جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم /الحياة

دراسة التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور نبات تين الفيل *Aframomum melegueta* على بعض المعايير النسجية والفسلجية في ذكور الجرذان البيض المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم

أطروحة مقدمة

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

كتبت بواسطة

فاطمة حسين فليح حسن

بإشراف

أ.م.د محمد وسام المحنا

رمضان/ 1446هـ **اذار/ 2025م**

صدَق اللَّهُ ٱلعَلِيُّ العَظِيم

(سورة هود- آية /{88})

إقرار المشرف على الاطروحة

أشهد أن إعداد هذه الاطروحة الموسومة (**دراسة التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور نبات تين الفيل *Aframomum melegueta* على بعض المعايير النسجية و الفسلجية في ذكور الجرذان البيض المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم**) قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة /كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه في علوم الحياة /الحيوان .

التوقيع :

الاسم :د. محمد وسام حيدر المحنا

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ : 11 / 3 / 2025

توصية رئيس قسم علوم الحياة

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

التوقيع :

الاسم : د. علاء حسين الصافي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ : / 3 / 2025

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الاطروحة الموسومة ب (دراسة التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور نبات تين الفيل *Aframomum melegueta* على بعض المعايير النسجية و الفسلجية في ذكورالجرذان البيض المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ماورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية؛ وبذلك أصبحت مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

الاسم : د. مسلم مالك الأسدي

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : جامعة كربلاء/ كلية العلوم الإسلامية

التاريخ : / / 2025

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

إقرار لجنة المناقشة

اشهد نحن رئيس وأعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه بأننا قد أطلعنا على الاطروحة الموسومة (دراسة التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور نبات تين الفيل *Aframomum melegueta* على بعض المعايير الفسلجية والنسجية في الجردان البيض المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي) المقدمة من قبل الطالبة (فاطمة حسين فليح الاسدي)،كجزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة/ علم الحيوان ، وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وكل ما يتعلق بها ووجدنا انها جديرة بالقبول بتقدير (امتياز).

رئيس اللجنة
التوقيع :
الاسم : د. نصير مرزا حمزة
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء
التاريخ : / 3 / 2025

عضو اللجنة
التوقيع :
الإسم : د. رشا عبد الأمير جواد
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء
التاريخ : / 3 / 2025

عضو اللجنة
التوقيع :
الاسم : د. أشواق كاظم عبيد
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء
التاريخ : / 3 / 2025

عضو اللجنة
التوقيع :
الاسم : د. جاسم حنون هاشم
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل : كلية العلوم / جامعة كربلاء المسيب
التاريخ : / 3 / 2025

عضو اللجنة
التوقيع :
الاسم : د.محمد جرد كاظم
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل : جامعة الفرات الأوسط الكلية التقنية
التاريخ : / 3 / 2025

عضو اللجنة(المشرف)
التوقيع :
الاسم : د. محمد وسام حيدر المحنا
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء
التاريخ : 11/ 3 / 2025

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

أصادق على ماجاء في إقرار اللجنة أعلاه

التوقيع :
الاسم : د. حميدة عيدان سلمان
المرتبة العلمية : أستاذ
مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء
التاريخ : 25/ 3 / 2025

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

الإهداء

إلى منجي البشرية بالهدى والفرقان

الى حامل لوائه والعروة الوثقى

الى الحوراء الأنسية ام ابيها

إلى أهل البيت الذين أذهب الله عنهم الرجس وطهّرهم تطهيرا

إلى عزي وسندي وفخري ... والدي الحبيب

إلى من أغرقتني بحبها وحنانها وتضحياتها..... والدتي الحبيبة

إلى رمز الأمان وكنز الزمان...أخوتي وأخواتي

إلى كل من يحبني ويسعده نجاحي .....

الى كل من له حق عليَّ .....

اهدي هذا الجهد المتواضع .....

فاطمة

الشكر والتقدير

الحمد لله الذي دلني على ما يقربني اليه ووفقني لما يزلقني لديه واوزع لي أن أشكر نعمته وزاد لي حين شكرته، والصلاة والسلام على حبيبه الأمين واله وصحبه الطاهرين، إكمالًا لأنعم الباري عليّ وإحسانه إليّ ووصولاً إلى نهاية دراستي هذه، أتقدم بوافر الشكر وجزيل الامتنان الى استاذي المشرف **الاستاذ المساعد د. محمد وسام المحنا؛** لاقتراحه مشروع البحث واشرافه المباشر وتقديم النصيحة والمشورة العلمية التي ساهمت في انجاز هذا البحث.

أتقدم بجزيل الشكر وعظيم الامتنان لرئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة وقسم علوم الحياة لأتاحتهم الفرصة لي لإكمال دراستي، وشكري الخاص وعظيم التقدير لرئيس القسم المحترم **الأستاذ المساعد الدكتور علاء حسين الصافي** الذي لم يتوانى ولو للحظة في تقديم المساعدة من اجل اتقان الجانب العملي بجهد حثيث ومد العون لي ولجميع زملائي الباحثين، ويسرني أن أتقدم بوافر الشكر والتقدير **للأستاذة الدكتورة أشواق كاظم عبيد** لمساعدتي خلال مشوار دراستي، **والأستاذة الدكتورة نيبال امطيرا طراد** لتفضلها بالتعرف على النبات وتصنيفه، وجميع أساتذتي في قسم علوم الحياة لما قدموه لي من العون والجهد لتذليل الصعاب التي واجهتني اثناء الدراسة لما بذلوه معي من جهود حثيثة داعية الله ان يحفظهم ويوفقهم لما يحب ويرضى انه مجيب الدعاء.

أود أن أعبر عن امتناني وشكري **للأستاذة م.م. زهراء حسين فليح، وللاستاذ م.د. احمد حسين،** والأستاذ **محمد حسين فليح،** والدكتور **كرار حنيت،** و**الدكتورة فضاء عبد السادة،** و**الدكتورة حوراء طاهر السعدي** اللذين طالما تفانوا في تقديم النصيحة والدعم والإرشاد جزاهم الله عني خير الجزاء.

أتقدم بجزيل الشكر والامتنان الى جميع زملائي وزميلاتي في مرحلة الدكتوراه في قسم علوم الحياة والى جميع من أسدى لي عوناً او معروفاً او أملاً وتشجيعاً ولم يرد ذكره وحضر فضله وعمله.

فاطمة

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية لمعرفة التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور نبات تين الفيل *Aframomum melegueta* للحد من تأثير الأضرار الكبدية والكلوية وبعض المعايير الفسلجية للدم التي تسببها المادة المضافة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (Tio2NPs) Titanium dioxide nanoparticles في ذكور الجرذان البيض عن طريق دراسة بعض التغييرات النسجية والوظيفية.

بينت الدراسة الحالية المحتوى الكيميائي للمستخلص المائي لنبات تين الفيل، إذ شخصت (18) مركب فعال موجود في المستخلص المائي عن طريق استخدام تقنية GC-Mass.

اجريت الدراسة في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة – جامعة كربلاء للفترة من الثاني من ايلول لسنة (2023) لغاية الثلاثين من تشرين الثاني لسنة (2023)، اشتملت الدراسة على تجربتين ، هدفت التجربة الأولى الى تحديد التركيز الأكثر فعالية من بين ثلاث تراكيز امنة للمستخلص النانوي لبذور نبات تين الفيل استعمل في فيها 24 جرذا ذكرا بالغا بعمر 10 أسابيع، وبوزن (250-200)غرام قسمت الى اربع مجاميع متساوية وعوملت بمعاملات مختلفة لمدة 30يوما، تركت الأولى بدون معاملة وعدت مجموعة سيطرة سالبة ،في حين جرعة الثلاث الأخرى فمويا بأحد تراكيز المستخلص النانوي (50،75،100)غم/كغم من وزن الجسم ثم أعطيت بعد اربع ساعات جرعة من ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100)ملغم /كغم من وزن الجسم ،لمدة 30 يوما ، بعدها تم سحب الدم لتقدير نشاط أنزيم الكتاليز الذي أعتمد كمعيار لتحديد فعالية المستخلص النانوي لنبات تين الفيل .

اما التجربة الثانية فشملت استخدام (36) ذكور الجرذان البيض البالغة، تراوحت أوزانها بين (180-300) غرام واعمارها 10 أسابيع قسمت عشوائيا الى (ستة) مجاميع تضم (ستة) حيوانات لكل مجموعة جرعت فموياً ولمدة 30 يوماً ، عدت المجموعة الأولى (G1) مجموعة السيطرة السالبة وجرعت فموياً وبشكل يومي بماء الحنفية، والمجموعة الثانية مجموعة السيطرة الموجبة (G2) جرعت فموياً بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز 100 ملغم /كغم من وزن الجسم، والمجموعة الثالثة (G3) جرعت بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز 200 ملغم /كغم من وزن الجسم، والمجموعة الرابعة (G4) جرعت بالمستخلص النانوي لبذور تين الفيل بتركيز100 ملغم /كغم من وزن الجسم ، والمجموعة الخامسة (G5) جرعت بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز200 ملغم /كغم بعدها جرعت بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز ملغم /كغم من وزن الجسم، اما المجموعة السادسة (G6) فجرعت بالمستخلص النانوي لنبات تين

الفيل بتركيز100 ملغم /كغم بعدها جرعت بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز 100 ملغم /كغم من وزن الجسم، تم التضحية بالحيوانات بعد انتهاء فترة التجربة .

جمعت عينات الدم في المجاميع الست بعد مرور (30) يوماً من التجريع الفموي وتم الحصول على مصل الدم لغرض قياس مستوى المعايير الوظيفية الاتية: مستويات إنزيمات الكبد Aspartate transaminase (AST) و Alanine transaminase (ALT) و(ALP) Alkalinephosphatase، واليوريا (Urea)، والكرياتنين (Creatinine) ، ومؤشرات الأكسدة الإنزيمية التي اشتملت على المالون ثنائي الديهايد Maloaldialdehyde (MDA)، ومضادات الأكسدة الإنزيمية الكتليز (CAT) Catalase، وإنزيم سوبرأوكسيد دسموتيز(SOD) Superoxide dismutuse، وقياس معايير الدهون الكوليسترول cholestrol (CH)، و البروتين الدهني العالي الكثافة High-density lipoprotein(HDL) ، والبروتين الدهني الواطئ الكثافة Low-density lipoprotein(LDL) ، فضلا عن أخذ مقاطع نسجيه للكبد والكلية لغرض دراسة التغييرات النسجية عليها، وقد حصلنا على النتائج التالية:

أدى التجريع الفموي لحيوانات التجربة بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز 100 ملغم/كغم من وزن الجسم وجود تغيرات نسجية في نسيج الكبد لمجموعة السيطرة الموجبة (G2) شملت توسع واحتقان شديد في الوريد المركزي، وجود توسع في الجيبانيات، مع عدم انتظام في الحبال الكبدية، وتنخر في خلايا الكبد ، كذلك ارتشاح الخلايا الالتهابية مقارنةً مع مجموعة السيطرة السالبة، لم يلاحظ أي تأثيرات على البنية النسجية لنسيج الكبد في المجموعتين المعاملتين بالمستخلص المائي والنانوي لتين الفيل (G3،G4) بتركيز (200، 100) ملغم /كغم من وزن الجسم مما يدل على سلامة هذه المستخلصات والتراكيز على انسجة الكبد، وبيّنت نتائج الفحص النسجي لأنسجة الكبد في المجاميع الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لنبات تين الفيل (G5،G6) بتركيز (200، 100) ملغم /كغم وثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم ،ان المستخلص المائي والنانوي ساهما في تقليل التأثيرات السمية لثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في نسيج الكبد ، فكان نسيج الكبد في المجموعة الوقائية G5 اقل تأثراً بسمية مادة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي عند مقارنتها بمجموعة السيطرة الموجبة اذ ان تركيب نسيج الكبد اقرب للطبيعي، احتقان بسيط في الوريد المركزي ، توسع في الجيبانيات ، انتظام للحبال الكبدية مع توسع قليل في الجيبانيات ، وضوح خلايا الكبد مع انويتها ، أما فيما يخص المجموعة (G6) المعاملة بالمستخلص النانوي لبذور تين الفيل وبتركيز (100) ملغم /كغم فلوحظ درجة تحسن عالية والنسيج اقرب للحالة الطبيعية، الوريد المركزي الطبيعي، وانتظام الحبال الكبدية، ووضوح الخلايا الكبدية الطبيعية و انويتها، مع وجود الجيبانيات.

اما التغيرات النسجية في نسيج الكلية لمجموعة السيطرة الموجبة (G2) فشملت ضمور الكبيبات الكلوية، زيادة فسحة بومان ، وانسلاخ بطانتها ، وارتشاح للخلايا الالتهابية مقارنةً مع مجموعة السيطرة السالبة. لم يلاحظ أي تأثيرات على البنية النسجية لنسيج الكلى المجموعتين المعاملتين بالمستخلص المائي والنانوي لتين الفيل(G4،G3) بتركيز (200، 100) ملغم /كغم من وزن الجسم ، التركيب الطبيعي للكبيبة ،فسحة بومان ، ومحفظة بومان ، والبنية الطبيعية للنبيب الداني والقاصي، وبيّنت نتائج الفحص النسجي لأنسجة الكلية في المجاميع الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لنبات تين الفيل (G5) بتركيز 200 ملغم /كغم وثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم ،لوحظ انكماش بسيط للكبيبة وزيادة فسحة بومان ، والبنية الطبيعية للنبيبب الداني والقاصي ، اما في المجموعة الوقائية G6 بينت النتائج عدم حدوث ضرر يلاحظ في الكبيبة ،وفسحة بومان، وجود محفظة بومان ، مع البنية الطبيعية للنبيبات الداني والقاصي.

بينت الدراسة الفسلجية لمجموعة السيطرة الموجبة المجرعة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم/كغم وجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في كل من AST،ALP ، ALT، اليوريا، الكرياتنين، MDA، LDL،CH، وحصول انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في كل من (HDL)، ومضادات الاكسدة (CAT، SOD) مقارنةً مع مجموعة السيطرة السالبة، أما التجريع الفموي لحيوانات التجربة بالمستخلص المائي والنانوي لنبات تين الفيل (G4،G3) بتركيز (200، 100) ملغم /كغم من وزن الجسم يومياً ولفترة (30) يوماً لم يسجل تغييراً معنوياً ($P \leq 0.05$) واضحاً في المعايير الوظيفية في معدل تركيز كل من (MDA)، (CAT)، و (SOD) ، ومستويات (LDL, CH)، وتركيز (HDL) مقارنةً مع مجموعة السيطرة السالبة. أظهرت نتائج المعايير الوظيفية للمجاميع الوقائية (G6،G5) بتركيز (200، 100) ملغم /كغم وثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم حصول انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في إنزيمات الكبد (ALT، ALP، AST)، والمعايير الوظيفية للكلى (اليوريا، والكرياتين)، ومعايير الدهون التي اشتملت على (CH، LDL) ومؤشرات الأكسدة الإنزيمية (MDA) مقارنةً مع مجموعة السيطرة الموجبة، وحصول ارتفاعاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في كل من (HDL) (SOD، CAT) مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة.

نستنتج من الدراسة الحالية مدى فعالية مستخلص بذور تين الفيل المائي والنانوي وخاصة المستخلص النانوي في كبح نشاط الجذور الحرة ومعادلة الاجهاد التأكسدي المستحث بالمادة المضافة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في نسيجي الكبد والكلية وبعض المعايير الوظيفية في ذكور الجرذان البيض.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
	الخلاصة	I
	قائمة المحتويات	IV
	قائمة الصور	VI
	قائمة الاشكال	VII
	قائمة الجداول	VIII
	قائمة المختصرات	IX
الفصل الأول: المقدمة		
1	المقدمة	1
2	الهدف من الدراسة	2
الفصل الثاني: استعراض المراجع		
1-2	النباتات الطبية Medicinal plants	4
2-2	النبات المستعمل في الدراسة *Aframomum melegueta*	5
1-2-2	العائلة الزنجبيلية	5
2-2-2	الوصف المظهري لنبات تين الفيل *Aframomum melegueta*	5
3-2-2	تاريخ النبات وانتشاره Plant history and spread	7
4-2-2	المركبات الفعالة لنبات تين الفيل	8
5-2-2	الأهمية الطبية لتين الفيل	8
3-2	المضافات الغذائية Food Additives	11
1-3-2	تسمية المضافات الغذائية العالمية	12
2-3-2	الملونات Colors	12
3-3-2	ثنائي أوكسيد التيتانيوم (E171) Titanium dioxide	14
1-3-3-2	الأثار الجانبية لثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي	15
2-3-3-2	تأثير ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي على الكبد	17
2-3-3-2	تأثيرثنائي أوكسيد التيتانيوم النانويE171 على الكلى	17
4-2	تقنية النانوNanotechnology	18
1-4-2	التخليق الحيوي للجسيمات النانوية Biosynthesis of nanoparticles	20
2-4-2	التطبيقات الحيوية للجسيمات النانوية	23
الفصل الثالث: **المواد وطرائق العمل**		
3	المواد وطرائق العمل	24
1-3	الأجهزة والمواد الكيميائية المستعملة	24
1-1-3	المواد الكيميائية المستعملة	24

2-1-3	الأجهزة المستعملة	25
3-1-3	الأدوات المستعملة	27
2-3	حيوانات التجربة Experimental Animals	28
3-3	جمع النبات المستخدم، تشخيصه، وتحضير المستخلص المائي	28
1-3-3	تشخيص المركبات الكيميائية للمستخلص المائي لنبات تين الفيل بتقنية GC-MS	28
2-3-3	تحضير المستخلص النانوي للنبات	29
3-3-3	تشخيص المستخلص النانوي	30
1-3-3-3	تقنيات المجهرالالكتروني Electron microscopic	31
-1-3-3-3 1	مجهر القوة الذرية Atomic Force Microscopie (AFM)	31
-1-3-3-3 2	المجهر الالكتروني الماسح (Scanning Electron Microscope (SEM	31
2-5-1-3	تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء (FTIR) infrared spectroscopy Fourier transform	31
4-3	تجريع حيوانات التجربة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي	32
5-3	تصميم التجربة Design Experience	32
6-3	الدراسة النسجية و الفسلجية	35
1-6-3	جمع عينات الدم	35
2-6-3	الدراسة النسيجية	35
1-2-6-3	تحضير الشرائح المجهرية	35
2-2-6-3	القياسات النسجية	38
3-6-3	تقدير تركيز المعايير الفسلجية في مصل الدم	38
1-3-6-3	تقدير تركيز انزيمات الكبد	38
2-3-6-3	قياس مستوى اليوريا Urea في مصل الدم	42
3-3-6-3	تقدير تركيز الكرياتنين	43
4-3-6-3	تقدير تركيز انزيمات الاكسدة	45
5-3-6-3	تقدير تركيز الدهون	50
7-3	التحليل الاحصائي	53
	الفصل الرابع: النتائج والمناقشة	
1-4	نتائج تشخيص المستخلص النانوي لبذور نبات تين الفيل	54
1-1-4	مجهر القوة الذرية Atomic force microscope(AFM)	55
2-1-4	تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء (FTIR)	55
3-1-4	المجهر الالكتروني الماسح Scanning Electron Microscope (SEM)	56
4-1-4	نتائج تحليل المركبات الفعالة بتقنية(GC-Mass)	57
2-4	الدراسة النسجية Histohogical study	59
1-2-4	الفحص والقياسات النسجية لنسيج الكبد	59

1-1-2-4	تأثير المعاملة بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز(100) ملغم /كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسيجية للكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1)	59
2-1-2-4	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على التركيب والقياسات النسجية للكبد	62
2-2-4	الفحص والقياسات النسجية للكلية	69
1-2-2-4	تأثير المعاملة بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسيجية للكلى مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1)	69
2-2-2-4	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لنبات تين الفيل على نسيج الكلية	72
3-4	الدراسة الفسلجية	78
1-3-4	الدراسة الفسلجية المتعلقة بإنزيمات الكبد	78
1-1-3-4	تأثير المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي على إنزيمات الكبد	78
2-1-3-4	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي على إنزيمات الكبد	79
2-3-4	الدراسة الفسلجية المتعلقة بوظائف الكلى	82
1-2-3-4	تأثير المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي على وظائف الكلى	82
2-2-3-4	تأثير المستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على وظائف الكلى	83
3-3-4	قياس تركيز مؤشرات الاكسدة ومضادات الاكسدة	88
1-3-3-4	تأثير ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي قياس تركيز مؤشرات الاكسدة ومضادات الاكسدة	87
2-3-3-4	ثاثير المستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على مستويات مؤشرات الاكسدة ومضادات الاكسدة	88
4-3-4	قياس معايير الدهون	92
1-4-3-4	تأثير المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي على مستويات الدهون في المصل	91
2-4-3-4	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على مستويات الدهون في المصل	93
الاستنتاجات والتوصيات		
	الاستنتاجات	97
	التوصيات	98
المصادر		
	المصادر العربية	101
	المصادر الاجنبية	102
	الخلاصة باللغة الانكليزية	i

قائمة الصور

التسلسل	الصورة	رقم الصفحة

1-2	الوصف العام لنبات تين الفيل	7
2-2	مراحل التخليق الأخضر للجسيمات النانوية	21
1-3	جهاز كروماتوغرافيا الغاز- مطياف الكتلة Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC-MS)	29
2-3	(A) بذور نبات تين الفيل (B) المستخلص المائي (C) المستخلص النانوي	30
3-3	مادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي	32
1-4	صورة ثنائية الأبعاد للمستخلص المائي لنبات تين الفيل تم التقاطها بواسطة مجهر (AFM)	54
2-4	صورة ثنائية الأبعاد للمستخلص النانوي تم التقاطها بواسطة مجهر (AFM) لجسيمات ثنائي أوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص المائي لبذور نبات تين الفيل	54
3-4	صور المجهر الالكتروني الماسح لجسيمات الزنك النانوية	56
4-4	مقطع عرضي لنسيج الكبد في مجموعة السيطرة السالبة	60
5-4	مقطع عرضي لنسيج الكبد في المجموعة المعاملة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم / كغم من وزن الجسم	60
6-4	مقطع عرضي لنسيج الكبد في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي(200) ملغم/ كغم لنبات تين الفيل	64
7-4	مقطع عرضي لنسيج الكبد في المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي (100) ملغم/ كغم لنبات تين الفيل	64
8-4	مقطع عرضي لنسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي(200)ملغم/ كغم لنبات تين الفيل و ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم / كغم	66
9-4	مقطع من نسيج الكبد في المجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات تين الفيل بتركيز 100 ملغم / كغم و ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم / كغم	66
10-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية لمجموعة السيطرة السالبة	70
11-4	مقطع من نسيج الكلية لمجموعة السيطرة الموجبة المعاملة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم / كغم من وزن الجسم	70
12-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز (200) ملغم / كغم	73
13-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية في المجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات تين الفيل بتركيز(100) ملغم / كغم	73
14-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لتين لفيل بتركيز(200) ملغم / كغم مع ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم / كغم	76

15-4	مقطع عرضي من نسيج الكلية للمجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص النانوي لتين لفيل بتركيز(100) ملغم / كغم مع ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم / كغم	76

قائمة الاشكال

التسلسل	الشكل	رقم الصفحة
1-2	مراحل تخليق الأخضر للمواد النانوية	23
1-3	تصميم التجربة	34
2-3	تفاعل محلول الثايوباربيتيوريك مع المالونداياالديهايد	45
3-3	المنحني القياسي لأنزيم SOD	48
1-4	التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء(FTIR) لجسيمات الزنك النانوية المحضرة بواسطة المستخلص المائي لبذور نبات تين الفيل	55
2-4	منحني الزمني لظهور المركبات الفعالة التي تم قياسها بجهاز GC-Mass	57

قائمة الجداول

التسلسل	الجدول	رقم الصفحة
1-3	العدد والمواد الكيميائية المستخدمة في القياسات الخاصة بالدراسة الحالية	25
2-3	الأجهزة والادوات المختبرية المستخدمة في الدراسة الحالية حسب المنشأ	26
1-4	المركبات الفعالة للمستخلص المائي لنبات تين الفيل ومساحتها والنسب المئوية ووزنها في المستخلص حسب تحليل تقنية GC-	58
2-4	يوضح الدور الوقائي للمستخلص المائي لبذور تين الفيل على بعض القياسات النسجية لنسيج الكبد لذكور الجرذان البيض المعاملة ثنائي أوكسيد التيتانيوم	68
3-4	الدور الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على بعض القياسات النسجية لنسيج الكلية لذكور الجرذان البيض المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي	77
4-4	الدور الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على وظائف االكبد لذكور الجرذان البيض المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي	81
5-4	التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لنبات تين الفيل على وظائف الكلى في مصل الجرذان المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي	86

6-4	يبين التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لنبات تين الفيل على مستويات سوبراوكسيد دوسمتيز (SOD)، والكتاليز (CAT)، المالون ثنائي الديهايد (MDA) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي	90
7-4	تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي على بعض معايير الدهون في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي	95

قائمة المختصرات

Tio_2	Titanium Dioxide
AST	Aspartate transaminase
ALT	Alanine transaminase
ALP	Alkalinephosphatase
U	Urea
Cr	Creatinine
MDA	Maloaldialdehyde
SOD	Superoxide dismutuse
CAT	Catalase
HDL	High-density lipoprotein
CH	cholestrol
LDL	Low-density lipoprotein
BBB	Blood Brain Barrer
WHO	World Health Organization
NNI	National Nanotechnology Initiative
FDA	Food and Drug Administration
TNF	Tumor necrosis factor
IL-6	Inter lucone sex
GSH	Growth stimulated hormone

الفصل الاول

المقدمـــة

Introduction

1.المقدمة Introduction:

1.1 النباتات الطبية:

المملكة النباتية تضم العديد من الأصناف النباتية التي تعد مصدراً لا ينضب للكثير من النواتج الطبيعية ذات التأثير العلاجي والتثبيطي لأنواع مختلفة من المسببات المرضية فهي بالإضافة إلى كونها مصدرا غذائياً للإنسان والحيوان فإن مستخلصات أجزائها المختلفة تستخدم في معالجة العديد من الامراض التي تصيبهما (Akeil,2006)، ولذلك قام الكثير من العلماء والباحثين بالعديد من المحاولات للحصول على المنفعة الكاملة من هذه النباتات فقد استخدمت جذورها، واوراقها، وبذورها، وازهارها كدواء للعديد من الأمراض منذ أقدم العصور وحتى الان، إذ استخدمت هذه النباتات في علاج حالات المغص الكلوي ونزلات البرد وارتفاع درجة حرارة الجسم والعديد من الأمراض الأخرى المختلفة (De Sousa Araújo *et al*,2016).

اكتسبت النباتات الطبية مكانة مميزة وكبيرة في الإنتاج العالمي؛ لما تحتويه من مركبات كيميائية ذات أهمية كبيرة في أثرها الوظيفي ونشاطها العلاجي للإنسان والحيوان فأصبح من الضروري تحقيق نتائج إيجابية في أبحاث النباتات الطبية لضمان الحصول على معلومات دقيقة حول فعاليتها الطبية التي يمكن ان تؤدي إلى تطوير عقاقير جديدة (Saad *et al* ,2017 ;Howes , 2018).

يعد نبات تين الفيل الذي يسمى بالإنكليزية Grain of Paradise ويسمى علمياً *Aframomum melegueta* من النباتات الطبية العشبية المعمرة (غير الموسمية)، ويستخدم كتوابل صالحة للأكل وكعلاج للأمراض الشائعة في غرب أفريقيا ويعود إلى العائلة الزنجبيلية Zingiberaceae، وتم استخدامه كتوابل للحوم والصلصات والحساء في غرب أفريقيا، ويتم خلط الفلفل مع أعشاب أخرى للعلاج الشائع من الأمراض مثل آلام الجسم، والإسهال، والاحتقان والروماتيزم وغيرها(Umukoro andAshorobi,2003, 2005).

أكدت دراسة Odetunde وجماعته (2015) على أن المستخلص المائي لبذور تين الفيل تساهم في علاج العديد من الأمراض التي ازداد انتشارها في وقتنا الحالي والتي منها الألتهابات الكلوية؛ وله القدرة على تقليل مستوى الدهون الكلي Total lipids، والكوليسترول Cholesterol، إلى جانب قدرته على خفض ضغط الدم وحماية الكبد من العوامل المؤكسدة، ويمتلك فعالية مضادة للمايكروبات ؛ وذلك لمحتواه العالي من المركبات الفعالة(Doherty *et al*.,2010).

تأتي الأهمية الطبية لبذور نبات تين الفيل من احتواءه على العديد من المركبات الفعالة والتي تم الكشف عنها عن طريق الدراسات السابقة، إذ يحتوي على مركبات الرايبوفلافين (B2)، وحامض الاسكوربيك (C)، والنياسين(B3)، وفيتامين(E) وفيتامين (A) ،وفولك اسد(B9)، والثايمين (B1)، وفيتامين (K)، وفيتامين (D) و (B6)، وبعض المعادن المهمة للجسم مثل البوتاسيوم والكاليسيوم (Ca) والتي تساهم في حماية الجسم من بعض الأمراض وحتى المزمنة منها (Olumekun *et al*.,2020 ;Okwu, 2005, 2004).

زاد استعمال المواد الحافظة في وقتنا الحالي في المواد الغذائية الجاهزة والمعلبة بعد ان كان الفرد يحصل عليها بشكلها الطبيعي والطازج، وإن تلك المواد المعلبة مخزونة لفترات زمنية طويلة وأيضا العلاجات الدوائية ومواد التجميل الأمر الذي تطلب معاملتها بالعديد من المواد للحفاظ على جودتها وعدم تعرضها للتلف، ويعد ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (Tio_2) Titanium Dioxide واحداً من أكثر المواد الحافظة حول العالم استخداماً فهو يعطي اللون الأبيض الناصع للطعام والصلابة المناسبة إلى جانب قدرته على الحفاظ على تلك المواد لفترة طويلة عن طريق منع نمو العفن والبكتريا فيها (Jovanović,2014).

أشار Fulmer (2008) في دراسته المتعلقة بالمضافات الغذائية إلى ان الكثير من المواد المضافة تكون لها تأثيرات سامة للجسم ومحدثة للأمراض السرطانية وغيرها الأمر الذي يدعو إلى الرجوع إلى منظمة الصحة العالمية للتأكد من سلامة استخدامها.

إن استخدام ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في حفظ الأغذية وتحسين مظهرها يرافقه العديد من المخاطر الصحية خصوصاً ان تلك المواد تستخدم في الأغذية تحت تسمية (E171)، إذ يوضع في القائمة الغذائية كملون غذائي في العديد من الأطعمة مثل: الأكلات السريعة، والأغذية المجمدة، والشوربات، والبطاطا المقلية، والشيبسي، وغيرها من الأطعمة، والعلاجات الطبية، والكريمات الطبية، ومعجون الأسنان، ومواد التجميل المختلفة (Musial *et al*.,2020).

1.2.الهدف من الدراسة:

تهدف الدراسة إلى بيان الدور الوقائي لمستخلص بذور نبات تين الفيل المائي والنانوي لغرض التقليل من السمية الناتجة عن لثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في ذكور الجرذان البيض عن طريق دراسة:

1- التغيرات النسجية في الكبد والكلى

2- القياسات النسجية للكبد وتشمل: أقطار الخلايا الكبدية، الجيبانيات، واقطار الوريد المركزي، والقياسات النسجية للكلية، وتباين معدلات اقطار الكبيبة الكلوية، واقطار النبيبات الكلوية.

3- قياس تراكيز انزيمات الكبد Aspartate transaminase (AST) وAlanine transaminase (ALT) وAlkalinephosphatase (ALP).

4- قياس معايير وظائف الكلى واليوريا (Urea)، والكرياتنين (Creatinine).

5- قياس مؤشرات الاكسدة المالون ثنائي الديهايد Maloaldialdehyde (MDA)، ومضادات الأكسدة الإنزيمية الكتليز Catalase (CAT)، وإنزيم سوبرأوكسيد دسموتيز(.Superoxide dismutuse (SOD.

6- معايير الدهون (cholestrol (CH، High-density lipoprotein، Low-density lipoprotein .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

2. استعراض المراجع Literature Review:

2-1. النباتات الطبية Medicinal plants:

الطب التكميلي او البديل Complementary and alternative medicine (CAM) هو الممارسة العلاجية الأقدم في العالم (Fennell *et al.*,2004)، فقد سعى الناس إلى علاج امراضهم باستخدام النباتات الموجودة في الطبيعة حولهم إذ عثر على الواح طينية سومرية متعلقة بالنباتات الطبية تعود إلى ما يقرب من 5000 عام وفي الهند والصين ومصر، وما لا يقل عن (2500) عام في أفريقيا وآسيا الوسطى منذ العصور القديمة (Yaniv,2014).

تطور الطب البديل ليؤدي إلى ظهور العلاج الحديث ويتم إنتاج الأدوية المصنعة نتيجة لبروتوكولات البحث الصارمة مما يتيح الحد بشكل كبير من الآثار الجانبية السامة (Martvall and Lindberg,2022)، ومع ذلك، فإن الطب البديل والذي يتكون أساسًا من استخدام المواد النباتية الأصلية بطريقة طبيعية، لا يزال يمارس بشكل شائع في الوقت الحاضر من قبل سكان البلدان الصناعية والنامية على حد سواء، بل أن هذه الممارسة تتزايد بين جميع السكان، وربما يكون الدافع وراء ذلك هو معتقدات السكان الذين يعتبرون النباتات الطبية أي النباتات التي تحتوي على واحد على الأقل من مكوناتها الكيميائية أو الأجزاء الهيكلية الزهور، والأوراق، والجذع، والبذور، واللحاء، أو الجذور المستخدمة لأغراض علاجية (Bruneton, 1993 ; Martvall, & Lindberg,2022).

يمكن للعلاجات الطبية النباتية أن تساعد في ظهور حقبة جديدة من الرعاية الصحية لعلاج الأمراض البشرية في المستقبل (Jain *et al.*,2019) باعتبار هذه المواد طبيعية وبذلك فهي أقل ضررًا من الأدوية المصنعة أو المركبة المستخدمة في الطب الحديث (Roy *et al.*,2018)، وفي الواقع فأن استخدام العقاقير الاصطناعية من أجل تخفيف أو علاج أمراض متعددة ارتبط بالعديد من الآثار الجانبية والمخاطر غير المرغوب فيها، وهكذا عاد الناس إلى الطب البديل، وخاصة إلى المستخلصات من النباتات الطبية، والتي تعد مقبولة ثقافياً، ومتاحة بسهولة، ومجدية اقتصادياً (Kumar *et al.*,2013) .

وتستخدم النباتات الطبية على نطاق واسع في المجتمعات غير الصناعية و لا يزال استخدامها كمصدر رئيس للطب فقد بيّنت منظمة الصحة العالمية بأن الاستخدام لها يصل إلى حوالي (80٪) من الناس في البلدان النامية كأدوية تقليدية لرعايتهم الصحية؛ وذلك لأنها متوفرة بسهولة وأرخص من الأدوية الحديثة، وتتوقع منظمة الصحة العالمية انه بحلول عام 2050 ستبلغ قيمة السوق العالمية للمستخلصات النباتية والأدوية خمسة

تريلون دولار، وفي العديد من البلدان لا يوجد تنظيم يذكر للطب التقليدي، لكن منظمة الصحة العالمية كونت شبكة لتشجيع الاستخدام الآمن والعقلاني لهذه النباتات (Parvin *et al.*,2023) تواجه النباتات الطبية تهديدات عامة، مثل تغير المناخ وتدمير المواطن، وتهديدًا محددًا يتمثل في الإفراط في جمعها لتلبية طلب السوق (Ahn, 2017)، ويتم حاليًا استخدام هذه النباتات الطبية في جميع أنحاء العالم في المنتجات الدوائية، ومستحضرات التجميل وغيرها، وهذه النباتات الطبية تكون غنية بمركبات نشطة حيويا مما يمكن استخدامها في تطوير الأدوية لعلاج الأمراض المختلفة (Salmerón-Manzano *et al.*, 2020 ; Van and Wink ,2018).

2-2: النبات المستعمل في الدراسة نبات تين الفيل *Aframomum melegueta*:

2-2-1: العائلة الزنجبيلية:

تضم العائلة النباتية Zingiberaceae أو عائلة الزنجبيل حوالي (50) جنسًا وما يقرب من (1600) نوع معروف من النباتات المعمرة المزهرة التي يتم توزيعها في جميع أنحاء أفريقيا الاستوائية وآسيا والأمريكتين، ويتم العثور على أعلى تنوع في جنوب شرق آسيا، وأكبر تركيز في شمال - المنطقة الشرقية من الهند ويوجد بها (19) جنساً و(88) نوعاً، تنمو غالبية أعضاء العائلة الزنجبيلية في الأماكن الرطبة والمظللة (Kress *et al.*,2002).

2-2-2: الوصف المظهري لنبات تين الفيل *Aframomum melegueta*:

هو نبات عشبي معمر متساقط الأوراق، موطنه الأصلي المناطق الاستوائية في المستنقعات على طول الساحل غرب أفريقيا في نيجيريا. له ساق ورقي قد يصل ارتفاعها إلى (1.5) متر لحاء الجذع قصير ومغطى بندوب الأوراق المتساقطة ، والأوراق بسيطة ومتبادلة ورمحيه والناضجة يصل طولها إلى (40) سنتمتروعرضها (12-15) سنتمتر ولها صورة (a1-2) عروق قريبة تحتها ولها نظام وعائي جيد التنظيم ، تنمو أزهارها الأرجوانية مع شفاه برتقالية اللون على شكل بوق صورة (b1-2) تعطي ثمار بشكل أبواق أو قرون حمراء إلى بنية يبلغ طولها من (5 - 7) سنتمتر شبيهة لفم التمساح لذلك تسمى فلفل التمساح صورة (c1-2)، تتحول فيما بعد إلى قرون لحمية ومجففة ، تحتوي على المئات من البذور الصغيرة ذات اللون البني المحمر العطرية النفاثة وهي صالحة للأكل صورة (d1-2) مع رائحة نفاذة مثل الزنجبيل والفلفل الحار (Umukoro and Aladeokin,2011).

