanolic extract of *Nephelium lappaceum* peels towards breast (MDA-MB-231), cervical (HeLa) and osteosarcoma (MG-63) cancer cell lines. *Health*, 4(2), 66-79.
- Khawar, M. B., Abbasi, M. H., Fatima, S., Mujeeb, K. A., & Sheikh, N. (2016). Alteration in proteins and transaminases activity induced by thioacetamide in albino rats. *Punjab Univ J Zool*, 31, 269-276.

References.....

- Kim, J. V., & Wu, G. Y. (2020). Body building and aminotransferase elevations: a review. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 8(2), 161.
- Korkmaz, A., & Kolankaya, D. (2009). The protective effects of ascorbic acid against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. *Renal failure*, 31(1), 36-43.
- Korobkova, E. A. (2015). Effect of natural polyphenols on CYP metabolism: implications for diseases. *Chemical research in toxicology*, 28(7), 1359-1390.
- Kramer, H. (2019). Diet and chronic kidney disease. *Advances in Nutrition*, 10(Supplement_4), S367-S379.
- Kumar, A. Significance of hepatic enzymes: A review. (2023). *International Journal of Advanced Biochemistry Research*; 7(1): 95-100
- Kumar, B.; Smita, K.; Cumbal, L.; Angulo, Y. (2015). Fabrication of silver nanoplates using *Nephelium lappaceum* (Rambutan) peel: A sustainable approach. *J. Mol. Liq.* 211, 476–480.
- Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology reports*, 24, e00370.
- Kunutsor, S. K., Frysz, M., Verweij, N., Kieneker, L. M., Bakker, S. J., & Dullaart, R. P. (2020). Circulating total bilirubin and risk of non-alcoholic fatty liver disease in the PREVEND study: observational findings and a Mendelian randomization study. *European Journal of Epidemiology*, 35, 123-137.
- Kuten Pella, O., Hornyák, I., Horváthy, D., Fodor, E., Nehrer, S., & Lacza, Z. (2022). Albumin as a Biomaterial and Therapeutic Agent in Regenerative Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10557.
- Li, J. D., & Yin, J. (2023). Interleukin-10-alveolar macrophage cell membrane-coated nanoparticles alleviate airway inflammation and regulate Th17/regulatory T cell balance in a mouse model. *Frontiers in Immunology*, 14, 1186393.
- 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, N., Li, B., Zhang, J., Liu, X., Liu, J., Li, K., & Diao, Y. (2020). Protective effect of phenolic acids from *Chebulae Fructus immaturus* on carbon tetrachloride induced acute liver injury via suppressing oxidative stress, inflammation and apoptosis in mouse. *Natural product research*, 34(22), 3249-3252.
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Cheung, F., Hong, M., & Feng, Y. (2018). The potential and action mechanism of polyphenols in the treatment of liver diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.

References.....

- Li, Y., Li, Z., Hou, H., Zhuang, Y., & Sun, L. (2018). Metal chelating, inhibitory DNA damage, and anti-inflammatory activities of phenolics from rambutan (*Nephelium lappaceum*) peel and the quantifications of geraniin and corilagin. *Molecules*, 23(9), 2263.
- Lin, T. R., Floros, J., & Lin, Z. (2018). Pediatric Inflammatory Bowel Disease-A Review of Immune Homeostasis and Genetics with an Emphasis on the IL-10 Pathway. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 2(1), 2442-2450.
- Ling, H., Roux, E., Hempel, D., Tao, J., Smith, M., Lonning, S., & Ledbetter, S. (2013). Transforming growth factor β neutralization ameliorates pre-existing hepatic fibrosis and reduces cholangiocarcinoma in thioacetamide-treated rats. *PLoS one*, 8(1), e54499.
- Lodyga, M., & Hinz, B. (2020, May). TGF- β 1—a truly transforming growth factor in fibrosis and immunity. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 101, pp. 123-139). Academic Press.
- 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.
- Low, T. Y., Leow, C. K., Salto-Tellez, M., & Chung, M. C. (2004). A proteomic analysis of thioacetamide-induced hepatotoxicity and cirrhosis in rat livers. *Proteomics*, 4(12), 3960-3974.
- Lu, S. C. (2020). Dysregulation of glutathione synthesis in liver disease. *Liver Research*, 4(2), 64-73.
- Luthfiya, I., Puspita, O. S., Nugraha, Y., & Fahrudin, F. (2023). Rambutan Fruit Peel Extract Reduces Abnormal Sperm Morphology in Male Wistar Rats with Obesity. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 16(2), 347-355.
- Lynch, T., & Price, A. M. Y. (2007). The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *American family physician*, 76(3), 391-396.
- Ma, Q., Guo, Y., Sun, L., & Zhuang, Y. (2017). Anti-diabetic effects of phenolic extract from rambutan peels (*Nephelium lappaceum*) in high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice. *Nutrients*, 9(8), 801.
- Machalz, D., Pach, S., Bermudez, M., Bureik, M., & Wolber, G. (2021). Structural insights into understudied human cytochrome P450 enzymes. *Drug Discovery Today*, 26(10), 2456-2464.