يمتلك نبات *A. melegueta* أسماء عديدة، يطلق عليه تجارياً بذور الجنة، فلفل غينيا، فلفل التمساح، حبوب غينيا، والفلفل الزنجي (Beichner,1961). ومن المعروف محليًا باسم ose oji، وataare، وcittáá

في نيجيريا، وFam-wisa وwisa في غانا وnengrekondre pepre في ليبيريا (Odugbemi, 2008)، ينتمي تين الفيل إلى العائلة الزنجبيلة (Zingiberaceae) والجنس يحتوي على (23) نوعاً ويصنف كالتالي:

Kingdom: Plantae

Sub kingdom: Tracheophytes

Phylum: Angiosperms

Sub Phylum: Monocots

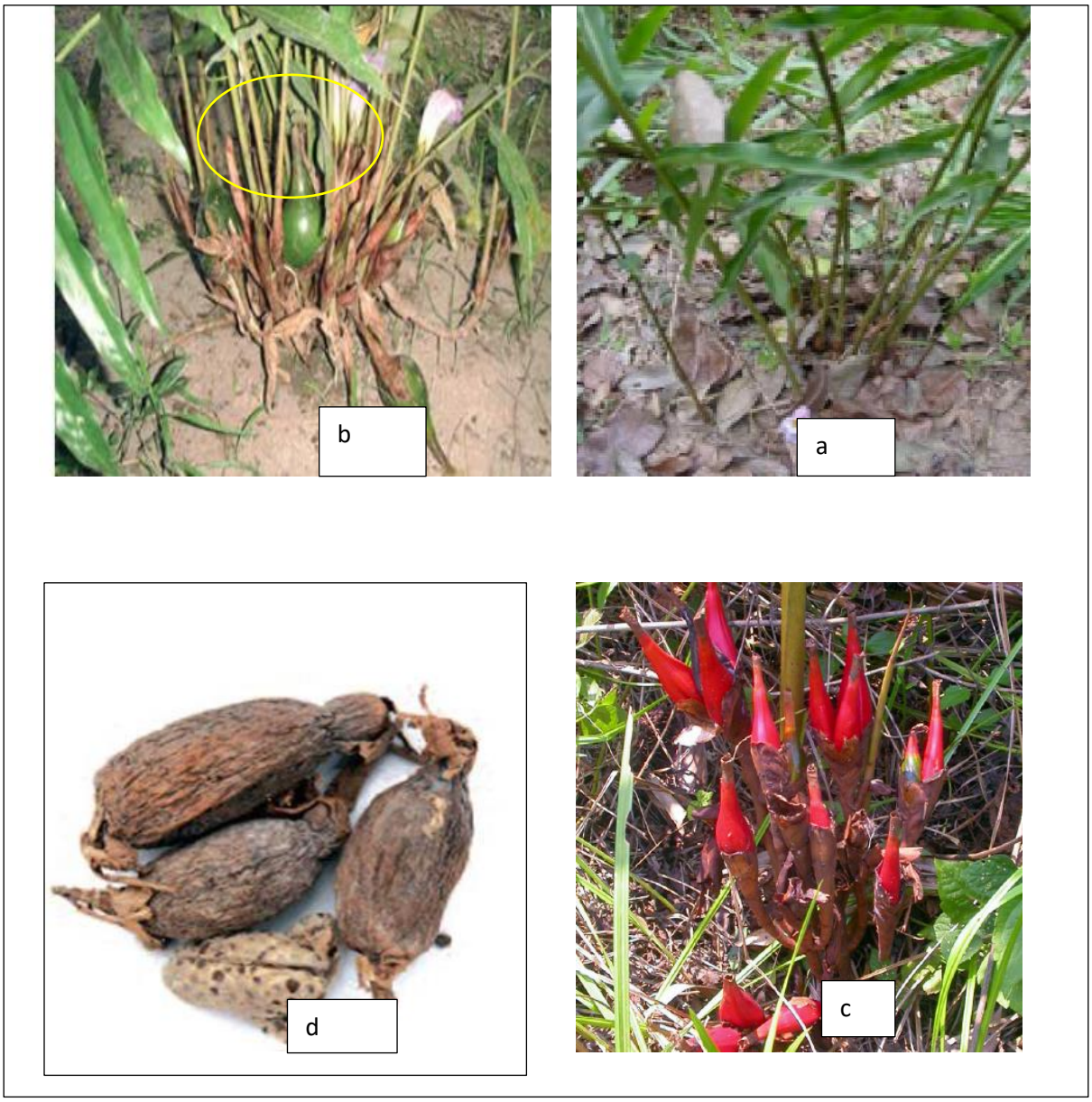
Class: commelinids

Order: Zingiberales

Family: Zingiberaceae

Genus: Aframomum

Species: *A. melegueta (Roscoe) K. Schum* (Voeks, 2013).



صورة (2-1) الوصف العام للنبات،a : جسم النبات، b: أزهار النبات
c: ثمار النبات الطازجة ،d : ثمار النبات الجافة (Olamide *et al.*,2021)

2-2-3: تاريخ النبات وانتشاره Plant history and spread

تستخدم بذور تين الفيل منذ مدة طويلة في مطابخ غرب وشمال أفريقيا، كان يتم تصديرها تقليديًا عبر طرق القوافل في سلسلة من عمليات إعادة الشحن عبر الصحراء الكبرى إلى أوروبا، وكانت بديلاً عصريًا جدًا للفلفل الأسود في أوروبا في القرنين الرابع عشر والخامس عشر وخاصة في شمال فرنسا، التي كانت واحدة من أكثر المناطق اكتظاظًا بالسكان في أوروبا في ذلك الوقت (Van and Wink,2018).

2-2-4: المركبات الفعالة لنبات تين الفيل:

يحتوي تين الفيل على عدد لا يحصى من المركبات الكيميائية الحيوية التي لها فائدة عالية في الاستشفاء من الأمراض المختلفة والتي تتواجد في أجزاء مختلفة من النبات كالأوراق والبذور، تحتوي على الدهون والكاربوهيدرات والاملاح المعدنية والبروتينات والفيتامينات ،كما أن بذور تين الفيل غنية بالعناصر المعدنية بما في ذلك K، Ca،Mg، Fe، P (Bennett and Inengite,2022) ، ويحتوي على المركبات النشطة حيوياً والتي يشار إليها بنواتج الأيض الثانوية مثل مركبات الفينول، والفلافونيدات، والتانينات، والتربينات، والصابونين، وكاردك كلايكوسيد وغيرها من المركبات الفعالة (Luca *et al*,2022).

إن أهم المركبات الفعالة الموجودة في نبات تين الفيل هي مجموعة مركبات الفينول المكونة للزيوت الأساسية العطرية التي تشمل العديد من المركبات الفعالة حيوياً مثل 6-بارادول، 6-شاجاول، 6-جينجيرول، وأحماض فينولية وأحماض دهنية (Yusuf *et al*., 2016 ; Lawal *et al.*, 2007).

أن التركيب البروتيني لبذور تين الفيل للمستخلص المائي يحتوي على العديد من الأحماض الأمينية البروتينية وغير البروتينية من الأحماض الأمينية المرتبطة بالبروتين هي الأسبارتك أسد، كلوتامك أسد، تايروسين، ليوسين، أيزولايسين، هستدين، لايسين، والأرجنين، أما الأحماض الأمينية الحرة فمنها ستريولين، أورناثين، حامض البيوتريك الأميني (Adefegha *et al.*,2016).

2-2-5: الأهمية الطبية لنبات تين الفيل :

يعد نبات تين الفيل من الأعشاب التي تتنوع خصائصها الطبية والعلاجية فقد استخدم في أفريقيا لعدة قرون كنبات طبي، تم استخدام مستخلصات بذوره لعلاج العديد من الحالات المرضية التي تصيب الجهاز الهضمي كالإسهال، والزنتري، ومشاكل الهضم، والتهاب المعدة والأمعاء، وهو عشب فعال لعلاج لدغة الثعبان (Villarreal *et al.*,2010;Jiofack *et al.*, 2008)، وله تأثيرات وقائية للكبد (EL- Halawany *et al*., 2014)

حامض الأوليانوليك، والأكاربوز في تين الفيل له تأثير مضاد لمرض السكري عن طريق تثبيط الإنزيمات مثل α-amylase وα-glucosidase وهذه الإنزيمات مسؤولة عن الهضم وتكسير الكربوهيدرات والسكريات الموجودة في الطعام وتحويلها إلى سكريات بسيطة لزيادة مستويات الجلوكوز في الدم ومن بين مركباته يعد 6-جينجيرول وحامض الأوليانوليك أكثر فعالية في تثبيط الإنزيمات (Mohammed *et al.*, 2017).

يعد 6-بارادول هو المكون النشط في مستخلص تين الفيل وله مجموعة واسعة من التأثيرات العلاجية ، فقد بينت احدى الدراسات على بذور تين الفيل أن المكون الكيميائي 6- بارا دول له أهمية بيولوجية تتجاوز قيمته الطبية وجد أنه يعزز فقدان الوزن عن طريق تعزيز عملية التمثيل الغذائي في الجسم بشكل أسرع (Sudeep *et al*. 2022)، يحتوي على مضادات الأكسدة المقاومة للسرطان (الفلافونويد) بكثرة نسبية في تين الفيل (Jaafaru, 2024) ، ومن الشائع أن الفلافونويدات تمتلك تأثيرات مضادة للسرطان ومضادة للطفرات والتي تتداخل فيها مع تطور الأورام الخبيثة عن طريق تثبيط التعبير عن الجينات الطافرة، وتعطيل المواد المسرطنة والإنزيمات التي تشارك في تنشيط المواد المسببة للسرطان، وكذلك تنشيط الأنظمة الانزيمية التي تشارك في إزالة السموم من الكائنات الحية الغريبة (Selvaraj *et al*.,2013).

الكيرسيتين Quercetin هو فلافونويد يمكن أن يبطئ تطور الأورام (Clifford *et al*., 1996)، وقد وجد في مستخلص تين الفيل (Adefegha and Oboh ,2012)، وفي دراسة أجراها Kuete وجماعته (2011) أظهر أن مستخلص تين الفيل يمارس أنشطة مثبطة كبيرة على سرطان البنكرياس البشري وخطوط خلايا سرطان الدم، وكشفت الفحوصات الكيميائية النباتية لنبات تين الفيل عن وجود -) arctigenin and (-buplerol-() في المستخلص اللذان لهما القدرة على تحفيز موت الخلايا المبرمج في خلايا سرطان البنكرياس (Dibwe *et al*., 2015)، ويمتلك تين الفيل مركبات كيميائية فعالة لها خصائص طبية بعلاج سرطان البروستات مما يرشح النبات بقوة كمضاد للأورام ومنبه لموت الخلايا المبرمج ، وعوامل أضطرابات البروستات (NaAllah *et al*.,2021).

أثبت أن تين الفيل فعال في مكافحة الاضطرابات الأيضية مثل مرض السكري من النوع الأول والثاني، وفي هذه الحالة يقاوم الجسم التأثير الفسيولوجي للأنسولين، وبذلك سيبقى الكثير من الأنسولين في الدم لفترات طويلة من الزمن مما يجعل البنكرياس غير قادر على إفراز المزيد من الأنسولين للسيطرة على مستوى الجلوكوز في الدم (Gastaldelli, 2011)، فبذور نبات تين الفيل مناسبة للاستهلاك من قبل مرضى السكري، واستهلاكه يساعد مريض السكري على البقاء بصحة جيدة (Venugopal and Liu ,2012)، ومن المعروف أن مستخلص نبات تين الفيل يزيد من حرق الدهون المخزونة ومنع زيادة الوزن (Inegbenebor *et al* ., 2009) ، ونبات تين الفيل من النباتات الأفريقية المعروفة المضادة للألتهابات المستعملة بشكل واسع في افريقيا (Dzoyem *et al*., 2017)

إن أحد أهم التأثيرات الدوائية لتين الفيل هو نشاطه المضاد للميكروبات لعلاج المسالك البولية وكذلك التهابات الأنسجة الرخوة مما يشير إلى امتلاكها طيف واسع من النشاط ضد كل من البكتيريا الموجبة و السالبة لصبغة جرام، ووجود إمكانات قوية مضادة للميكروبات (Abodunrin *et al*., 2020)، وعلاج العقم،

والتهاب الحلق، وانخفاض ضغط الدم (Abdou *et al.*, 2021)، ويمكن سحق بذوره وأوراقه واستخدامها لتحضير الخلطات لعلاج الجروح وشفاءها (Dike,2017).

تين الفيل يحتوي على كمية عالية من مادة التانين التي تتميز بخاصيتها النشطة، ولذلك فهي فعالة جداً في التئام الجروح وعلاج الحروق وتهدئة الأغشية المخاطية الملتهبة (Osuntokun, 2020)، ومن الخصائص الطبية لمركبته الحيوية لها خصائص مضادة للأكسدة والالتهاب وتحمي خلايا الدماغ من التلف والضمور، مما تساهم في معالجة مرض الزهايمر وباركنسون (Chukwuma *et al.* ,2023)، اظهر نشاطًا حقيقيًا لعلاج الديدان الطفيلية والتخلص من العدوى بها (Ataba *et al.*,2020).

أوضح Latif وجماعته (2024) كفاءة المستخلص الكحولي لبذور تين الفيل على تثبيط المناعة ومضاد للالتهابات وقدرته على تثبيط الخلايا العدلة وتقليل استجابة خلايا الدم البيض؛ وذلك لمحتواه الغني من المركبات الفعالة.

المستخلص المائي له مسكن بطبيعته وبذلك يمكن استخدامه لتخفيف وإزالة الآلام مثل آلام المفاصل، وآلام الأسنان، وآلام المعدة، وآلام المفاصل، وآلام الروماتويد (Ajaiyeoba & Ekundayo, 1999)، في المجلة النيجيرية للعلوم الفسيولوجية في عام (2009) أفاد الباحثون فيها إن الجرعات الكبيرة من النبات قد تشكل خطراً صحياً محتملاً على النساء الحوامل اللاتي في الأشهر الثلاثة الأولى من الحمل، ومن ناحية أخرى يمكن استخدام مستخلص لحاء ساق النبات لإعداد علاج عشبي لعلاج الأمراض الجلدية المعدية مثل الحصبة وجدري الماء، والجدري، نظرًا لخصائصه المحفزة وطعمه اللاذع فيتم مضغ بذوره عادة كمنشط لإبقاء الجسم في حالة تأهب (Sugita *et al.*,2013)، وتستخدم أوراقه في تحضير الأدوية العشبية للوقاية من الملاريا وعلاجها، ويمكن حصاد الجذور على مدار العام واستخدامها طازجة أو مجففة لاستخدامها لاحقًا و بذوره لها أيضًا تأثير منشط على الجهاز الهضمي وتقوية المعدة وتدفئتها، ويتم استخدامها للتخفيف من عسر الهضم وانتفاخ البطن والانتفاخ وتساعد على تخفيف الانزعاج في البطن بسبب المغص أو الإمساك (Ogwu *et al.*,2024)، وأشار Akindele وجماعته (2022) إلى أن النبات مضاد للفيروسات، ومضاد للالتهابات، ومعدل للمناعة ، ومكافحة أعراض كوفيد-19.

2-3: المضافات الغذائية Food Additives:

أصبح الاستهلاك البشري للوجبات الغذائية أكثر تنوعاً وأصبحت معظم البلدان تعتمد في غذائها على المواد الغذائية المصنعة التي تنتج محلياً او تستورد من بلدان أخرى، وإن غالبية هذه المواد الغذائية تحتوي على مواد مضافة لعدة أسباب؛ أما أن تساهم في الحفاظ عليها لفترة زمنية طويلة من الإنتاج حتى الاستهلاك، **أو** إضفاء النكهة والرائحة المرغوبة، أو تعطيها لوناً معيناً وغيرها من التأثيرات الإيجابية على الطعام وكل هذه العوامل تساهم بجعل هذه المنتجات مطلوبة ومرغوبة من قبل الناس Karunaratne & Pamunuwa,2017; Zhang *et al*., 2020)؛ ونتيجة لكثرة استخدام هذه المواد المضافة وكثرة أنواعها فقد أخذت مجالاً واسعاً من البحوث والدراسات للتعريف بها وبأثرها على صحة الإنسان ، لذلك عرفت منظمة الصحة العالمية WHO(2012) المضافات الغذائية بأنها المواد أو الخليط التي تضاف إلى غذاء الإنسان خلال عملية تصنيعه أو في مراحل الخزن والحفظ ، وتؤدي بشكل مباشر أو غير مباشر لتصبح مكوناً أو جزءاً من الطعام، و تكاد تخلو من أي قيمة غذائية فهي لا تستهلك كمكون غذائي بحد ذاتها وإنما تغير خواص الغذاء وتضاف إلى المواد الغذائية المصنعة أما للحفظ أو التغليف أو تحسين اللون والطعم (Sun and Wang, 2017)

يؤدي استخدام المضافات الغذائية بشكل كبير إلى تأثير سلبي وخطير على صحة الانسان لذلك اتجهت المؤسسات الصحية والمنظمات الدولية للتحري عن اثار استخدام هذه المواد وهل هي امنة بما فيه الكفاية على المدى الطويل لصحة الإنسان (Abuelgasim and Elmahdi ,2008) على الرغم من أن المواد المضافة والمواد الحافظة ضرورية لتخزين المواد الغذائية، إلا أنها يمكن أن تؤدي إلى ظهور مشاكل صحية معينة على المدى البعيد فأن تأثيرها يكون تراكمياً ولا يظهر سريعاً، ويمكن أن تسبب حساسية وحالات مختلفة مثل فرط النشاط واضطراب نقص الانتباه لدى بعض الأشخاص الذين لديهم حساسية محددة من المواد كيميائية، الأطعمة التي تحتوي على مواد مضافة يمكن أن تسبب الربو ، وردود فعل معينة مثل الطفح الجلدي، والقيء، والصداع، وضيق الصدر، والشرى، وتفاقم الأكزيما، والسرطان وغيرها(Pandey and Upadhyay,2012)، وأيضاً تنتقل هذه المواد عن طريق المشيمة للأجنة أو عن طريق الرضاعة للطفل الرضيع مما يسبب حساسية للغذاء وعدم نضوج الجهاز المناعي والعصبي للأطفال (الجساس والأمين ,2008).

2-3-1: تسمية المضافات الغذائية العالمية:

هيئة سلامة الأغذية الأوروبية عملت على توحيد أسماء المضافات الغذائية الآمنة للاستخدام تقريبًا سواء كانت طبيعية أو صناعية وذلك عن طريق أعطاء حرف (E) حيث يدل الحرف (E) على الاتحاد الأوربي تتبعه أرقام معينة، من أجل الوصول إلى هذه الحالة، يجب على المضافات الغذائية اجتياز جميع فحوصات السلامة، وتبدأ الأرقام من (E-100 -E-1999)، وقد أصبح هذا الترقيم نظاماً عالمياً يستخدم خارج أوربا لكن بدون البادئة (E)، وعندما يكون لمضاف غذائي واحد أكثر من وظيفة واحدة، فإنه يعطى رقم (E) واحد فقط، وتجعل تقنية الترقيم هذه من السهل تقسيم المواد المضافة إلى مجموعات حسب وظيفتها، وفيما يلي الفئات العامة للمضافات الغذائية وأرقامها (Wu *et al*.,2022):

1. الملونات Colors: يرمز لها (E100) إلى (E199)
2. المواد الحافظة Preservatives: يرمز لها (E200) إلى (E299)
3. منظمات الحموضة ومضادات الأكسدة:Acidity regulators andAntioxidant يرمز لها (E300) إلى (E399)
4. المواد المثخنة والمثبتة والمستحلبة Thickeners, stabilizers and emulsifiers: يرمز لها (E400) إلى (E499)
5. المواد المضادة للتكتل Anticaking agents: يرمز لها (E500) إلى (E599)
6. محسن النكهة Flavor enhancers: يرمز لها (E600) إلى (E699)
7. مضادات حيوية Antibiotics: يرمز لها (E700) إلى(E799)
8. المحليات وعوامل التزجيج Glazing agents and sweeteners: يرمز لها (E900) إلى (E999)
9. مواد كيميائية ذات أغراض مختلفة Additional chemicals: يرمز لها (E1000) إلى (E1999)

2-3-2: الملونات Colors:

حسب ما عرفته إدارة الغذاء والدواء الأمريكية(Food and Drug Administration (FADA (2010) المضافات الملونة هي أي صبغة أو لون أو مادة عند إضافتها أو وضعها على طعام أو دواء أو مستحضرات تجميل أو على جسم الإنسان تكون قادرة (وحدها أو عن طريق التفاعلات مع مواد أخرى) على نقل اللون، تُستخدم ألوان الطعام كمضافات غذائية بشكل رئيس للحصول على تأثيرات حسية أفضل وتحديدًا الرضا عن المظهر(Sezgin *et al*., 2017)، أسباب إضافة الألوان إلى الطعام متعددة، أولاً: قد يتم فقدان اللون بسبب ظروف المعالجة والتخزين للأغذية؛ وبذلك يتم إضافة ألوان الطعام لتعويض فقدان اللون، ثانياً: قد

تظهر المواد الغذائية ذات الألوان الطبيعية اختلافاً في اللون، وبذلك يتم إضافة ألوان الطعام لتصحيح هذا الاختلاف في اللون ثالثًا: يمكن إضافة ألوان الطعام لتحسين اللون الطبيعي للطعام، رابعاً: تضاف ألوان الطعام لإعطاء لون للطعام الذي لا لون له ، وبذلك فإن إجراء دراسات السمية التي تحدد التأثيرات الصحية تعد ذات أهمية كبيرة اليوم.تم تقسيم الملونات الغذائية حسب مصدرها إلى عدة أقسام هي (Solymosi *et al* 2015 ; Silva *et al.*,2022):

1- مصادر طبيعية Natural colorants:

الملونات الغذائية الطبيعية التي لا تزال تستخدم في جميع أنحاء العالم والمعروفة بفوائدها الكبيرة عند استهلاكها والمطلوبة من قبل الناس لتأثيراتها الطويلة أو القصيرة المدى فضلاً عن موثوقيتها ووظيفتها وإمكاناتها البيولوجية وتأثيراتها الصحية (Coultate and Blackburn, 2018)، أن الملونات الطبيعية أكثر أمانًا من الملونات الاصطناعية التي يعتقد أنها ضارة وهذه الملونات الطبيعية بدورها تقسم إلى(Martins *et al.*,2016):

أ- ملونات ذات مصدر حيواني Animal source dyes:

يوجد العديد من الملونات ذات الأصل الحيواني منها الصبغة الحمراء التي ينتجها فطر اسمه *Monascus Purpureus* في المنتجات التقليدية في بعض البلدان بسبب خصائصها المختلفة مثل صبغة كوشينيال ذات اللون الأحمر اللامع المعزولة من حشرة *Coccus cactus* والتي كانت تستخدم سابقا في تلوين الاغذية والمستحضرات الصيدلانية وصبغة الأرجوان الصوري والتي تحضر بالأكسدة الهوائية للإفرازات غير الملونة المعزولة لغدد حلزون البحر.

ب- ملونات ذات مصدر نباتي :plant source dyes

تشمل العديد من الملونات النباتية منها الرايبوفلافين ويرمز له بالرمز (E101) الكراميل ويرمز له بالرمز (E150)، البابريكا ويرمز له بالرمز(E160)، الزعفران ويرمز له بالرمز (E100) وغيرها من الملونات النباتية.

2- الملونات غيرالطبيعية NON-Natural colorant:

تُعرف الملونات التي لا توجد في الطبيعة بسبب التركيب الكيميائي والتي يتم الحصول عليها عن طريق التخليق الكيميائي بالملونات الاصطناعية حيث بينت دراسات اخرى منها دراسة Reilly (2008) ودراسة

Amin وجماعته (2018)، وكذلك دراسة الباحثين Pavithra و Jaikumar (2019) وجود انواع اخرى من الملونات اشتملت على:

1- ملونات معدنية Minerals sources dyes:

تحضر من المعادن ومركباتها مثل والفضة ويرمز لها (E174) وأوكسيد الحديديك الأصفر ويرمز لها (E172) وثنائي أوكسيد التيتانيوم ويرمز لها (E171).

2- ملونات صناعية Industrial sources dye : أصباغ يتم إنتاجها بطرق صناعية ولها قوة تلوين عالية حيث تعطي لوناً مميزاً عند إضافتها إلى المادة الغذائية بمفردها او بتفاعلها مع مادة اخرى، ومنها وامارانث ويرمز لها(E123)، وارثروزاين ويرمز لها (E127) فضلاً عن إلى أنواع كثيرة أخرى.

2-3-3: ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (E171) Titanium dioxide:

صنفت مادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم كمادة مضافة ملونة ساطعة البياض من قبل الاتحاد الأوربي (EFSA) يرمز له (E171) حسب اللائحة (EC) (رقم 2008/1333) صيغته الكيميائية (TiO_2) والذي يتواجد في الطبيعة فقط في شكله المؤكسد مثل (TiO_2) أو أكسيد التيتانيوم (Ti(IV بمجرد معالجته كيميائياً يصبح (TiO_2) مسحوقًا شديد البياض عديم الرائحة قليل للذوبان في المحاليل المائية ولايذوب في الدهون وصعب الذوبان في الأحماض المركزة، و للتيتانيوم ثلاثة هياكل بلورية متميزة هي: أناتاز، والروتيل، والبروكيت، ولكن يُسمح فقط بالأناتاز والروتيل باستخدامها كمضافات غذائية، يتكون (TiO_2/E171) من جسيمات دقيقة ونانوية في المواد الغذائية حيث يتراوح حجمها بين (50 - 300) نانومتر لذلك عد (E171) من ضمن الجزيئات النانوية (Peters *et al*,2014).

يستخدم ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي كمادة مضافة في العديد من المنتجات مثل المواد الغذائية (الحلوى، والأيس كريم ، ومبيض القهوة ،والعلكة، والصلصات، والأجبان وغيرها)، ومستحضرات العناية الشخصية مثل معجون الأسنان، وكريمات وقاية من الشمس، وكريمات تفتيح البشرة، وغسولات الفم وغيرها، والمستحضرات الصيدلانية المتنوعة ومواد تعبئة وتغليف المواد الغذائية والدوائية (Zhang *et al*.,2018)، ومع ذلك في عام (2021) نشرت هيئة سلامة الأغذية الأوروبية (EFSA) رأيًا يعترف بعدم اليقين الحالي فيما يتعلق بالمدى المقبول للتعرض لجزيئات ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوية الموجودة في (E171) وذكرت أن استخدام (E171) كمضاف غذائي لم يعد من الممكن اعتباره آمنا (Younes *et al*., 2021) ، ومن الجدير بالذكر أن فرنسا كانت قد قررت في وقت سابق حظر استخدام هذه المادة المضافة بشكل كامل خوفا من

أضرارها المحتملة (Cao *et al.*,2020) وفي الولايات المتحدة تنص إدارة الغذاء والدواء الأمريكي على إمكانية استخدام TiO2 كمضاف غذائي بكميات لا تتجاوز(1%) من الكتلة الإجمالية للمنتج (Heringa *et al.*, 2016).

2-3-3-1: الأثار الجانبية لثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي:

ازداد إنتاج المواد الغذائية المصنعة في السنوات الأخيرة مما زاد استخدام المواد الملونة ومنها ثنائي أوكسيد التيتانيوم (E171) والتي تساعد بتغير الخصائص البصرية لهذه المواد للأفضل مما تعمل كعامل جذب يساعد في زيادة نسبة تسويقها، وهذا بدوره يؤدي إلى ارتفاع نسبة استهلاكها مما دفع منظمات الصحة العالمية والعديد من الباحثين إلى إجراء العديد من البحوث والدراسات للوقوف على تأثيراتها على صحة الإنسان (Baranowska *et al*,2022)، وتتم إضافة جزيئاته إلى الطعام بأحجام مختلفة بما في ذلك الجزء المصنف في نطاق الجسيمات النانوية أي أقل من (100) نانومتر (Yang *et al.*,2014)، وأوضح Verleysen وجماعته (2020) في دراسته أن (12) من أصل (15) مادة (E171) أصلية تم شراؤها من الشركات المصنعة تتكون من أكثر من (50%) من جزيئاته التي يقل حجمها عن (100) نانومتر .

وفق مؤسسة مخزون المنتجات الاستهلاكية لتكنولوجيا النانو في مارس (2015) كان (1814) منتجًا قائمًا على تكنولوجيا النانو متاحًا في الأسواق العالمية، منها (117) تندرج في فئة الأغذية والمشروبات، تم تصنيع المنتجات من قبل (622) شركة تقع في (32) دولةحول العالم (Vance *et al.*,2015).

إن هذا الاستخدام المتزايد للمركبات النانوية في المنتجات الغذائية هو الذي يثير مخاوف خاصة بشأن تأثيرها المحتمل على صحة الإنسان والبيئة (Baranowska,2019; Winkler *et al.*,2018)، وخصوصاً الأطفال حيث يصل استهلاك ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي إلى (4-2) مرات أكثر من الشخص البالغ عند حسابه بالملغم / كغم من وزن الجسم يوميًا (McClements *et al.*,2016)، ونظرًا لصغر حجم الجزيئات يتم امتصاص الجسيمات النانوية بسهولة أكبر في الخلايا، حيث يمكن أن تشارك في عمليات مثل توليد أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS)، أو تعزيز الاستجابة الالتهابية، أو تغيير نقل الإشارة الخلوية، مما يؤدي إلى السمية الخلوية، والتغيرات اللاجينية، والسمية الجينية، والسمية المناعية (Shi *et al.*,2013) يرتبط استهلاك المضافات الغذائية ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بشكل متزايد باضطرابات الحاجز المعوي، بما في ذلك خلل التنسج المعوي، و قد يعطل الوظائف الطبيعية للجهاز الهضمي بما في ذلك الهضم الأنزيمي للعناصر الغذائية الأساسية (الدهون، البروتينات، أو الكربوهيدرات) (Baranowska ,2022).

تؤكد الدراسات التي أجريت في المختبر وفي الجسم الحي حتى الآن سمية ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي، بما في ذلك تغيير الدورة الخلوية، وتحفيز تقلص الأغشية النووية، وموت الخلايا المبرمج (Acar *et al.* ,2015;Coccini *et al.*,2015)، عندما تدخل جسيمات ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوية (25 - 75 نانومتر) إلى الدورة الدموية، في فئران المختبر، فإنها تترسب في الكبد والطحال، حيث تظهر فترة نصف عمر تزيد عن (30) يومًا، مما يؤدي إلى ارتفاع خطر التراكم الحيوي نظرًا للتعرض اليومي المزمن (Kreyling *et al.*, 2017; Martins *et al.*,2017 ; Shinohara *et al.*,2014)

تم العثور على زيادة في مستويات في ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي أنسجة الطحال والمبيضين لدى الجرذان، إلى جانب التغيرات النسيجة المرتبطة بالجنس في الغدة الدرقية ولب وقشرة الغدة الكظرية (الأنثى) ووظيفة الغدة الدرقية في (الذكر)، تشير إلى احتمال حدوث تأثيرات على الغدد الصماء والإنجابية بعد تناول ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (Tassinari *et al.*,2014)، تم إظهار تأثيرات سمية إنجابية وتطور أثار سمية للجسيمات النانوية لثاني أوكسيد التيتانيوم ، أدى التعرض إلى انخفاض وزن الخصية ، ومستويات هرمون التستوستيرون في الدم ،والتغيرات التشريحية المرضية ،والشذوذات في الحيوانات المنوية لدى الفئران (Karimi *et al.*,2019)، أظهرت الفئران الحوامل التي تعرضت لـ ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي تعبيرًا جينيًا متغيرًا يتعلق بموت الخلايا المبرمج، وتعطيل تطور الدماغ، والإجهاد التأكسدي لدى صغارها حديثي الولادة (Shimizu *et al.*,2009)

هناك أدلة متزايدة على أن التعرض لـ ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي يمكن أن يغير الكائنات الحية الدقيقة في أمعاء الحيوانات المختبرية مما يؤدي إلى تغيرات في درجة الحموضة القولونية ووفرة بعض البكتيريا المتعايشة، والتي بدورها يمكن أن تؤدي إلى زيادة مستويات (LPS)، مما قد يؤدي إلى زيادة معاملة بيروكسيد الدهون lipid peroxidation وزيادة كبيرة في الأجهاد التأكسدي (Chen,2019).

يمكن للجسيمات النانوية لثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي عبور حاجز الدم في الدماغ (BBB) في الجرذان والفئران وتتراكم في الدماغ، مما يؤدي إلى زيادة مستويات الإجهاد التأكسدي وأكسيد النيتريك (NO) يؤدي تراكم ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي إلى تغيرات نسيجية مرضية في الدماغ، والتهاب، وانخفاض مستويات الأسيتيل كولينستراز، وانخفاض التعبير عن علامات الالتهاب مثل استنفاد(TNF)، (وIL-6) (GSH)، وسمية ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي على الدماغ قد تزيد من خطر الإصابة بمرض باركنسون، عن طريق تدمير الخلايا العصبية الدوبامينية (Grissa *et al.*,2020; Heidari *et al.*,2019)، وكشف فحص التأثيرات السامة للقلب للجسيمات النانوية لثاني أوكسيد التيتانيوم عن تأثيراتها على الوظيفة الحركية

الوعائية، بما في ذلك زيادة ارتخاء الأوعية الدموية الناجم عن الأسيتيل كولين، وتضيق الأوعية الناجم عن السيروتونين، ومستويات النتروجليسرين (Jensen,2018b; Jensen,2018a) .

2-3-3-2: تأثير ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي على الكبد:

إن الدور الرئيس للكبد يتمثل في الحفاظ على الاستتباب الداخلي وتنظيم الوظائف الحيوية حيث يشترك في المسارات الكيميائية والبيولوجية للنمو وتوفير الطاقة ومكافحة الأمراض، وبذلك فأن المحافظة على الكبد بحالة صحية وسليمة يعد امراً ضرورياً لجسم صحي (Rouag *et al.*,2020; Ramezani *et al.*,2017)، أوضح Chen (2014) في دراسته ان جسيمات ثاني أوكسيد التيتانيوم النانوية تسببت في تسمم كبدي، بما في ذلك تورم الميتوكوندريا الواضح، بعد التعرض عن طريق الفم شبه المزمن عند تركيز (50) ملغم / كغم ، حيث أظهرت نتائج تحليل استقلاب الكبد أن 29 مستقلبًا ومسارين استقلابيين تغيروا بشكل ملحوظ في الجرذان المعرضة، كانت الغلوتامات والجلوتامين والجلوتاثيون هي المستقلبات الرئيسية التي تؤدي إلى توليد الاضطرابات الأيضية المرتبطة بالطاقة وعدم التوازن بين المؤكسدات ومضادات الأكسدة وايضا أظهر تحليل تسلسل الحمض النووي الريبوزي (S16) أن تنوع الكائنات الحية الدقيقة في الأمعاء لدى الفئران اختلف بطريقة تعتمد على الجرعة حيث زادت وفرة *Lactobacillus_reuteri* وانخفضت وفرة *Romboutsia* بشكل ملحوظ في براز الجرذان المعرضة لـ TiO2 NPs، مما أدى إلى تغييرات في الوظيفة الأيضية لميكروبات الأمعاء، وأيضا زادت نسبة عديدات السكاريد الدهنية (LPS) التي تنتجها الكائنات الحية الدقيقة في الأمعاء بشكل ملحوظ، وهو ما قد يكون عاملاً رئيسيًا في تأثيرات الكبد اللاحقة . وفي دراسة أخرى أوضح Cui وجماعته (2012) قد يكون الكبد هو العضو الأكثر حساسية للسمية الناجمة عن ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي عن طريق التعرض عن طريق الفم؛ وذلك بسبب الاليات الجزيئية لجينات متعددة تعمل معا والتي تكمن وراء إصابة الكبد وهي ناجمه عن تراكم جزيئات TiO2 NPsفي نوى الخلايا الكبدية، والاستجابة الالتهابية وموت الخلايا المبرمج، وخلل في وظائف الكبد.

أظهرت دراسة للسمية الحادة أن الكبد قد يكون العضو المستهدف للتسمم الناجم عن ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي، فقد لوحظ تغير كبيراً في مستوى الإنزيمات الكبدية والتشريح المرضي للكبد عند تناول جرعة فموية عالية من ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي ان التراكم العالي لـ ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في أنسجة الكبد يسبب تلف الحمض النووي وموت الخلايا المبرمج عن طريق المسار الداخلي وهو الآلية السامة الرئيسية (Duan *et al.*,2010)، من الناحية النظرية يمكن أن تحفز جزيئات ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي التسمم الكبدي عن طريق مسارات مباشرة وغير مباشرة، حيث يشير المسار المباشر إلى تراكم ثنائي أوكسيد

التيتانيوم النانوي في الكبد بعد امتصاصه عن طريق الجهاز الهضمي، مما يؤدي إلى إضعاف أنسجة الكبد مباشرة، حيث يمكن نقلها إلى الكبد والطحال والكلى والرئة والدماغ في الفئران بعد التعرض الحاد لجرعة عالية جدًا تبلغ (5) غم / كغم (Zhang *et al*.,2010).

2-3-3-2: تأثير ثنائي أوكسيد التيتانيوم E171 على الكلى:

الكلى هي أحد الأعضاء الحيوية في الجسم وتخرج فضلات الجسم والأدوية عن طريق خلايا عالية التخصص موجودة في النيفرونات الكلوية، ويمكن أن تتغير وظائفها؛ بسبب العديد من الملوثات البيئية والمواد الكيميائية والأدوية (Adikwu *et al*.,2013).

أظهرت بعض الدراسات السابقة أن جسيمات ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي لها آثار صحية ضارة محتملة بعد دخولها الجسم، إذ تتسبب ببدأ آليات التهابية في الخلايا، وموت الخلايا المبرمج، وتولد الجذور الحرة للأكسجين التي تدمر النواة والحامض النووي، وكذلك تغييرات عديدة في وظائف الخلايا (Kang *et al*.,2009)، بينما اقترح Gui وجماعته (2015) أن جسيمات ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي تسبب التهابًا في الكلى، مما يؤدي إلى تنخر الأنسجة، واختلال تنظيم الأنابيب الكلوية، وإنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS).

قام Al-Rasheedوجماعته (2013) بدراسة التأثيرات السامة للجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم في كلى الجرذان، فقد أظهرت النتائج أن الجرعات المتكررة من ثنائي أوكسيد التيتانيوم للفئران (600 ملغم / كغم أو 1 غم / كغم)، تزيد بشكل ملحوظ من المؤشرات الحيوية لوظائف الكلى (اليوريا والكرياتينين، وحامض البوليك)، وكشف تأثيرات ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في الكلى أن جسيماته كانت مخزنة في خلايا الكلى وتسببت في تغيرات مرضية وسمية على شكل التهاب في كبيبات الكلى.

2-4: تقنية النانوNanotechnology:

تعد تقنية النانو واحدة من أكثر التقنيات الواعدة في القرن الحادي والعشرين، تمثل القدرة على تحويل نظرية علم النانو إلى تطبيقات مفيدة عن طريق المراقبة والقياس والمعالجة والتجميع والتحكم وتصنيع المادة على مقياس النانومتر، وقد عرفت الجمعية الوطنية لتقنية النانو في الولايات المتحدة تقنية النانو بأنها علم وهندسة وتكنولوجيا يتم إجراؤها على مقياس النانو من (1- 100) نانومتر، إذ تتيح الظواهر الفريدة تطبيقات جديدة في مجموعة واسعة من المجالات، من الأحياء إلى الطب، والكيمياء والفيزياء والهندسة والإلكترونيات (National Nanotechnology Initiative,2019).

النانو Nanos كلمة مشتقة من اللغة اليونانية وتعني القزم أو الصغير جداً (10^{-9}m)، وهنا يجب أن نفرق بين علم النانو وتكنولوجيا النانو، فعلم النانو هو تقارب بين الفيزياء وعلوم المواد والبيولوجيا والتي تتعامل مع معالجة المواد على المستوى الذري والجزيئي أو بمعنى أخر دراسة الهياكل والجزيئات بمقاييس نانومترية تتراوح بين (1 - 100) نانومتر، أما تقنية النانو هي القدرة على مراقبة وقياس المادة ومعالجتها وتجميعها والتحكم فيها وتصنيعها على مقياس النانومتر أو الأجهزة والمعدات التي تستخدم في التطبيقات العملية لعلم النانو ، للمواد النانوية خصائص كيميائية وتأثيرات حيوية شديدة التمييز، مثل حجم ذراتها المتناهي الصغر، والقدرة على التبادل الألكتروني، وتوفر مساحة سطحية واسعة للتفاعل، وهذه الدقائق النانوية يمكنها أختراق جدران الخلايا والأنسجة بسهولة والتفاعل مع مكوناتها (Anjum *et al.*,2020)

تقنية النانو من أهم التقنيات المستقبلية الواعدة في الطب النانوي لاستحداث اختراعات دوائية تغير الأساليب القديمة لعلاج العديد من الأمراض لحياة صحية أفضل للبشر(Modi *et at.*,2022) ، لقد أدت التطورات الأخيرة في مجال الطب النانوي إلى ابتكارات مهمة، بما في ذلك الطب النانوي القائم على المنتجات الطبيعية، ونقاط الكربون، والروبوتات النانوية، والليبوزومات، والجسيمات النانوية القائمة على المعادن. كل من هذه التطورات تجلب خصائص فريدة من نوعها تعمل على تعزيز توصيل الدواء، والاستهداف، والفعالية العلاجية الشاملة (Singh *et al.*, 2024)، وقد أبدى الباحثين والعلماء اهتمامًا كبيرًا بخصائصها الفريدة، ووجدوا أن لها تطبيقات متميزة في مجالات مختلفة، لكن العديد من المواد الجسيمية النانوية كشفت عن تأثراتها السمية، وللتغلب على هذه المشكلة، فقد تم مؤخرا دمج تكنولوجيا النانو والكيمياء الخضراء لتصنيع جسيمات نانوية صديقة للطبيعة عبر النباتات والميكروبات وما إلى ذلك (Adelere *and* Lateef, 2016).

تدخل المواد النانوية في مجالات مختلفة مثل الهندسة الطب البيئة وغيرها حيث تعتمد على طريقة تصنيعها أذا كانت فيزيائية، كيميائية أو حيوية (التخليق الأخضر)، و لوحظ ان لأول طريقتين أثار ضارة غير مقصودة على البيئة واستهلاك الطاقة، وقد يؤدي إلى التسبب بأمراض خطيرة للإنسان مثل السرطان الناتج عن استخدام مواد المذيبات العضوية (Gupta and Xie,2018)؛ لذلك توجه العلماء حديثا لاستخدام التخليق الحيوي (الأخضر) للجسيمات النانوية باستخدام والفطريات، والنبات، والبكتريا وغيرها (Zhang *et al.*, 2020) فهي تقلل استهلاك الطاقة وأقل تكلفة وأقل تلوثا للبيئة وأكثر اماناً على صحة الأنسان والبيئة (Ying *et al.*,2022).

2-4-1: التخليق الحيوي للجسيمات النانوية Biosynthesis of nanoparticles:

يعد نهج تكنولوجيا النانو الخضراء مجالًا واعدًا لتكنولوجيا النانو من خلال توفر موارد غير مهددة للبيئة مثل الخلايا السليمة، ويتم استخدام المستخلصات النشطة بيولوجيًا والمشتقة من النباتات الخضراء والحيوانات أو مستقبلات الكائنات الحية الدقيقة في التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية ذات الأصل المعدني (Singh *et al.*,2018; Lateef *et al.*,2019).

يوفر التخليق الأخضر بديلاً مستدامًا وفعالاً من حيث التكلفة وصديقًا للبيئة، يستخدم هذا النهج الموارد الطبيعية والمركبات النشطة بيولوجيًا التي يمكن أن تعمل كعوامل اختزال أو تثبيت أو تحديد سقف في تركيب الجسيمات النانوية في خطوة واحدة إذ يقدم العديد من المزايا، بما في ذلك تطوير العمليات ذات التأثير البيئي الأدنى وتحسين السلامة لتخليق الجسيمات النانوية (Álvarez and Arenas,2023).

تعرف النباتات بأنها مصانع كيميائية طبيعية تتميز بالكفاءة العالية من حيث الكلفة الواطئة والفعالية العالية والصيانة القليلة. وقد كشفت النباتات عن إمكانات رائعة في إزالة سموم المعادن الثقيلة وتراكمها الذي يمكن عن طريقه التغلب على مشكلة الملوثات البيئية (Shahid *et al.*,2017) وتمتاز عملية تصنيع الجسيمات النانوية من أجزاء مختلفة من النباتات كالجذور والأوراق والبذور وغيرها بكونها سهلة التصنيع وبسيطة ورخيصة أكثر من تصنيعها من كائنات حية أخرى مثل الكائنات الدقيقة التي تحتاج إلى أوساط معينة لتنميتها وتحت ظروف محددة ، وأيضا لا تسبب الأمراض مقارنة مع الأحياء الدقيقة ويمكن التنبئ بمساراتها الحيوية بسهولة وبدقة وبذلك فأن الجسيمات النانوية الناتجة عنها تمتاز بكونها ذات استقراريه عالية (Zhang *et al.*,2020).

يعد استخدام الأنواع النباتية أو الطحالب أو الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا أو الفطريات أحد الموارد الأكثر استخدامًا لهذا الإجراء، إذ تؤدي مركبات مختلفة من النباتات أو الكائنات الحية الدقيقة، بما في ذلك التربينات، والبولي فينول ، و القلويدات ، والكربوهيدرات ، والبروتينات والمواد الوراثية ، دورًا مهمًا في تخليق الجسيمات النانوية عن طريق العمل معًا في تثبيت الجسيمات المعدنية النانوية (Hebbalalu *et al.*,2013)، حيث يستخدم العديد من المعادن في تحضيرها مثل الذهب والفضة والزنك وغيرها(Hu and Xianyu,2021)، فضلاً عن الموارد البيولوجية المستخدمة لإجراء عملية التخليق الأخضر(النباتات أو الطحالب أو الكائنات الحية الدقيقة)، هناك عوامل أخرى تؤثر على شكل وحجم الجسيمات النانوية، مثل تركيز أيون المعدن ودرجة الحامضية، ووقت التفاعل، ودرجة الحرارة (Agarwal *et*

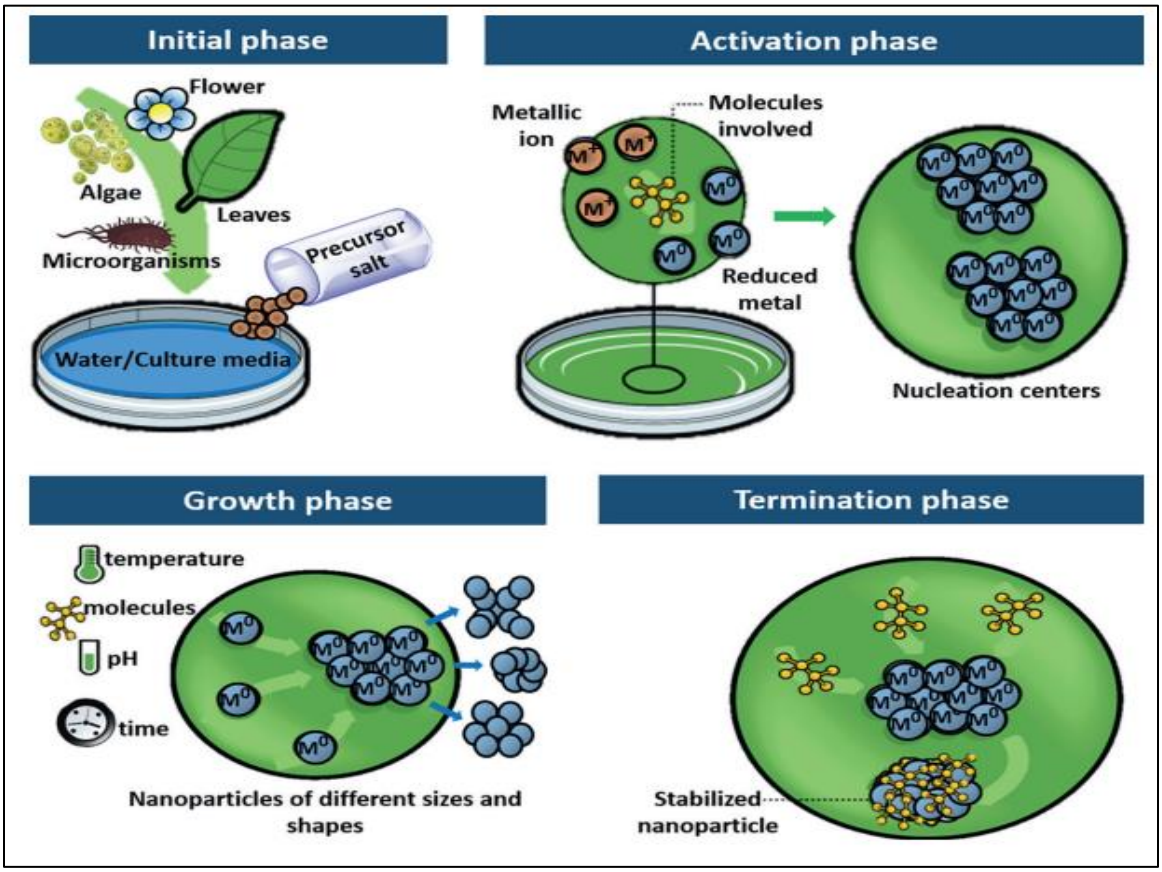
(*al*.,2017) ، بشكل عام التخليق الأخضر للجسيمات النانوية يمر بعدة مراحل شكل (2-2) (2014, Makarov):

1- المرحلة الأولية Initial phase: الحصول على وسط التفاعل وهو المستخلص المائي لجزء أو عدة أجزاء من الأنواع النباتية أو وسط الاستزراع لنمو الكائنات الحية الدقيقة، فضلاً عن الملح الأولي وهو مصدر المعدن (الأيونات).

2- مرحلة التنشيط Activation phase: يحدث الاختزال الكيميائي لأيونات المعادن وتوليد مراكز النواة حيث تظهر وتنمو الجسيمات النانوية.

3- مرحلة ال نموGrowth phase: تندمج الجسيمات النانوية الصغيرة المتجاورة تلقائيًا لتشكل جزيئات أكبر، وتشكل مجاميع تتأثر بعوامل مثل درجة الحرارة، والتركيز، ونوع المركبات، ودرجة الحامضية، وزمن التفاعل.

4- مرحلة الإنهاء Termination phase: يتم تحديد الشكل النهائي للجسيمات النانوية، وتساعد المركبات التي تشارك في التفاعل على الاستقرار والتحرر.



شكل (2-2) يمثل مراحل التخليق الأخضر للجسيمات النانوية (Makarov,2014)

إن للتطبيقات المتعددة للجسيمات النانوية في مختلف المجالات التقنية، فقد تم التركيز في العقد الماضي على إجراء بحث شامل في جسيمات أكسيد المعادن النانوية (Altavilla and Ciliberto ,2011)، ومن بين هذه المواد ذات الفوائد المتعددة الأوجه، تعد جسيمات الزنك النانوية مواد غير عضوية مثيرة، و يمكن استخدام هذه الجسيمات في قطاعات مختلفة، مثل تغليف الأطعمة الحفاظ على الطاقة، والمنسوجات، والإلكترونيات، والرعاية الصحية، والتحفيز الكيميائي، ومستحضرات التجميل، وأشباه الموصلات، والاستشعار الكيميائي (Al-Naamani *et al* ,2016;Sankapal *et al*.,2016 ;Hatamie *et al*,2015)، وجسيماته غير سامة ومتوافقة حيويًا وتعرض تطبيقات طبية حيوية ممتازة، مثل مضادات السرطان (Mishra *et al*.,2017)، ومضادة للالتهابات (Nagajyothi *et al*.,2015)، وفي توصيل الأدوية المستهدفة (Chandrakala *et al*.,2022)، والتئام الجروح وخصائص مضادة للميكروبات (Gutha *et al*.,2017)، والتصوير الحيوي (Lai *et al*.,2016)، وقد أوضح Faisal وجماعته (2021) سابقًا بعض الخصائص البيولوجية المتنوعة للتخليق الأخضر لـ جسيمات الزنك النانوية، مثل تأثير مضادات الميكروبات، ومضاد للسكري ومضادات اليرقات، وبروتين كاينيز، والأنشطة المضادة للسرطان وغيرها .

2-4-2: التطبيقات الحيوية للجسيمات النانوية:

أحد أكثر تطبيقات تكنولوجيا النانو شهرة هو توصيل الأدوية المستهدفة إلى خلايا محددة ولإمكانيتها في نقل الدواء مباشرة إلى المنطقة المصابة، إذ يمكن تقليل استهلاك الدواء إلى الحد الأدنى، وهذا يقلل أيضًا من الآثار الجانبية الناجمة عن الأدوية (Blanco *et al*.,2015)، ويركز توصيل الدواء على زيادة التوافر البيولوجي إلى أقصى حد في موقع محدد في الجسم، كما يزيد أيضًا من توافر الدواء خلال فترة زمنية معينة (Cai *et al*.,2016)، و يمكن استخدام الأجهزة ذات الهندسة النانوية لتحقيق ذلك؛ لقدرتها على استهداف الجزيئات الفردية، وتقدم الأجهزة ذات الحجم النانوي مزايا مختلفة مثل التدخل الجراحي الأقل، والتفاعلات الكيميائية الحيوية السريعة، وإمكانية زرعها داخل الجسم، وهذه الأجهزة أسرع وأكثر فعالية بكثير من ممارسات توصيل الأدوية التقليدية وتعتمد كفاءة الطب النانوي على (أ) تغليف الدواء بكفاءة (ب) النقل الناجح للدواء إلى موقع محدد (ج) الإطلاق الفعال للدواء (Mitchell *et al*.,2021) ، ومن التطبيقات المهمة لتكنلوجيا النانو التي تعمل على تحسين جوانب مختلفة من حياة الأنسان تم استخدام تقنية النانو لتحسين البيئة وإنتاج طاقة أكثر كفاءة وفعالية من حيث التكلفة، مثل توليد قدر أقل من التلوث أثناء تصنيع المواد، وإنتاج الخلايا الشمسية التي تولد الكهرباء بتكلفة تنافسية، وتنظيف المواد الكيميائية العضوية الملوثة للمياه الجوفية، وتنظيف المركبات العضوية المتطايرة في الهواء (Bayda *etal*.,2019)، وصناعة الإلكترونيات ومجال

صناعة الأغذية واستعمال المواد النانوية لإنتاج النظارات الواقية من أشعة الشمس لتعزيز كفاءة والعمر القياسي لزجاج العدسات (Nasrollahzadeh *et al.*,2019).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3. المواد وطرائق العمل Materials and Methods:

3-1. الأجهزة والمواد الكيميائية المستعملة:

3-1-1. المواد الكيميائية المستعملة:

في الدراسة الحالية استعمل العديد من المواد الكيمياوية المختلفة تم الحصول على بعضها جاهزة بشكل عدة قياس Standard Kits وكما موضحة في جدول (3-1).

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

ت	أسم العدة والمادة	الشركة	المنشأ
1	استات الزنك	Cdhfinechemical	الهند
2	ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (Titanium dioxide NP)	Armina	ايران
3	زايليين (Xylene)	Scharlau	ايطاليا
4	شمع البرافين (Paraffen wax)	Histo – line	الهند
5	صبغة الأيوسين (Eosin) $C_{20}H_6Br_4Na_2O_6$	BDH	بريطانيا
6	صبغة الهيماتوكسلين (Hematoxylin)	BDH	بريطانيا
7	عدة قياس اليوريا Urea	Randox	بريطانية
8	عدة قياس الكرياتنين Creatinine	Linear chemicals	أسبانيا
9	عدة قياس الكوليستيرول Cholesterol kit	Bio Merieux AS,	فرنسا
10	عدة قياس البروتين الدهني عالي الكثافة HDL- cholesterol kit وعدة قياس البروتين الدهني واطئ الكثافة	Bio Merieux AS,	فرنسا
11	عدة قياس الانزيمات الناقلة للامين AST, ALT kit	Giesse	ايطاليا

12	عدة قياس الفوسفاتيز القاعدي ALP kit	Giesse	ايطاليا
13	عدة قياس معايير الاكسدةMDA، SOD، CAT	Giesse	بريطانيا
14	فورمالين مختبري (Formalin)	BDH	بريطانيا
15	كحول إيثانول مطلق	Scharlau	المانيا
16	كحول إيثانول صناعي		محلي الصنع
17	كلوروفورم Chloroform	BDH, Chem, Ltd, Pool	بريطانيا
18	محلول التحميل (D.P.X)	Thomas Baker	ايطاليا
	كحول اثيلي مطلق		محلي الصنع
	شب البوتاسيوم AIK(SO4)2.12H2O أو شب الأمونيا NH4AI(SO4)2.12H2O		ايران
	حامض الخليك الثلجي (Glacial Acetic acid)		ايران
	أوكسيد الزئبقيك الأحمر((Red Mercuric oxide		ايران
	حامض الخليك الثلجي(Glacial Acetic acid)		مصر

3-1-2. الأجهزة المستعملة:

الجدول (3-2) الأجهزة المستعملة تبعاً لأسم الشركة والمنشأ:

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

ت	أسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
1	ثلاجة Refrigerator	Concord	فرنسا
2	حاضنة هزازةshaker incubat	PEAK	ايطاليا

3	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	Lab – Tech	كوريا
4	جهاز الحمام المائي Water Path	Lab – Tech	كوريا
5	جهاز المشراح الدوار Microtome	Histo – line	ايطاليا
6	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer	Apple 303	اليابان
7	صفيحة ساخنة Hot Plate	Lab – Tech	كوريا
8	طاحونة Blende	Hermile	المانيا
9	فرن كهربائي Electric Oven	Lab – Tech	كوريا
10	كاميرا رقميةDigital Camera	PMPHD 60 f	اليابان
11	محرك مغناطيسي Magnatic stirrer	National	المانيا
12	مجهر ضوئي مركب Compound Light Microscope	Human	ألمانيا
13	ميزان balanc	SGS	الصين
14	ميزان الكتروني حساس Sensitive Balance	Sartorius	ألمانيا

3-1-3. الأدوات المستعملة:

جدول (3-3) الأدوات المستعملة تبعا لأسم الشركة والمنشأ

ت	الأدوات	الشركة المصنعة	المنشأ
1	أداة تجريع Gavage	Oxford	امريكا
3	أنابيب شعريةCapillary tubes	Mheco	الصين
4	Gel tube	AFCO-Dispo	اردن
5	انابيب حفظ الامصال Eppendrof Tubes	Lab-Tech	الصين
6	اغطية شرائح زجاجية cover slides	Sail Brand	الصين
7	أوُراق ترشيح Filter paper	Sail Brand	الصين
	جار تصبيغ زجاجي Staining Gar	محلي	محلي
8	زجاجيات مختلفةPyrex	Volac	انكلترا
9	سيت تشريح Anatomy set	S.I.E.	باكستان
	سلة جار تصبيغ Basket Staining Gar	Harshman	المانيا
10	شرائح زجاجية Slides	Sail Brand	الصين
11	قطن طبيMedical cotton	Kardelen Hidrophile Pamuk	تركيا
12	محاقن طبية Disposable syringes	Enteplin	مصر
	محرار رقمي	Gallenkamp	انكليزي

3-2: حيوانات التجربة Experimental Animals

استخدمت في هذه الدراسة 36 من ذكور الجرذان البيض البالغة نوع (*Ratuss norvegicus*) التي تراوحت أوزانها (180-300) غرام، وأعمارها 10اسابيع ، تم تربيتها في البيت الحيواني التابع لكلية الصيدلة / جامعة كربلاء للفترة من ايلول سنة (2023) لغاية تشرين الثاني سنة (2023)، وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية خاصة مغطاة بأغطية معدنية، فرشت أرضيتها بنشارة الخشب الناعمة وتمت العناية بنظافة الأقفاص وتبديل الأرضية باستمرار وتعقيمها بالمطهرات وكذلك العناية المستمرة بنظافة قناني الإرواء وغرفة الإيواء، كما خضعت جميع حيوانات التجربة إلى ظروف مختبريه ملائمة من درجة حرارة (25) درجة مئوية، ومدة الإضاءة (12ساعة ضوء -12 ساعة ظلام) وتهوية مناسبة ، زودت الحيوانات بالماء والعليقة الخاصة التي تم شراءها من الأسواق الحرة بصورة حرة (*Ad libitum*) طيلة مدة البحث، وتركت الحيوانات لفترة اسبوعين للتكيف مع الظروف قبل اجراء التجربة وللتأكد من خلوها من الامراض.

3-3: جمع النبات المستخدم، تشخيصه، وتحضير المستخلص المائي:

تم شراء بذور نبات تين الفيل المجففة من السوق المحلية في السودان وتم إيصالها للعراق عن طريق شركات النقل، وشخصت في قسم علوم الحياة – كلية التربية الصرفة- جامعة كربلاء، اذ تم غسلها بماء الصنبور لإزالة الغبار والأوساخ، وتركت لتجف لفترة سبعة أيام في درجة حرارة الغرفة، وبعد التجفيف تم تحضير المستخلص المائي للنبات حسب طريقة Adefegha وجماعته (2016)، وبعد التجفيف تم طحنها بالمطحنة الكهربائية للحصول على مسحوق خشن يستخدم في الاستخلاص، وتم تحضير المستخلص المائي للنبات بنقع (100) غم من مسحوق البذور المطحونة في (250) مل من الماء المقطر لفترة (24) ساعة بعدها تم تبخير المادة المرشحة ثم جففت في فرن عند (40) درجة مئوية لإنتاج بقايا صفراء داكنة، بعدها اعطي المستخلص عن طريق الفم باستعمال محقنة طبية سعة (5) مل مزودة بأنبوبة إعطاء معدة لهذا الغرض .

3-3-1. تشـــخيص المركبات الكيميائية للمســـتخلص المائي لنبات تين الفيل بتقنية GC-MS:

تم فصل وتشخيص المركبات الفعالة في المستخلص المائي لبذور تين الفيل كيميائياً بواسطة جهاز كروموتكرافيا الغاز –مطياف الكتلة Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC-MS) في وزارة العلوم والتكنولوجيا حسب طريقة Agim وجماعته (2017)، إذ حُلل المستخلص المائي لبذور النبات بواسطة جهاز (GC-MS) اذ يرتبط جهاز كروماتوغرافيا الغاز GC بجهاز الطيف الكتلي MS الموضح في صورة (1-3) ووفقا للظروف الأتية:

1- عمود الفصل الشعري capillary column نوع Eliter-1 fused silica والذي سجل ابعاده (30m length X 250Mm inner diameter X 0.25Mm film thickness) والمكون من Dimethyle Polysiloxane 100% والذي يعمل ككاشف لقنص الإلكترون.

2- استعمل غاز الهيليوم (99.99%) كغاز ناقل بسرعة جريان ثابتة 1.46 مل/ دقيقة.

3- حقن الجهاز بما يقارب اثنان مايكرو لتر من المستخلص الايثانولي وبنسبة انقسام (1:10).

4- برمجة درجة حرارة إلى (200) درجة مئوية للحاقن، و(200) درجة مئوية للمصدر الأيوني.

5- تم برمجة درجة حرارة الفرن على (80) درجة مئوية لمدة دقيقتين، وبزيادة تصل إلى (10) درجات مئوية لكل دقيقة إلى أن تصل إلى (300) درجة مئوية لمدة (10) دقائق لحين النهاية.

6- نفذ طيف الكتلة بفولتية (70) بفاصل زمني للفحص مقداره (0.5) ثانية وبمعدل إنشطار من (40) إلى (450) دالتون.

7- الضغط داخل ال جهاز 93311. psi.

8- الوقت المحتسب لبدء تشغيل الجهاز وانتهاءه للعينة هو (32) دقيقة.

استعمال برنامج TurboMass بنسخته 5.2.0 المثبت على الجهاز لحساب ناتج الطيف الكتلي لكل مركب كمقدار نسبي لمتوسط مساحة قمته Peak Area على أجمالي المساحات Total area وكل هذه المعلومات تبرمج بشكل مباشر على الجهاز للعينة النباتية قيد الدراسة.

صورة رقم (1-3) صورة لجهاز كروماتوغرافيا الغاز- مطياف الكتلة
Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC-MS)

2-3-3: تحضير المستخلص النانوي للنبات:

حضر المستخلص النانوي عن طريق إضافة (1) غم من زنك استات إلى (50) مل من الماء المفرغ الايونات لتحضير تركيز(0.02) مولاري، ومن ثم تقطير (1) غم من المستخلص المائي لبذور تين الفيل ، مع تحريك المزيج بواسطة المحرك المغناطيسي Magnetic stirrer وبدرجة حرارة الغرفة لفترة (24) ساعة، وبعد ذلك وضع المزيج في الحاضنة الهزازة Shaker incubator عند درجة حرارة (70) مئوية ولفترة ساعتين، ومن ثم فصل الراسب بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة (5000) دورة ولفترة (20) دقيقة، وبعدها تم الغسل بالماء المفرغ ايونيا عدة مرات، وجفف الراسب بالفرن الكهربائي عند درجة حرارة (200) مئوية لمدة ساعتين ينتج عنه مسحوق اصفر اللون ، وبعدها يتم طحنه بالطاحونة الكهربائية للحصول على مسحوق ناعم ، يحفظ في الثلاجة لحين استخدامه صورة (2-3) (Ramzan *et al*.2022).

صورة (2-3) (A) بذور نبات تين الفيل (B) المستخلص المائي (C) المستخلص النانوي

3-3-3: تشخيص المستخلص النانوي:

تم استعمال ثلاث طرق للتأكد من التخليق الحيوي للمستخلص النانوي من بذور نبات تين الفيل وهي مجهر القوة الذرية Atomic Force Microscopie (AFM)، وتحليل طيف الاشعة تحت الحمراء infrared spectroscopy Fourier transform(FTIR)، والمجهر الألكتروني الماسح Scanning Electron Microscope (SEM).

3-3-3-1: تقنيات المجهرالالكتروني Electron microscopic:

3-3-3-1-1: مجهر القوة الذرية Atomic Force Microscopie (AFM):

تم فحص المستخلص النانوي لنبات تين الفيل باستعمال مجهر القوة الذرية (AFM)، وهو جهاز تحليلي له القدرة على تحديد الهياكل السطحية التي تمتلك دقة مكانية عالية، يتم استخدام هذه التقنية عند قياس العينات ذات الأسطح المسطحة ذرياً للحصول على صور ذات مقياس ذري (Venkateshaiah *et al.*, 2020)، تم فحص المستخلص بعد تحميله على مركب أوكسيد الزنك النانوي وقياس خشونة السطح، واقطار، واحجام، وتجمعات الجسيمات النانوية، إذ تم ارسال النماذج إلى الجمهورية الإسلامية الإيرانية لغرض فحصها لتحديد شكل وحجم الجسيمات النانوية، من أجل تحديد شكل وحجم الجسيمات، تم وضع طبقة رقيقة للغاية من الجسيمات النانوية على شريحة زجاجية بإسقاط 100 مايكروليترمن العينة على الشريحة، وتم السماح لها بالجفاف لفترة (5) دقائق، ثم تم مسح الشرائح ضوئياً بأستعمال (AFM).

3-3-3-1-2: المجهر الالكتروني الماسح Scanning Electron Microscope (SEM):

لمعرفة أشكال وأحجام واقطار جسيمات أوكسيد الزنك النانوي المحمل عليها المستخلص المائي لنبات تين الفيل تم استعمال مجهر الالكتروني الماسح الذي يستخدم في تحليل أجسام الجسيمات المختلفة، وتوزيع حجومها، والتشكل السطحي، والأشكال النانوية للجسيمات المتكونة ، كما توفر معلومات كافية عن نقاء ودرجة تجمع أو تكتل الجسيمات (Zhang *et al.*, 2016)، إذ تم إسقاط 100 مايكرو لتر من العينة على شريحة زجاجية، وبعدها تركت لتجف لفترة (5) دقائق من أجل تكوين طبقة رقيقة، وبعدها يتم ارسال حزمة من الالكترونات إلى العينة لغرض اظهار شكل وحجم الجسيمات النانوية.

3-3-3-1-3: تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء(FTIR) infrared spectroscopy Fourier transform:

استعمل هذا الفحص لغرض تحديد المجاميع الفعالة في المستخلص النباتي، وتعد هذه المجاميع الفعالة كمواد مغلفة ومختزلة ومثبتة لجسيمات أوكسيد الزنك النانوي، وحضرت النماذج عن طريق ترسيب قطرة من النموذج على شريحة زجاجية، وتجفف بدرجة حرارة (60) مئوية في داخل الفرن الكهربائي لفترة (30) دقيقة ثم تحضر على شكل عجينة مع مادة سائلة عالية اللزوجة مثل زيت البرافين النوجول (Nujol)، وتوضع كمية بسيطة من هذه العجينة بين القرصين من بروميد البوتاسيوم (KBr) لتكون طبقة رقيقة جداً، وتفحص بجهاز طيف الاشعة الحمراء وحسب طريقة (Bobbu *et al.*; 2016).

3-4. حساب جرعة مادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي:

أستخدم في هذه الدراسة مادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في تجريع الفموي للحيوانات صورة (3-3)، اذ أعطيت بتركيز مقداره 100 ملغم/كغم من وزن الجسم، تم اعتماد هذه الجرعة بالاستناد على دراسة Javaheri وجماعته (2023)، أعطيت هذه المادة عن طريق التجريع الفموي بواسطة سرنج حجم (5) مل مزودة في نهايتها بانبوب تجريع Gavage يتم إدخاله إلى داخل منطقة البلعوم، ومن ثم حقن المادة لضمان وصولها كاملة إلى معدة الحيوان مع مراعاة أن يتم إعطاء تلك المادة بعد الغذاء بفترة اربع ساعات لضمان عدم تقيأ الحيوان اثناء الاعطاء، واستمرت عملية الاعطاء لفترة (30) يوماً.

صورة(3-3) مادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي

3-5 تصميم التجربة Design Experience:

التجربة الأولى:

استعمل في التجربة الأولى 24 جرذا ذكرا بالغا(250-200)غرام قسمت الى اربع مجاميع متساوية وعوملت بمعاملات مختلفة لمدة 30يوما وكما يلي :

1- مجموعة السيطرة تركت بدون معاملة .

2- مجموعة سيطرة موجبة : جرعت فمويا بمستخلص النانوي لنبات تين الفيل بتركيز بتركيز (50) ملغم /كغم من وزن الجسم .

3- مجموعة وقائية الأولى : جرعت فمويا بمستخلص النانوي لنبات تين الفيل بتركيز (75)ملغم /كغم من وزن الجسم ،ثم جرعت بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100)ملغم /كغم من وزن الجسم بعد اربع ساعات من المعاملة الاولى.

4- مجموعة وقائية ثانية : جرعت فمويا بمستخلص المائي لنبات تين الفيل بتركيز (100)ملغم /كغم من وزن الجسم ،ثم جرعت بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100)ملغم /كغم من وزن الجسم بعد اربع ساعات من المعاملة الاولى.

التجربة الثانية:

استخدمت في التجربة (36) من ذكور الجرذ الأبيض وقسمت عشوائياً إلى ست مجاميع تضم كل مجموعة ستة حيوانات مع مراعاة الأوزان وعلى النحو التالي:

1- المجموعة الأولى (G1): ضمت (6) حيوانات جرعت فموياً بماء حنفية.

2- المجموعة الثانية (G2): ضمت (6) حيوانات جرعت فموياً بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بجرعة مقدارها (100) ملغم/كغم من وزن الجسم يوميا ولفترة (30) يوماً وعدت مجموعة سيطرة موجبة.

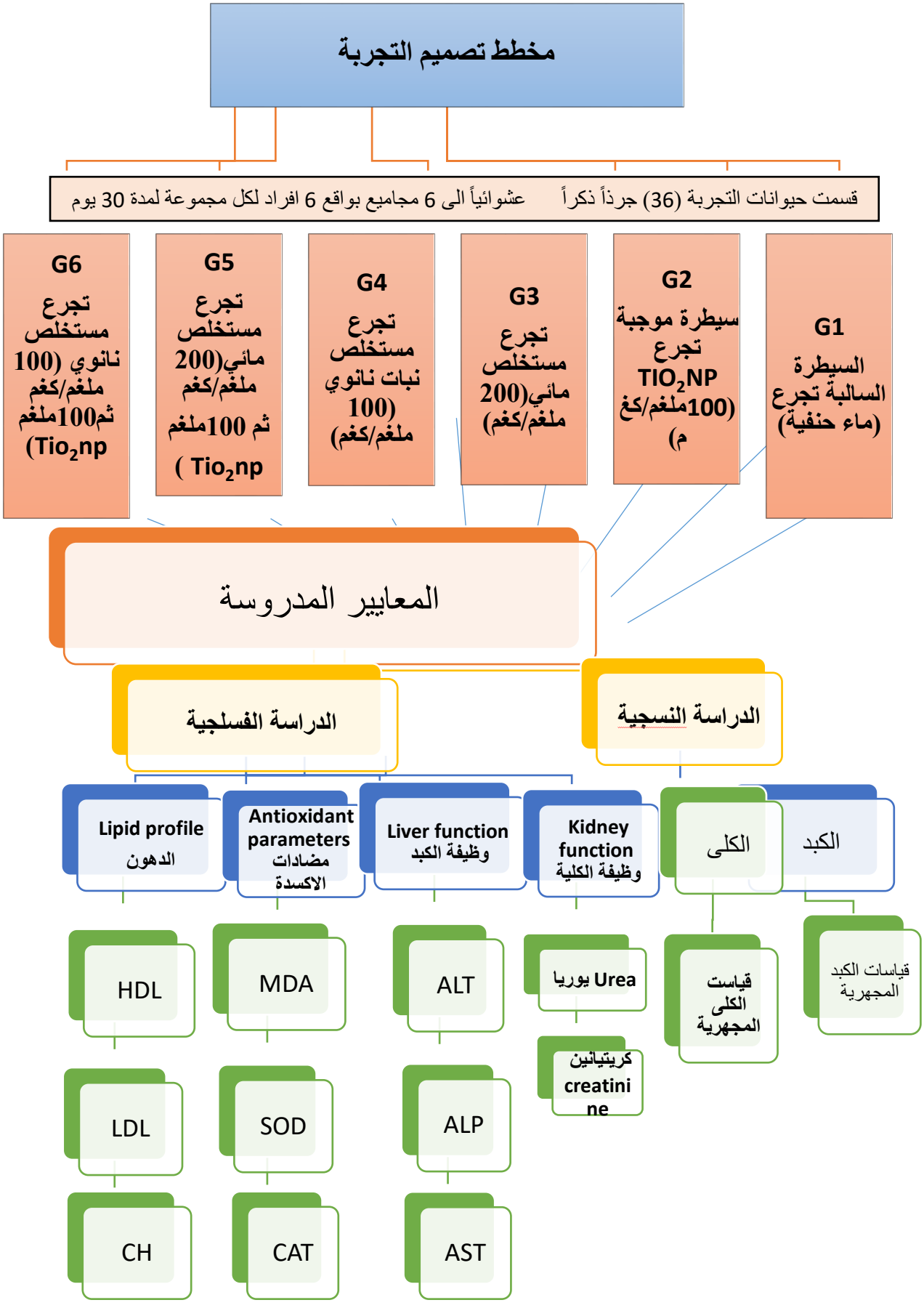
3- المجموعة الثالثة (G3): ضمت (6) حيوانات جرعت بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز (200) ملغم/كغم من وزن الجسم ولفترة (30) يوماً.

4- المجموعة الرابعة (G4): ضمت (6) حيوانات جرعت بالمستخلص النانوي لبذور تين الفيل بتركيز (100) ملغم/كغم من وزن الجسم ولفترة (30) يوماً.

5- المجموعة الخامسة (G5): ضمت (6) حيوانات جرعت بالمستخلص المائي لنبات تين الفيل وبتركيز (200) ملغم/كغم من وزن الجسم قبل (4) ساعات من تجريعها ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي وبتركيز (100) ملغم/كغم ولفترة (30) يوماً وعدت مجموعة وقائية اولى.

6- المجموعة السادسة (G6): ضمت (6) حيوانات جرعت بالمستخلص النانوي لبذور تين الفيل وبتركيز (100) ملغم/كغم من وزن الجسم قبل (4) ساعات من تجريعها بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي وبتركيز (100) ملغم/كغم ولفترة (30) يوماً وعدت مجموعة وقائية ثانية.

شكل (3-1) يوضح تصميم التجربة



6-3 الدراسة النسجية و الفسلجية:

1-6-3 جمع عينات الدم :

بعد انتهاء فترة التجربة البالغة 30 يوماً تم جلب الحيوانات إلى المختبر في قسم علوم الحياة، ومن ثم خدرت باستعمال الطريقة المغلقة (Closed-method) التي تتضمن وضع الحيوان في علبة شفافة ذا غطاء محكم توجد بداخله قطنة مبللة بمادة مخدرة الكلوروفورم وبعد مرور (2-1) دقيقة أصبحت الحيوانات خدرة، وتم استخراج الحيوان من العلبة، ووضعه داخل طبق التشريح ,وتم جمع عينات الانسجة مباشرة بعد سحب الدم عن طريق عمل شق طولي في المنطقة البطنية من نقطة ما بين الفخذين بإتجاه الأمام وصولاً إلى النهاية لعظم القص، واتبع الشق شقين طوليين بإ تجاه الطرفين الأمامين بعدها أزيلت كافة الأحشاء الداخلية، وتم عزل الكبد والكليتين، وغسلت بالماء الجاري لإزالة الدم العالق بها، بعدها تم تجفيفها من خلال وضعها على ورق ترشيح ، تم تقطيع هذه الأعضاء إلى قطع صغيرة بشكل طولي وعرضي لسهولة حفظها مع ضمان وصول المادة الحافظة اليها، ومن ثم تم حفظها في محلول الفورمالين بتركيز 10% في عبوات بلاستيكية نظيفة بعد تعليمها وتغلق بأحكام ، لمدة 48 ساعة لحين تحضير المقاطع النسجية.

تم سحب الدم من ذكور الجرذان من القلب بشكل مباشر بواسطة طعنة القلب (Heart puncture) باستخدام سرنجة حجم (5) مل، بعدها وضع الدم في انابيب اختبار زجاجية Gel-tubes ومن ثم دورت الأنابيب بجهاز الطرد المركزي بواقع (3000) دورة/دقيقة ولفترة(15) دقيقة بعدها تم سحب مصل الدم Serum بواسطة ماصة دقيقة ومتغيرة ووضع المصل في انابيب بلاستك صغيرة الحجم Eppendrofe tube (2) مل، ومن ثم تم حفظها في التجميد عند درجة حرارة منخفضة (-25) مئوية لحين قياس المعايير الوظيفية، ثم تم تشريح الحيوان واستخراج الكبد والكليتان.

2-6-3 الدراسة النسجية:

1-2-6-3 تحضير الشرائح المجهرية:

حضرت المقاطع النسجية تبعا لطريقة (Suvarna *et al*., 2018) وكالاتي:

1. تثبيت العينات Sample Fixation

تم تثبيت العينات بحفظها بمحلول الفورمالين بتركيز(10%) والذي حضر بإضافة (10) مل من الفورمالين وبتركيز(38%)واضيف له (90) مل من ماء الحنفية.

2. الغسل Washing

بعد انتهاء فترة التثبيت البالغة (48) ساعة بالماء الجاري لفترة خمس دقائق.