References.....

- Magdy, M., Omar, H. E. D. M., Abdel-Ghaffar, S. K., & Ibrahim, A. T. (2021). The protective effects of adenosine deaminase inhibitor and ouercetin against hepatocellular carcinoma induced by thioacetamide in male rats via downregulation of iNOS, Ki67 and Pan-CK. *Open Science Journal*, 6(4).
- Mahadevan, V. (2019). Anatomy of the kidney and ureter. *Surgery (Oxford)*, 37(7), 359-364.
- Mahmood, K., Kamilah, H., Alias, A. K., & Ariffin, F. (2018). Nutritional and therapeutic potentials of rambutan fruit (*Nephelium lappaceum* L.) and the by-products: a review. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 1556-1571.
- Makki, H. M. M., Adam, G. O., Yang, D. K., Tungalag, T., Lee, S. J., Kim, J. S., & Kang, H. S. (2022). Effects of Gibberellic Acid on Thioacetamide-Induced Acute Liver Toxicity in Sprague-Dawley Rats. *Pakistan Veterinary Journal*, 42(4), 481-486.
- Manikandan, P., & Nagini, S. (2018). Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: a review. *Current drug targets*, 19(1), 38-54.
- Mansour, H. M., Salama, A. A., Abdel-Salam, R. M., Ahmed, N. A., Yassen, N. N., & Zaki, H. F. (2018). The anti-inflammatory and anti-fibrotic effects of tadalafil in thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 96(12), 1308-1317.
- Mansour, S.Z., El-Marakby, S.M., Moawed, F.S.M. (2017). Ameliorative effects of rutin on hepatic encephalopathy induced by thioacetamide or gamma irradiation. *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.* 172: 20-27
- Marlow, G. J., van Gent, D., & Ferguson, L. R. (2013). Why interleukin-10 supplementation does not work in Crohn's disease patients. *World journal of gastroenterology: WJG*, 19(25), 3931.
- Matsumoto, S., Häberle, J., Kido, J., Mitsubuchi, H., Endo, F., & Nakamura, K. (2019). Urea cycle disorders—update. *Journal of human genetics*, 64(9), 833-847.
- Michalopoulos, G. K., & Bhushan, B. (2021). Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 18(1), 40-55.
- Minshawi, F., Lanvermann, S., McKenzie, E., Jeffery, R., Couper, K., Papoutsopoulou, S., & Muller, W. (2020). The generation of an engineered interleukin-10 protein with improved stability and biological function. *Frontiers in Immunology*, 11, 1794.

References.....

- Mirlekar, B. (2022). Tumor promoting roles of IL-10, TGF- β , IL-4, and IL-35: Its implications in cancer immunotherapy. *SAGE open medicine*, 10, 20503121211069012.
- Mishra, V., & Heath, R. J. (2021). Structural and biochemical features of human serum albumin essential for eukaryotic cell culture. *International journal of molecular sciences*, 22(16), 8411.
- Mori, Y., Izawa, T., Takenaka, S., Kuwamura, M., & Yamate, J. (2009). Participation of functionally different macrophage populations and monocyte chemoattractant protein-1 in early stages of thioacetamide-induced rat hepatic injury. *Toxicologic pathology*, 37(4), 463-473.
- Morris, R. M., Mortimer, T. O., & O'Neill, K. L. (2022). Cytokines: Can Cancer Get the Message?. *Cancers*, 14(9), 2178.
- 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 β 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- α receptor is associated with ICU mortality in COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*, 12:1-8 .
- Mousa, A. A., El-Gansh, H. A. I., Eldaim, M. A. A., Mohamed, M. A. E. G., Morsi, A. H., & El Sabagh, H. S. (2019). Protective effect of Moringa oleifera leaves ethanolic extract against thioacetamide-induced hepatotoxicity in rats via modulation of cellular antioxidant, apoptotic and inflammatory markers. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 32488-32504.
- Moustafa, A. H. A., Ali, E. M. M., Moselhey, S. S., Tousson, E., & El-Said, K. S. (2014). Effect of coriander on thioacetamide-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicology and industrial health*, 30(7), 621-629.
- Mouti, M. A., & Pauklin, S. (2021). TGFB1/INHBA homodimer/nodal-SMAD2/3 signaling network: a pivotal molecular target in PDAC treatment. *Molecular Therapy*, 29(3), 920-936.
- Muhamed, S. S. Kurien, K.S. Iyer, A. Remzeena, S. Thomas. (2019). Natural diversity of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) in Kerala, India Genet. Resour. Crop Evol., 66 (5), pp. 1073-1090

References.....