3. الإنكازو الترويق Dehydration and Clearing

مررت النماذج بعد الغسل بسلسلة تصاعدية من الكحول الأثيلي بدءاً بتراكيزمختلفة (70% ,80% ,90%,100% ,100%) ولفترة ساعتين لكل تركيز ،وبعدها روقت العينات بالزايلين ولفترة خمس دقائق.

4. التشريب والطمر Infiltration and Embedding

وضعت العينات بمزيج من شمع البرافينParaffin wax درجة انصهاره (60) درجة مئوية مخلوط مع الزايلين بنسبة (1:1) مل ولفترة ساعة داخل فرن كهربائي درجة حرارته 60 مئوية، لضمان أتمام عملية التشريب الكامل بالشمع ، نقلت العينات إلى قناني زجاجيةأخرى حاوية على مزيج الشمع السابق ذكره لفترة ساعتين داخل الفرن ، بعد ذلك تم طمر العينات بالشمع نفسه اذ وضع في قوالب مصنوعة من الحديد وبشكل حرف (L) ، ويتم وضعها بشكل متقابل للحصول على شكل مربع مع مراعاة أسلوب وضع العينة دخل المقطع من أجل الحصول على مقطع عمودي (طولي) أو عرضي (أفقي).

5. التشذيب والتقطيع Trimming and cutting

شذبت قوالب الشمع الحاوية على النماذج بعد أن ثبتت على حامل خشبي وقطعت النماذج باستخدام المشراح الدوار Rotary Microtome بسمك خمسة مايكرون، بعد ها نقلت المقاطع إلى حمام مائي بدرجة (45-50) مئوية لفترة دقيقتين لغرض تسطيح النسيج، ثم حملت أشرطة العينات على شرائح زجاجية نظيفة، بعدها تركت على صفيحة ساخنة لتجف بدرجة حرارة (37) مئوية.

6. التلوين (Staining)

أولاً: ملون هارس هيماتوكسلين Harri's Hematoxylin Stain

لإظهار البنيان النسجي للمقاطع بشكل عام والمحضرة على حسب طريقة (Suvarna *et al.*, 2018) وهو ملون قاعدي عام استعمل لتلوين النواة بلون ازرق غامق ومكوناته كالاتي:

ت	المادة	الكمية
1	مسحوق الهيماتوكسلين	2.5 غم
2	كحول اثيلي مطلق	25 مل
3	شب البوتاسيوم $AIK(SO_4)_2.12H_2O$ أو شب الأمونيا $NH_4AI(SO_4)_2.12H_2O$	50 غم

4	ماء مقطر دافئ	500 مل
5	أوكسيد الزئبقيك الأحمر(Red Mercuric oxide))	1.25 غم
6	حامض الخليك الثلجي(Glacial Acetic acid)	20 مل

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

ثانياً: ملون الأيوسين Eosin Stain

حضرت وفقاً لطريقة (Suvarna *et al.*, 2018) وكالاتي: -

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

أذيب الأيوسين في الكحول بشكل جيد ثم أضيف إليه حامض الخليك الثلجي ورشح قبل الاستعمال في اليوم التالي، ولونت الشرائح باستعمال ملون الهيماتوكسلين ايوسين وكما يلي:

1. أزيل الشمع من الشرائح باستعمال الزايلين وعلى مرحلتين ولفترة (5) دقائق لكل مرحلة بعد وضع الشرائح داخل فرن بدرجة (60) مئوي ولفترة خمس دقائق لكل مرحلة، ثم مررت بسلسلة تنازلية من الكحول الأثيلي من أجل ارجاع الماء Rehydration ابتداءً من تركيز (100%، 100%، 90%، 80%، 70%) ولفترة خمس دقائق لكل تركيز.

2. وضعت الشرائح الزجاجية في ملون الهيماتوكسلين هارس Harri's Hematoxylin ولفترة خمس دقائق

3. غسلت الشرائح بالماء الجاري لفترة (10) دقائق للحصول على أفضل زرقة.

4. لونت الشرائح بملون الأيوسين لفترة دقيقتين

5.غسلت الشرائح بالماء المقطر.

6. ثم مررت الشرائح بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70% ,80% ,90% ,100%.100%) لفترة دقيقتين وروقت بالزايلين وعلى مرحلتين لفترة خمس دقائق.

8. التحميل (Mounting)

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

9. التصوير (Microscopic study and photography)

صورت الشرائح المجهرية تحت القوى (200) بأستعمال المجهر الضوئي مزود بكاميرتصوير لتصوير التراكيب النسجية الخاصة بالكبد والكلية في الحيوانات قيد الدراسة.

3-6-2-2 القياسات النسجية Histological morphomtry:

قياس معدل الأقطار للانسجة المدروسة باستعمال المقياس العيني المتري الدقيق Ocular micrometerتحت قوة تكبير x40.

3-6-3 تقدير تركيز المعايير الفسلجية في مصل الدم:

ضمت الدراسة الوظيفية حساب تراكيز المعايير في المصل وكما يلي:

1- قياس وظائف الكبد المتمثلة ب إنزيمات (ALT, AST, ALP)

2- قياس وظائف الكلى والتي تشمل قياس مستوى اليوريا في الدم Determination of serum urea level وقياس مستوى الكرياتنين في الدم Level determination of serum creatinine.

4- قياس تركيز انزيمات ومضادات الاكسدة (CAT, MDA, SOD).

5- قياس مستوى الكولسترول الكلي (TC)، ومستوى البروتين الدهني عالي الكثافة (HDL)، والبروتين الدهني واطئ الكثافة (LDL).

3-6-3-1 تقدير تركيز انزيمات الكبد Liver function test

أولاً: تقدير فعالية الإنزيمات الناقلة للأمين Aspartate transaminase (AST) and Alanine transaminase (ALT)

اتبعت الطريقة اللونية باستعمال عدة تقديرجاهزة Kit من شركة Giesse الإيطالية بأستخدام جهاز Spectrophotometer ، اتبعت الطريقة اللونية للعالمين Bergmeyer and Bernt (1974) لتقدير فعالية الإنزيمات الناقلة للأمين (AST ، ALT) إذ يعتمد تقدير فعالية AST من الاوكزالوأسيتات المتحرر من التفاعل المحفز بواسطة الإنزيم مع ثنائي فنيل الهادرازين ،اما تقدير إنزيم ALT يعتمد على

البايروفيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة تفاعل الإنزيم مع ثنائي فنيل الهايدرزين كما في التفاعلات الاتية:

$$\alpha\text{-oxoglutarate} + \text{L-alanine} \xrightarrow{ALT} \text{L-glutamate} + \text{Pyruvate}$$

$$\alpha\text{-oxoglutarate} + \text{L-aspartate} \xrightarrow{AST} \text{L-glutamate} + \text{Oxaloacetate}$$

وأستخدمت الكواشف التالية:

1- المحلول الدارئ او المنظم Buffer Solution

يتكون هذا المحلول من منظم الفوسفات Phosphate Buffer بتركيز (100) ملي مول/لتر، واس هيدروجيني مقداره (7.4) والذي يحضر منه المحاليل التالية

أ- لإنزيم ALT يتكون من الانين (200) ملي مول /لتر، والفا- كيتو كلوتاريت (2.0) ملي مول /لتر مذابين في المحلول الدارئ.

ب - لإنزيم AST يتكون من حامض الاسبارتيك بتركيز (100) ملي مول/لتر والفا – كيتو كلوتاريت بتركيز (2.0) ملي مول/لتر المذابين في المحلول الدارئ.

والمحلول جاهز للاستخدام ويبقى مستقراً عند حفظه بدرجة (2-8) مئوية.

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

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

3- المحلول القياسي Standard Solution

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

محاليل العمل: تم عمل مجموعة من التيوبات وكما يلي:

1- محلول البلانك Blank Solution

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

2- محلول الاختبار Test Solution

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

3- محلول السيطرة Control Solution

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

4- المحلول القياسي

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

طريقة العمل:

وضعت الأنابيب الأربعة داخل حمام مائي بدرجة حرارة (37) مئوية لفترة (60) دقيقة عند قياس إنزيم AST و(30) دقيقة عند قياس إنزيم ALT، بعدها تمت إضافة (0.5) مل من (4.2) مولاري ثنائي فنيل هايدرازين (DNPH) إلى الأنابيب الأربعة ورُجت المحاليل جيدا ثم أضيف (0.1) مل من مصل الدم إلى محلول السيطرة وبعد مرور (20) دقيقة أُضيف (5) مل من (0.4) مولاري هيدروكسيد الصوديوم إلى الأنابيب الأربعة وتركت في درجة حرارة الغرفة لفترة (10) دقائق. تمت معايرة جهاز المطياف الضوئي بالماء المقطر أولاً ثم بالكاشف ثانيا وبطول موجي (546) نانومتر.

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

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

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

ثانياً: قياس فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل الدم(Alkaline Phosphatase (ALP:

المبدأ الأساس Basic Principle

تم تقدير فعالية إنزيم ALPباستخدام طريقة أنزيمية وذلك بأستخدام عدة جاهزة(Kit) حسب طريقة Engvall and Perlmann (1971) وهي طريقة لونية تستند على استخدام المادة الأساس (Substrate) التي يعمل عليها إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (Alkaline Phosphatase).

المحاليل المستخدمة Reagents Used

1. محلول المادة المنظمة Substrate Buffer Solution

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

2. المحلول القياسي Standard Solution

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

3. المحلول المثبط Inhibitor Solution

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

4. المحلول الملون Color Solution

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

طريقة العمل Procedure

1. محلول الاختبار Test Solution

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

2. محلول السيطرة Control Solution

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

3. المحلول القياسي Standard Solution

يوضع في أنبوبة اختبار (2) مليليتر من المادة الأساس ثم توضع في حمام مائي بدرجة (37) مئوية لفترة خمس دقائق، ثم يضاف إليها (50) مايكروليتر من المحلول القياسي وتعاد الأنبوبة إلى الحمام المائي بنفس درجة الحرارة لفترة (15) دقيقة، ثم يضاف أليها (0.5) مليليتر من المحلول المثبط وتمزج جيدا ويضاف بعدها (0.5) مليليتر من المحلول الملون.

4. المحلول الثابت Blank Solution

يوضع (2) مليليتر من المادة الأساس في أنبوبة اختبار ثم توضع في حمام مائي بدرجة (37) مئوية لفترة (5) دقائق، بعدها يضاف (0.5) مليليتر من المحلول المثبط وترج جيدا ثم يضاف (0.5) مليليتر من المحلول الملون وبعد مزجها جيدا يضاف (50) مايكروليتر من الماء المقطر، ثم توضع جميع الأنابيب في مكان مظلم لفترة (10) دقائق بعدها تقرأ الامتصاصية عند طول موجي قدره (510) نانوميتر مقابل محلول الكفء.

الحسابات Calculation

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

شدة امتصاصية محلول الاختبار – امتصاصية محلول السيطرة

ـــــــــــــــــــــــــــــــــــــ X تركيز المحلول القياسي بوحدة(U/L)

شدة امتصاصية المحلول القياسي

2-3-6-3 قياس وظائف الكلية:

أولا:قياس مستوى اليوريا Urea في مصل الدم:

تم تقدير مستوى اليوريا في المصل عن طريق استعمال العدة التشخيصية الجاهزة Kit)

مبدأ التجربة:

تم تقييم مستوى اليوريا عن طريق الاعتماد على انزيم اليوريز Urease والذي يعمل على تحليل اليوريا وأنتاج ايونات الامونيوم في الوسط القاعدي، تتفاعل ايونات الامونيوم الناتجة مع الساليسيليت Salicylate والهايبوكلورايت Hypochlorite لتكوين الاندوفينول الاخضر Dicarboxylindophenol2,2، وهذا التفاعل يحفز بنتروبروسيد الصوديوم Sodium nitroprusside.

NH4 + salicylate + hypochlorite ⟶ indophenol

الكواشف المستخدمة:

الكواشف	المواد	التراكيز
المحلول الكاشف R1	اليورياUrea (0.5غم/لتر)	8.33 ملي مول / لتر
الكاشف الثاني R2	انزيم اليوريزUrease	20وحدة/ لتر
المحلول الكاشف R3 Color reagent	- فوسفات بفر PH 8 - صوديوم سيلكاتSodium salicylate Sodium nitroprusside EDTA	50 ملي مول/لتر 62 ملي مول/لتر 3.35ملي مول/لتر 1.0 ملي مول/لتر
المحلول الكاشف R4 Alkaline reagent	صوديوم هايبوكلورايت(NaClO) صوديوم هايدروكسيد (NaOH)	24.8 ملغم/ديسلتر 0.5 ملي مول/لتر
CAL.	قياسي	مايكروليتر

طريقة العمل:

محلول العمل Working Reagent

ويتم تحضيره بمزج كواشف العمل كالاتي:.

الكواشف	محلول بلانك	المحلول القياسي	محلول الأختبار
القياسي	10مايكروليتر	---	----
مصل	---	---	10 مايكروليتر
محلول العمل	1مل	1مل	1 مل

يمزج وتحضن الأنابيب لفترة (3 min) في حمام مائي بدرجة (20-25) درجة مئوية، بعد الانتهاء من مزجها بصورة جيدة

الكاشف 4	200 مايكروليتر	200 مايكروليتر	200 مايكروليتر

يمزج وتحضن الأنابيب لفترة خمس دقائق في حمام مائي وبدرجة (20-25) مئوية، بعدها يتم قراءة الامتصاصية في جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometerعلى الطول الموجي (600) نانومتر.

الحسابات Calculations:

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

ثانيا: تقدير تركيز الكرياتنين:

تم قياس مستوى الكرياتنين في المصل حسب طريقة

مبدأ التجربة:

تم تقييم مستوى الكرياتنين في المصل بطريقة كمية وذلك بتكوين مركب معقد اصفر برتقالي ناتج عن تفاعل الكرياتنين في المصل مع Picric acid في وسط قاعدي، وهذا المركب المعقد هو بكرات الكرياتنين picrate Creatinine ومن الممكن قراءة شدة اللون الناتجة عن طريق أستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer.

$$\text{Creatinine + Picrate } \xrightarrow{NaOH} \text{yellow-red complex}$$

الكواشف	المواد	التركيز
محلول الكاشف Base	Sodium hydroxide Copper ll sulfate	6.4 ملي مول/لتر 150 ملي مول/ لتر
محلول الكاشف Dye	Soduim dodecyl sulfate Picric acid PH 4.0	0.75 ملي مول/لتر 0.4 ملي مول/لتر
الكاشف الثالث standard		177.0 ملي مول/لتر

طريقة العمل:

محلول العمل Working Reagent:

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

الكواشف	الانبوبة القياسية Standard	انبوبة الكفء Blank	انبوبة العينة Assay
القياسي	10.0 مايكروليتر	////	----
العينات	////	////	10.0 مل
كواشف R1+R2	1مل	1مل	1 مل
ماء مقطر	10مايكروليتر	////	/////

خلطت الانابيب بشكل تام، يمزج ويترك لفترة (25) دقيقة في (25) مئوية، وبعد مرور نصف دقيقة تم تدوين الامتصاصية الأولى عند الطول الموجي 490 نانوميتروالتي تم مقارنتها مع انبوبة الكفء او الماء المقطر، تم تسجيل القراءة الثانية مباشرة بعد مرور دقيقتين من تسجيل القراءة الاولى.

الحسابات:

تم حساب مستوى الكرياتنين وفقا للمعادلة التالية: -

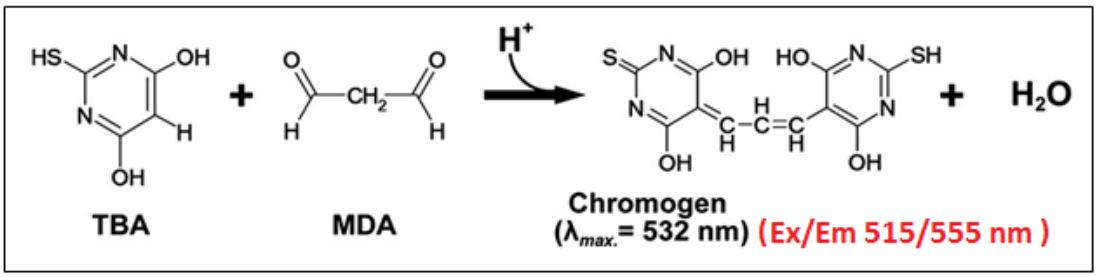
$$\text{مستوى الكرياتنين (ملغم/ديسيلتر)} = 2 \times \frac{\text{امتصاصية العينة}}{\text{Standard}}$$

4-3-6-3 تقدير تركيز إنزيمات الأكسدة

اولاً: تقدير مستوى بيروكسد الدهون في مصل الدم (المالونداياليديهايد) (MDA)

تم قياس مستوى المالونداياليديهايد (MDA) في المصل باستعمال الطريقة المحورة المتبعة حسب طريقة Lovrić وجماعته (2008) اذ تم تقييم بيروكسيد الدهون في الأمصال عن طريق المواد المتأثرة بحمض الثيوباربيتوريك (TBARS) يعطي اختبار TBARS أداة أساسية وقابلة للتكرار وموحدة لقياس بيروكسيد الدهون في المصل. تقاس MDA-TBA adduct المصمم بوساطة استجابة MDA و1،3-داي اثيل-2-ثيوباربيتوريك أسيد (DETBA) تحت درجة حرارة عالية (90-100 درجة مئوية) في ظروف حمضية قياسًا لونيًا عند 530-540 نانومتر أو قياس الفلور عند درجة حرارة عالية. يبلغ طول موجة الإثارة 515 نانومتر وطول موجة الانبعاث 555 نانومتر. هذا التفاعل له حساسية أعلى بكثير عند قياسه بقياس الفلور.

يتفاعل المالونداياليديهايد MDA مع حامض الثايو باربيتيوريك TBARS بظروف حامضية وتسخين لينتج مركب ملون يمتص الضوء بالطول الموجي 530-540 نانومترشدة اللون بالطول الموجي 532 نانومتر تقابل مستوى بيركسدة الدهون في النموذج والنماذج غير المعروفة تقابل بالمنحنى القياسي.



شكل (3-2) تفاعل محلول الثايوباربيتيوريك مع المالونداياليديهايد

تحضير الكواشف:

تحضر بإذابة 15% W/V من حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro Acetic Acid (TCA) مع 0.375% W/V من حامض الثايوباربيوترك (TBA) معN (0.25) من حامض الهيدروكلوريك بالطريقة الآتية:

1- (0.6) TBA %$(\frac{w}{v})$ (0.6) غم من حامض الثيوباربيتوريك في 100 مل ماء مقطر).

2- (17.5) TCA %$(\frac{w}{v})$ (17.5 غم من حامض التريكلوروسيتيك في100 مل ماء مقطر)

3- (70) TCA %$(\frac{w}{v})$ (70غم من حامض التريكلوروسيتيك ف في100 مل ماء مقطر).

طريقة العمل :

تم وضع طريقة العمل لتقدير المالون ثنائي الديهايد بحسب الجدول الآتي:

الكواشف	الكفء Blank	الاختبارTest
مصل	-	150مايكروليتر
ماء مقطر	50مايكروليتر	-
TCA (17.5%)	1مل	1مل
TBA (0.6%)	1مل	1مل
يمزج جيدا ثم يوضع في حمام مائي لفترة 15 دقيقة ثم يترك ليبرد		
TCA (70%)	1مل	1مل

ثم تترك الانابيب بدرجة حرارة الغرفة لفترة (20) دقيقة ثم تجري عملية الطرد المركزي بسرعة (2000) دورة لفترة (15) دقيقة ثم تتم قراءة شدة الامتصاص للراشح المتكون عند (532) نانوميتر، مقابل كاشف فارغ. كان تحضير الكاشف فارغًا هو نفس الإجراء أعلاه باستثناء تغيير العينة باستخدام DWماء مقطر.

الحسابات: يتم تقدير مستوى MDAاعتمادا على المعادلة الآتية:

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

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

L = light bath 1 ،D = dilution factor 6.7

ثانياً: تقدير فعالية إنزيم سوبر أوكسيد دسميوتيز (SOD)

Determination of Superoxide Dismutase Activity in Blood (SOD)

المبدأ الأساس:

يتم تقدير فعالية حسب طريقة الامتصاص المناعي المرتبط بالإنزيم Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) استعملت عدة الفحص التجارية لشركة Sonlong الصينية لقياس مستويات مضادات الأكسدة بتقنية الاليزا (Hoseinpouran *et al.*, 2015).

مبدا العمل:

يستند على طريقة السندويش Sandwitch ELISA صفيحة المعايرة الدقيقة التي تم تغطيتها سابقا بجسم مضاد خاص بـsod حيث تضاف العينات إلى الحفر بعدها يضاف انزيم البيروكسيديز الجسم المضاد المرتبط بالإنزيم (SOD)في كل حفرة بعدها يتم وضعه في الحاضنة، ثم غسلها، ثم إضافة محلول المادة الأساس إلى كل حفرة تحتوي جسم مضاد يظهر باللون الأزرق ثم يتحول إلى اللون الأصفر بعد اضافة محلول الايقاف بعدها تقاس الكثافة الضوئية عند طول موجي (450) نانومتر.

طريقة العمل

تخفيف المحاليل:

وضع المحلول الاساس بأنابيب صغيرة أولاً، ثم اخذ ماصة بحجم (50) من كل أنبوب إلى صفيحة ميكروسكوبية في لوحة microelisa، ثم نترك مجموعة السيطرة فارغة دون الاضافة إليها، ونقوم بتحميل 40 عينة من محلول التخفيف المؤقت، و10 عينات مضافة إلى الجزء السفلي دون لمس جدار الصفيحة

طريقة العمل:

1- نقوم بتحضير (5) من انابيب الاختبار وتسميتها S1، S2، S3، S4،S5 إذ تتكون من تراكيز ووحدات ونموذج وسيطرة مختلفة في حفر الصحيفة ذات المعايير المختلفة بعدها تقوم بتخفيف المعايير وذلك بأخذ 150 مايكرولتر من محلول Dilution of Standers من كاشف الإنزيم الرابط وأضافته في أنابيب الاختبار test tubes المعروفة.

2- وفي الوقت نفسه اضافة 300 مايكروليتر إلى كل من S1،S2 وعمل S- Mix

و150 مايكروليتر إلى S3، S4،S5 من أنابيب الاختبار محلول قياسي Stander المعلوم تركيزه S- Mix

3- ثم نسحب 10 مايكرولتر من المصل وأضافته إلى الصفيحة ذات المعايير الدقيقة بعدها يتم الخلط بدقة لمدة 30 ثانية لوضعها في الحاضنة لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة 37 درجة مئوية بعد تغطيتها بغشاء لوحة الاغلاق.

4_يقوم بإزالة الخليط المحضون في الحفر بواسطة النقر بالأصبع لإزالة الخليط وغسل الصفيحة المتكونة من المعايير الدقيقة خمس مرات بالماء المقطر.

5_ بعدها لإزالة قطرات الماء المتبقية تدق الصفيحة ذات المعايير الدقيقة بعد تكرر واعادة تعبئته بمحلول الغسيل على ورق مجفف أو ممتصة paper towels or absorbent

6- التلوين نضيف 50 مايكرولتر من المادة الأساس محلول الكروموجين A 50 مايكرولتر من المادة الأساس محلول الكروموجن B ومع الخلط والهز بدقة لمدة 30 ثانية بعدها وضعها في الحاضنة وفي مكان مظلم لمدة 15 دقيقة لمدة 37 درجة مئوية مع اطفاء الضوء أثناء التلوين

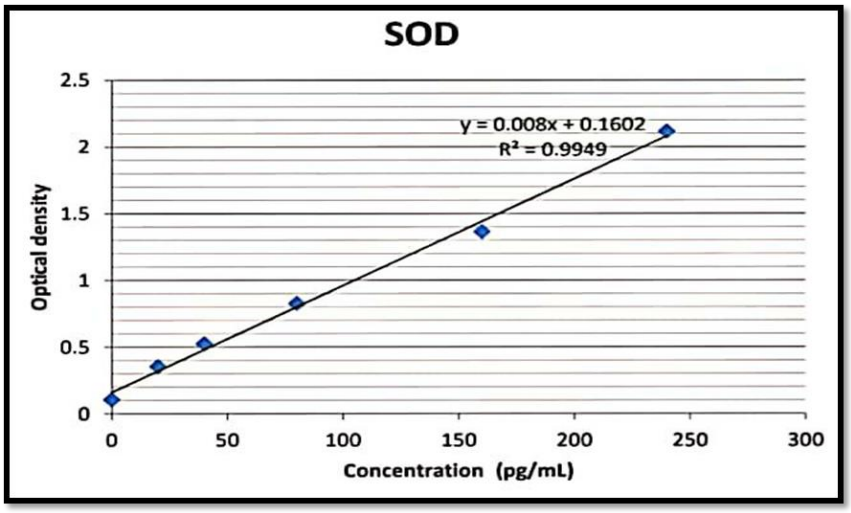
7_نقوم بوضع 50 مايكرولتر من محلول الإيقاف Stop solution H_2SO_4 IN لانهاء التفاعل.

8 - نقوم بعملية الخلط لمدة 30 ثانية اذ تعد هذه الخطوة مهمة جدا وعملها يكون بدقة ليتم تغير اللون من اللون الازرق إلى اللون الاصفر.

9- نقوم بقراءة الامتصاصية على طول موجي 450 نانو متر إذ تعد قيمة OD لبئر التحكم الفارغ على أنها صفر وخلال 15 دقيقة بعد اضافة محلول الإيقاف.

10- يتم رسم علاقة بين الامتصاصية والتراكيز القياسية ذات الدلالة وبوحدات معينة.

11- يتم استخراج قيمة كل مستوى من المنحني القياسي كما في الشكل الاتي:



شكل(3-3) المنحني القياسي لأنزيم SOD

ثالثاً: - تقدير مستوى نشاط الكاتاليز في المصل Catalase activity

تقدير مستوى انزيم الكاتاليز بأستعمال طريقة Hadwan and Abed (2016).

المبدأ الاساس:

Catalase catalyzes the following reaction:

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

تم تقييم نشاط انزيم الـكاتاليز(Cat)عن طريق تحضير الانزيمات فـــــي (1.0)مل من المادة المتفاعلة (65) مللي مول/مل من بيروكسيد الهيدروجين في (60) مللي مول /1 فوسفات صوديوم - بوتاسيوم (PH7.4) عند (37) درجة مئوية لفترة (ثلاث) دقائق، تم وقف العمل مع موليبدات الامونيوم، بعد ذلك تم قياس امتصاصية المركب الأصفر في المولبيدات وبيروكسيد الهيدروجين عند طول موجي (374) نانو مترمقابل الفراغ.

تحضير الكواشف:

1-محلول الفوسفات المنظم (phosphate buffer) بتركيز (50) ملي مولاري (7.4) pH

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

محلول (A) يتكون من KH_2PO_4 50.µm إذ وزن (6.81) من المحلول ويذاب في لتر ماء مقطر.

محلول (B) يتكون من $Na_2HPO_4.2H_2O$ إذ وزن (6.90) من المحلول ويذاب في لتر ماء مقطر

(2 -بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (30%)حضر انيا بتخفيف (20.34) بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (30%) من الفوسفيت المنظم إلى حجم (100) مل.

طريقة العمل:

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

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

يبدأ التفاعل بأضافة بيروكسيد الهيدروجين إلى الانابيب ثم يقاس بأستعمال جهاز المطياف الغير مرئي (القارئ للأشعة غير المرئي) UV- Spectrophotometer وبطول موجي نانوميتر240.

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

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

4-3-6-3 تقدير تركيز الدهون:

اولاً: تقدير مستوى الكوليستيرول الكلي في المصل Cholesterol in Blood

المبدأ الأساس Basic Principle:

تم تقدير مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم باستعمال عدة تحليل جاهزة Kit وهي طريقة أنزيمية تعتمد على أساس تحويل الكوليستيرول واسترات الكوليستيرول إلى صبغة الـ(Quinoneimine)، إذ تحتوي عدة التحليل على أنزيم الكوليستيرول استريز (Cholesterol esterase) الذي يعمل على تحليل الكوليستيرول المؤستر الموجود في مصل الدم إلى الكوليستيرول وأحماض دهنية وبوجود الأوكسجين وأنزيم الكوليستيرول أوكسديز(Cholesterol oxidase) اللذان يعملان على أكسدة الكوليستيرول الحر نتيجة التفاعل الأول إلى (Cholest-4-en-3-ono) وبيروكسيد الهيدروجين، إذ أن البيروكسيد المتكون يتفاعل مع الفينول و (4) أمينو انتي بايرين بوجود إنزيم البيروكسديز (Peroxidase)، ويتكون لون وردي ناتج عن مركب (Quinoneimine) وتتناسب شدة اللون طردياً مع تركيز الكوليستيرول في مصـــل الـــــــدم (Burtis *et al*., 2012)

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

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

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

المحاليل المستخدمة Reagents used

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

ويتكون من محلول الفوسفات المنظم (90 ملي مول/لتر، pH 6.9)، فينول 26 ملي مول/لتر، أنزيم كوليستيرول (200) وحدة/لتر، أنزيم الكوليستيرول استريز (300) وحدة/لتر، أنزيم البيروك سيديز (1250) وحدة/لتر، (4) أمينو انتي بابرين (0.4) ملي مول/لتر.

2. المحلول القياسي Standard Solution: يتكون من (200) ملغرام كوليستيرول/100 مليلتر .

طريقة العمل:

تم وضع طريقة العمل لتقدير الكوليستيرول حسب الجدول الآتي:

المحاليلSolution	الكفئ blank	القياسي standard	العينة Sample
المحلول القياسي	--	10مايكروليتر	--
العينة	--	--	10مايكروليتر
كاشف العمل	1مل	1مل	1مل

تمزج الأنابيب جيداً وتوضع في حمام مائي (37) م^{o} لفترة خمس دقائق، بعدها يتم قياس شدة الامتصاص باستعمال جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer عند طول موجي (546) نانوميتر.

الحسابات Calculate

تحسب كمية الكوليستيرول في الدم اعتماداً على المعادلة الآتية:

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

إذ أن A: Absorbance (شدة الامتصاص)

Total Cholesterol Conc. (mmol/l) = Total Cholesterol Conc. (mg/dl) * 0. 25

ثانياً: تقدير مستوى الكوليستيرول للبروتين الدهني العالي الكثافة في مصل الدم Cholesterol of High Density Lipoprotein (HDL-c)

المبدأ الأساس Basic Principle

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

المحاليل المستخدمة:

وتتكون عدة التحليل من الكواشف الآتية :

1. محلول الترسيب Precipitation Solution

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

طريقة العمل:

تم وضع طريقة العمل لتقدير الكوليستيرول للبروتين الدهني العالي الكثافة كالآتي:

الكواشف	الأختبارTest
مصل	0.5 مل
كاشفHDL	1مل

يترك لفترة (10) دقائق بعد ذلك يوضع في جهاز الطرد المركزي مدة 15 دقيقة عند سرعة 4000 دورة بالدقيقة

الكواشف	كفئ Blank	Test
HDL-Supernatant	-	100مل
ماء مقطر	100مل	-
كاشف الكوليسترول	1مل	1 مل

يمزج ثم يوضع في حمام مائي (37) مئوية لفترة (5) دقائق بعدها يتم قياس شدة الامتصاص عند طول موجي (546) نانومتر.

الحسابات Calculate

يتم حساب HDL اعتمادا على المعادلة الآتية

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

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

ثالثاً: تقدير مستوى الكوليستيرول للبروتين الدهني واطئ الكثافة في مصل الدم Cholesterol of Low Density Lipoprotein (LDL-c) Level

يتم تقدير LDL في مصل الدم اعتماداً على معادلة فريد وولد (Friedewald equation) (Friedewald *et al*., 1972)

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

3-7. التحليل الاحصائي:

حللت نتائج البحث احصائياً باستخدام التصميم تام العشوائية Design Randomized Completey (الراوي،2000)، ثم اختبرت معنوية الفروق بين المعدلات باستخدام أقل فرق معنوي Least significant difference(L.S.D) عند مستوى المعنوية (P<0.05)، إذ حللت النتائج احصائيا بواسطة تحليل التباينAnalysis of Variance (ANOVA)، واستخراج الخطأ القياسي (SE) Standard Error، والمعدل Mean، باستخدام البرنامج الجاهز (SPSS,2012).

الفصل الرابع

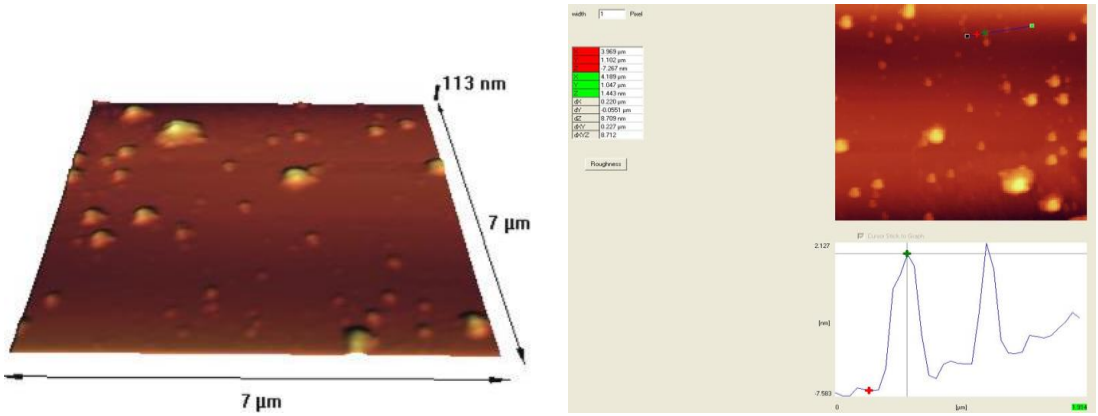
النتائج والمناقشة

Results and Discussion

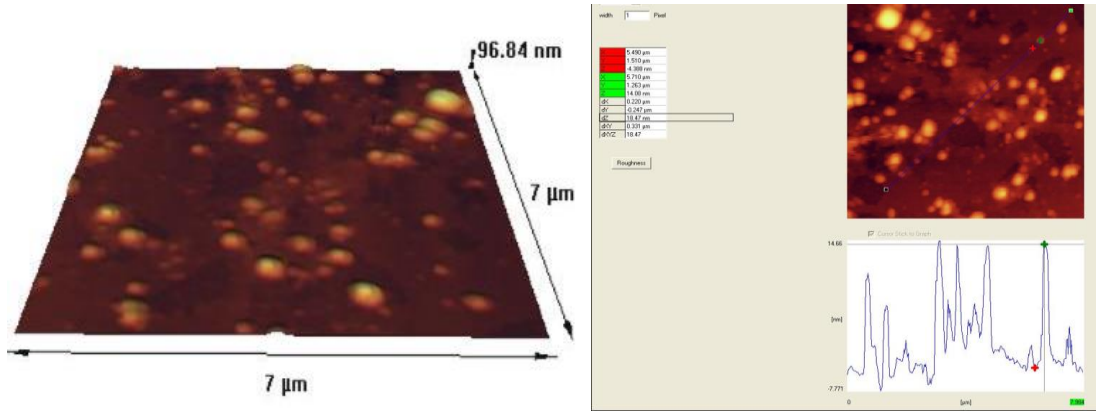
1.4: نتائج تشخيص المستخلص النانوي لبذور نبات تين الفيل:

1.3.4: مجهر القوة الذرية Atomic force microscope(AFM)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية عن طريق فحص المستخلص المائي والنانوي بواسطة مجهر القوة الذرية خشونة سطح الجسيمات النانوية، واظهرت حجم الدقائق المتخلقة وشكلها ومدى تكتلها كما في الصورة (4-1) (4-2)، وأظهرت نتائج التحليل إن معدل حجم جزيئات المستخلص النانوية بلغ (40.56) نانومتر ومعدل خشونة السطح (7.87) نانومتر، أما ارتفاع السطح فبلغ (0.082µm/div).



صورة (4-1) صورة ثنائية الأبعاد للمستخلص المائي لنبات تين الفيل تم التقاطها بواسطة مجهر (AFM)

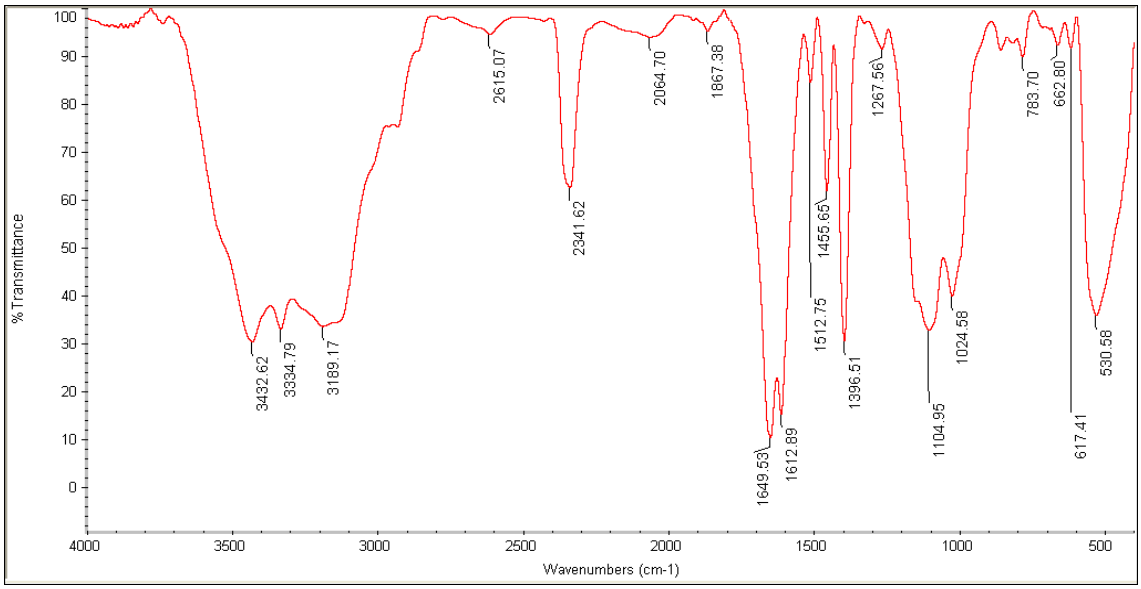


صورة (4-2) صورة ثنائية الأبعاد للمستخلص النانوي تم التقاطها بواسطة مجهر (AFM) لجسيمات اوكسيد الزنك النانوي المحضرة بواسطة المستخلص المائي لبذور نبات تين الفيل

1.1.4: تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared spectrometer (FTIR)

لتحديد التجمعات الوظيفية الفعالة ومن ثم توصيف المواد والمركبات النانوية المحضرة في هذه الدراسة، تم باستخدام تقنية التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء (FT-IR) .