- Murthy, H. N., & Bapat, V. A. (2020). *Bioactive compounds in underutilized fruits and nuts* (pp. 3-19). Murthy HN, Bapat AV, editors. Cham: Springer International Publishing.
- Ndrepepa, G. (2021). Aspartate aminotransferase and cardiovascular disease—a narrative review. *J. Lab. Precis. Med*, 6(6).
- Neumann, C., Scheffold, A., & Rutz, S. (2019). Functions and regulation of T cell-derived interleukin-10. In *Seminars in immunology* (Vol. 44, p. 101344). Academic Press.
- Nguyen, L., & Zhang, L. (2020). Anatomy and Histology of Normal Liver and Spleen. *Diagnostic Pathology of Hematopoietic Disorders of Spleen and Liver*, 1-9.
- Ni, G., Zhang, L., Yang, X., Li, H., Ma, B., Walton, S., & Liu, X. (2020). Targeting interleukin-10 signalling for cancer immunotherapy, a promising and complicated task. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 16(10), 2328-2332.
- Nik, A. B., Vazifedoost, M., Didar, Z., & Hajirostamloo, B. (2019). The antioxidant and physicochemical properties of microencapsulated bioactive compounds in *Securigera securidaca* (L.) seed extract by co-crystallization. *Food Quality and Safety*, 3(4), 243-250.
- Ojeaburu, S. I., & Oriakhi, K. (2021). Hepatoprotective, antioxidant and, anti-inflammatory potentials of gallic acid in carbon tetrachloride-induced hepatic damage in Wistar rats. *Toxicology reports*, 8, 177-185.
- Olfat, N., Ashoori, M., & Saedisomeolia, A. (2022). Riboflavin is an antioxidant: A review update. *British Journal of Nutrition*, 128(10), 1887-1895.
- Omar, A. M. S. (2018). The potential protective influence of flaxseed oil against renal toxicity induced by thioacetamide in rats. *Saudi journal of biological sciences*, 25(8), 1696-1702.
- Pammi, S. S., Suresh, B., & Giri, A. (2023). Antioxidant potential of medicinal plants. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 26(1), 13-26.
- Pan, Y., Chen, H., & Yu, J. (2020). Biomarkers in hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives. *Biomedicines*, 8(12), 576.
- Patsalos, O., Dalton, B., Leppanen, J., Ibrahim, M. A., & Himmerich, H. (2020). Impact of TNF- α inhibitors on body weight and BMI: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in pharmacology*, 11, 481.
- Perumal, A., AlSalhi, M. S., Kanakarajan, S., Devanesan, S., Selvaraj, R., & Tamizhazhagan, V. (2021). Phytochemical evaluation and anticancer activity of

References.....

- rambutan (*Nephelium lappaceum*) fruit endocarp extracts against human hepatocellular carcinoma (HepG-2) cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1816-1825.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30, 11-26.
- Phoung, N. N., Le, T. T., Camp, J. V., & Raes, K. (2020). Evaluation of antimicrobial activity of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract. *International Journal of Food Microbiology*, 1-9.
- Phuong, N. N. M., Le, T. T., Dang, M. Q., Van Camp, J., & Raes, K. (2020). Selection of extraction conditions of phenolic compounds from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel. *Food and Bioproducts Processing*, 122, 222-229.
- Popović-Djordjević, J., Quispe, C., Giordo, R., Kostić, A., Stanković, J. S. K., Fokou, & Calina, D. (2022). Natural products and synthetic analogues against HIV: A perspective to develop new potential anti-HIV drugs. *European journal of medicinal chemistry*, 233, 114217.
- Pundir, C. S., Kumar, P., & Jaiwal, R. (2019). Biosensing methods for determination of creatinine: A review. *Biosensors and bioelectronics*, 126, 707-724.
- Quadrini, L., Laschi, S., Ciccone, C., Catelani, F., & Palchetti, I. (2023). Electrochemical methods for the determination of urea: Current trends and future perspective. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 117345.
- Radwan, A. M., Karhib, M., Fatoh, S. A., Massoud, A., & Tousson, E. (2023). Curcumin alleviates thioacetamide-induced kidney toxicity in rats: enhancing antioxidant system, and attenuating oxidative stress, DNA damage, and inflammation. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 16(1), 441-450.
- Raghubar, A. M., Pham, D. T., Tan, X., Grice, L. F., Crawford, J., Lam, P. Y., & Mallett, A. J. (2022). Spatially resolved transcriptomes of mammalian kidneys illustrate the molecular complexity and interactions of functional nephron segments. *Frontiers in Medicine*, 9, 873923.
- Rai, T. P., Hegde, K., & Shabaraya, A. R. (2023). A brief review on Pharmacological potential of *Nephelium lappaceum* L. *Indian Journal of Pharmacy & Drug Studies*, 2(3), 90-94.
- Rajapaksha, I. (2022). Liver fibrosis, liver cancer, and advances in therapeutic approaches. *Livers*, 2(4), 372-386.

References.....