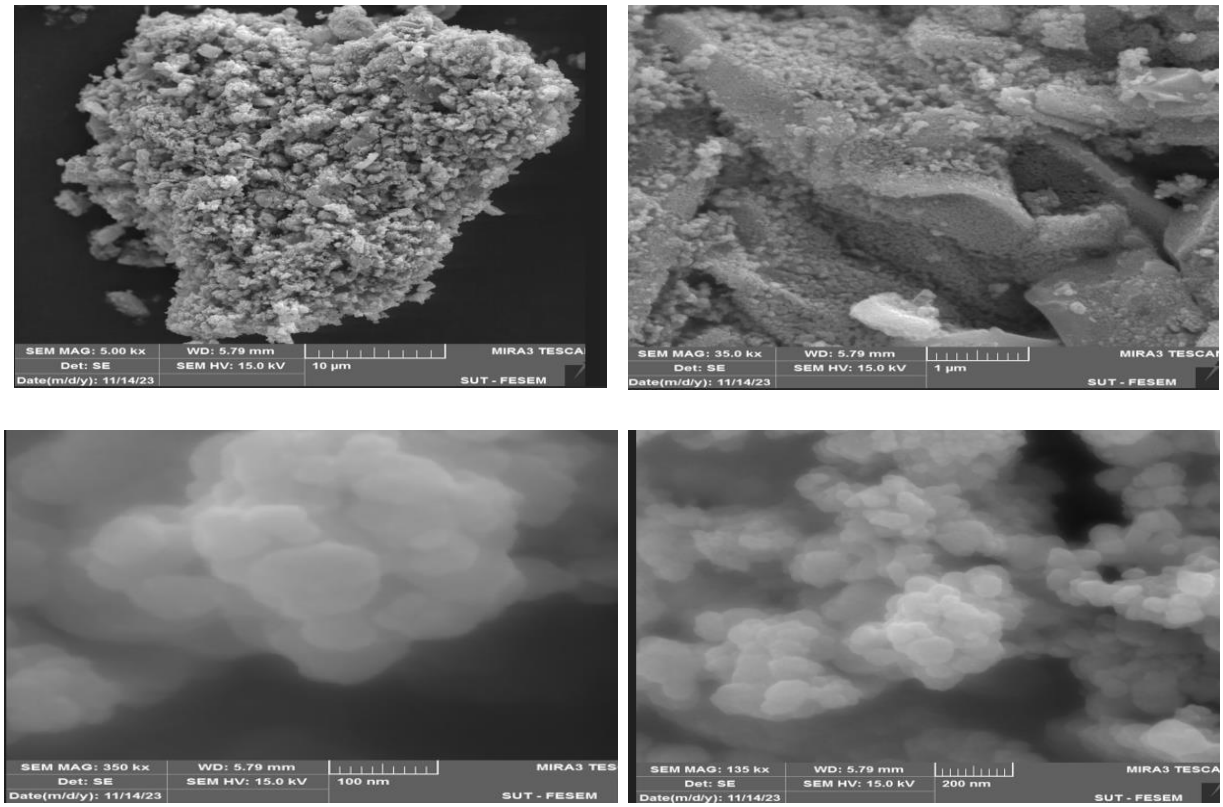
بينت نتائج الدراسة الحالية عن طريق الشكل البياني (1-4) للتحليل الطيفي بالأشعة الحمراء ظهور العديد من المنحنيات التي تدل على وجود أواصر بين المستخلص المائي لبذور نبات تين الفيل وجسيمات أوكسيد الزنك، اثبتت نتائج تحليل(FTIR) وجود نطاقات امتصاص عند مدى يقع بين (530.58 -3432.62) سم $^{-1}$ ، وتشير هذه النطاقات الاهتزازية الممتدة إلى المركبات الموجودة في المستخلص المائي النباتي والمسؤولة عن حدوث هذه الاهتزازات وتعود الى اكثر من 19 مجموعة فعالة شملت (O-H ، N-H، C-H ، NH_3،C-O ،N=C=S ،O=C=O ،C-Br ،C-Cl ،C-N ،C-F ،S=O ،N-O ،C=C ،C=O ، C=C=C، CH3، C≡N) والتي تعود الى العديد من المركبات منها الكربوهيدرات، والفلافودينات، والبولي فينول، الكحولات ، الامايد ، والأحماض النووية، والأحماض الدهنية، والتي تظهر بشكل منحنيات تبين الارتباط بين المجاميع الكيميائية والمركبات النشطة في المستخلص النباتي، وهذه المركبات النشطة جاءت مشابهة تقريبا لما توصل اليه Olunkwa وجماعته (2024) ؛ وبذلك يمكن اعتبار هذه المركبات هي المسؤولة عن تثبيت جسيمات الزنك النانوية وتغطيتها بشكل فعال (Ami *et al*.,2022).



شكل (1-4) التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء(FTIR) لجسيمات الزنك النانوية المحضرة بواسطة المستخلص المائي لبذور نبات تين الفيل

2.1.4: المجهر الالكتروني الماسح (SEM)scanning electron microscopy :

تم استكشاف الشكل الظاهري السطحي للمستخلص النانوي المتكون من المستخلص المائي لبذور تين الفيل وأوكسيد الزنك بواسطة المجهر الإلكتروني الماسح (SEM). إذ أظهرت نتائج الدراسة الحالية تجانس وتوزيع جيد للجسيمات النانوية وسيادة الشكل الكروي للجسيمات النانوية الذي يعد أفضل اشكال الجسيمات النانوية من ناحية ال تأثير(Shehzad et *al.*,2021)، فقد تراوحت أحجام الجسيمات النانوية بين (20.54 – 55.37) وكانت الجسيمات النانوية كروية مفردة أو متجمعة مغطاة بالمستخلص النباتي ، فقد أوضح Irfan وجماعته (2021) في دراسته على المستخلص النانوي لنبات المورينغا المحمل على أوكسيد الزنك إن المستخلصات النباتية تعمل كغطاء للروابط وعوامل مختزلة لتوفير جزيئات نانوية مستقرة نسبيا ومشتته كما في الصورة (3-4) تحت قوة تكبير مختلفة.

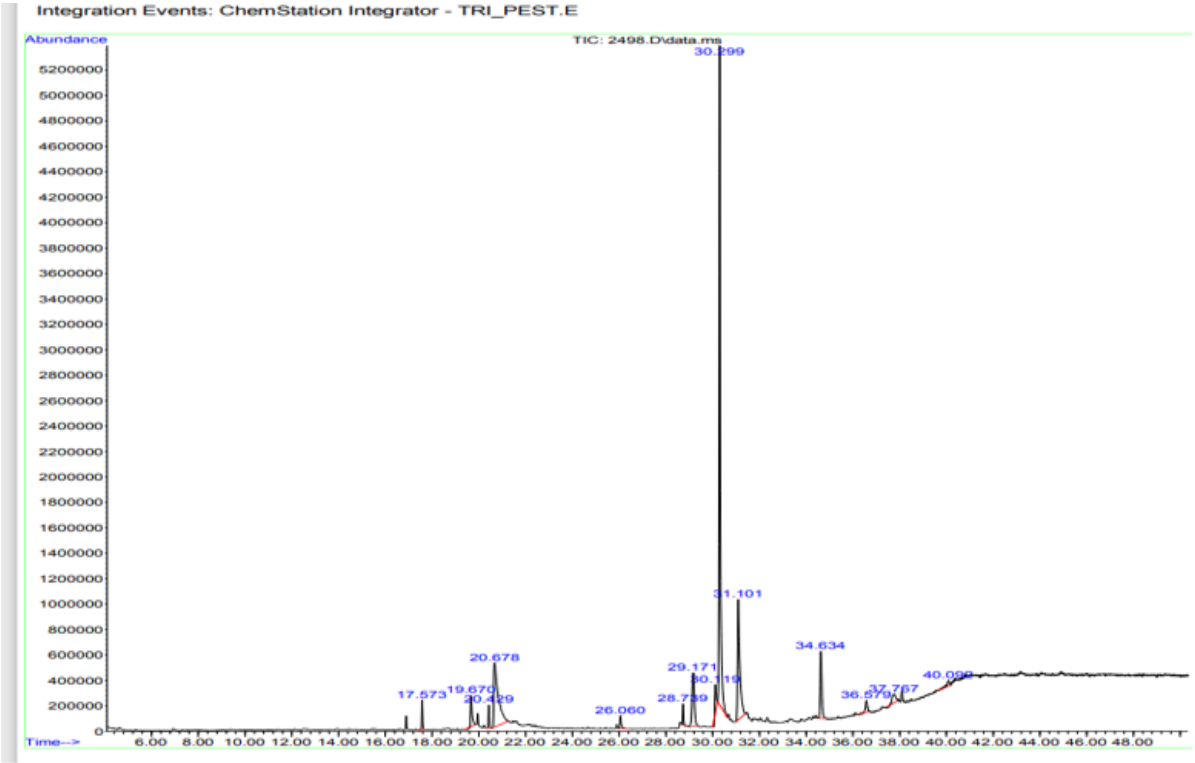


صورة (3-4) صور المجهر الالكتروني الماسح لجسيمات المستخلص النانوي لنبات تين الفيل على قوة تكبير مختلفة

4-1-4. نتائج تحليل المركبات الفعالة بتقنية (GC-Mass):

بيّنت نتائج الفحص بتقنية (GC-Mass) إن المستخلص المائي لنبات تين الفيل يحتوي على (18) مركب فعال كما مبين في الشكل (4- 2) والجدول (4-1)، إذ كانت أعلى مساحة بنسبة (41.48 %) عند القمة (9) وبزمن احتجاز مقداره 30.3 دقيقة للمركب الفعال Paradol، أما قيمة أقل مساحة فكانت (0.18%) عند القمة (5) في زمن أحتجاز (20.223) دقيقة للمركب 2-Aromadendrene oxide.

كانت النتائج متوافقة مع دراسة كل من Agim وجماعته (2017) والتي أكدت وجود المركبات الفعالة في المستخلص المائي لبذور تين الفيل، وقد بين Oladunmoye (2019) في دراسته لأنواع مختلفة من المستخلصات لنبات تين الفيل اختلاف المركبات الفعالة المستخلصة بواسطة تقنية (GC-Mass).



الشكل (4-2) يمثل المنحني الزمني لظهور المركبات الفعالة التي تم قياسها بجهاز GC-Mass

الجدول (4-1) المركبات الفعالة للمستخلص المائي لنبات تين الفيل لمساحتها، والنسب المئوية ووزنها في المستخلص حسب تحليل تقنية GC-Mass

Number	RT (min)	Area%	Name	Quality	CAS Number
1	16.892	0.81	trans-Caryophyllene	99	000087-44-5
2	17.572	1.32	.alpha.-Humulene	99	006753-98-6
3	19.668	2.29	d-Manose	96	000084-66-2
4	19.948	0.46	trans-Caryophyllene	44	000087-44-5
5	20.223	0.18	Aromadendrene oxide-(2	49	000443-72-1
6	20.426	1.06	Caryophyllene oxide	83	019888-34-7
7	20.675	16.71	Zingerone	98	000122-48-5
8	26.061	0.94	Methyl palmitate	97	000112-39-0
9	28.738	1.05	Oleic acid, methyl ester	98	000112-62-9
10	29.169	6.93	Pentacosane	94	000629-99-2
11	30.118	1.52	Gingerol	53	011050-62-7
12	30.3	41.84	Paradol	52	000122-48-5
13	31.099	14.45	Shogaol	43	023513-13-5
14	34.632	5.99	Heptacosane	91	000593-49-7
15	36.578	1.16	Indolizine, 2-(4-methylphenyl)-	47	000000-00-0
16	37.766	1.53	.Hydroquinone, 2,6-di-tert-butyl	42	000000-00-0
17	38.088	0.81	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	49	000541-05-9
18	40.091	0.96	Hexamethylcyclotrisiloxane	49	000541-05-9

2-4: الدراسة النسجية Histohogical study:

1.2.4: الفحص والقياسات النسجية لنسيج الكبد:

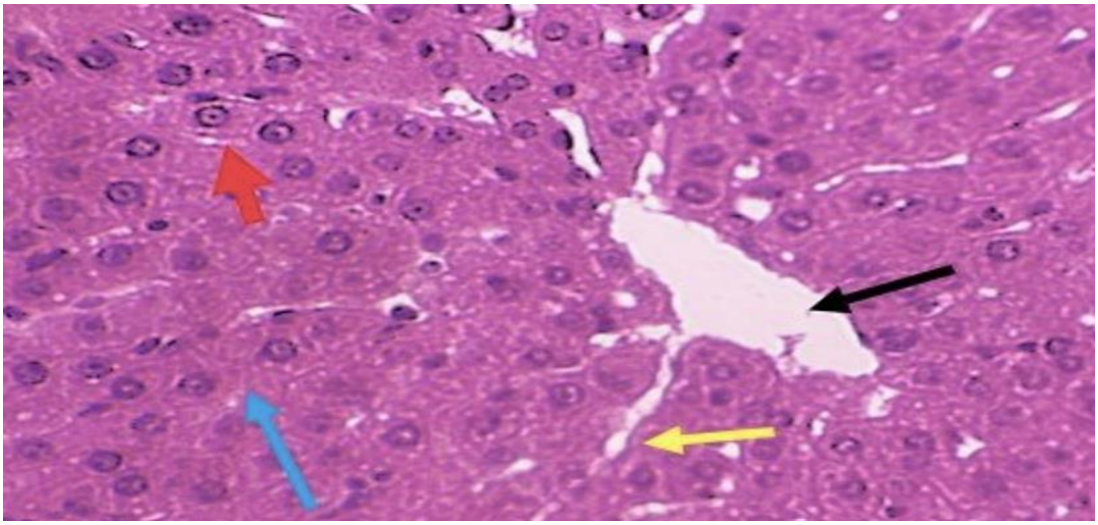
1.1.2.4: تأثير المعاملة بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسيجية للكبد مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1):

يتخلص الجسم من المواد السامة المتراكمة في الجسم عن طريق تحطيمها والتخلص منها بعملية إزالة السمية عن طريق العضو الرئيس المسؤول عن إزالة السمية وهو الكبد (Guyton & Hall, 2016).

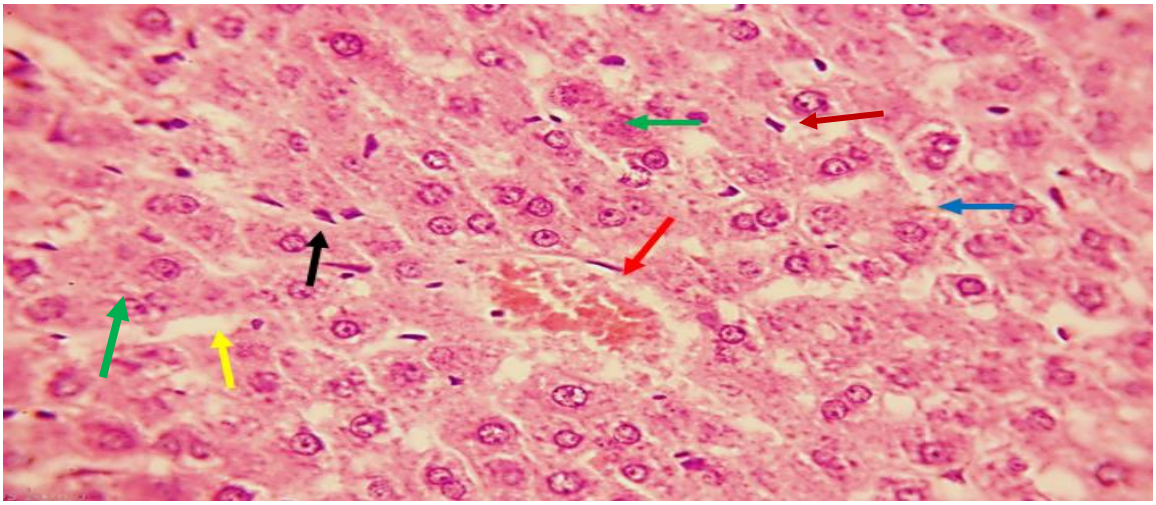
أظهرت نتائج الفحص المجهري للدراسة الحالية للمقاطع العرضية لنسيج الكبد كما في الصورة (4-4) لمجموعة السيطرة السالبة (G1) التركيب النسيجي الطبيعي للكبد المتكون من عدة فصيصات وكل فص يتوضح فيه الخلايا الكبدية Hepatocytes، ووريد مركزي Central vein، وانتظام الحبال الكبدية وما بينها الفسح الدموية التي تدعى الجيبيانيات Sinusoids التي تكون منتظمة باتجاه الوريد المركزي، ويمكن تمييز الخلايا الكبدية ذات أشكال مضلعة والأنويه واضحة وكروية الشكل إلى جانب الوريد المركزي.

أوضحت الصورة (4-5) الحالة النسجية للكبد بعد المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم/كغم لفترة (30) يوماً في مجموعة (G2) وجود تلف وتغيرات نسجية واسعة النطاق وواضحة لنسيج الكبد والذي يتضمن احتقان في الوريد المركزي Congestion ، تضخم خلايا كوبفر، مع عدم انتظام واضح وشديد في الحبال الكبدية، ووجود توسع واحتقان في الجيبانيات، بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

بيّنت القياسات النسجية للكبد في جدول (4-2) في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي وجود زيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في معدل أقطار الخلايا الكبدية (26.19±0.2) والجيبانيات (24.98±0.33)، والوريد المركزي (110.3±0.3) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) لكل من الخلايا الكبدية (18.29±0.3) والجيبانيات (14.54±0.18)، والوريد المركزي (74.34±0.22).



صورة (4-4) مقطع عرضي في نسيج الكبد لمجموعة السيطرة السالبة توضح النسيج الطبيعي، **الوريد المركزي** (⟵)، انتظام الحبال الكبدية (⟵)، و الخلايا الكبديـــــــــــــة (⟵)، الجيبانيات (⟵) (H & E 200X).



صورة رقم (4 – 5) مقطع عرضي في نسيج الكبد للمجموعة المعاملة بمادة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم / كغم من وزن الجسم يلاحظ فيها احتقان و توسع في الوريد المركزي (⟵) مع عدم انتظام شديد في الحبال الكبدية (⟵) وتنخر الخلايا الكبديـــــــــــــة (⟵) ارتشاح الخلايا الالتهابية (⟵) توسع الجيبانيات (⟵) خلايا كبفر (⟵) (H & E 200X).

أوضحت نتائج الفحص النسيجي للدراسة الحالية لكبد الجرذان المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم لفترة (30) يوم بتركيز(100) ملغم /كغم من وزن الجسم تتفق مع دراسة Fadda بين في دراسته للتأثيرات الجانبية لمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي إلى أن تجريع الجرذان بتلك المادة بتركيز (1) غم /كغم من وزن الجسم لفترة اربعة أسابيع أدت إلى حدوث تغيرات مرضية في البنية الطبيعية لنسيج الكبد تمثلت باحتقان الوريد البابي المركزي وتوسعه وتثخن جدرانه بصورة واضحة وارتشاح الخلايا الالتهابية تنتج تنخر شديد ، تفجي في السيتوبلازم، إذ أن ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي يلحق الضرر ببنية خلايا الكبد مما يضعها في مسار موت الخلايا المبرمج بواسطة المايتوكوندريا ، قد تعزى التغيرات النسجية التي حدثت في نسيج الكبد إلى تراكم جزيئات ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في الكبد وصعوبة ازالتها من النسيج وهذا يتفق مع دراسة Chen وجماعته (2019) التي استخدمت ذكور الجرذان البيض وجرعت بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتراكيز (2،10،50) ملغم /كغم لفترة (90) يوم أن ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي يحفز حدوث تنخر في معظم الخلايا الكبدية وتنكسها، فضلاً عن توسع الجيبانيات وتنكس فجوي، واتفقت نتائج دراستنا الحالية مع نتائج دراسة Shirdare وجماعته (2022) التي أجراها على (30) من ذكورالجرذ الأبيض لمعرفة التاثيرات السامة لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي على نسيج الكبد عن طريق تجريعها فموياً بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز(300) ملغم /كغم لفترة ثلاثة أسابيع وتبين عن طريق الفحص المجهري للكبد الضرر الحاصل في ارتشاح الخلايا الالتهابية ،وتوسع واحتقان الجيبانيات ، وتضخم خلايا كوبفر .

الجذور الحرة التي تنتج عن ايض ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي والتي تتميز بقابليتها على التفاعل مع الدهون المفسفرة في الأغشية الخلوية منتجة بيروكسيد الدهون Lipid peroxides، وإن الزيادة في مستوى بيروكسيد الدهون بسبب تفاعل الجذور الحرة وقلة مضادات الأكسدة تسبب في حدوث سلسلة من التفاعلات المحللة للأغشية ينتج عنه تحطم الخلايا وحدوث النخر(Alarifi *et al*.,2013).

أشارت دراسة Brand وجماعته (2020) إلى التأثير السام لثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في إنتاج تراكيز عالية من أصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) التي لها القابلية على التفاعل مع العديد من مكونات الغشاء البلازمي لتلك الخلايا مسببة ضرراً لا رجعة فيه لبروتينات وسكريات و(DNA) الخلية؛ وبذلك يؤدي للفشل الوظيفي للخلايا وتلف الأنسجة الحية لمختلف أعضاء الجسم التي تراكمت فيه ومنها الكبد.

بين Wangوجماعته (2007) في دراسته لأنسجة الكبد في (40) من ذكور وأناث الفئران البالغة، حدوث التنكس المائي حول الوريد المركزي، و نخر متقطع لخلايا الكبد في الفئران وعدم انتظام الحبال الكبدية بعد التعرض لفترة أسبوعين إلى حجم (80) نانومتر وتركيز (5) غم/كغم من ثاني أوكسيد التيتانيوم النانوي.

2.1.2.4: تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على التركيب والقياسات النسجية للكبد:

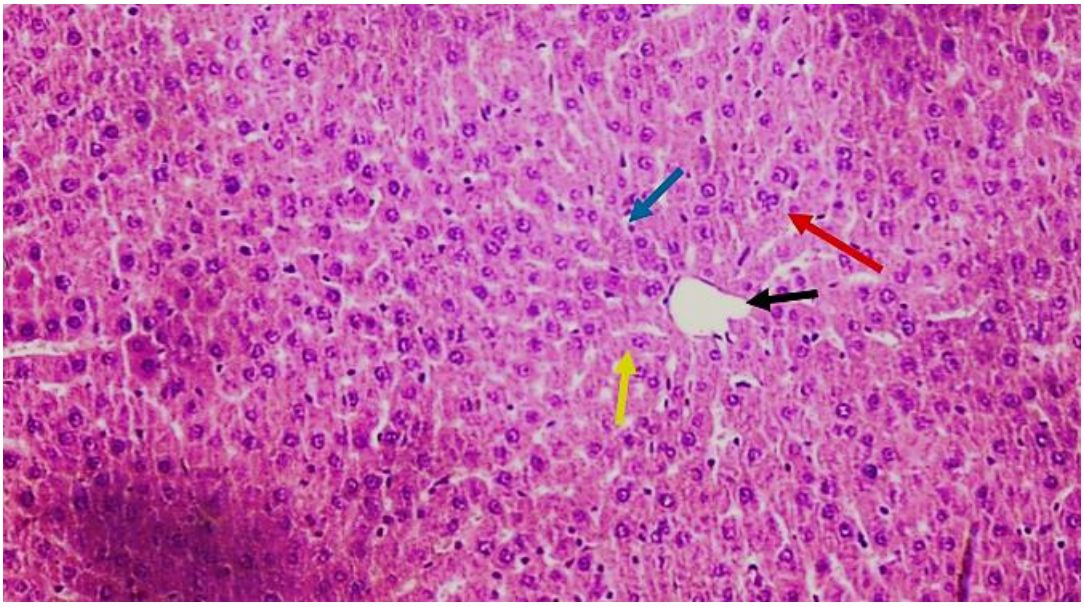
أظهرت نتائج الفحص النسجي لنسيج الكبد للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذورتين الفيل (G3) وبتركيز (200) ملغم /كغم من وزن الجسم في الصور (6-4) والمجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لبذور تين الفيل (G4) بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم في الصور (7-4) تركيباً نسجياً مشابهاً للنسيج الطبيعي مقارنة مع مجموعة السيطرة(G1)، إذ لوحظ الوريد المركزي وانتظام الحبال الكبدية المؤلفة من الخلايا الكبدية الواضحة التي تتميز بمظهر مضلع ونوى كروية طبيعية، مع حجم ومظهر طبيعي للجيبانيات الكبدية إذ لم يلاحظ وجود أي تغييرات نسجية عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) .

بيّنت نتائج الدراسة للقياسات النسجية للمجاميع المعاملة بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل (G3) وبتركيز (200) ملغم /كغم والمستخلص النانوي للنبات (G4) بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم في الجدول (4 -2) عدم وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في معدل أقطار الخلايا الكبدية (18.13±0.23، 18.28±0.29) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (18.29±0.3) ، والجيبانيات (14.58±0.19، 14.52±0.17) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (14.54±0.18) ، والوريد المركزي (74.49±0.32، 74.33±0.21) على التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (74.34±0.22).

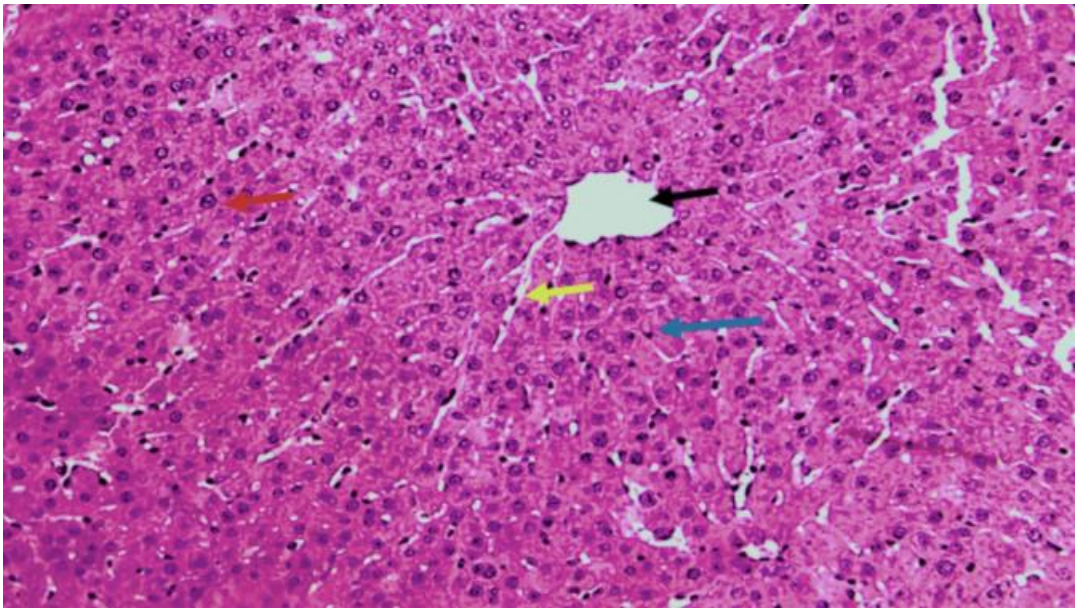
اتفقت نتائجنا هذه مع Obike وجماعته (2014) إذ أشار في دراسته تقييم سمية المستخلص المائي لتين الفيل بتراكيز (0.55، 0.65، 0.75) مل على (20) جرذاً أبيضاً لفترة (28) يوماً، و كشفت دراسته عدم وجود إصابات مرضية واضحة في نسيج الكبد ومنها تنخر وتنكس الخلايا ه ، او حدوث التهاب وارتشاح الخلايا الالتهابية ، او احتقان الوريد المركزي وكانت هذه النتائج تتماشى مع محافظة إنزيمات الكبد (ALP و ALT و AST) على مستوياتها ضمن الحدود الطبيعية.

بيّنت نتائج دراستنا الحالية عدم وجود تأثير جانبي يذكر للمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على التركيب النسجي للكبد لما يحتويه النبات من مواد فعالة مهمة لا تؤدي إلى السمية الخلوية لخلايا الكبد ولا تحفز على الإجهاد التأكسدي وتوليد الجذور الحرة التي تسرع من عملية موت الخلايا المبرمج؛ وذلك بسب المركبات الفعالة التي يمتلكها النبات منها : مركبات الفينول، والفلافونيدات، والسابونيات وغيرها، فجاءت نتائج الدراسة متفقة مع Nwozo وجماعته (2013) في دراستهم التي استهدفت تقدير الدور الوقائي للمستخلص المائي ضد أشعة كاما التي تستحث تحطم الكبد على ذكور الجرذ الأبيض التي جرعت فيها الجرذان المستخلص

المائي لبذور نبات تين الفيل وبتركيز (200،400)ملغم/ كغم ، إذ أوضح أن المستخلص المائي لتين الفيل لم يظهر أي تأثيرات جانبية على التركيب النسيجي للكبد نظراً لما يحتويه النبات من مركبات نشطة حيوياً لا تسبب تأثيرات سمية للأنسجة أو توليد الجذور الحرة التي تحفز الإجهاد التأكسدي لما لها من نشاط دفاعي مضاد للأكسدة يتوضح ذلك عن طريق محافظة مضادة الأكسدة الكلوتاثيون (GSH)، وإنزيم الكاتليز (CAT) على مستوياتها الطبيعة في المجموعات المعاملة بالمستخلص المائي لوحده ويعود هذا التأثير لمركبات الفلافونيدات بأعتبارها كمحتوى نشط رئيس فضلا عن السابونيات، والفينولات، والجليكوسيدات .



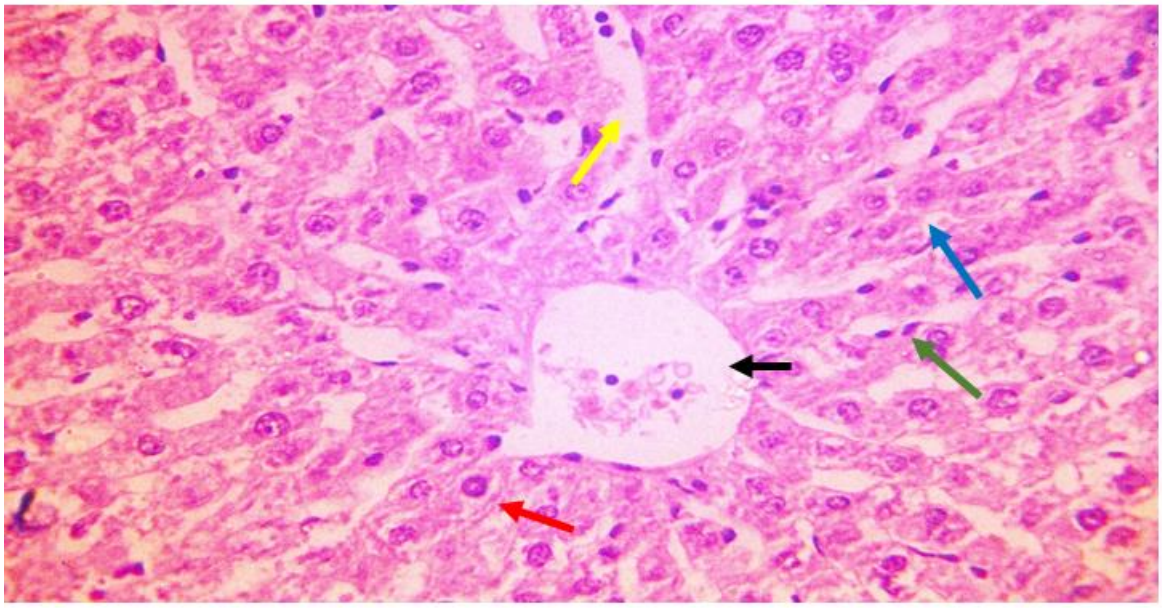
صورة رقم (4-6) مقطع عرضي من نسيج الكبد للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات تين الفيل بتركيز (200)ملغم/كغم، لوحظ فيها النسيج الطبيعي للكبد و الوريد المركزي الواضح (⬅) و الجيبانيات (⬅) ، وانتظام الحبال الكبدية (⬅) ، وخلايا الكبد مع انويتها (⬅) (H&E Stain 200X)



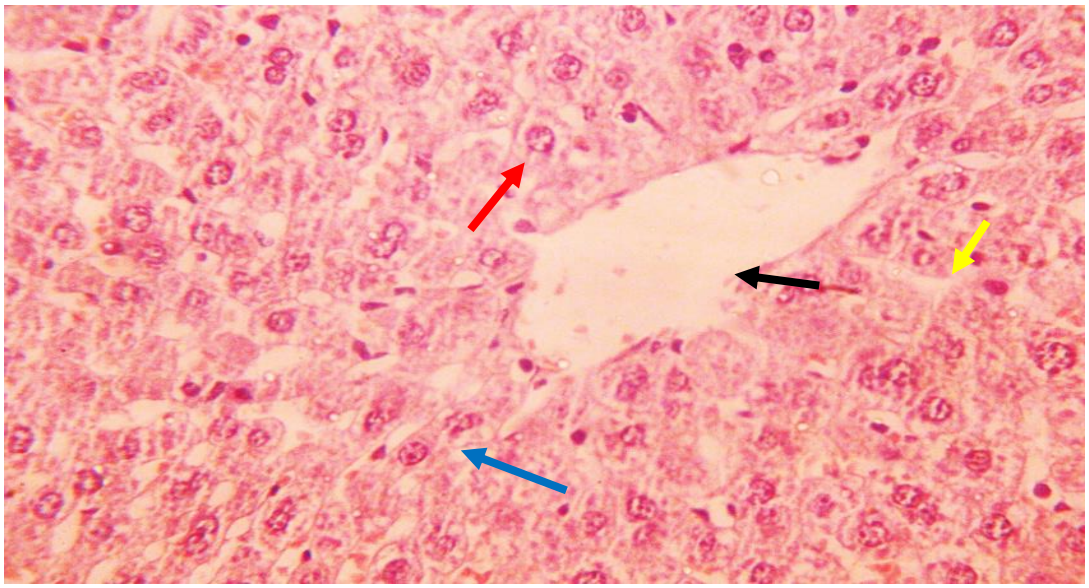
صورة رقم (4-7) مقطع عرضي من نسيج الكبد للمجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات تين الفيل بتركيز (100)ملغم/كغم، لوحظ فيها النسيج الطبيعي للكبد و الوريد المركزي الواضح (⬅) و الجيبانيات (⬅) ، وانتظام الحبال الكبدية (⬅) ، وخلايا الكبد مع انويتها (⬅) (H&E Stain 200X)

أظهرت نتائج دراسة المقاطع النسجية لنسيج الكبد للدراسة الحالية في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل كمادة وقائية (G5) وبتركيز (200) ملغم /كغم من وزن الجسم و(100)ملغم/كغم ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي كما في الصورة (8-4) بأنها اقل تأثرا بسمية مادة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي عند مقارنتها بمجموعة السيطرة الموجبة المعاملة بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم /كغم ، فقد تمثلت في خفض التأثيرات السمية لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي على نسيج الكبد إذ انخفض احتقان الوريد المركزي وانتظام للحبال الكبدية مع توسع الجيبانيات، فنلاحظ من الجدول (2-4) هناك انخفاضاً معنوياً واضحاً ($P \leq 0.05$) في معدلات القياسات النسجية لأقطار الخلايا الكبدية (21.97±0.19) ، وأقطار الجيبانيات (21.24±0.16)، وقطر الوريد المركزي (87.17±0.38) مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة أقطار الخلايا الكبدية (26.19±0.2) والجيبانيات (24.98±0.33)، والوريد المركزي (110.3±0.3).

أما فيما يخص المجموعة (G6) المعاملة بالمستخلص النانوي لبذور تين الفيل وبتركيز (100) ملغم /كغم و(100) ملغم/كغم من ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي ، فلوحظ درجة تحسن عالية والنسيج اقرب للحالة الطبيعية، الوريد المركزي الطبيعي، وانتظام الحبال الكبدية، ووضوح الخلايا الكبدية الطبيعية و انويتها، مع وجود الجيبانيات الصورة (9-4)، فلوحظ من الجدول (2-4) هناك انخفاضاً معنوياً واضحاً ($P \leq 0.05$) في معدلات القياسات النسجية لأقطار الخلايا الكبدية (19.05±0.27)، والجيبانيات (14.86±0.25) ، والوريد المركزي (75.37±0.4) مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة أقطار الخلايا الكبدية (26.19±0.2) والجيبانيات (24.98±0.33)، والوريد المركزي (110.3±0.3). مما يدل على كفائة المستخلص النانوي لنبات تين الفيل لمكافحة التأثير السام لثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي .



صورة رقم (4-8) مقطع عرضي من نسيج الكبد للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات تين الفيل بتركيز (200) ملغم/كغم من وزن الجسم مع ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم ، لوحظ فيها احتقان بسيط في الوريد المركزي (⟵) و توسع بالجيبانيات (⟵) ، وانتظام الحبال الكبدية (⟵) ، وخلايا الكبد مع انويتها (⟵) خلايا كيفر (⟵) (H&E Stain 200X)



صورة رقم (4-9) مقطع عرضي من نسيج الكبد للمجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لنبات تين الفيل بتركيز (100) ملغم/كغم من وزن الجسم مع ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم، لوحظ فيها نسيج الكبد اقرب للطبيعي، الوريد المركزي(⟵) و الجيبانيات (⟵) ، وانتظام الحبال الكبدية (⟵) ، وخلايا الكبد مع انويتها (⟵) (H&E Stain 200X)

سببت المعالجة بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل في تحسن إصابة نسيج الكبد وهذا ما يدعم الدور الوقائي للمستخلص المائي في المجموعة الخامسة كما في الصورة (8-4) وصولاً إلى المجموعة السادسة التي تجلى فيها الدور الوقائي واضحاً للمستخلص النانوي لبذور تين الفيل بتركيب النسيج الذي يبدو مقارباً للتركيب الطبيعي لنسيج الكبد لمجموعة السيطرة السالبة كما في الصورة (9-4) ، إذ تميز المستخلص المائي والنانوي بفعالية وقائية عالية لما يمتلكه النبات العديد من المركبات الفعالة كما في الجدول (1-4) التي لها القدرة على تحسين الأداء الوظيفي لنسيج الكبد بصورة عامة والخلايا الكبدية بصورة خاصة، إلى جانب قدرتها العالية في كبح تكوين الجذور الحرة والإجهاد التأكسدي.

نتائج دراستنا الحالية متفقة مع دراسة Oyinloye وجماعته (2016) ، ودراسة Kadiri and Apiamu(2022) إذ كانت دراسة الأول تخص المعاملة بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز (400،200) ملغم /كغم الذي اظهر حماية عالية وتحسن كبير للتسمم الكبدي الناجم عن مادة الكادميوم التي لها تأثير كبير على الإجهاد التأكسدي إذ قلل تناول المستخلص المائي فموياً من مستويات إنزيمات الكبد (ALT وAST) وهذ يوفر دليلاً علمياً على أن المستخلص المائي لبذور تين الفيل قد يوفر حماية تجاه الأضرار الناجمة عن الكادميوم، والذي يمكن ان يعزى إلى وجود العديد من المركبات الفعالة والنشطة حيوياً والتي تعمل بشكل متأزر لكبح الإجهاد التأكسدي الناجم عن تكوين الجذور الحرة من التعرض للكادميوم والذي تمثل بأستعادة مستويات إنزيمات الأكسدة (CAT, SOD) لمستوياتها الطبيعية ؛ وبذلك تعمل على حماية الكبد وربما تكون هذه القدرة على الحماية مرتبطة بالفلافونيد ومركبات الفينول (Oboh and Imafidon, 2018). أما دراسة الثاني Kadiri and Apiamu (2022) على ذكور الجرذان المختبرية لتقييم الدور الوقائي للمستخلص الكحولي لبذور تين الفيل في حماية الكبد من التلف الناجم عن السيانيد باستخدام (100 ، 200) ملغم /كغم من المستخلص الكحولي أدى إلى انخفاض التأثيرات الضارة للسيانيد على نسيج الكبد كان هذا واضحا عن طريق اختفاء التغيرات النسجية المرضية ؛ وذلك بسبب المكونات الفعالة حيويا والتي لها القابلية على التخلص من الجذور الحرة بواسطة الارتباط معها واكتساحها وحماية أغشية الخلايا من الإجهاد التأكسدي مما يدعم نتائج دراستنا التي بينت القابلية الوقائية التي تمتلكها مستخلصات تين الفيل وعلى وجه الخصوص المستخلص النانوي كمادة مضادة للأكسدة ومأمونة للغاية ضد إصابة الكبد التي يسببها ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي . وأيضا يعمل نبات تين الفيل على خفض مستوى الكوليسترول الكلي والكوليسترول منخفض الكثافة الضار ،والدهون الثلاثية ، ويرفع مستوى الكوليسترول عالي الكثافة؛ ممايتنتج عنه منع ترسب الدهون في الكبد فسلجيا .

جدول (2-4) يوضح الدور الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على بعض القياسات النسجية لنسيج الكبد لذكور الجرذان البيض المعاملة بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي

المعايير المدروسة / المعاملات	أقطار الخلايا الكبدية (مايكرون)	أقطار الجيبانيات (مايكرون)	قطر الوريد المركزي (مايكرون)
(G1) السيطرة ماء حنفية	18.29±0.3 A	14.54±0.18 A	74.34±0.22 A
(G2) السيطرة الموجبة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم/كغم	26.19±0.2 B	24.98±0.33 B	110.3±0.3 B
(G3) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم	18.13±0.23 A	14.58±0.19 A	74.49±0.32 A
(G4) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل(100) ملغم/كغم	18.28±0.29 A	14.52±0.17 A	74.33±0.21 A
(G5) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم+ ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم /كغم	21.97±0.19 C	21.24±0.16 C	87.17±0.38 C
(G6) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل (100) ملغم/كغم+ ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم /كغم	19.05±0.27 A	14.86±0.25 A	75.37±0.4 A
L.S.D	2.98	3.99	12.94

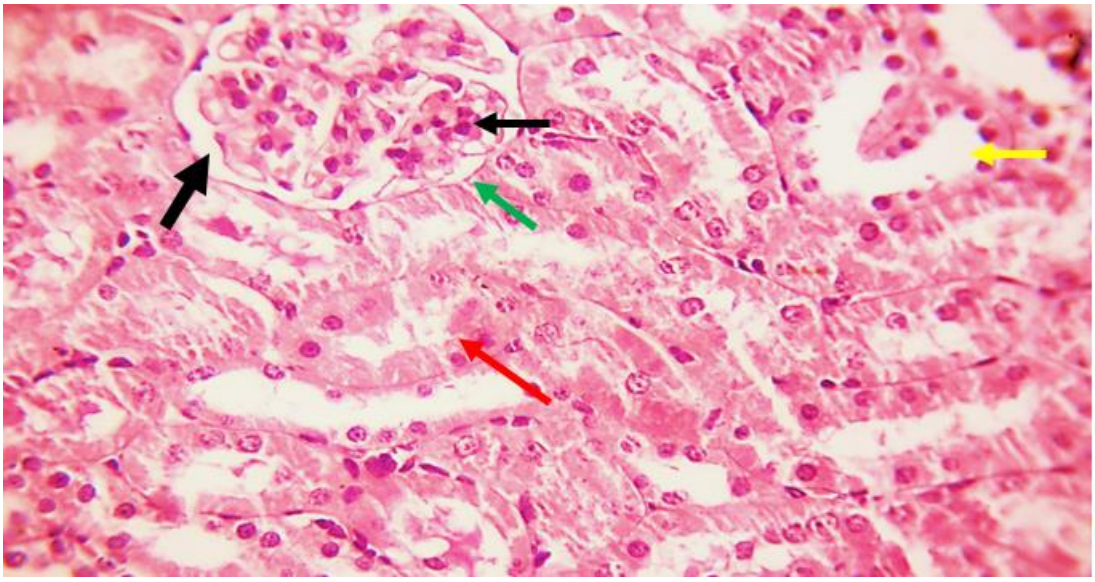
المعدل ± الخطا القياسي N= 6، الحروف المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$)

2.2.4: الفحص والقياسات النسجية للكلية:

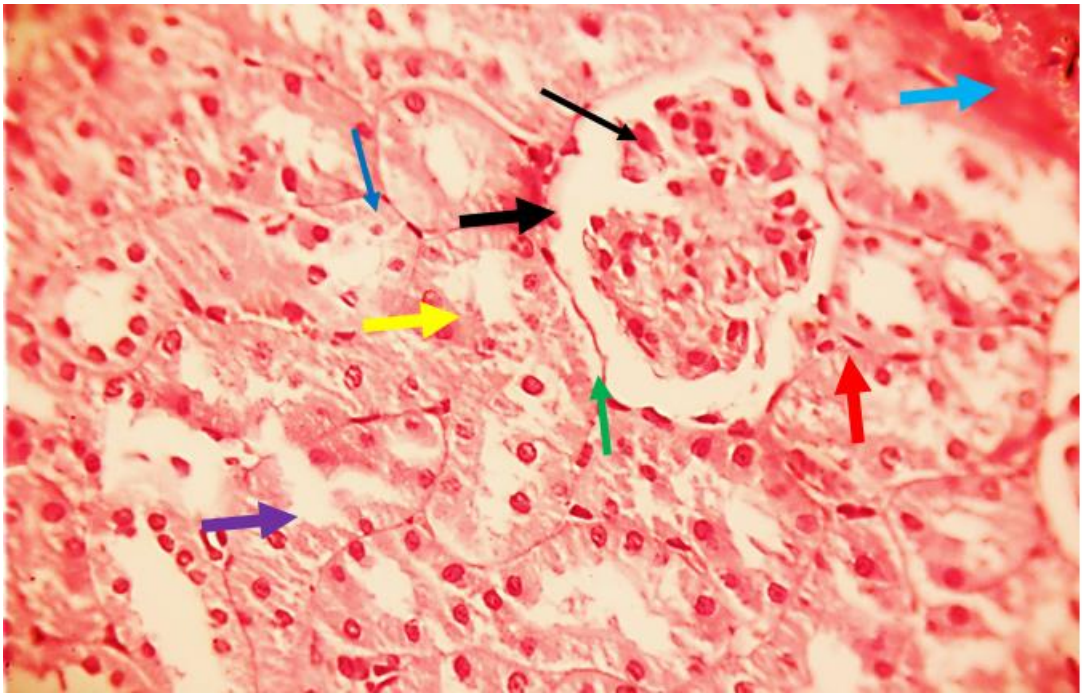
1.2.2.4. تأثير المعاملة بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم على التركيب والقياسات النسيجية للكلى مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة (G1):

بيّنت نتائج الفحص النسيجي لنسيج الكلية في الدراسة الحالية الصورة (10-4) في مجموعة السيطرة السالبة لوحظ فيها التركيب الطبيعي لنسيج الكلية تظهر فيها الشكل الطبيعي للكبيبات Glomerulus مع وجود فسحة بومان space Bowman، والنبيبات البولية الدانية (القريبة) Proximal convoluted-Tubule والنبيبات القاصية (البعيدة) Distal convoluted-Tubule.

أما نتائج الفحص النسجي للكلية في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) في الصور (11-4) والمعاملة بثناني أوكسيد التيتانيوم بتركيز (100)ملغم /كغم من وزن الجسم ولفترة (30) يوماً فكانت هناك تغيرات نسجية كبيرة مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) تمثلت بضمور شديدAtrophy في حجم الكبيبة وتحطمها مع تحطم في جدران النبيبات الكلوية، نزف بين النبيبات الكلوية، وارتشاح للخلايا الالتهابية، وحدوث تنخرفي بعض للخلايا، وتنخر مائي، وانكماش في حجم الكبيبة يرافقه زيادة فسحة بومان، وانسلاخ في جدران النبيبات الكلوية مما يؤدي إلى فشل الكلية في تأدية وظيفتها الإخراجية كما في الصورة (11-4) ، فقد لوحظ انخفاضاً معنوياً ($P\leq0.05$) كما في الجدول (3-4) في معدلات أقطار كل من الكبيبة (66.36±0.36) مايكرون، والنبيبب الملتوي القريب (34.64±0.21) مايكرون، والنبيبب الملتوي البعيد (24.2±0.21) مايكرون مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة التي كانت معدلات أقطارها كما يلي: الكبيبة (84.22±0.33) مايكرون، والنبيبب الملتوي القريب (44.96±0.29) مايكرون، والنبيبب الملتوي البعيد (34.23±0.29) مايكرون، وجاءت هذه النتيجة متفقة مع دراسة Abdou وجماعته (2018)؛ قد يعزى سبب هذه التغيرات النسيجية التي حدثت لنسيج الكلية إلى الإجهاد التأكسدي من تناول ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي والذي يحفز على تكوين وتحرير الجذورالحرة وأكسدة الدهون والبروتينات، وزيادة تراكم أنواع بيروكسيد الهيدروجين؛ وبذلك تؤدي إلى تحطم الأغشية الخلوية للنبيبات البولية والكبيبات وهذا يتفق مع دراسة (Gui *et al*.,2013) .



صورة رقم (4-10) مقطع عرضي من نسيج الكلية للمجموعة السالبة ، لوحظ فيها التركيب الطبيعي للكبيبة( ) و فسحة بومان ( ) ومحفظة بومان ( ) والبنية الطبيعية للنبيب الداني ( ) والنبيب القاصي ( ) (H&E Stain 200X)



صورة رقم (4-10) مقطع عرضي من نسيج الكلية للمجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز (200) ملغم/كغم مع ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم، يلاحظ فيها انكماش وضمور الكبيبة( ) وزيادة فسحة بومان ( ) ارتشاح الخلايا الالتهابية ( ) نزف دموي ( ) انسلاخ في جدران النبيبات الكلوية ( ) (H&E Stain 200X)

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما أوجده Hong وجماعته (2015) في دراسته التي أجروها على (30) من الجرذان البالغة لتقدير تأثير مادة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز(1.25، 5) ملغم/ كغم لفترة (تسعة) اشهرعلى بعض القياسات البيوكيميائية والتغيرات النسجية، إذ أثبتت نتائج دراستهم النسجية عن طريق الفحص المجهري للنسيج الكلوي حدوث ضمور وتليف الكبيبة، ارتشاح الخلايا الألتهابية، توسع واحتقان النبيبات الكلوية بالسائل البروتوني، واحتقان الأوعية الدموية الكلوية، وتنكس الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات البولية وحتى تنخرها فضلاً عن انسلاخها وكذلك حدوث نزف دموي، في حين اوجدت الدراسة التي اجرتها الباحثة Fartkhooni وجماعتها (2016) أن حقن (64) من الجرذان البيض بمادة ثناني أوكسيد التيتانيوم بواقع(30، 50، 70) ملغم/كغم من وزن الجسم داخل الصفاق intraperitoneal فكانت النتائج النسجية وجود تغيرات مرضية عديدة منها ، حدوث التهاب الكبيبة، تغييرات تنكسية شديدة في النبيبات الملتوية القريبة والنبيبات الملتوية البعيدة مع تنخر خلوي ووجود الخلايا الالتهابية . وتتفق مع دراسة Abd-Elhakim وجماعته (2024)، إذ بين حدوث أنكماش في الكبيبة، توسع في محفظة بومان، نزف دموي ووذمة، احتقان في ظفيرة الكبيبة ارتشاح الخلايا الالتهابية، تحطم في الخلايا الطلائية المبطنة للنبيبات البولية.

اتفقت نتائج دراستنا مع دراسة Nassar وجماعته (2023) التي أجراها على (40) فئر ابيض ،جرعت فيها ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (1499)غم/كغم لفترة خمسة أيام متتالية ،والتي أوضح من خلالها التغيرات النسجية التي طرئت على نسيج الكلى والتي شملت : تحطم النبيبات القريبة والبعيدة ، انكماش الكبيبة ،أرتشاح الخلايا الألتهابية ، وتنخر للخلايا ، ان سبب هذه التغييرات المرضية هو تراكم جزيئات ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي داخل الخلايا مما يسبب تغيرات جينية وتحطم الانوية ، مما يؤدي إلى استحثاث الموت الخلوي للخلايا .

أشارت دراسة Meena and Paulraj(2012) أن حقن الجرذان البيض بالوريد الذنبي بمادة ثناني أوكسيد التيتانيوم بواقع (5،25،50) ملغم /كغم يوميا لفترة (30) يوماً أظهرت النتائج النسجية والخلوية للكلية انتفاخ وتوسع الكبيبة وتجمع الخلايا الالتهابية، وتنخر خلوي، هذه التغيرات ناتجة عن حدوث الموت الخلوي لخلايا الكلية الناتج عن تراكم جسيمات ثناني أوكسيد التيتانيوم داخل الخلايا الذي يؤدي للأجهاد التأكسدي والسمية الخلوية التي ينتج عنها تحطم الدنا، وتحطم النوى.

كما وجد أن حقن ثناني أوكسيد التيتانيوم داخل الصفاق بتراكيز تصاعدية (125،252،378) ملغم /كغم لفترة يومان في الجرذان المختبرية يحدث تغيرات سلبية كبيرة في المؤشرات النسجية للكلية تمثلت بحدوث التهاب الكبيبة وتنخر، وتنكس الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات البولية القريبة، وتحلل انوية الخلايا المبطنة

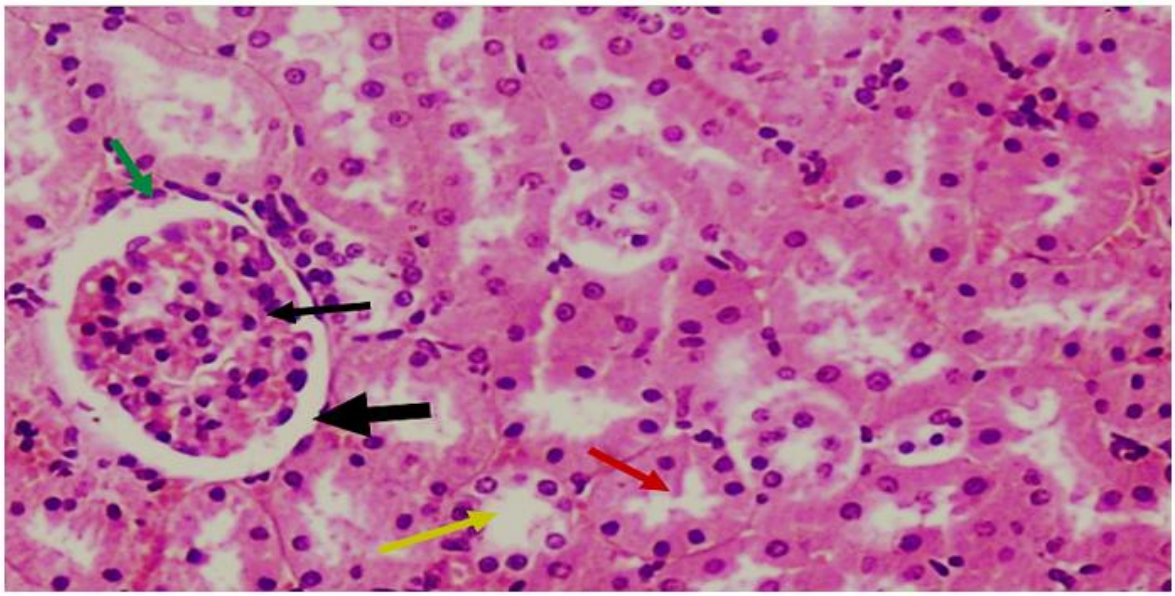
للنبيبات الكلوية، وحدوث تليفاً في الجرعة العالية، وتوسع الأوعية الدموية القشرية، ووذمة تحيط بالأوعية الدموية الكلوية، وكانت هذه الأعراض نتيجة لتراكم ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي داخل نسيج الكلية (Al-Doaiss *et al.*,2019).

2.2.2.4: تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لنبات تين الفيل على نسيج الكلية:

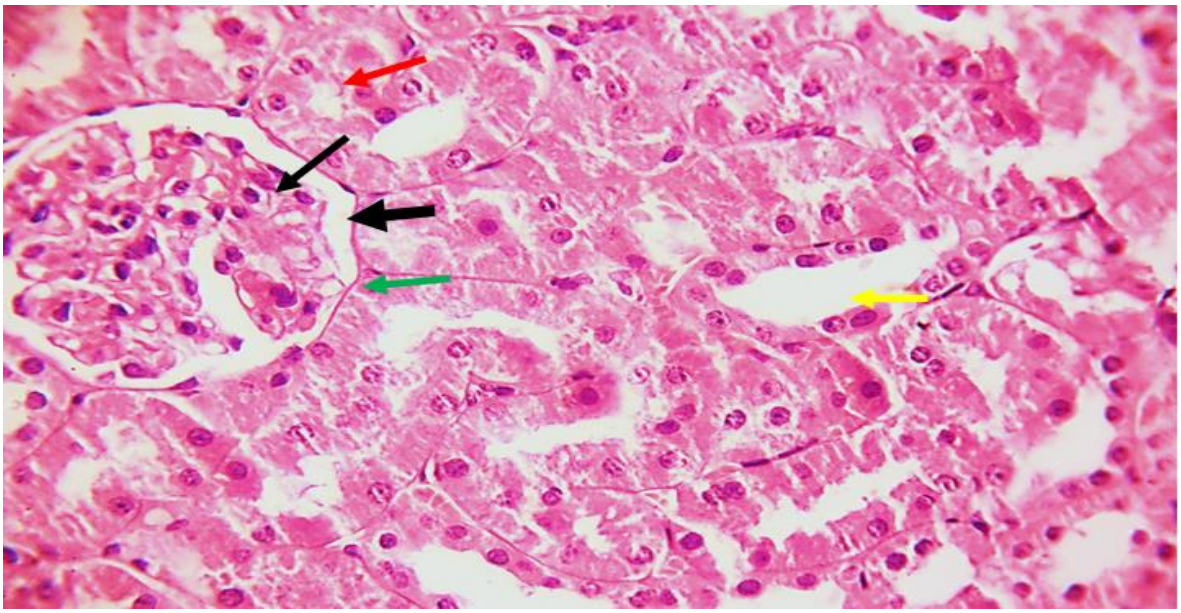
بيّنت نتائج دراسة المقاطع العرضية لنسيج الكلى في المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لنبات تين الفيل في المجموعات (G3، G4) بواقع (200،100) ملغم \ كغم من وزن الجسم ولفترة (30) يوماً ان نسيج الكلى لم يعاني من اية تغيرات نسجية عند المقارنة بمجموعة السيطرة السالبة وكان النسيج طبيعي مماثل لما هو عليه في مجموعة السيطرة السالبة، فيلاحظ فيه التركيب الطبيعي للكبيبة ، وجود محفظة بومان ، وضوح النبيبات الملتوية الداني والقاصي صور (12-4) (13-4).

وأوضحت نتائج الدراسة الحالية القياسات النسجية في المجموعتين المعاملتين بالمستخلص المائي والنانوي لنبات تين الفيل بواقع (200،100) ملغم \ كغم (G4،G3) ، عدم وجود فروق معنوية في معدلات أقطار كل من الكبيبة (84.34±0.31 ، 84.16±0.23) مايكرون ، ومعدل أقطار النبيب الملتوي القريب (44.91±0.36،44.73±0.16) مايكرون، ومعدل أقطار النبيبب الملتوي البعيد (34.52±0.29، 34.29±0.29) مايكرون على التوالي ، مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة التي كانت قياساتها النسجية كما يلي: (84.22±0.33)، (44.96±0.29)، (34.23±0.29) للكبيبة والنبيبات البولية القريبة والبعيدة على التوالي جدول (3-4).

أثبتت الدراسة الحالية أن عدم وجود تأثير جانبي للمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل وسلامته على التركيب النسيجي للكلى؛ قد يعود إلى مركباته الفعالة ذات الخصائص الحيوية جدول (4-1) التي لا تشكل أي تأثير سمي أوضار للأنسجة والتي لها خصائص مضادة للالتهابات منها الفلافونيدات المعروفة بكفائتها على تجديد الخلايا وتعزيز مضادات الأكسدة، وتحطيم الجذور الحرة، واحتوائه على فيتامين C، والاحماض الامينية والأحماض الدهنية غير المشبعة والتي تساعد على المحافظة على التوازن الطبيعي لمضادات الأكسدة التي تمنع تكوين الجذور الحرة؛ وبذلك تحمي الأغشية الخلوية من الضرر التأكسدي كونها توفر كاسحات للجذور الحرة للدهون غير المشبعة في الأغشية الخلوية(Obike *et al.*,2014 ;Umukoro & Ashorobi , 2005).



صورة رقم (4-12) مقطع عرضي من نسيج الكلية للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز (200) ملغم/كغم من وزن الجسم، لوحظ فيها التركيب الطبيعي للكبيبة(←) و فسحة بومان (←) ومحفظة بومان (←) والبنية الطبيعية للنبيب الداني (←) والنبيب القاصي (←) (H&E Stain 200X)



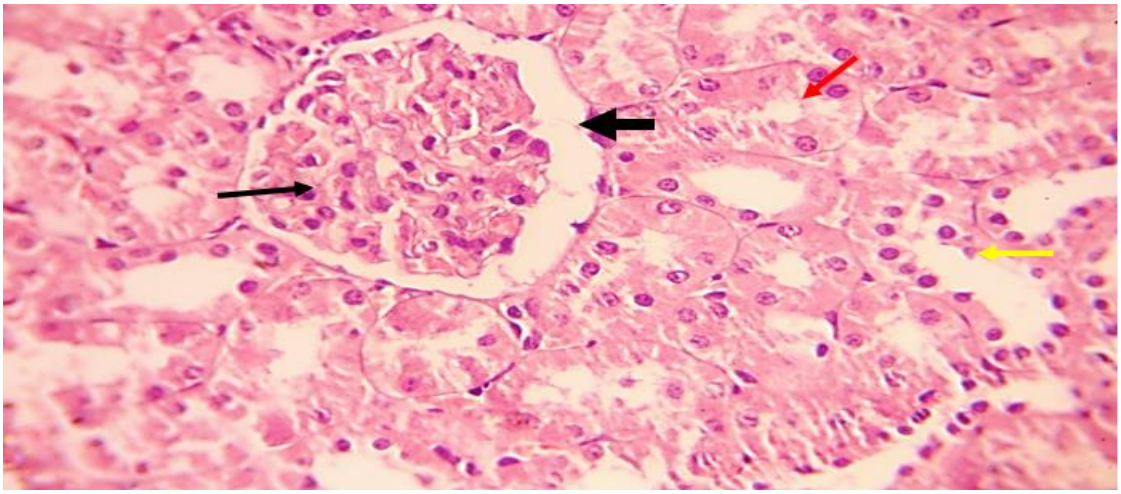
صورة رقم (4-13) مقطع عرضي من نسيج الكلية للمجموعة المعاملة بالمستخلص النانوي لبذور تين الفيل بتركيز (100) ملغم/كغم من وزن الجسم، لوحظ فيها التركيب الطبيعي للكبيبة(←)و فسحة بومان (←) ومحفظة بومان (←) والبنية الطبيعية للنبيب الداني (←) والنبيب القاصي (←) (H&E Stain 200X)

تبين الصورة (14-4) مقطعاً مستعرضاً في نسيج الكلية في المجموعة الوقائية (G5) المجرعة بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز (200) ملغم/ كغم مع ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم، حدوث تغييرات نسجية مرضية أقل حدة مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم ،) فقد لوحظ انكماش بسيط في الكبيبة، وزيادة في فسحة بومان، و البنية طبيعية للنبيبات البولية القريبة والبعيدة.

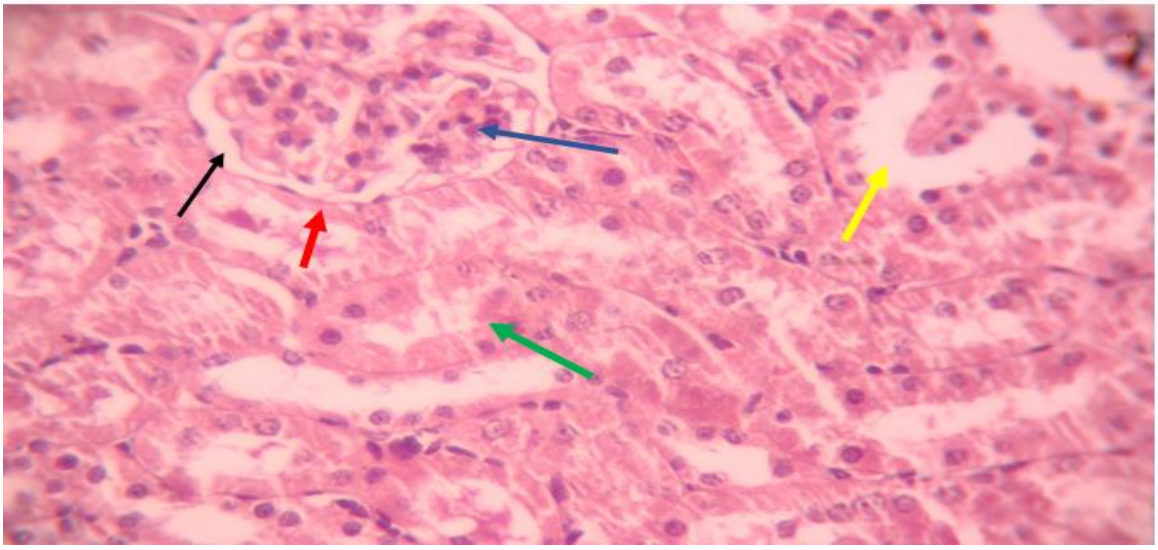
أما الصورة (15-4) التي توضح نسيج الكلية في المجموعة الوقائية (G6) المجرعة بالمستخلص النانوي لبذور تين الفيل بتركيز (100) ملغم /كغم مع ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم فلوحظ فيها نسيج الكلية أقرب لبنية النسيج الطبيعي للكلية مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة ولايوجد ضرراً واضحاً في تركيب الكبيبات، مع وجود محفظة وفسحة بومان محافظة على شكلها الطبيعي، وأن هناك تحسناً واضحاً في النسيج مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة المجرعة بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي؛ وهذا يدل على كفاءة المستخلص النانوي لبذور تين الفيل في كبح التأثيرات الضارة لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي .

أوضحت نتائج الدراسة الحالية جدول (3-4) للمجاميع الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لتين الفيل بتركيز(200، 100) ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي في الجدول (3-4) عن وجود تحسن ملحوظ ومقاومة التأثيرات السمية لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي من خلال الزيادة المعنوية ($P \leq 0.05$) في معدلات القياسات النسجية G5وG6 لكل من الكبيبة (80.61±0.34،83.74±0.26) مايكرون، والنبيبات الملتوية القريبة (41.05±0.19،43.18±0.3) مايكرون، والنبيبات الملتوية البعيدة (33.62±0.4،34.08±0.19) مايكرون على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة G2 ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي الكبيبة (66.36±0.36) مايكرون ، والنبيبب الملتوي القريب (34.64±0.21) مايكرون، والنبيبب الملتوي البعيد (24.21±0.21) مايكرون ، وكان افضل تأثير لمقاومة الأثار السمية لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي هو المستخلص النانوي لتين الفيل في المجموعة الوقائية (G6) ؛ وقد يعزى التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل لوجود المركبات الفعالة للنبات مثل برادول، و الشاكول، والجنجرول، والمركبات فينولية وغيرها جدول (1-4) التي تقاوم التأثير الجانبي لثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي عن طريق عملها كمضادات للألتهاب ومقاومة الجذور الحرة وتنشيط العوامل المضادة لموت الخلية المبرمج وهذا يتفق مع ما وجده Abdou وجماعته (2021) عند دراسته للتأثير الوقائي للمستخلص الكحولي لبذور تين الفيل ضد الدكلوفين (DIC) الذي استحث السمية الكلوية الحادة في (32) من الجرذان البيض لفترة (ستة) أيام وبتركيز (100،200) ملغم /كغم إذ بيّنت النتائج النسجية ان التحسن في نسيج الكلية ناتج عن كسح

ROS من قبل النبات وبالتالي يعمل على التقليل من اكسدة LDL ومن ثم حماية نسيج الكلية من التلف وحماية النبات للاغشية الخلوية من بيروكسي الدهون وخاصة MDA كان اكثر وضوحا عند المعاملة (200) ملغم/كغم من وزن الجسم إذ كانت الكبيبات اكثر انتظاماً، والنبيبات الكلوية اقل تنكساً، وعدم ظهور وذمة او التهاب في النسيج الكلوي.



صورة رقم (4-14) مقطع عرضي من نسيج الكلية للمجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز (200) ملغم/كغم مع ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم، يلاحظ فيها انكماش بسيط الكبيبة(←) وزيادة فسحة بومان (←) والبنية الطبيعية للنبيب الداني (←) والنبيب القاصي (←) (H&E Stain 200X)



صورة رقم (4-15) مقطع عرضي من نسيج الكلية للمجموعة الوقائية المعاملة بالمستخلص النانوي لبذور تين الفيل بتركيز (100) ملغم/كغم مع ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم، لا يوجد ضرر واضح يلاحظ في الكبيبة (←) فسحة بومان (←)، وجود محفظة بومان (←)، مع البنية الطبيعية للنبيبات البولية الداني (←) ، والقاصي (←)(H&E Stain 200X)

جدول (3-4) يوضح الدور الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على بعض القياسات النسجية لنسيج الكلية لذكور الجرذان البيض المعاملة بثاني أوكسيد التيتانيوم النانوي

المعايير المدروسة / المعاملات	قطر الكبيبة (مايكرون)	قطر النبيب الملتوي الداني (مايكرون)	قطر النبيب الملتوي القاصي (مايكرون)
(G1) السيطرة ماء حنفية	84.22±0.33 A	44.96±0.29 A	34.23±0.29 A
(G2) السيطرة الموجبة ثاني أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم/كغم	66.36±0.36 B	34.64±0.21 B	24.21±0.21 B
(G3) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم	84.34±0.31 A	44.91±0.36 A	34.52±0.29 A
(G4) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل(100) ملغم/كغم	84.16±0.23 A	44.73±0.16 A	34.29±0.29 A
(G5) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم+ ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم /كغم	80.61±0.34 C	41.05±0.19 C	33.62±0.4 C
(G6) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل (100) ملغم/كغم+ ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم /كغم	83.74±0.26 A	43.18±0.3 A	34.08±0.19 A
L.S.D	6.6	3.93	3.77

المعدل ± الخطأ القياسي N=6، الحروف المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$)

4-3: الدراسة الفسلجية:

4. 3. 1: الدراسة الفسلجية المتعلقة بإنزيمات الكبد:

4. 3. 1.1: تأثير المعاملة بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي على إنزيمات الكبد:

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية المبينة في الجدول (4-4)، أن هناك اختلافات معنوية واضحة في تركيز إنزيمات الكبد عند المقارنة بين مجاميع التجربة، فقد لوحظ وجود ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.05$) في مستويات تراكيز إنزيمات الكبد (AST،ALP، ALT) في المجموعة المعاملة بمادة ثناني أوكسيد التيتانيوم لفترة (30) يوماً وكما يلي: (AST) (141.9±0.11)، (ALP) (60.48±0.19)، (ALT) (555.8±0.15) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) (88.28±0.21)، (50.33±0.38)، (456.8±0.44) على التوالي.

إن تغير مستويات إنزيمات الكبد في المصل تشير إلى اضطراب في وظائف الكبد، إذ يعد الإنزيمان الناقلان لمجموعة الأمين (AST،ALT) من الإنزيمات المتعلقة بوظائف الكبد، إذ يعطي مستوى هذه الإنزيمات صورة واضحة عن فعالية الكبد والجسم بسبب توفرهما في الكبد بالدرجة الأساسية والقلب والكليتين والعضلات الهيكلية وكريات الدم الحمر، إذ يعمل أنزيم ALT ضمن الخلايا الكبدية بتحويل البروتين إلى طاقة، اما أنزيم AST فيساعد في أيض الاحماض الأمينية (Lewis *et al*.,2023 ; Ramezan *et al*.,2017)، أما بالنسبة لإنزيم (ALP) فقد أوضح كل من Braunwald وجماعته (2001) و Longmore وجماعته (2004) ان تركيزه بالدم يعطي صورة واضحة عن سلامة نسيج الكبد ، وهو يتواجد في القنوات الصفراوية في الكبد ، والعظم، والمشيمة؛ لذلك قد يعزى ارتفاع مستويات هذه الإنزيمات في نتائج دراستنا الحالية إلى تحطم خلايا الكبد وتلف أغشيتها الناتج عن تجمع جزيئات ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي داخل خلايا الكبد مما يؤدي إلى تدفق هذه الإنزيمات إلى مجرى الدم وارتفاع مستوياتها، وهذا الارتفاع بمستوياتها يشير إلى إصابة الخلايا الكبدية وهذا يتفق مع ما توصل إليه(Vasantharaja *et al*.,2015).

اتفقت هذه النتائج مع دراسة Moradi وجماعته (2019) ، عن طريق دراستهم الأثار السمية لتجريع (36) جرذاً أبيضاً بمادة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (300) ملغم /كغم، إذ لاحظوا وجود تغيرات مرضية فسلجيه تمثلت بارتفاع معنوي بمستويات إنزيمات الكبد (AST،ALP، ALT) وتغيرات نسجيه طرئت على نسيج الكبد تمثلت بتحلل خلايا كبفر، تنخر الخلايا الكبدية، واحتقان الوريد المركزي بكريات الدم الحمر، بينما اوضحت دراسة Ghareeb (2023) حدوث ارتفاعاً معنوياً في أنزيمات الكبد ناتج عن التجريع

الفموي بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (300) ملغم /كغم من وزن الجسم لفترة (40) يوماً متتالياً ناتج عن التأثير السمي للمادة السابق ذكرها.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان الزيادة الكبيرة في أنشطة إنزيمات الكبد (AST، ALP،ALT) والتغيرات النسجية المرضية في الكبد تعزى إلى المعاملة بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي وتجمعه داخل الخلايا الكبدية مما يحرض على انتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS) المختلفة التي تسبب أكسدة الدهون في الأغشية الخلوية وتوليد الجذور الحرة التي تهاجم الأغشية الخلوية مما تسبب بتنخر هذه الأغشية وانسياب إنزيمات الكبد إلى مجرى الدم (Brand *et al.*,2020)، واتفقت النتائج مع ما أشار إليه الباحث Valentini وجماعته (2019) في دراستهم لمعرفة تأثير ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (0.5، 1، 4، 16) غم /كغم من وزن الجسم لمدة شهرين على المعايير الفسلجية والشكلية للكبد في الجرذان البيض فقد بينت حدوث تغيرات مرضية واضحة في الكبد شملت حدوث ارتفاع معنوي في تركيز إنزيمات الكبد AST، ALT،ALP وحدوث تغيرات نسجيه مرضية واضحة ناتجة عن الإجهاد التأكسدي الذي تعرضت إليه الخلايا الكبدية بسبب تراكم جزيئات ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي في خلايا الكبد .

3.4. 1. 2: تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي على إنزيمات الكبد:

أظهرت نتائج دراستنا الحالية جدول (4-4) عدم وجود تغييرات معنوية في مستويات إنزيم (AST) U/L(87.75±021،87.47±0.26) ، وإنزيم (ALP) (49.85±0.3، U/L(49.2±0.3 على التوالي في المجموعتين المعاملتين بالمستخلص المائي و النانوي لوحده في (G3) و(G4) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) (AST) U/L(88.28±0.21) ، وإنزيم (ALP) U/L(50.33±0.38) ، مع ملاحظة عدم وجود تغير في مستويات إنزيم (ALT) (456.1±0.3، U/L(456.1±0.3 للمجموعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة U/L(456.8±0.44) .

بينت نتائج الدراسة المبينة في الجدول (4-4) انخفاضاً معنوياً واضحاً عند مستوى معنوية($P \leq 0.05$) في مستويات تركيز الإنزيمات (AST، ALP،ALT) عند المقارنة بين المجموعتين الوقائيتين للمستخلص المائي والنانوي (G5 وG6) بتركيز (200،100) ملغم/كغم مع مجموعة السيطرة الموجبةG2 المجرعة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم/كغم، فقد كانت مستويات إنزيم (AST) (93.5±0.19، U/L (89.87±0.23، و(ALP) (53.75±0.31،51.94±0.22) U/L، و(ALT) (471.8±0.6، 459.08±0.22) U/L في المجموعتين (G5 وG6) مقارنةً مع مجموعة السيطرة الموجبة

(555.8±0.15) (ALT) و U/L (60.48±0.19) (ALP)، و U/L(141.9±0.11)(AST) (G2)
.U/L

أوضحت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-4) وجود انخفاض معنوي واضحاً ($P \leq 0.05$) بين المجموعة الوقائية المجموعة الوقائية (G6) المعاملة بالمستخلص النانوي (100) ملغم /كغم (AST) (89.87±0.23) U/L، (ALT) U/L(459.08±0.22) ، (ALP) U/L(51.94±0.22) مقارنة مع المعاملة بالمستخلص المائي بتركيز (200) ملغم/كغم، و(AST) U/L(93.5±0.19) ، و(ALP) U/L(53.75±0.31) ، (ALT) U/L(471.8±0.6) وهذا يدل على كفاءة المستخلص النانوي لبذور تين الفيل في مواجهة التغيرات المرضية في وظائف الكبد الناتجة عن ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي.

تحتوي بذور نبات تين الفيل على العديد من المركبات النشطة والفعالة حيوياً جدول (4-1) ومنها مركب الجنجرول الذي يتميز بفعاليته الكبيرة ضد المسببات المرضية وهذا يتفق مع دراسة Al-Abbasi وجماعته (2016) التي تضمنت تجريع المستخلص المائي لبذورنبات تين الفيل فموياً للجرذان بجرعات (200،300) ملغم /كغم لفترة (30) يوماً إذ أوضح سلامة المستخلص على وظائف الكبد، في حين قد يعود سبب الانخفاض في فعاليات إنزيمات الكبد للمجاميع الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي والنانوي مع ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي (G5 وG6) مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة المجرعة بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي (G2)؛ ربما يعود إلى قدرة مستخلص بذورنبات تين الفيل في حماية الأغشية الخلوية للخلايا الكبدية من الضرر الناتج عن الإجهاد التأكسدي و تحرير الجذور الحرة المتولد من ايض ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي وتراكمه داخل الخلايا، وقد تعود القدرة الوقائية للنبات إلى نشاط المكونات الفعالة منها الفينولات ،والتربيدنات التي تدخل في تركيب بروتينات الأغشية الخلوية لبذور نبات تين الفيل وهذه المركبات تعمل على اكتساح الجذور الحرة وتعمل كمضادات للالتهاب والتي تعمل على تثبيط تكاثر وانتشار الخلايا الالتهابية (Mbadiko *et al.*, 2024)، وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه Sodipe وجماعته (2019) إذ ذكروا ان تجريع ذكور الجرذان البيض بالمستخلص المائي لبذور نبات تين الفيل بتركيز(200،300 ،400) ملغم /كغم من وزن الجسم لفترة (28) يوماً خفض مستويات إنزيمات الكبد، واتفقت نتائج الدراسة الحالية أيضا مع نتائج Kokou وجماعته (2013) الذين بينوا أن التجريع الفموي للمستخلص المائي لبذور نبات تين الفيل بواقع (100،150) ملغم /كغم لمواجهة سمية رابع كلوريد الكاربون (CCl4) عن طريق تعزيز تركيز الإنزيمات المضادة للأكسدة داخل الجسم ؛ وبذلك تقليل التأثيرات السمية لمادة (CCl4) التي يتعرض لها الجسم والتي تؤثر على وظائف الكبد وهذا واضح من الفروق المعنوية في انخفاض مستويات إنزيمات الكبد .