- Ramadan, A., Afifi, N., Yassin, N. Z., Abdel-Rahman, R. F., Abd El-Rahman, S. S., & Fayed, H. M. (2018). Mesalazine, an osteopontin inhibitor: The potential prophylactic and remedial roles in induced liver fibrosis in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 289, 109-118.
- Ramanathan, K., Shila, S., Kumaran, S., & Panneerselvam, C. (2003). Protective role of ascorbic acid and a-tocopherol on arsenic-induced microsomal dysfunctions. *Human & experimental toxicology*, 22(3), 129-136.
- Rasool, A., Bhat, K. M., Sheikh, A. A., Jan, A., & Hassan, S. (2020). Medicinal plants: Role, distribution and future. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(2), 2111-2114.
- Rolski, F., & Błyszczuk, P. (2020). Complexity of TNF- α signaling in heart disease. *Journal of clinical medicine*, 9(10), 3267.
- Rosa, A. C., Corsi, D., Cavi, N., Bruni, N., & Dosio, F. (2021). Superoxide dismutase administration: A review of proposed human uses. *Molecules*, 26(7), 1844.
- Saad, H. M., Oda, S. S., & Sedeek, E. K. (2020). Protective Effect of Lactéol® Forte Against Thioacetamide-Induced Hepatic Injury in Male Albino Rats. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, 67(1).
- Saleh, D. O., Mansour, D. F., & Fayez, A. M. (2021). Thioacetamide-induced acute hepatic encephalopathy: central vs peripheral effect of Allicin. *Metabolic Brain Disease*, 36, 1331-1340.
- Samar, F. E., RANIA, S. M., & Abou-Bakr, A. (2020). Ameliorative effect of propolis against thioacetamide induced hepatorenal injury in adult male rats. Kidney injury molecule-1 (KIM-1) a biomarker of renal injury. *The Medical Journal of Cairo University*, 88(March), 243-258.
- Samuagam, L., Sia, C. M., Akowuah, G. A., Okechukwu, P. N., & Yim, H. S. (2015). In vivo antioxidant potentials of rambutan, mangosteen, and langsat peel extracts and effects on liver enzymes in experimental rats. *Food Science and Biotechnology*, 24, 191-198.
- 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.
- Sanjabi, S., Oh, S. A., & Li, M. O. (2017). Regulation of the immune response by TGF- β : from conception to autoimmunity and infection. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 9(6), a022236.

References.....

- Saraiva, M., Vieira, P., and O'Garra, A. (2019). Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J. Exp. Med.* 217:e20190418. doi: 10.1084/jem.20190418
- Saxton, R. A., Tsutsumi, N., Su, L. L., Abhiraman, G. C., Mohan, K., Henneberg, L. T., & Garcia, K. C. (2021). Structure-based decoupling of the pro-and anti-inflammatory functions of interleukin-10. *Science*, 371(6535), eabc8433.
- Sayago-Ayerdi, S., García-Martínez, D. L., Ramírez-Castillo, A. C., Ramírez-Concepción, H. R., & Viuda-Martos, M. (2021). Tropical fruits and their co-products as bioactive compounds and their health effects: A review. *Foods*, 10(8), 1952.
- Sefi, M., Elwej, A., Chaâbane, M., Bejaoui, S., Marrekchi, R., Jamoussi, K., & Soudani, N. (2019). Beneficial role of vanillin, a polyphenolic flavoring agent, on maneb-induced oxidative stress, DNA damage, and liver histological changes in Swiss albino mice. *Human & experimental toxicology*, 38(6), 619-631.
- Sekar, M. (2020). Rambutan fruits extract in aging skin. In *Aging* (pp. 303-307). Academic Press.
- Sepehrinezhad, A., Shahbazi, A., Negah, S. S., Joghataei, M. T., & Larsen, F. S. (2021). Drug-induced-acute liver failure: A critical appraisal of the thioacetamide model for the study of hepatic encephalopathy. *Toxicology Reports*, 8, 962-970.
- 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.
- Setyawati, A., Dewi, A. K., Atho'illah, M. F., Lestari, U., & Lestari, S. R. (2015). The effect of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract on lipid peroxidation in liver of obese rats. *KnE Life Sciences*, 326-329.
- Shah, N., Kammermeier, J., Elawad, M., & Glocker, E. O. (2012). Interleukin-10 and interleukin-10–receptor defects in inflammatory bowel disease. *Current allergy and asthma reports*, 12, 373-379.
- Shahrajabian, M. H., Sun, W., Khoshkharam, M., & Cheng, Q. (2020). Rambutan, a tropical plant with ethno-pharmaceutical properties. *Agrociencia*, 54(1), 121-128.
- Shaker, M. E., Hazem, S. H., & Ashamallah, S. A. (2016). Inhibition of the JAK/STAT pathway by ruxolitinib ameliorates thioacetamide-induced hepatotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 96, 290-301.

References.....