جدول (4-4) الدور الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على وظائف الكبد لذكور الجرذان البيض المعاملة بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي

المعايير المدروسة / المعاملات	(AST)(U/L)	(ALT)(U/L)	(ALP)(U/L)
(G1) السيطرة ماء حنفية	88.28±0.21 A	456.8±0.44 A	50.33±0.38 A
(G2) السيطرة الموجبة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم/كغم	141.9±0.11 B	555.8±0.15 B	60.48±0.19 B
(G3) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم	87.47±0.26 A	456.1±0.27 A	49.85±0.3 A
(G4) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل(100) ملغم/كغم	87.75±0.21 A	456.1±0.57 A	49.2±0.3 A
(G5) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم+ ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم /كغم	93.5±0.19 C	471.8±0.6 C	53.75±0.31 C
(G6) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل (100) ملغم/كغم+ ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم /كغم	89.87±0.23 A	459.08±0.22 A	51.94±0.22 A
L.S.D	15.93	25.57	2.81

المعدل ± الخطأ القياسي N=6، الحروف المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$)

4- 3- 2: الدراسة الفسلجية المتعلقة بوظائف الكلى:

4-2- 2- 1: تأثير المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي على وظائف الكلى:

أظهرت نتائج الجدول (4- 5) اختلافات معنوية عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) لمجموعة السيطرة الموجبة المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي(G2) بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم لفترة (30) يوماً في تراكيز المعايير الوظيفية للكلى في البلازما بين مجاميع التجربة، إذ أظهرت النتائج هناك ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.05$) في مستويات اليوريا، والكرياتنين، في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) جدول (5-4) اليوريا (40.48±0.15)، والكرياتين (1.69±0.12) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (34.06±0.18) (0.59±0.01)على التوالي .

اتفقت نتائج دراستنا هذه مع El-behairy وجماعته (2019) في دراستهم على ذكور الجرذان لتقييم سمية ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (150ملغم/كغم) على (49) من الجرذان البيض وتأثيره المباشر على وظائف الكلى إذ أشارو إلى حدوث ارتفاعاً معنوياً في مستويات اليوريا والكرياتين في الدم مما أكدوا على حدوث السمية الكلوية الناتجة عن المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي.

اوضح Ahamed وجماعته (2010) ان قياس تركيز الكرياتينين، واليوريا، وحامض اليوريك عادة ما يكون مؤشراً على وظائف الكلى؛ لذلك قد يعزى ارتفاع معدل مستويات مؤشرات وظائف الكلى في المجموعة المعاملة بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي إلى تراكم الجسيمات النانوية لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي في الكلى مما يؤدي إلى خلل في عمل الكلى وبذلك فشلها في التخلص من هذه الجسيمات عن طريق عملية إخراجها والتخلص منها وجاءت هذه النتائج متفقة مع دراسة Morgan وجماعته (2017) لمعرفة التأثيرات الجانبية لتجريع الجرذان بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز(100) ملغم/كغم و لمدة اسبوعين ، إذ أشارت النتائج ان الجسيمات النانوية لثاني أوكسيد التيتانيوم كانت مخزنة في خلايا الكلى وتسببت في تغيرات مرضية وسمية في النيفرون على شكل التهاب في كبيبات الكلى، وارتفاع مستوى اليوريا والكيرياتين بشكل ملحوظ في المصل مقارنة مع مجموعة السيطرة.

أوضح Luaibi and Mohammed (2023) في دراستهم لتأثير حقن ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (50، 200) ملغم /كغم لفترة أربع أسابيع، هذه الزيادة في المؤشرات الحيوية للسمية الكلوية ناتجة عن تراكم النواتج الايضية السامة لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي في النيفرون وانخفاض معدل الترشيح الكبيبي .

واوضحت Mousa (2020) في دراستها ان تجمع ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي في نسيج الكلية يستحث عوامل النخر الخلوي (TNF) α والعامل النووي المعزز لسلسلة كابا الخفيفة في الخلايا البائية النشطة ($NF\text{-}_KB$) مما ينتج عنه فشل في وظائف الكلى متمثلة بزيادة مستويات الكرياتين واليوريا في الدم.

أوضح العالم Gui وجماعته (2013) ان ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي يسبب التسمم الكلوي أيضًا عن طريق توليد الجذور الحرة المستحثة مما يؤدي في النهاية إلى أكسدة الدهون و البروتينات والأحماض الأمينية وبذلك يرتفع مستوى اليوريا والكرياتنين في الدم فقد أوضح Ronis وجماعته (1998) ان سبب ارتفاع مستويات اليوريا في دم الحيوانات المعرضة للإجهاد التأكسدي يعود إلى تأكسد الاحماض الأمينية والبروتينات بسبب الجذور الحرة مما ينتج عنها زيادة انتاج اليوريا كناتج ثانوي، أما الكرياتين فيتم ازالته من مجرى الدم بواسطة الكلى لذلك قياس مستويات الكيرياتين تعد من مؤشرات وظائف الكلى (Palm and Lundpland, 2005) ، لذلك إذا حدث فشل في وظائف الكلى يؤدي إلى ارتفاع مستويات الكيرياتين في المصل (Abdel Halim and Jarrar, 2011).

أن أنواع الاوكسجين التفاعلية والجذور الحرة هي من أهم المساهمين في السمية الكلوية التي يسببها ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي فقد أوضح Niu وجماعته (2017) أن ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي يسبب ضررًا سامًا مباشرًا للغشاء القاعدي الكبيبي ، والخلايا البطانية الكبيبية، والخلايا القدمية للكبيبة مما يؤدي إلى التهاب وارتشاح الخلايا الألتهابية إذ يلعب الالتهاب أيضًا دورًا مهمًا في تلف الكلى الناجم عن ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي عن طريق تأثيرات السيتوكينات الموضعية والعوامل الأخرى السامة للخلايا.

4. 2. 2. 2: تأثير المستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على وظائف الكلى:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية من الجدول (5-4) عدم وجود فروقات معنوية ($P > 0.05$) بين مجموعة السيطرة السالبة (G1) ومجموعة المستخلص المائي (G3، G4) في المعايير الوظيفية الكلوية (الكرياتنين ،اليوريا) فكان مستوى اليوريا (34.03±0.26)، والكرياتيين (0.59±0.07) في مجموعة المستخلص المائي (G3) مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (34.06±0.18) (0.59±0.01)على التوالي، وعدم وجود فروق معنوية لمجموعة المستخلص النانوي (G4)اليوريا (33.94±0.24) والكيرياتن (0.58±0.01) مقارنةً مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) (34.06±0.18) (0.59±0.01) على التوالي ،

أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية الحالية في الجدول (5-4) للمجاميع الوقائية (G5 ، G6) انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في تركيز اليوريا (35.21±0.24،36.02±0.24) ، والكيرياتين (0.59±0.05،1.02±0.05) على التوالي مقارنةً مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) التي جرعت بمادة

ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم من وزن الجسم اليوريا (40.48±0.15) ، والكيرياتين (1.69±0.12)، وهذا يدل على الكفاءة العالية للمستخلص النانوي في مواجهة السمية الكلوية الناتجة عن ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي والتي تمثلت بخفض مستويات اليوريا والكيرياتين وعودتها لمستوياتها الطبيعة تقريباً، وأوضحت نتائج دراستنا الحالية سلامة المستخلص المائي والنانوي على وظائف الكلى وهذه النتائج اتفقت مع نتائج الدراسة التي أجراها الباحث Oguwike وجماعته (2020) التي أجريت على الجرذان المجرعة (1 مل) من وزن الجسم لفترة (28) يوماً واظهرت النتائج عدم حدوث تأثيرات سمية أو تغيرات في مستويات اليوريا و الكيرياتين مما يدل على سلامة المستخلص المائي لتين الفيل على وظائف الكلى.

كما اتفقت دراستنا مع نتائج الدراسة التي اجراها العالم Kabongo وجماعته (2023) إذ تم تجريع الجرذان بالمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز (500) ملغم \كغم من وزن الجسم لفترة (10) أيام وأظهرت النتائج انخفاض طفيف في تركيز كل من اليوريا، والكرياتنين وعدم حدوث خلل في عمل الكلية.

أما عن انخفاض مستوى اليوريا ، والكيرياتين للمجاميع الوقائية المجرعة بالمستخلص المائي والنانوي ورجوعها إلى المستوى الطبيعي تقريبا قد يعود لاحتواء نبات تين فيل على مركبات فعالة لها فاعلية عالية في اصلاح الأنسجة الكلوية المتضررة والمحافظة عليها من الأجهاد التأكسدي وهذا ما شخصته نتائج الكشوفات باستعمال تقنية GC-MAS التي اجريناه في دراستنا الحالية جدول (1-4) مثل الجنجرول والتي تكسبها صفة مضاد أكسدة فعال من شأنها ان تحسن الحالة الوظيفية للكلى بشكل طبيعي وبذلك تعمل على كسح الجذور الحرة المتولدة من المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم االنانوي والتخلص من حالة الأجهاد التأكسدي وهذا يتفق مع دراسة Rodrigues وجماعته (2018) والتي عن طريقها أثبت كفاءة الجينجرول في كبح الفشل الكلوي الحاد عن طريق خصائصه المضادة للالتهاب والمضادة للأكسدة

تتفق دراستنا الحالية مع دراسة Nwarienne وجماعته (2023) والتي أظهرت فيها انخفاضا معنويا في مستوى اليوريا والكيرياتين في الجرذان المختبرية التي جرعت بمستخلص نبات تين الفيل بتركيز تصاعدي (200،100) ملغم /كغم لفترة سبعة أيام متتالية، إذ أظهر المستخلص المائي لنبات تين الفيل قدرته على تقليل ضعف الكلى الناتج عن تعرض الجرذان المختبرية للاجهاد الكلوي الناتج عن الصدمات الكهربائية.

إن بذور نبات تين الفيل غنية بمركبات الفلافونويد منها البرادول والشاجول والجينجرول وثمانية أنواع أخرى (El Dine *et al*., 2021) ، والتي لها كفاءة عالية على الاستجابة الالتهابية عبر العديد من الطرق وتمنع الجزيئات مثل COX و،iNOS والسيتوكينات، والعامل النووي $_{k}B$ ، (Amadi *et al*.,2016) وتعمل مركبات الفلافونويد (flavonoids-OH) كمركبات كاسحة لجزيئات البيروكسيل (ROO *) لتعمل على توليد

(ROOH)، وتعمل كاسحة لجذور الهيدروكسيل (OH *) ليتم إعادة توليدها لجزيئات الماء (H_2O). وتتصف المركبات الناتجة عن تحويل هذه الجذور (البيروكسيل ، والهيدروكسيل) بأنها أكثر استقرارًا، لذلك ليس من السهل انخراطها في تفاعلات جذرية أخرى لذا ستنهي أثار الجذور الحرة الضارة فيتحسن الأداء الوظيفي للوحدات الكلوية وتقليل التلف التأكسدي للخلايا الكلوية والكبيبات الدموية التي تعيد وظائف الكلى إلى مسارها الطبيعي وتمنع اكسدة البروتينات والاحماض الأمينية (Yu Sheng *et al.*,2019)

جدول (5-4) التأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لنبات تين الفيل على وظائف الكلى في مصل الجرذان المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي

المعايير المدروسة / المعاملات	(اليوريا) (mg/dl)	(الكيرياتين) (mg/dl)
(G1) السيطرة ماء حنفية	34.06±0.18 A	0.59±0.01 A
(G2) السيطرة الموجبة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم/كغم	40.48±0.15 B	1.69±0.12 B
(G3) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم	34.03±0.26 A	0.59±0.07 A
(G4) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل(100) ملغم/كغم	33.94±0.24 A	0.58±0.01 A
(G5) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم+ ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم /كغم	36.02±0.24 C	1.02±0.05 C
(G6) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل (100) ملغم/كغم+ ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم /كغم	35.01±0.23 A	0.59±0.05 A
L.S.D	1.81	0.29

المعدل ± الخطأ القياسي N=6، الحروف المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$)

3.3.4. قياس تركيز مؤشرات الاكسدة ومضادات الاكسدة:

3.3.4. 1.تأثير ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي قياس تركيز مؤشرات الاكسدة ومضادات الاكسدة :

بيّنت نتائج الدراسة الحالية في الجدول (4- 6) حصول انخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في مستويات مضادات الاكسدة الكتاليز (CAT) (6.32±0.1)، ومستوى سوبر اوكسيد دوسمتيز (SOD) (6.15±0.14)، وحصول ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى مؤشرات الأاكسدة المالون ثنائي الديهايد (MDA) (30.57±0.2) في المجموعة التي جرعت بمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (G2) وبتركيز (100) ملغم /كغم لفترة (30) يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة(G1) (17.91±0.29)، (14.67±0.16)، (15.59±0.19) على التوالي.

يعمل سوبر أوكسيد دوسمتيز(SOD) على نطاق واسع في جميع خلايا الجسم، يمتلك دور حماية مهماً ضد الإصابة التأكسدية التي تحدثها أنواع الأكسجين التفاعلية (Rashid *et al*., 2013)، وإن الانخفاض في مستوياته يشير إلى تراكم هذه الجذور الحرة عالية التفاعل والتي تؤدي إلى تقليل نشاطه، مما يؤدي بدوره إلى تأثيرات ضارة تشكل فقدان سلامة غشاء الخلية ووظيفته (Tu *et al*., 2002).

إن الانخفاض في مستوى نشاط انزيم الكاتليز (CAT) و (SOD) والارتفاع بمستوى المالون ثنائي الديهايد (MDA) في دراستنا الحالية جاء مطابقاً مع دراسة كل من Shirani وجماعتها (2020) و Souha وجماعته (2023) ، وأيضاً تتفق هذه النتيجة مع دراسة Shirdare وجماعته (2022) في حدوث انخفاض في مستوى نشاط (SOD) وارتفاع مستوى (MDA) ، فقد اوضحوا ان سبب انخفاض الإنزيمات المضادة للاكسدة في المجموعة المجرعة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي مثل سوبر اوكسيد دوسمتيز (SOD) و الكاتليز (CAT) سببه تراكم ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي في أنسجة الجسم المختلفة ومنها الكبد وبذالك يسبب فشل النظام الدفاعي لهذه الانزيمات كمضادة للأكسدة في التغلب على تخليق أنواع الاكسجين التفاعلية الناتجة عن التعرض لثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي والذي يكون مرتبطاً بالاستخدام المتزايد لهذه المادة والذي يقاوم ارتفاع عوامل الاكسدة الدهنية مما يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي الذي يستدل عليه عن طريق استهلاك (SOD) و (CAT) وارتفاع (MDA) ،أوضح Mohammed and Safwat(2020) في دراستهم الأثار السمية الناتجة تجريع الجرذان فمويا بمادة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي لمدة (30) يوما ارتفاع معنوي في مستوى (MDA) وانخفاض معنوي في مضادات الأكسدة (CAT و GSH) ناتج عن تحفيز الجسيمات النانوية للاستجابات الالتهابية المتمثلة بزيادة السايتوكينات الألتهابية ومنها TNF-α التي تهاجم الخلايا الكبدية مما يؤدي إلى تغيرات مرضية فسلجية ونسجية في نسيج الكبد وانزيماته.

أتفقت دراستنا الحالية مع دراسة Chen وجماعته (2020) التي تضمنت تجريع الجرذان المختبرية بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتراكيز (2 ،10، 50) ملغم /كغم لفترة (90) يوماً ، أشاروا إلى حدوث انخفاضاً معنوياً في مستوى نشاط (SOD) وارتفاعاً معنوياً في مستوى (MDA) عند تركيز (50) ملغم /كغم مما ينتج عنه توليد الجذور الحرة بمستوى عالي التي تكون العامل الرئيس لتحطم الأنسجة ، فقد أوضح Rahal وجماعته (2014) ان نشاط الجذور الحرة يزداد بزيادة تفوقها على مضادات الأكسدة مثل (SOD) و (CAT) فيتسبب بزيادة في بيروكسيد الدهون ثم رفع المالون ثنائي الديهايد (MDA) وفقدان التوازن بين فعالية الجذور الحرة ونشاط مضادات الأكسدة اذ تسبب سرعة استهلاك الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة Antioxidative systems مما يؤدي إلى تلف الانسجة وزيادة عملية اكسدة الدهون وفقدان مرونة الاغشية الخلوية، وأوضح Liu وجماعته (2010) في دراسته لتأثير مادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في الجرذان لفترة (14) يوماً بتراكيز تصاعدية (5 , 10 ، 100 ، 150) ملغم /كغم ، انها مسئولة عن توليد أنواع الأوكسجين التفاعلية ROS مثل :(O^{-}_{2}) و(H_2O_2) إذ يولد التفاعل بين هذين النوعين انواع (OH) و($^1O_2$) وهذان اكثر تدميراً واختزالاً لبيروكسيد الدهون الغير مشبعة في أغشية الخلايا مما يؤدي لتدميرها .

2.3.2.4.ثاثير المستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على مستويات مؤشرات الاكسدة ومضادات الاكسدة :

أوضحت النتائج في الجدول (4 - 6) عدم حصول فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في مستويات (CAT) (18.01±0.17، 18.08±0.25)، ومستوى (SOD) (15.69±0.19 ، 15.95±0.27)، وعدم وجود فروقاً معنوية ($P \leq 0.05$) في مستوى (MDA) (15.4±0.3، 15.58±0.25) للمجموعتين (G4،G3) المعاملتين بالمستخلص المائي والنانوي بتركيز (200 ، 100) ملغم /كغم على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (G1) ، كما لوحظ ايضا عدم وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في مستويات (CAT) (18.01±0.17)، ومستوى (SOD) (15.69±0.19)، ومستوى (MDA) (15.4±0.3) للمجموعة (G3) مقارنة مع مجموعة (G4) (CAT)(18.08±0.25)، (SOD)(15.95±0.27)،(MDA)(15.58±0.25).

أوضحت النتائج الحالية جدول (4 -6) للمجموعتين (G6،G5) حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى (CAT) (15.04±0.27،16.86±0.33)، و مستوى (SOD) (12.36±0.09،14.37±0.17)، وانخفاضاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في مستوى (MDA) (16.77±0.1) (14.94±0.07) على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (G2) .

ان إحدى أهم استراتيجيات الخلايا للتغلب على فائض الجذور الحرة وأنواع الأكسجين التفاعلية هي إشراك نظام الدفاع الإنزيمية المضاد للأكسدة الداخلي، إذ تؤدي إنزيمات (SOD) و(CAT) دورًا مهمًا في تحييد أنواع الأوكسجين التفاعلية ومنع نموها وانتشار الضرر التأكسدي لها (Ighodaro and Akinloye,2018). لذلك نلاحظ من نتائج دراستنا الحالية الارتفاع في مستوى سوبر اوكسيد دوسمتيز (SOD) و الكاتليز(CAT) والانخفاض في مستوى المالون ثنائي الديهايد (MDA) في المجاميع (G3) و(G4) المجرعة بالمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل بسبب الدور الوقائي لمستخلصاته والذي سجل في هذه المجاميع ، وهذه النتائج تتفق مع دراسة Nwozo and Oyinloye (2011) في دراستهم لتأثير تناول المستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز (100, 200) ملغم /كغم لفترة (16) يوماً المستحث فيها الاجهاد التاكسدي بواسطة الأيثانول ، وجدوا ان المستخلص المائي لبذورتين الفيل أظهر نشاطًا مضادًا للأكسدة وبذلك يمكن اعتبار مركبات الفلافونيد والمركبات الفينولية، والقلويدات في المستخلص المائي مسئولة عن انخفاض (MDA) وزيادة (SOD) بسبب التأثير المضاد للأكسدة.

أظهرت المجاميع الوقائية (G5) (G6) دوراً رئيساً في انخفاض تركيز مؤشرات الا كسدة متوافقة مع ما توصل اليه Oyinloye وجماعته (2016) على قدرت المستخلص المائي لتين الفيل على حماية نسيج الكبد ضد السمية التي يسببها الكادميوم وملاحظة ذلك عن طريق انخفاض تركيز انزيم ال (MDA) وارتفاع تركيز مضادات الأكسدة (SOD) و (CAT) ويرجح هذا الدور الوقائي؛ بسبب تأثيره على الغشاء الخلوي لخلايا نسيج الكبد؛ وبذألك يوفر الحماية للكبد ضد السمية التي يسببها الكادميوم.

أوضحUmukoro and Ashorobi (2008) في دراستهم لتقييم دور المستخلص المائي لنبات تين الفيل في مواجهة الإجهاد التأكسدي الناتج عن مادة فينيل هيدرازين (phenylhydrazine) عن طريق خفض مستويات (MDA) وقدرة المستخلص على المحافظة على سلامة الأغشية الخلوية لكريات الدم الحمر من العوامل المؤكسدة.

كما أوجدت الدراسة التي أجراها الباحث Adigun وجماعته (2016) أن تجريع الحيوانات بالمستخلص الكحولي لنبات تين الفيل بتركيز (50، 100، 200) ملغم \كغم من وزن الجسم لفترة سبعة أيام ساهم في رفع تركيز الانزيمات المضادة للأكسدة التي اشتملت على (SOD، CAT) وخفض مستوى نشاط (MDA) مما يدل على قدرة مستخلص نبات تين الفيل على رفع أنظمة دفاعات الجسم المحتملة لحماية الحيوانات من تلف الكبد المستحث بعلاج (Triton X-100).

جدول (6-4) تأثير الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لنبات تين الفيل على مستويات سوبراوكسيد دوسمتيز (SOD)، والكتاليز (CAT)، المالون ثنائي الديهايد (MDA) في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي

(MDA) µmol/L	(Sod) (mg/dl)	(Cat) (mg/dl)	المعايير المدروسة / المعاملات
15.59±0.19 A	14.67±0.16 C	17.91±0.29 C	(G1) السيطرة ماء حنفية
30.57±0.2 B	6.15±0.14 B	6.32±0.1 B	(G2) السيطرة الموجبة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم/كغم
15.4±0.3 A	15.69±0.19 A	18.01±0.17 A	(G3) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم
15.58±0.25 A	15.95±0.27 A	18.08±0.25 A	(G4) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل(100) ملغم/كغم
16.77±0.1 C	12.36±0.09 C	15.04±0.27 C	(G5) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم+ ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم /كغم
14.94±0.07 A	14.37±0.17 A	16.86±0.33 A	(G6) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل (100) ملغم/كغم+ ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم /كغم
5.76	3.45	4.46	L.S.D

المعدل ± الخطأ القياسي N=6، الحروف المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$)

4.3.4.قياس معايير الدهون :

1.4.3.4. تأثير المعاملة بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي على مستويات الدهون في المصل:

أوضحت نتائج الدراسة الحالية في الجدول (4 -7) وجود تأثير واضح لمادة ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم عند مستوى معنوية ($P\leq0.05$) على صور الدهون والتي تشمل (HDL,LDL, CH) إذ لوحظ وجود ارتفاعاً معنوياً($P\leq0.05$) واضح في تركيز الكولسترول الكلي (CH) وتركيز (LDL) إذ ارتفع تركيز (CH) (89.11±0.29) ، (LDL) (39.07±0.07) في مجموعة السيطرة الموجبة بعد ان كان (CH) (66.65±0.32) ، (LDL) (22.34±0.18) في مجموعة السيطرة السالبة ، ولوحظ حدوث انخفاض معنوي($P\leq0.05$) واضح بتركيز(HDL) (54.26±0.14) في مجموعة السيطرة الموجبة عند مقارنتها مع تركيزه في مجموعة السيطرة السالبة (68.15±0.27) ،

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن معاملة ذكور الجرذان بثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم لفترة 30 يوماً ادى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في مستويات (LDL،CH) في مصل الدم بينما انخفض تركيز (HDL) في المصل مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة ،وهذا يتفق مع ماتوصل اليه Bakourوجماعته (2021) في دراسته التي اجراها على (30) من ذكور الجرذان البيض المجرعة ب(100) ملغم/كغم من ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي، و تتفق نتائج دراستنا هذه أيضا مع ما توصل إليه كل من Kamal وجماعته (2024) ودراسة Vasantharajaوجماعته (2015)، حيث اجرى الأول دراسته على (50) من أناث الجرذان البيض الحوامل التي جرعت بتركيز(100، 300) ملغم/كغم بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي فمويا لفترة (20) يوم مما أدى إلى حدوث انخفاض معنوي في تركيز (HDL) وارتفاع معنوي في تركيز كل من (CH) و (LDL) ، اما الثاني فبين أن تجريع الجرذان المختبرية فموياً بتراكيز تصاعدية (50 ، 100) ملغم/كغم تؤدي إلى زيادة في تركيز (CH) و انخفاض تركيز(HDL) والتي تعزى إلى تأثير مادة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي؛ وقد يعود سبب ذلك إلى حدوث عملية بيروكسيدة الدهون (Lipid peroxidation) والذي بدوره يعمل على حدوث اضطرابات في عملية استقلاب (أيض) الدهون الأمر الذي يجعل تراكيز أملاح الصفراء (Pigments salts) منخفضة فضلاً عن حدوث تغيرات عملية في طرح الستيرويدات وكذلك عملية امتصاصها، واتفقت نتائج دراستنا بزيادة تركيز (CH) وانخفاض (HDL) مع Duan وجماعته (2010) الذي أشار أن زيادة تركيز (CH) و(HDL) تعود إلى تلف وظائف الكبد الذي لوحظ في الفئران المعالجة بجرعة عالية من ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي (250،125) ملغم /كغم وزن الفئران يرتبط على الأرجح بتلف نظام الدم والاستجابة المناعية.

أوضح El Rabey وجماعته (2019) ان السبب في انخفاض تركيز (HDL) يعزى إلى انخفاض فعالية انزيم البروتينات الدهنية (Lipoprotein Lipase) وزيادة نشاط انزيم اللاايبيز الكبدي (Hepatic Lipase) حيث يكون (HDL) غنياً بالكليسيريدات الثلاثية وبهذا يصبح من المواد الاساسية التي يعمل عليها انزيم اللاايبيز الكبدي مما يؤدي إلى سرعة إزالة (HDL) من جهاز الدوران مما يؤدي إلى خفض تركيزه في الدم؛ وقد يعزى ارتفاع تركيز كل من (TCH،LDL) وانخفاض (HDL) إلى تراكم جزيئات ثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي في أنسجة الكبد مما يسبب خللاً واضحاً في وظائف الكبد ناتج عن تحرر الجذور الحرة ومنها ايض الدهون والذي ينعكس على اختلال تركيز الدهون في الدم وهذا يتفق مع نتائج دراسة Aya و جماعتها (2023) في زيادة تركيز (CH) وانخفاض (HDL) الناتج عن التعرض لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي عن طريق الاستنشاق يؤدي إلى حدوث تغيرات معنوية في ايض دهون الجرذان التي تعرضت للجرعة العالية (1.25 ،2.5) مل /كغم، فقد أوضح حدوث ارتفاع معنوي في تركيز (CH) وانخفاض (HDL)، وقد أعزى ذلك لتراكم جزيئاته في الكبد مما نتج عنه تحرر الجذور الحرة التي تؤثر على وظائف الكبد.

أوضح Jomard and Osto (2020) أن من أسباب انخفاض تركيز (HDL) في الدم سببه الجذور الحرة التي تؤدي إلى رفع مستوى الأكسدة وزيادة فعالية بروتين Cholesterol ester transferes Protein الذي يقوم بنقل (الكولسترول- استر) من(HDL) إلى (VLDL) تاركاً الـ (HDL) غنية بالكلسريدات الثلاثية وأقل الفة إلى A-Apolipoprotein فتبقى حرة مما يسهل عملية طرحها من قبل الكلية، وأيضاً حصول تغيرات في وظائف الكبد مما يؤدي إلى تثبيط إنتــاج (A-Apolipoprotein) الذي يعد البروتين الرئيس لـ (HDL) فضلاً عن ذلك فأن أكسدة (LDL) وتحطيم الكوليسترول الداخلي في خلايا الجسم بسبب أنواع الأوكسجين التفاعلية يؤدي إلى خفض تركيز (HDL) والذي يعد عامل رئيس في نقل الكولسترول منها إلى الكبد ،وذلك يقود إلى تقليل تركيز الكولسترول الموجود في الأوعية الدموية (Alkaade and Vareedayah, 2017).

فسر Tharmaratnam وجماعته (2018) أسباب ارتفاع تركيز (LDL) إلى زيادة تكوين الجذور الحرة التي تعمل على تحطيم خلايا بيتا وانخفاض تركيز الأنسولين، وتحلل الخلايا الدهنية، وبالتالي تحرر الأحماض الدهنية الحره التي يستخدمها الكبد بكميات كبيرة منها لإنتاج (VLDL) وبذلك يزداد تركيز (VLDL) والتي تتحول بعدها إلى (LDL) مما يؤدي إلى ارتفاع تركيزه، وذلك يؤدي إلى مضاعفات مرضية خطرة كأمراض القلب.

2.3.2.4.تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل على مستويات الدهون في المصل:

أظهرت النتائج عدم وجود تغيير معنوي واضح للمعاملة بالمستخلص المائي و النانوي لنبات تين الفيل لوحده في المجاميع (G3) و(G4) بتركيز (200، 100) ملغم /كغم على تركيز (HDL,LDL, CH) في المصل على الرغم من حدوث انخفاض طفيف في تركيز(CH) (66.17±0.03، 65.98±0.33) وتركيز (LDL) (22.04±0.23 ،21.88±0.29)على التوالي، وارتفاع طفيف بتركيز (HDL) (69.45±0.13 ،69.60±0.18) مقارنةً مع مجموعة السيطرة السالبة ، كما لوحظ ايضا عدم وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في مستويات(HDL,LDL, CH) بين المجموعة(G3) المجرعة بالمستخلص المائي بتركيز (200)ملغم /كغم و(G4) المجرعة بالمستخلص النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم.

من جانب اخر لوحظ وجود تأثيراً معنوياً واضح عند مستوى ($P \leq 0.05$) في المجاميع الوقائية المعاملة بالمستخلص المائي و النانوي (G6،G5) بتركيز (200 ، 100) ملغم /كغم و ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم إذ انخفض تركيز (CH) و تركيز(LDL) من (89.11±0.29) ، (39.07±0.07) على التوالي في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) إلى (CH) (71.16±0.19، 67.03±0.24) و(LDL) (26.34±0.21 ، 22.23±0.27) في المجموعتين (G6،G5)، وارتفاع تركيز (HDL) من (54.26±0.14) في مجموعة السيطرة الموجبة (G2) إلى (64.88±0.2، 67.28±0.29) على التوالي في المجموعتين الوقائيتين (G6،G5)، وكان افضل تأثير وقائي هو للمستخلص النانوي بتركيز (100) ملغم /كغم كان له فائدة وقائية اكثر من المستخلص المائي.

أوضحت نتائج دراستنا الحالية عدم وجود فروق معنوية في المجاميع المجرعة بالمستخلص المائي و النانوي لوحده مقارنة مع مجموعة السيطرة، وتتفق نتائجنا هذه مع ماتوصل اليه Akpanabiatu وجماعته (2013) في دراستهم لتأثير المستخلص الكحولي لبذور تين الفيل بتراكيز مختلفة (27، 54 ،82) ملغم/كغم من وزن الجسم على مستويات الدهون في الدم والذي كان له تأثير ايجابي في خفض تركيز(LDL،CH) وارتفاع تركيز (HDL) ويرجع ذلك إلى المركبات الفعالة في بذور النبات منها الفلافونيد والبولي فينول ، والصابونين ، والكلايكوسيد ، والتربونيد ، والستروييد .

لقد أدى إعطاء المستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل مع ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي إلى حدوث انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز (LDL،TCH) وزيادة تركيز (HDL) في مصل ذكور الجرذان في المجاميع الوقائية بالمقارنة مع مجموعة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي وهذا يتفق مع دراسة Tijjani andLuka (2013) التي تضمنت تجريع الجرذان بمستخلص المائي لبذور تين الفيل بتركيز (0.5) مل لفترة

(21) يوماً والتي أوضح عن طريقها قدرة المستخلص المائي في خفض التأثير الضار للغذاء عالي الدهون وتأثيره الضار على وزن الجرذان.

أوضح العالمانAjayi and Omodele (2021) ان مستخلص بذور تين الفيل غني بمركبات الصابونين التي تلعب دورا فعالا كمضادات للأكسدة ، والذي بدوره يعمل على زيادة تحطم الكولسترول وافرازه مع الغائط كما انه يعمل على زيادة تحلل الكولسترول الخلايا الكبدية عن طريق تثبيط إنزيم (3-Hydroxy3-Matheylglutaryl Coenzyme A) الذي يعمل على بناء جزيئات الكولسترول في الكبد (Behera *et al*.,2015) ، ويعمل هذا المركب أيضاً على تقليل مستقبلات البروتين الدهني واطئ الكثافة (LDL-Receptor) والذي بدوره يؤدي إلى تقليل مستقبلات الخلايا له وتقليل الخطورة الناجمـــــة عن أكسدته (Polshettiwar and Khorate, 2016) .

أتفقت نتائج دراستنا الحالية مع نتائج دراسة Hattori وجماعته (2017) التي أوضح عن طريقها قدرة المستخلص المائي على تنظيم تراكيز الدهون في الدم ومقاومة الارتفاع في تراكيزها الناجم عن فرط الدهون عن طريق إنتاج الكبد للبيروكسايزوم (peroxisome) وألذي يعمل على تنظيم (β-oxidation) وتنظيم تصنيع احماض الصفراء وأوضح أن هذه التغيرات الأيضية تحدث عن طريق تنشيط مستقبل peroxisome proliferator-activated receptors بواسطة المركب الفعال الشاكول المتوفر ببذور النبات.

جدول (4-7) تأثير المعاملة بالمستخلص المائي والنانوي على بعض معايير الدهون في مصل ذكور الجرذان البيض السليمة والمعاملة بثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي

HDL mg/dl	LDL mg/dl	Cholesterol mg/dl	المعايير المدروسة / المعاملات
68.15±0.27 A	22.34±0.18 A	66.65±0.32 A	(G1) السيطرة ماء حنفية
54.26±0.14 B	39.07±0.07 B	89.11±0.29 B	(G2) السيطرة الموجبة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم/كغم
69.45±0.13 A	22.04±0.23 A	66.17±0.03 A	(G3) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم
69.60±0.18 A	21.88±0.29 A	65.98±0.33 A	(G4) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل(100) ملغم/كغم
64.88±0.26 C	26.34±0.21 C	71.16±0.19 C	(G5) المستخلص المائي لنبات تين الفيل (200) ملغم/كغم+ ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي(100) ملغم /كغم
67.28±0.29 A	22.23±0.27 A	67.03±0.24 A	(G6) المستخلص النانوي لنبات تين الفيل (100) ملغم/كغم+ ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي (100) ملغم /كغم
12.38	14.04	19.67	L.S.D

المعدل ± الخطأ القياسي N=6، الحروف المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$)

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات Conclusions:

عن طريق نتائج الدراسة الحالية تم استنتاج ما يأتي:

1- تحتوي بذور تين الفيل على الكثير من المركبات الفعالة التي لها دور وقائي ضد المواد السامة للجسم وكان المستخلص النانوي لبذور تين الفيل أكثر فعالية من المستخلص المائي للنبات في وقاية الجسم، وكان المركب الفعال البرادول أكثر المركبات الفعالة تواجداً في المستخلص المائي.

3- ادى التجريع الفموي بمادة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي اجهاداً تأكسدياً اذ سبب اضراراً نسجية في نسيج الكبد والكلى تمثلت بتغيرات في كل من الخلايا الكبدية والجيبانيات والوريد المركزي الكبيبة الكلوية والنبيب الملتوي الداني والقاصي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

4-أحدث الاجهاد التأكسدي تغييرات في بعض المعايير الدموية والوظيفية للكبد والكلى تمثلت بارتفاع معنوي في مستوى إنزيمات الكبد (AST) و(ALT) و(ALP) وتركيز اليوريا والكرياتين وتغيير مستويات مضادات الأكسدة وتغيير بمستويات دهون الدم الطبيعية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

5-ان الدور الوقائي للمستخلص المائي والنانوي لبذور تين الفيل ادى الى معادلة الاجهاد التأكسدي الناجم عن التعرض لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي عن طريق تحسين معظم التغيرات النسجية المرضية في الكبد والكلى والتقليل من التأثيرات السمية على وظائف الكبد والكلى.

6- تبيّن أنَّ التجريع بالمستخلص النانوي لنبات تين الفيل بتركيز (100) ملغم/كغم كانت له الفعّالية الأقوى، في التقليل من تأثيرات مادة ثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي فيما يخص المعايير الفسيولوجية والنُسجية المدروسة.

التوصيات Recommendations:

1- دراسة التأثيرات السمية لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي على خلايا الجسم (المعايير الجينية) خصوصا في الفترات الزمنية الطويلة من التعرض.

2- اجراء دراسة مقارنة لتحديد التركيز الأمثل لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي في الاستخدامات الغذائية كمادة حافظة .

3- دراسة التأثيرات السمية لثناني أوكسيد التيتانيوم النانوي على انسجة المعدة والامعاء والغدة الدرقية، والدماغ.

4- دراسة التأثيرات الوقائية للمستخلص النانوي لنبات تين الفيل على المعايير الفسلجية والنسجية للجهاز التكاثري الأنثوي والذكري.

5- تحضير المستخلص النانوي لبذور تين الفيل من المستخلص الكحولي ودراسة كفائته الوقائية والعلاجية.

المصـــــادر

References

المصادر العربية

الراوي، خاشع محمود (2000). المدخل الى الاحصاء الطبعة الثانية كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

الرشيد، أحمد سالم. (2014). الألوان الصناعية في الصناعات الغذائية. فهرسة المكتبة الوطنية أثناء النشر – الخرطوم، السودان.

الجساس، فهد بن محمد؛ الأمين، صلاح الدين عبد الله (2008). المواد المضافة للأغذية. مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية.

المصادر الأجنبية:

Abd-Elhakim, Y. M., Hashem, M. M., Abo-EL-Sooud, K., El-Metawally, A. E., and Hassan, B. A. (2024). Coenzyme Q10 Attenuates Kidney Injury Induced by Titanium Dioxide Nanoparticles and Cadmium Co-exposure in Rats. *Biological Trace Element Research*, 1-15.

Abdelhalim, M. A. K. and Jarrar, B. M. (2011). The appearance of renal cells cytoplasmic degeneration and nuclear destruction might be an indication of GNPs toxicity. *Lipids in Health and Disease*, 10(1): 147.

Abdou A, A., Moselhy, A., M Mohammed, H., El-Nahass, E. S., and G Khalifa, A. (2018). Renal toxicity of titanium dioxide nanoparticlesin male albino rats. *Journal of Veterinary Medical Research*, 25(1), 107-115.