- Shakiba, E., Ramezani, M., & Sadeghi, M. (2018). Evaluation of serum interleukin-10 levels in hepatocellular carcinoma patients: a systematic review and meta-analysis. *Clinical and experimental hepatology*, 4(1), 35-40.
- Shareef, S. H., Ibrahim, I. A. A., Alzahrani, A. R., Al-Medhtiy, M. H., & Abdulla, M. A. (2022). Hepatoprotective effects of methanolic extract of green tea against Thioacetamide-Induced liver injury in Sprague Dawley rats. *Saudi journal of biological sciences*, 29(1), 564-573.
- Sharifi-Rad, J., Dey, A., Koirala, N., Shaheen, S., El Omari, N., Salehi, & Caruntu, C. (2021). Cinnamomum species: bridging phytochemistry knowledge, pharmacological properties and toxicological safety for health benefits. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 600139.
- Shin, M. R., Lee, S. H., & Roh, S. S. (2022). The potential hepatoprotective effect of paeoniae radix alba in thioacetamide-induced acute liver injury in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022.
- Shiota, M., Fujimoto, N., Matsumoto, T., Tsukahara, S., Nagakawa, S., Ueda, S., & Eto, M. (2021). Differential impact of TGFB1 variation by metastatic status in androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *Frontiers in Oncology*, 11, 697955.
- Sholikhah, A. M. N. (2022). Study of Pharmacological Activities and Chemical Content of Rambutan (Nephelium Lappaceum L.) Fruit Peel Extract: A Systematic Review. In *4th International Conference Current Breakthrough in Pharmacy (ICB-Pharma 2022)* (pp. 251-260). Atlantis Press.
- Singh, N., NaveenKumar, S. K., Geethika, M., & Muges, G. (2021). A cerium vanadate nanozyme with specific superoxide dismutase activity regulates mitochondrial function and ATP synthesis in neuronal cells. *Angewandte Chemie International Edition*, 60(6), 3121-3130.
- Singh, S., Anshita, D., & Ravichandiran, V. (2021). MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *International immunopharmacology*, 101, 107598.
- Spss .(1999). Statistical packages social sciences , Verion 10 .USA.
- Stipp, M. C., & Acco, A. (2021). Involvement of cytochrome P450 enzymes in inflammation and cancer: a review. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 87(3), 295-309.
- Sukmandari, N. S., Dash, G. K., Jusof, W. H. W., & Hanafi, M. (2017). A Review on Nephelium lappaceum L. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(8), 2819-2822.

References.....

- Suwannasom, N., Kao, I., Pruß, A., Georgieva, R., & Bäumler, H. (2020). Riboflavin: the health benefits of a forgotten natural vitamin. *International journal of molecular sciences*, 21(3), 950.
- Taghavi, Y., Hassanshahi, G., Kounis, N. G., Koniari, I., & Khorramdelazad, H. (2019). Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) in diabetic retinopathy: latest evidence and clinical considerations. *Journal of cell communication and signaling*, 13, 451-462.
- Tan, W., Luo, X., Li, W., Zhong, J., Cao, J., Zhu, S., & Chen, Y. (2019). TNF- α is a potential therapeutic target to overcome sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma. *EBioMedicine*, 40, 446-456.
- Tang, Z., Chen, H., He, H., & Ma, C. (2019). Assays for alkaline phosphatase activity: Progress and prospects. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 113, 32-43.
- Tietz, N. W. (2006). *Clinical Guide to Laboratory Test*. 4th ed., Saunders. pp.86-71.
- Tingting, Z., Xiuli, Z., Kun, W., Liping, S., & Yongliang, Z. (2022). A review: extraction, phytochemicals, and biological activities of rambutan (*Nephelium lappaceum* L) peel extract. *Heliyon*, 8(11).
- Totan, B., Baygut, H., & Karadag, M. G. (2019). Vitamin C physiology: The known and the unknown in obesity. *Journal of Food and Nutrition Research*, 7(8), 613-618.
- 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.
- Trevisani, F., Garuti, F., & Neri, A. (2019). Alpha-fetoprotein for diagnosis, prognosis, and transplant selection. In *Seminars in Liver Disease* (Vol. 39, No. 02, pp. 163-177). Thieme Medical Publishers.
- Tripathi, P. C. (2021). Medicinal and therapeutic properties of minor fruits-a review.
- Tsikakos, D. (2023). GC-MS and GC-MS/MS measurement of malondialdehyde (MDA) in clinical studies: Pre-analytical and clinical considerations. *Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Lab* 30 : 10–24.
- Tsong, J. L., Goh, L. P. W., Gansau, J. A., and How, S. E. (2021). Review of *Nephelium lappaceum* and *Nephelium ramboutan-ake*: a high potential supplement. *Molecules*, 26(22), 7005.
- Uduwela, U. D. H. K., Deraniyagala, S. A., & Thiripuranathar, G. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory potential of the aqueous extract of the peel of a sri lankan

References.....

variety of *nephelium lappaceum* linn. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 8(2), 154-166.

Unnisa, A., Khan, S. L., Sheikh, F. A., Mahefooz, S., Kazi, A. A., Siddiqui, F. A., & Saboo, S. G. (2021). In-silico inhibitory potential of triphala constituents against cytochrome P450 2E1 for the prevention of thioacetamide-induced hepatotoxicity. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(43A), 367-375.

Ur Rehman, F., Kalsoom, M., Adnan, M., Fazeli-Nasab, B., Naz, N., Ilahi, H., & Toor, M. D. (2021). Importance of medicinal plants in human and plant pathology: A review. *Int. J. Pharm. Biomed. Res*, 8, 1-11.

Veerakumar, D., & Muthulingam, M. (2021). Hypolipidemic effect of *Asteracantha longifolia* L.(Nees.) in kidney on Thioacetamide induced Fatty liver in Rats. *Indian J. Applied & Pure Bio. Vol*, 36(2), 263-271.

Venkatapura Chandrashekar, D., DuBois, B. N., Rashid, M., & Mehvar, R. (2022). Effects of Chronic Cirrhosis Induced by Intraperitoneal Thioacetamide Injection on the Protein Content and Michaelis–Menten Kinetics of Cytochrome P450 Enzymes in the Rat Liver Microsomes.

Victoria, K., Fauziah, C., & Nugraha, Y. (2020). Effect of Rambutan Fruit Peel Extract on Total Sperm Counts of Wistar Rats Induced with High-Fat Feed. *Biota*, 13(1), 21-29.

Vogel, A., Ochsenreither, S., Zager, J. S., Wacker, F., & Saborowski, A. (2023). Chemosaturation for primary and secondary liver malignancies: A comprehensive update of current evidence. *Cancer Treatment Reviews*, 113, 102501.

Wall, MM (2006). Ascorbic acid and mineral composition of longan (*Dimocarpus longan*) (lychee (*Litchi chinensis*) and rambutan (*Nephelium lappaceum*) cultivars grown in Hawaii. *J Food Compos Anal* 19:655-663

Wang X, Wang Q. (2018). Alpha-Fetoprotein and Hepatocellular Carcinoma Immunity. *Can J Gastroenterol Hepatol*. Apr 1;2018:9049252. doi: 10.1155/2018/9049252. PMID: 29805966; PMCID: PMC5899840.

Wang, Y. et al. (2015). Plasma cholesteryl ester transfer protein is predominantly derived from Kupffer cells. *Hepatology* 62, 1710–1722.

Wattanapitayakul, S. K., Kunchana, K., Jarisarapurin, W., & Chularojmontri, L. (2021). Screening of potential tropical fruits in protecting endothelial dysfunction in vitro. *Food & Nutrition Research*, 65.

References.....

- Windarsih G, Muhammad Efendi. (2019). Morphological characteristics of flower and fruit in several rambutan (*Nephelium lappaceum*) cultivars in Serang City, Banten, Indonesia in *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*20(5):1442-1449.
- Wu, J., Guan, X., Dai, Z., He, R., Ding, X., Yang, L., & Ge, G. (2021). Molecular probes for human cytochrome P450 enzymes: Recent progress and future perspectives. *Coordination Chemistry Reviews*, 427, 213600.
- Xie, Y., Wang, G., Wang, H., Yao, X., Jiang, S., Kang, A., & Hao, H. (2012). Cytochrome P450 dysregulations in thioacetamide-induced liver cirrhosis in rats and the counteracting effects of hepatoprotective agents. *Drug Metabolism and Disposition*, 40(4), 796-802.
- Yan, P., Wu, Y., Dan, X., Wu, X., Tang, Q., Chen, X., & Wan, Q. (2023). Aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase ratio was associated with type 2 diabetic peripheral neuropathy in a Chinese population: A cross-sectional study. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1064125.
- Yang Yong, Y. Y., Zhang ZaiQi, Z. Z., Li ShuPing, L. S., Ye XiaoLi, Y. X., Li XueGang, L. X., & He Kai, H. K. (2014). Synergy effects of herb extracts: pharmacokinetics and pharmacodynamic basis.
- Yang, L. L. (2021). Anatomy and Physiology of the Liver. *Anesthesia for Hepatico-Pancreatic-Biliary Surgery and Transplantation*, 15-40.
- Yerizel, E., Astria, N., & Khambri, D. (2019). Role of malondialdehyde (MDA) in patients with breast cancer diseases. *Acta Biochimica Indonesiana*, 2(2), 68-74.
- Yunusa, A. K., Abdullahi, N., Rilwan, A., Abdulkadir, A. R., & Dandago, M. A. (2018). DPPH RADICAL SCAVENGING ACTIVITY AND TOTAL PHENOLIC CONTENT OF RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum*) PEEL AND SEED. *Annals: Food Science & Technology*, 19(4).
- Zhang, H., & Xu, J. (2024). Unveiling thioacetamide-induced toxicity: Multi-organ damage and omitted bone toxicity. *Human & Experimental Toxicology*, 43, 09603271241241807.
- Zhao, H., Zhang, R., Yan, X., & Fan, K. (2021). Superoxide dismutase nanozymes: an emerging star for anti-oxidation. *Journal of Materials Chemistry B*, 9(35), 6939-6957.
- Zhao, S., Jiang, J., Jing, Y., Liu, W., Yang, X., Hou, X., & Wei, L. (2020). The concentration of tumor necrosis factor- α determines its protective or damaging effect on liver injury by regulating Yap activity. *Cell death & disease*, 11(1), 70.

References.....

- Zhao, Y. C., Hu, T., Chen, Y., & Du, K. T. (2019). Elevated serum levels of monocyte chemotactic protein-1/chemokine CC motif ligand 2 are linked to disease severity in patients with fibromyalgia syndrome. *Balkan Medical Journal*, 36(6), 331.
- Zhao, Y., Liu, X., Ding, C., Gu, Y., & Liu, W. (2021). Dihydromyricetin reverses thioacetamide-induced liver fibrosis through inhibiting NF- κ B-mediated inflammation and TGF- β 1-regulated of PI3K/Akt signaling pathway. *Frontiers in pharmacology*, 12, 783886.
- Zheng, Y., Zhu, M., & Li, M. (2020). Effects of alpha-fetoprotein on the occurrence and progression of hepatocellular carcinoma. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 146(10), 2439-2446.
- Zhu, S., Liu, M., Bennett, S., Wang, Z., Pflieger, K. D., & Xu, J. (2021). The molecular structure and role of CCL2 (MCP-1) and C-C chemokine receptor CCR2 in skeletal biology and diseases. *Journal of cellular physiology*, 236(10), 7211-7222.
- Zhuang, Y., Ma, Q., Guo, Y., & Sun, L. (2017). Protective effects of rambutan (*Nephelium lappaceum*) peel phenolics on H₂O₂-induced oxidative damages in HepG2 cells and d-galactose-induced aging mice. *Food and Chemical Toxicology*, 108, 554-562.

Summary

The current study aimed to evaluate the effectiveness of the cold aqueous extract of the peels and pulp of *Nephelium lappaceum* (Nl) fruits, against physiological and histological changes in the liver and kidneys induced by thioacetamide (TAA) in male white rats (*Rattus norvegicus*). The study was conducted in the animal house of the College of Pharmacy/University of Kerbala and laboratories of college of Education for Pure Sciences / University of Karbala for the period extending from the beginning of October 2023 until February 2024. The study involved two major experiences and use of 180 male white rats. Physiological tests were also conducted at the National Center for Educational Laboratories in the Medical City in Baghdad Governorate.

The study included preparing the cold aqueous extract of the peels and pulp of the *Nephelium lappaceum* (Nl) fruits. After that, the first experiment was conducted, which included determining the half-effective dose (ED₅₀) for the peels and pulp of the *Nephelium lappaceum* (Nl) fruits . 120 white male rats were used (60 rats/each type of extract). The rats were divided into six equal groups (10 animals/group). As for the peel extract, they were dosed orally with ascending doses of the aqueous extract of *Nephelium lappaceum* (Nl) peel (10, 20, 30, 40, 50) mg/kg, in addition to the control group, which was dosed with distilled water. The remaining 60 rats were also divided into six equal groups (10 animals/group) for pulp extract, and were dosed orally with ascending doses of the aqueous extract of *Nephelium lappaceum* (Nl) pulp (10, 20, 30, 40, 50) mg/kg, in addition to the control group that was dosed with distilled water. The experiment lasted for 30 days. After the end of the experiment, blood samples were collected to measure the following parameters: the level of high-density lipoprotein (HDL), the level of total cholesterol (TC), the level of malondialdehyde (MDA), and the level of glutathione (GSH). The amount of effective dose (ED₅₀) for *Nephelium lappaceum* (Nl) peel aqueous extract was 25 mg/kg of body weight, while the half-effective dose (ED₅₀) for the *Nephelium lappaceum* (Nl) pulp extract was 27 mg/kg of body weight .

The second experiment aimed to evaluate the effectiveness of the aqueous extract of the peel and pulp of *Nephelium lappaceum* (Nl) fruits against TAA-induced hepatotoxicity and kidney toxicity. This experiment included the use of 60 white male rats that were randomly divided into six groups (10 animals/group). The first group (G1) was dosed orally with distilled water and considered as negative control group . The second group (G2) was injected inter peritoneal with a dose of 200 mg/kg of body weight of thioacetamide (TAA) and was considered a positive control group, while the third group (G3) was dosed orally with the

aqueous extract of *Nephelium lappaceum* (Nl) peels at a concentration of 25 mg/kg of body weight. The fourth group (G4) was dosed orally with the aqueous extract of *Nephelium lappaceum* (Nl) peels at a concentration of 25 mg/kg of body weight, and after four hours it was injected inter peritoneal with thioacetamide TAA at a concentration of 200 mg/kg of body weight. As for the fifth group (G5), it was dosed orally with the aqueous extract of *Nephelium lappaceum* (Nl) pulp, while the sixth group (G6) was dosed orally with *Nephelium lappaceum* (Nl) pulp aqueous extract of at a dose of 27 mg/kg of body weight, and after four hours it was injected inter peritoneal with 200 mg/kg of body weight of TAA at two doses weekly for all previous groups for a period of three months.

After 90 days , the experiment was ended and blood samples were collected after the animals were starved overnight in order to measure the level of the following biochemical parameters: the activity of the alkaline phosphatase enzyme (ALP), the activity of the Alanine transaminase enzyme (ALT), the activity of the Asparatate transaminase enzyme (AST), total bilirubin (T-BIL), Creatinine, Urea, Albumin, Glutathione (GSH) level, Superoxide dismutase (SOD) activity, Malondialdehyde (MDA), enzyme Cytochrome p 450 (CYP), level of tumor necrosis factor alpha (TNF α), interleukin IL-10, alpha-fetoprotein (AFP), transforming growth factor (TGF- β) and monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) .

The results of the current study showed that inter peritoneal injection with 200 mg/kg of TAA in the second group (G2) led to a significant ($P<0.01$) increase in the levels of ALP, ALT, AST, T-BIL, Urea, Creatinine, MDA, TNF- α , IL-10, TGF- β , AFP, MCP-1, and a significant decrease ($P<0.01$) in the levels of CYP, SOD, GSH and Albumin compared to the negative control group, while the results of the third group (G3) which treated with aqueous extract of *Nephelium lappaceum* (Nl) peels showed a significant increase ($P<0.01$) in the level of GSH and a significant decrease ($P<0.01$) in the level of TNF- α , while no significant difference ($P>0.01$) was shown in the levels of ALP, ALT, AST, T-BIL , Urea, Creatinine, Albumin, SOD, MDA, CYP, IL-10, TGF- β , AFP and MCP-1 compared with the negative control group. The results of the fifth group (G5) treated with aqueous extract of *Nephelium lappaceum* (Nl) pulp showed a significant increase ($P<0.01$) in the level of GSH while no significant difference ($P>0.01$) in the levels of ALP, ALT, AST, T-BIL, Urea, Creatinine, Albumin, SOD, MDA, CYP, IL-10, TNF- α , TGF- β , AFP and MCP-1 compared with the negative control group .

The results also showed a significant increase ($P<0.01$) in the levels of ALP and there was no significant difference ($P>0.01$) in the levels of ALT, AST, T-BIL, Urea, Creatinine, Albumin, SOD, GSH, MDA, CYP, TNF- α , IL-10 , TGF- β , AFP and MCP-1 in the fourth group (G4) compared with the negative control group. The results of sixth group (G6) showed a significant increase ($P<0.01$) in

the level of ALP, Creatinine and there was no significant difference ($P>0.01$) in the levels of ALT, AST, T-BIL, Urea, Albumin, SOD, GSH, MDA, CYP, TNF- α , IL-10, TGF- β , AFP and MCP-1 compared with Negative control group.

The results of the histological examination of the liver in the positive control group treated with thioacetamide (TAA) for 90 days showed the occurrence of clear degenerative changes, necrosis, and clear vacuolation in the liver tissue, with appearance of large tumor nodules, infiltration of inflammatory cells, congestion of the central vein, and degeneration of the nuclei of the liver cells. The results of the microscopic examination of the kidneys also showed the occurrence of Destruction of the urinary tubules, atrophy, severe shrinkage of the glomerulus, and an increase in Bowman's space, with blood congestion and infiltration of inflammatory cells. The normal structure of the liver tissue is also observed, with the reorganization of the liver cords for the two protective groups that were dosed with the aqueous extract of the peels and pulp of *Nephelium lappaceum* (Nl) fruits and injected inter peritoneum with 200 mg/kg of body weight of TAA. As for the kidney tissue, it show the normal structure of the distal and proximal urinary tubules and the presence of blood bleeding, Some renal glomeruli were damaged, with a number of normal glomeruli and normal renal tubule integrity compared to the positive control group.

We conclude from the current study that treatment with the cold aqueous extract of *Nephelium lappaceum* (Nl) fruit peels at a concentration of 25 mg/kg of body weight and the aqueous extract of *Nephelium lappaceum* (Nl) fruit pulp at a concentration of 27 mg/kg of body weight had a protective role in reducing the toxic effects caused by thioacetamide in the liver and kidneys and improving biochemical parameters and returning them to their normal levels. In addition to the role of the two extracts in reducing the possibility of liver and kidney cancer.



University of Kerbala
College of Education for Pure Sciences
Department of Biology

**Evaluation the effectiveness of cold aqueous extract
of peels and pulp rambutan fruits *Nephelium
lappaceum* against Thioacetamide induced toxicity
in male albino rats**

**A thesis submitted to the Council of the College of Education for
Pure Sciences \ University of Kerbala as part of the requirements
for obtaining a master's degree in biology**

Written by
Zahraa Fadhle Thabet Shibl
Bachelor of Biology 2018\ university of Karbala

Supervised by
Asst .prof. Dr. Heba Alwaan Abd AL-Salam AL- Salame

July 2024 A.D.

Dhul-Hijjah 1445 A.H.