Abdou, R. M., El-Maadawy, W. H., Hassan, M., El-Dine, R. S., Aboushousha, T., El-Tanbouly, N. D., and El-Sayed, A. M. (2021). Nephroprotective activity of Aframomum melegueta seeds extract against diclofenac-induced acute kidney injury: A mechanistic study. *Journal of Ethnopharmacology*, 273, 113939.

Abodunrin, T. F., Oladumoye, M. K., Borishade, F. T., Akande, E. B., and Afolami, O. I. (2020). Antibacteria assesement of Aframomum melegueta {roscoe} K. Schum {alligator pepper} Fruit on bacteria pathogen isolated from the urinary tract. *Journal of Advances in Microbiology*, 20(2), 1-8.

Abuelgasim A. I., and Elmahdi O. R. B. , (2008). Serrobiochemica Effects of Potassium Bromate on Wistar Albino Rats. *American Journal of Food Technology*. 3 : 303 - 309.

Acar, M. S., Bulut, Z. B., Ateş, A., Nami, B., Koçak, N., and Yıldız, B. (2015). Titanium dioxide nanoparticles induce cytotoxicity and reduce mitotic index in human amniotic fluid-derived cells. *Human and Experimental Toxicology*, 34(1), 74-82.

Adefegha, S. A., Oboh, G., Adefegha, O. M., and Henle, T. (2016). Alligator pepper/Grain of paradise (*Aframomum melegueta*) modulates Angiotensin-

I converting enzyme activity, lipid profile and oxidative imbalances in a rat model of hypercholesterolemia. *Pathophysiology*, 23(3), 191-202.

Adelere, I. A., and Lateef, A. (2016). A novel approach to the green synthesis of metallic nanoparticles: the use of agro-wastes, enzymes, and pigments. *Nanotechnology Reviews*, 5(6), 567-587.

Adigun, N. S., Oladiji, A. T., and Ajiboye, T. O. (2016). Antioxidant and anti-hyperlipidemic activity of hydroethanolic seed extract of Aframomum melegueta K. Schum in Triton X-100 induced hyperlipidemic rats. South *African Journal of Botany*, 105, 324-332.

Adikwu E, Deo O, Geoffrey OP, Enimeya DA.(2013) Lead organ and tissue toxicity: Roles of mitigating agents (Part 1). Br. J. *Pharmacol*. Dec; 4(6): 232 -240

Agarwal, H., Kumar, S. V., and Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles–An eco-friendly approach. Resource-*Efficient Technologies*, 3(4), 406-413.

Agarwal, H.; Nakara, A.; Menon, S.; and Shanmugam, V. (2019). Eco-friendly synthesis of zinc oxide nanoparticles using Cinnamomum Tamala leaf extract and its promising effect towards the antibacterial activity. Journal *of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101212.

Agim, C. S., Nosiri, C. I., Chukwuma, A., and Okechukwu, A. (2017). Evaluation of the phytochemical and GC-MS analysis of the aqueous seed extract of Aframomum melegueta. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(2), 101-104.

Ahamed M, AlSalhi MS and Siddigui MKJ (2010) Silver Nanoparticle Applications anHuman Health. Clinica Chimica Acta 411 : 1841-1848.

Ahn, K. (2017). The worldwide trend of using botanical drugs and strategies for developing global drugs. *BMB reports*, 50(3), 111.

Ajaiyeoba, E. O., and Ekundayo, O. (1999). Essential oil constituents of *Aframomum melegueta* (Roscoe) K. Schum. seeds (alligator pepper) from Nigeria. *Flavour and Fragrance Journal*, 14(2), 109-111.

Ajayi, J., and Omodele, I. (2021). Concentration and Differential fractions of Saponin Rich Aframomum melegueta Extract Influences In-Vitro Antioxidant Activities, and Silver Nitrate can Stimulate such Activities in the Plant. *Biochemical Pharmacology*, 10, 186.

Akeil,M.(2006).House pharmacy.Dar AL_Mujtaba for printing,1(ed).In Arabic.

Akindele, A. J., Sowemimo, A., Agunbiade, F. O., Sofidiya, M. O., Awodele, O., Ade-Ademilua, O.and [ACEDHARS UNILAG COVID-19 Response Team]. (2022). Bioprospecting for anti-COVID-19 interventions from african medicinal plants: A review. *Natural Product Communications*, 17(5), 1934578X221096968.

Akpanabiatu, M. I., Ekpo, N. D., Ufot, U. F., Udoh, N. M., Akpan, E. J., and Etuk, E. U. (2013). Acute toxicity, biochemical and haematological study of Aframomum melegueta seed oil in male Wistar albino rats. *Journal of ethnopharmacology*, 150(2), 590-594.

Al-Abbasi, F. A., Alghamdi, E. A., Baghdadi, M. A., Alamoudi, A. J., El-Halawany, A. M., El-Bassossy, H. M., ... and Al-Abd, A. M. (2016). Gingerol synergizes the cytotoxic effects of doxorubicin against liver cancer cells and protects from its vascular toxicity. *Molecules*, 21(7), 886.

Alarifi, S., Ali, D., Al-Doaiss, A. A., Ali, B. A., Ahmed, M., and Al-Khedhairy, A. A. (2013). Histologic and apoptotic changes induced by titanium dioxide nanoparticles in the livers of rats. *International journal of nanomedicine*, 3937-3943.

Al-Doaiss, A. A., Ali, D., Ali, B. A., and Jarrar, B. M. (2019). Renal Histological Alterations Induced by Acute Exposure of Titanium Dioxide Nanoparticles. *International Journal of Morphology*, 37(3).

Alkaade, S., and Vareedayah, A. A. (2017). A primer on exocrine pancreatic

insufficiency, fat malabsorption, and fatty acid abnormalities. *Am J Manag Care*, 23(12 suppl), S203–S209.

Al-Naamani, L., Dobretsov, S., and Dutta, J. (2016). Chitosan-zinc oxide nanoparticle composite coating for active food packaging applications. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 38, 231-237.

Al-Rasheed NM, Faddah LM, Mohamed AM, et al. (2013). Potential impact of Quercetin andIdebenone against immuno- inflammatory and oxidative renal damage induced in rats byTitanium Dioxide nanoparticles toxicity. *J Oleo Sci* 62: 961-71.

Al-Shamma, A. and Mitscher, L.A., (1979). Comprehensive survey of indigenous Iraqi plants for potential economic value. 1. Screening results of 327 species for alkaloids and antimicrobial agents. *Journal of natural products*, 42(6), :633-642.

Altavilla, C., and Ciliberto, E. (2011). Inorganic nanoparticles: synthesis, applications and perspectives—an overview. Inorganic Nanoparticles: Synthesis, Applications, and Perspectives. ed by Altavilla C and Ciliberto E, *CRC Press, New York*, 1-17.

Álvarez-Chimal, R., and Arenas-Alatorre, J. Á. (2023). Green synthesis of nanoparticles. *A biological approach*.

Amadi, S. W., Zhang, Y., and Wu, G. (2016). Research progress in phytochemistry and biology of Aframomum species. P*harmaceutical Biology*, 54(11), 2761-2770.

Ami, D., Mereghetti, P., and Natalello, A. (2022). Contribution of infrared spectroscopy to the understanding of amyloid protein aggregation in complex systems. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9, 822852.

Amin, K. A., and Al-Shehri, F. S. (2018). Toxicological and safety assessment of tartrazine as a synthetic food additive on health biomarkers: A review. *African Journal of Biotechnology*, *17*(6), 139–149.

Anjum, S.; Anjum, I.; Hano, C.; Kousar, S. (2020). Advances in nanomaterials as novel elicitors of pharmacologically active plant specialized metabolites: *current status and future outlooks.HAL archives*., 9(69), 40404-40423

Ataba, E., Katawa, G., Toudji, G. A., Ritter, M., Ameyapoh, A. H., Tchadié, P. E., ... and Karou, S. D. (2020). Toxicity, chemical composition, anti-inflammatory and antioxidant activities of plants used for the treatment of helminth infections in the Kara and Central region of Togo. *Journal of Applied Biosciences*, 156(1), 16114-16131.

Aya, H. E. B. A. I. B. I. A., and Alima, M. S. (2023). Nanoparticles of TiO2-NPs as stressore of cardiovascular (Doctoral dissertation, *Université Echahid Chikh Larbi Tebessi-Tebessa)*.

Bakour M, Hammas N, Laaroussi H.(2021) Moroccan Bee Bread Improves Biochemical and Histological Changes of the Brain, Liver, and Kidneys Induced by Titanium Dioxide Nanoparticles. *BiomedRes Int.;* 1: 6632128

Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., and Winiarska-Mieczan, A. (2022). A review of research on the impact of E171/TiO2 NPs on the digestive tract. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 72, 126988.

Barth, J. (2019). Pepper: A Guide to the World's Favorite Spice. *Rowman and Littlefield.*

Barton, S. A. (2020). Melegueta or grains of paradise: to be ‘ pepperish’. Proceedings of *the Oxford Symposium on Food and Cookery*.

Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., and Rizzolio, F. (2019). The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112.

Behera, J. P., Ramani, Y. R., Prusty, I., and Rohit, S. S. (2015). Antioxidant Effect of Aqueous Extract of Triticum aestivum Grass on Insulin Resistance models in Wistar Albino Rats. *Free Radicals and Antioxidants*, 5(2), 43–51. https://doi.org/10.5530/fra.2015.2.1

Beichner PE (1961) The grain of paradise. *Speculum* 32 (2): 302-307.

Bennett, V., and Inengite, A. K. (2022). Composition of Alligator Pepper (Aframomum melegueta) obtained from Yenagoa in Bayelsa State, Nigeria. *IOSR Journal of Applied Chemistry7*(15).

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

Blanco, E., Shen, H., and Ferrari, M. (2015). Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. *Nature biotechnology*, 33(9), 941-951.

Brand, W., Peters, R. J., Braakhuis, H. M., Maślankiewicz, L., and Oomen, A. G. (2020). Possible effects of titanium dioxide particles on human liver, intestinal tissue, spleen and kidney after oral exposure. *Nanotoxicology*, 14(7), 985-1007.

Braunwald, K.; Fauci, H.; Kasper, L.; Hauser, S. and Longo R. (2001). Jameson. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th Edition. *McGraw-Hill, New York*

Bruneton, J. (1993). Plantes Médicinales: Phytochimie, Pharmacognosie. 2 éme Ed. *Lavoisier, New York*, 914.

Burtis, C.A., Ashwood, E.R. and Bruns, D.E., (2012). Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book. *Elsevier Health Sciences*

Cai, X., Luo, Y., Zhang, W., Du, D., and Lin, Y. (2016). pH-Sensitive ZnO quantum dots–doxorubicin nanoparticles for lung cancer targeted drug delivery. *ACS applied materials and interfaces*, 8(34), 22442-22450.

Cao, X., Han, Y., Gu, M., Du, H., Song, M., Zhu, X., ... and Xiao, H. (2020). Foodborne titanium dioxide nanoparticles induce stronger adverse effects in obese mice than non-obese mice: gut microbiota dysbiosis, colonic inflammation, *and proteome alterations. Small*, 16(36), 2001858.

Chandrakala, V., Aruna, V., and Angajala, G. (2022). Review on metal nanoparticles as nanocarriers: Current challenges and perspectives in drug delivery systems. *Emergent Materials*, 5(6), 1593-1615.

Chen, Z., Y. Wang, T. Ba, Y. Li, J. Pu, T. Chen, Y. Song,(2014). "Genotoxic Evaluation of Titanium DioxideNanoparticles In Vivo and In vitro." *Toxicology Letters* 226(3): 314–319.

Chen, Z., Zheng, P., Han, S., Zhang, J., Li, Z., Zhou, S., and Jia, G. (2020). Tissue-specific oxidative stress and element distribution after oral exposure to titanium dioxide nanoparticles in rats. *Nanoscal*e, 12(38), 20033-20046.

Chen, Z., Zhou, D., Han, S., Zhou, S., and Jia, G. (2019). Hepatotoxicity and the role of the gut-liver axis in rats after oral administration of titanium dioxide nanoparticles. *Particle and fibre toxicology*, 16, 1-17.

Chukwuma, I. F., Ezeorba, T. P. C., Nworah, F. N., Apeh, V. O., Khalid, M., and Sweilam, S. H. (2023). Bioassay-guided identification of potential Alzheimer's disease therapeutic agents from Kaempferol-Enriched fraction of Aframomum melegueta seeds using in vitro and chemoinformatics approaches. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(9), 105089.

Clarke, H. E., Coates, M. E., Eva, J. K., Ford, D. J., Milner, C. K., O'donoghue, P. N., … Ward, R. J. (1977). Dietary standards for laboratory animals: report of the Laboratory Animals Centre Diets Advisory Committee. *Laboratory Animals*, *11*(1), 1–28.

Clifford, A. J., Ebeler, S. E., Ebeler, J. D., Bills, N. D., Hinrichs, S. H., Teissedre, P. L., and Waterhouse, A. L. (1996). Delayed tumor onset in transgenic mice fed an amino acid–based diet supplemented with red wine solids. *American Journal of Clinical Nutrition*, *64*(5), 748-756.

Coccini, T., Grandi, S., Lonati, D., Locatelli, C., and De Simone, U. (2015). Comparative cellular toxicity of titanium dioxide nanoparticles on human

astrocyte and neuronal cells after acute and prolonged exposure. *Neurotoxicology*, 48, 77-89.

Coultate, T., and Blackburn, R. S. (2018). Food colorants: Their past, present and future. *Coloration Technology*, 134(3), 165-186.

Cui, Y., Liu, H., Ze, Y., Zengli, Z., Hu, Y., Cheng, Z., ... and Hong, F. (2012). Gene expression in liver injury caused by long-term exposure to titanium dioxide nanoparticles in mice. *Toxicological Sciences*, 128(1), 171-185.

De Sousa Araújo، Thiago Antônio، Joabe Gomes de Melo، Washington Soares Ferreira Júnior، and Ulysses Paulino Albuquerque. (2016). "Medicinal Plants."in *Introduction to Ethnobiology*. 143-149

Dibwe, D. F., Awale, S., Kadota, S., and Tezuka, Y. (2012). Damnacanthal from the Congolese medicinal plant *Garcinia huillensis* has a potent preferential cytotoxicity against human pancreatic cancer PANC-1 cells. *Phytotherapy Research*, 26(12), 1920-1926.

Dibwe, D. F., Awale, S., Morita, H., and Tezuka, Y. (2015). Anti-austeritic constituents of the Congolese medicinal plant *Aframomum melegueta*. *Natural Product Communications*, *10*(6), 997-999.

Dike, N.(2017) In vitro Antiviral Activities of *Aframomum melegueta* leaf Extracts on Newcastle Disease Virus (NDV), Fowl Pox Virus (FPV) and Infectious Bursal Disease Virus (IBDV). IDOSR (International Digital Organization for Scientific Research) *Journal of Science and Technology* 2 (2), 33-45.

Doherty, V. F., Olaniran, O., and Kanife, U. C. (2010). Antimicrobial activities of *Aframomum melegueta* (alligator pepper). *International Journal of Biology*, *2*(2), 126-131.

Duan, Y., Liu, J., Ma, L., Li, N., Liu, H., Wang, J., and Hong, F. (2010). Toxicological characteristics of nanoparticulate anatase titanium dioxide in mice. *Biomaterials*, 31(5), 894-899.

Dzoyem, J. P., McGaw, L. J., Kuete, V., and Bakowsky, U. (2017). Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of African medicinal spices and vegetables. In Medicinal spices and vegetables from Africa (pp. 239-270). *Academic Press*.

El Dine, R. S., Elfaky, M. A., Asfour, H., and El Halawany, A. M. (2021). Anti-adhesive activity of Aframomum melegueta major phenolics on lower respiratory tract pathogens. *Natural Product Research*, 35(4), 539-547.

El Rabey, H. A., Al-Seeni, M. N., Al-Sieni, A. I., Al-Hamed, A. M., Zamzami, M. A., and Almutairi, F. M. (2019). Honey attenuates the toxic effects of the low dose of tartrazine in male rats. *Journal of Food Biochemistry*, 43(4), e12780.

El-behairy, D. S., Diaa Eldin, N. H., Elbadry, E. E., Mohamed, A. A., and Farrag, I. M. (2019). Hepato-renal toxicity of titanium dioxide nanoparticles and

Elekofehinti, O. O., Ajiboro, P. A., Akinjiyan, M. O., Saliu, T. P., Ayodeji, F. O., Ojo, F. M., and Oluwamodupe, C. (2023). Identification of natural inhibitor from Aframomum melegueta targeting survivin and mammalian rapamycin signaling pathway in Kidney Cancer. *Informatics in Medicine Unlocked*, 41, 101320.

El-Halawany, A. M., El Dine, R. S., El Sayed, N. S., and Hattori, M. (2014). Protective effect of *Aframomum melegueta* phenolics against CCl_4-induced rat hepatocytes damage: Role of apoptosis and pro-inflammatory cytokines inhibition. *Scientific Reports*, *4*, 5880

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

Fadda, L. M., Hagar, H., Mohamed, A. M., and Ali, H. M. (2018). Quercetin and idebenone ameliorate oxidative stress, inflammation, DNA damage, and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in rat liver. *Dose-Response*, 16(4), 1559325818812188.

Faisal, S., Jan, H., Shah, S. A., Shah, S., Khan, A., Akbar, M. T., ... and Syed, S. (2021). Green synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles using aqueous fruit extracts of Myristica fragrans: their characterizations and biological and environmental applications. *ACS omega*, 6(14), 9709-9722

Fartkhooni, F. M., Noori, A., and Mohammadi, A. (2016). Effects of titanium dioxide nanoparticles toxicity on the kidney of male rats. *Int J Life Sci*, 10(1), 65-69.

FDA, Food and Drug Administration, and US Department of Health and Human Services. (2010)Food ingredients and colors. International Food Information Council (IFIC) and *US Food and Drug Administration* [cited 2017 June 19].

Fennell, C. W., Lindsey, K. L., McGaw, L. J., Sparg, S. G., Stafford, G. I., Elgorashi, E. E., ... and Van Staden, J. (2004). Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. *Journal of ethnopharmacology*, 94(2-3), 205-217.

Friedewald, W. T., Levy, R. I., and Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*, 18(6), 499-502.

Fulmer, M. (2008). Do food dyes affect kids behavior. Los Angeles Times.

Gastaldelli, A. (2011). Role of beta-cell dysfunction, ectopic fat accumulation and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Diabetes Research and Clinical Practice, 93(*Suppl 1*), S60-65.

George, M., and Cherian, E. (2017). Emergent global marketing challenges for Kerala cardamom producers vis-À-vis role of the spice board. International *Journal of Community Development and Management Studies*, 1, 039-061.

Ghareeb O. A(2023). Adverse Impact of Titanium Dioxide Nanoparticles on Hepato-Renal Functions and Improved Role of Rosmarinus Officinalis. J *Nat Sc Biol Med*;14:33-38

Grissa, I., ElGhoul, J., Mrimi, R., El Mir, L., Cheikh, H. B., and Horcajada, P. (2020). In deep evaluation of the neurotoxicity of orally administered TiO2 nanoparticles. *Brain research bulletin*, 155, 119-128.

Gui S, Sang X, Zheng L, Ze Y, Zhao X, Sheng L, et al. (2015) Intragastric exposure to titanium dioxide nanoparticles induced nephrotoxicity in mice, assessed by physiological and gene expression modifications. *Part Fibre Toxicol Jul ;*10(4): 1-16

Gui, SuXin, G. S., Li BingYan, L. B., Zhao XiaoYang, Z. X., Sheng Lei, S. L., Hong Jie, H. J., Yu XiaoHong, Y. X., ... and Hong FaShui, H. F. (2013). Renal injury and Nrf2 modulation in mouse kidney following chronic exposure to TiO2 nanoparticles. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(37), 8959-8968.

Gupta, R.; and Xie, H. (2018). Nanoparticles in daily life: applications, toxicity and regulations. Journal of Environmental Pathology, *Toxicology and Oncology*, 37(3).

Gutha, Y., Pathak, J. L., Zhang, W., Zhang, Y., and Jiao, X. (2017). Antibacterial and wound healing properties of chitosan/poly (vinyl alcohol)/zinc oxide beads (CS/PVA/ZnO). *International journal of biological macromolecules*, 103, 234-241.

Guyton, A.C. and Hall, J.E. (2016). Text book of Medical Physiology. 13th ed.. *Saunders co. Elsevier*, U.S.A.921-938.

Hadwan, MH. , Abed, HN. Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity. *Data in brief* 6, 194-199

Hatamie, A., Khan, A., Golabi, M., Turner, A. P., Beni, V., Mak, W. C., ... and Willander, M. (2015). Zinc oxide nanostructure-modified textile and its application to biosensing, photocatalysis, and as antibacterial material. *Langmuir*, 31(39), 10913-10921.

Hattori, H., Yamauchi, K., Onwona-Agyeman, S., and Mitsunaga, T. (2017). Effect of Grains of Paradise (GP) extract intake on obesity and sympathetic nerve activity. *American Journal of Plant Sciences*, 8(2), 85-95.

Hebbalalu, D., Lalley, J., Nadagouda, M. N., and Varma, R. S. (2013). Greener techniques for the synthesis of silver nanoparticles using plant extracts, enzymes, bacteria, biodegradable polymers, and microwaves. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 1(7), 703-712.

Heidari, Z., Mohammadipour, A., Haeri, P., and Ebrahimzadeh-Bideskan, A. (2019). The effect of titanium dioxide nanoparticles on mice midbrain substantia nigra. *Iranian journal of basic medical sciences*, 22(7), 745.

Hepper, F. N. (1967). The identity of Grains-of-paradise and Melegueta pepper (Aframomum, Zingiberaceae) in West Africa. *Kew Bulletin*, *21*(1), 129-137.

Heringa, M. B., Geraets, L., van Eijkeren, J. C., Vandebriel, R. J., de Jong, W. H., and Oomen, A. G. (2016). Risk assessment of titanium dioxide nanoparticles via oral exposure, including toxicokinetic considerations. *Nanotoxicology*, 10(10), 1515-1525.

Hong, F., Hong, J., Wang, L., Zhou, Y., Liu, D., Xu, B., ... and Sheng, L. (2015). Chronic exposure to nanoparticulate TiO2 causes renal fibrosis involving activation of the Wnt pathway in mouse kidney. *Journal of agricultural and food chemistr*y, 63(5), 1639-1647.

Hoseinpouran, M., Khaki, A. and Nazem, H(2015). Assessment of antioxidant properties of allium cepa on serum antioxidants and spermatogenesis after consuming tartrazine in rat. *Biomedicine*, 7(4).

Howes, M. J. R. (2018). The evolution of anticancer drug discovery from plants. *The Lancet. Oncology*, 19(3), 293-294

Hu, J.; and Xianyu, Y. (2021). When nano meets plants: A review on the interplay between nanoparticles and plants. *Nano Today*, 38, 101143

Ighodaro, O. M., and Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.

Ilic, N. M., Dey, M., Poulev, A. A., Logendra, S., Kuhn, P. E., and Raskin, I. (2014). Anti-inflammatory activity of grains of paradise (*Aframomum melegueta* Schum) extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*(43), 10452-10457.

Inegbenebor, U., Ebomoyi, M. I., Onyia, K. A., Amadi, K., and Aigbiremolen, A. E. (2009). Effect of aqueous extract of alligator pepper (Zingiberaceae Aframomum melegueta) on gestational weight gain. *Nigerian journal of physiological sciences*, *24*(2).

Irfan, M., Munir, H., and Ismail, H. (2021). Moringa oleifera gum based silver and zinc oxide nanoparticles: green synthesis, characterization and their antibacterial potential against MRSA. *Biomaterials Research*, 25(1), 17.

Jaafaru, M. S. (2024). Flavonoids-rich extract of Aframomum melegueta (black pepper) improves antioxidant status and modulates aging process in lead-induced neurotoxic Drosophila melanogaster. *EURASIAN JOURNAL OF SCIENCE AND ENGINEERING*, *10*(2), 34-45.

Jain, C., Khatana, S., and Vijayvergia, R. (2019). Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 10(2), 494-504

Javaheri, R., Raji, A. R., Moghaddam Jafari, A., and Nourani, H. (2023). Effects of Oral Exposure to Titanium Dioxide Nanoparticles on the Liver, Small Intestine, and Kidney of Rats assessed by light microscopy and Transmission Electron Microscopy. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 15(1), 41-48.

Jensen, D. M., Christophersen, D. V., Sheykhzade, M., Skovsted, G. F., Lykkesfeldt, J., Münter, R., ... and Møller, P. (2018a). Vasomotor function

in rat arteries after ex vivo and intragastric exposure to food-grade titanium dioxide and vegetable carbon particles. *Particle and fibre toxicology*, 15, 1-18.

Jensen, D. M., Skovsted, G. F., Lykkesfeldt, J., Dreier, R., Berg, J. O., Jeppesen, J. L., ... and Møller, P. (2018b). Vasomotor dysfunction in human subcutaneous arteries exposed ex vivo to food-grade titanium dioxide. *Food and chemical toxicology*, 120, 321-327.

Jiofack, T., Fokunang, C., Kemeuze, V., Fongnzossie, E., Tsabang, N., Nkuinkeu, R., Mapongmetsem, P. M. and Nkongmeneck, B. A. (2008). Ethnobotany and phytopharmacopoea of the South-West ethnoecological region of Cameroon. *J. Med. Plant Res*, 2, 197-206

Jomard, A., and Osto, E. (2020). High density lipoproteins: metabolism, function, and therapeutic potential. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 7, 39.

Jovanović, B. (2014). Critical review of public health regulations of titanium dioxide, a human food additive. I*ntegrated environmental assessment and management*, 11(1), 10-20.

Kabongo, T. J. B., Luvingisa, L. A., Ngoie, M. P., Musuyu, M. D., Musunga, M. A., Kabamba, M. W., and Pyana, P. P. (2023). Evaluation of the toxicity of aqueous extracts of Aframomum melegueta, Picralima nitida, and Garcinia cola in Wistar rats. *Open Journal of Biological Sciences*, 8(1), 028-032.

Kadiri, H. E., and Apiamu, A. (2022). Aframomum melegueta: a stimulator of liver function enzymes and a down-regulator of cyanide-mediated oxidative injuries in rats. *Science World Journal*, 17(3), 375-379.

Kamal, Z., Ebnalwaled, A. A., Al-Amgad, Z., Saied, A. A., Metwally, A. A., and Said, A. H. (2024). The Nephroprotective Effect of In Utero Administration of Green Synthesized Titanium Dioxide Nanoparticles in Albino Rats. *Biological Trace Element Research*, 202(8), 3686-3700.

Kang SJ, Kim BM, Lee YJ, Hong SH, Chung H . (2009).Titanium Dioxide Nanoparticles Induce Apoptosis Through the JNK/p38-Caspase-8-Bid Pathway in Phytohemagglutinin-Stimulated Human Lymphocytes. Biochem. *Biophys Res Commun*. Jun; 386(4): 682-687.

Karimi, S., Khorsandi, L., and Nejaddehbashi, F. (2019). Protective effects of Curcumin on testicular toxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in mice. *JBRA Assisted Reproduction*, 23(4), 344.

Karunaratne, D. N., and Pamunuwa, G. K. (2017). Introductory Chapter: Introduction to food additives. In Food Additives. Intech Open.pp

Kokou, I., Damintoti, K. S., Amegnona, A., Yao, A., and Messanvi, G. (2013). Effect of Aframomum melegueta on carbon tetrachloride induced liver injury. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(9), 098-102.

Kress, W. J., Prince, L. M., and Williams, K. J. (2002). The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. *American Journal of Botany*, 89(10), 1682-1696.

Kreyling, W. G., Holzwarth, U., Haberl, N., Kozempel, J., Hirn, S., Wenk, A., ... and Gibson, N. (2017). Quantitative biokinetics of titanium dioxide nanoparticles after intravenous injection in rats: Part 1. *Nanotoxicology*, 11(4), 434-442.

Kuete, V., Krusche, B., Youns, M., Voukeng, I., Fankam, A. G., Tankeo, S., ... Efferth, T. (2011). Cytotoxicity of some Cameroonian spices and selected medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, *134*(3), 803-812.

Kumar, A., Rai, N., Kumar, N., Gautam, P., and Kumar, J. S. (2013). Mechanisms involved in hepatoprotection of different herbal products: a review. Int J Res Pharm Sci, 4(2), 112-7.

Lai, L., Zhao, C., Su, M., Li, X., Liu, X., Jiang, H., ... and Wang, X. (2016). In vivo target bio-imaging of Alzheimer's disease by fluorescent zinc oxide nanoclusters. Biomaterials science, 4(7), 1085-1091.

Lateef, A., Elegbede, J. A., Akinola, P. O., and Ajayi, V. A. (2019). Biomedical applications of green synthesized-metallic nanoparticles: a review. Pan Afr J Life Sci, 3, 157-182. protective effects of Moringa oleifera leaves extract and vitamin E in male albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 75(2), 2261-2271.

Latif, M., Elkoraichi, I., El Faqer, O., Wahnou, H., Mtairag, E. M., Oudghiri, M., and Rais, S. (2024). Phytochemical analysis and immunomodulatory activities in vitro and in vivo of *Aframomum melegueta* K Schum seed extracts. *Inflammopharmacology*, 32(2), 1621-1631.

Lawal, A.O. Aderibigbe, G.A. Essiet, A.D. Essien, (2007). Hypotensive and antihypertensive effects of *Aframomum melegueta* seeds in humans, *Int. J. Pharmaco*l. 3 311–318

Lewis LC, Chen L, Hameed LS, (2023). Hepatocyte mARC1promotes fatty liver disease. *JHEP Reports*.4(3).p:3

Liu, H., Ma, L., Liu, J., Zhao, J., Yan, J., and Hong, F. (2010). Toxicity of nano-anatase TiO2 to mice: liver injury, oxidative stress. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 92(1), 175-186.

Lock, J. M., Hall, J. B., and Abbiw, D. K. (1977). The cultivation of melegueta pepper. *Economic Botany*, 31, 321e330.

Longmore, P. ; Wilkinson, D. ; Rajagopalan, L. (2004). Oxford Handbook of Clinical Medicine. 6th Edition. *Oxford University. press. London*.

Lovrić, J., Mesić, M., Macan, M., Koprivanac, M., Kelava, M., and Bradamante, V. (2008). Measurement of malondialdehyde (MDA) level in rat plasma after simvastatin treatment using two different analytical methods. *Periodicum Biologorum, 110*(1), 63–68.

Luaibi, N. M., and Mohammed, R. A. (2023). Physiological and Hormonal Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles on Thyroid and Kidney Functions. *Baghdad Science Journal*, 20(3), 0767-0767.

Luca, S. V., Trifan, A., Zengin, G., Sinan, K. I., Uba, A. I., Korona-Glowniak, I., and Skalicka-Woźniak, K. (2022). Evaluating the phyto-complexity and poly-pharmacology of spices: The case of Aframomum melegueta K. Schum (Zingiberaceae). *Food Bioscience*, 49, 101929.

Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., and Kalinina, N. O. (2014). "Green" nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae (англоязычная версия),* 6(1 (20)), 35-44.

Mans, D. R., Djotaroeno, M., Friperson, P., and Pawirodihardjo, J. (2019). Phytochemical and pharmacological support for the traditional uses of Zingiberacea species in Suriname-a review of the literature. *Pharmacognosy Journal*, 11(6s).

Martins Jr, A. D. C., Azevedo, L. F., de Souza Rocha, C. C., Carneiro, M. F. H., Venancio, V. P., de Almeida, M. R., ... and Barbosa Jr, F. (2017). Evaluation of distribution, redox parameters, and genotoxicity in Wistar rats co-exposed to silver and titanium dioxide nanoparticles. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 80(19-21), 1156-1165.

Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., and Ferreira, I. C. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in food science and technology*, 52, 1-15.

Martvall, A., and Lindberg, K. (2022). Promotion of herbal medicines as a sustainable development. *strategy*.7(3)55

Mbadiko, M. MPIANA, P. T. JEAN P. M. KOTO T.N. (2024). Optimization of the anti-inflammatory activity of curcumin in combination with extracts of piper Capense and some Aframomum species. *Afr J Pharm Res Dev*, . 16(3).64-79

McClements, D. J., Xiao, H., and Demokritou, P. (2017). Physicochemical and colloidal aspects of food matrix effects on gastrointestinal fate of ingested

inorganic nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 246, 165-180.

Meena, R., and Paulraj, R. (2012). Oxidative stress mediated cytotoxicity of TiO2 nano anatase in liver and kidney of Wistar rat. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 94(1), 146-163.

Mishra, P. K., Mishra, H., Ekielski, A., Talegaonkar, S., and Vaidya, B. (2017). Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical applications. *Drug discovery today*, 22(12), 1825-1834.

Mitchell, M. J., Billingsley, M. M., Haley, R. M., Wechsler, M. E., Peppas, N. A., and Langer, R. (2021). Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nature reviews drug discovery*, 20(2), 101-124.

Modi, S., Prajapati, R., Inwati, G. K., Deepa, N., Tirth, V., Yadav, V. K.,Yadav, K. K., Islam, S., Gupta, P., and Kim, D.-H. (2022). Recent trends in fascinating applications of nanotechnology in allied health *sciences.Crystals,* 12(1), 39.

Mohammed, A., Gbonjubola, V. A., Koorbanally, N. A., and Islam, M. S. (2017). Inhibition of key enzymes linked to type 2 diabetes by compounds isolated from *Aframomum melegueta* fruit. *Pharmaceutical Biology*, *55*(1), 1010-1016

Moradi, A., Ziamajidi, N., Ghafourikhosroshahi, A., and Abbasalipourkabir, R. (2019). Effects of vitamin A and vitamin E on attenuation of titanium dioxide nanoparticles-induced toxicity in the liver of male Wistar rats. *Molecular biology reports*, *46*, 2919-2932.

Morgan, A., Galal, M. K., Ogaly, H. A., Ibrahim, M. A., Abd-Elsalam, R. M., and Noshy, P. (2017). Tiron ameliorates oxidative stress and inflammation in titanium dioxide nanoparticles induced nephrotoxicity of male rats. *Biomedicine and pharmacotherapy, 93*, 779-787.

Mousa, H. A. (2020). The potential modulatory effect of rutin on titanium dioxide nanoparticles-induced renal injury in male mice. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(6*)*, 17-21.

Musial, J., Krakowiak, R., Mlynarczyk, D. T., Goslinski, T., and Stanisz, B. J. (2020). Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products—What do we know about their safety*?*. *Nanomaterials*, 10(6), 1110.

NaAllah, A., Ayipo, Y. O., Komolafe, D. I., Solihu, S., Bamidele, B., Alabi, M. A., ... and Mordi, M. N. (2021). Phytochemical screening and in silico pharmacological profiling of ethanolic extract of *Aframomum melegueta* for prostate carcinoma. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 11(7), 132-145.

Nagajyothi, P. C., Cha, S. J., Yang, I. J., Sreekanth, T. V. M., Kim, K. J., and Shin, H. M. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using Polygala tenuifolia root extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 146, 10-17.

Nasrollahzadeh, M.; Sajadi, S. M.; Sajjadi, M.; and Issaabadi, Z. (2019). Applications of nanotechnology in daily life. *Interface Science and Technology*, 28, 113–143

Nassar, S. A. E. A., Abdeljawad, A. M., Al Gazeery, A. S. A., and Aluin, N. M. (2023). Nephrotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles (TiO2 NPs) in albino mice and the possible protective role of vitamin E (A histological and molecular study). *Bulletin of Faculty of Science, Zagazig University*, 2(4), 70-78.

National Nanotechnology Initiative (NNI).) (2019) Available online: www.nano.gov .

Niu, L., Shao, M., Liu, Y., Hu, J., Li, R., Xie, H., ... and Niu, Y. (2017). Reduction of oxidative damages induced by titanium dioxide nanoparticles correlates

with induction of the Nrf2 pathway by GSPE supplementation in mice. *Chemico-Biological Interactions*, 275, 133-144.

Nwarienne, C. M., Igbokwe, G. E., Ikwuka, D. C., Ezugwu, U. M., and Ngobidi, K. C. (2023). Effects of Zingiber officinale and Seeds of Aframomum melegueta Extract on Some Biochemical and Immunological Indices of Electric Foot Shock Stress-Induced Wistar Rats. Journal of Advances in *Medical and Pharmaceutical Sciences*, 25(8), 25-37.

Nwozo, S. O., and Oyinloye, B. E. (2011). Hepatoprotective effect of aqueous extract of *Aframomum melegueta* on ethanol-induced toxicity in rats. *Acta biochimica polonica,* 58(3).

Nwozo, S. O., Yakubu, O. F., and Oyinloye, B. E. (2013). Proective effect of aquesous extract of *Aframomum melegueta* on γ-radation indused liver dameg in wister rats. *Mil. Med. Sci. Lett*., 82(3), 126-132.

Oberdörster, G., Oberdörster, E., and Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental health perspectives*, 113(7), 823-839.

Obike, H. I., Ezejindu, D. N., and Chukwujekwu, I. E. (2014). The effects of *Aframomum melegueta* aqueous extract on the kidneys of adult Wistar rats. *Int J Health Sci Res*, 4(4), 111-5.

Oboh, F. O., and Imafidon, J. (2018). Antioxidant and sensory properties of new beverage formulations composed of palm sugar, Aframomum melegueta, and citric acid. *Beverages* 4 (3), 59–72.

Odugbemi, T. A. (2008). Textbook of Medicinal plant. Lagos: *Tolu press*, 8(3)p 24-37.

Oguwike, FN; Offor, CC; Ughachukwu, P; Chukwu, LC; Okafor, IJ; Emenuga, V; Ezenwa, SC (2020). Effectof Aqueous Extract of *Aframomum melegueta (*Alligator Pepper) on some Haematological and Biochemical Profile of AlbinoWistar rat. *Greener Journal of Medical Sciences*, 10(1): 1-6.

Ogwu, M. C., Dunkwu-Okafor, A., Omakor, I. A., and Izah, S. C. (2024). Medicinal spice, *Aframomum melegueta*: an overview of the phytochemical constituents, nutritional characteristics, and ethnomedicinal values for sustainability. *Herbal Medicine Phytochemistry: Applications and Trends, 2(1)*221-243.

Okwu, D. E. (2004). Phytochemicals and vitamin content of indigenous spices of South Eastern Nigeria. *Journal of Sustainable Agriculture and the Environment, 6*(2), 30-34.

Okwu, D. E. (2005). Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences, 1*(4), 375-381.

Oladunmoye, M. K. (2019). Characterization of organic compounds in *Aframomum melegueta* K. *Schum using GC-MS. Medicinal and Aromatic Plants, 8*(2), 1-8

Olamide, Oluwafemi, Ogunmuyiwa and Olasoju, Samson and Adams,. (2021). Mass, Volume, and Friction Related Properties of Alligator Pepper (*Aframomum meleguta*). *American Journal of Food Science and Technology*, 9(1), 16-19.

Olumekun, V. O., Osuntokun, O. T., Ajayi, A. O., and Omotuyi, O. (2020).Estimation of Vitamins in *Aframomum melegueta* [Roscoe] K. *Schum and Relevance Natural*.23(7):25-39.

Olunkwa, U. E., Iheanacho, K. M. E., Igwe, C. U., and Nwaogu, L. A. (2024). Phytochemical analysis and effect of short-term administration of aqueous seed extract of Aframomum melegueta on haematologic indices of female albino rats. *Future Natural Products*, 9(2), 69-75.

Omoboyowa, D. A., Aja, A. O., Eluu, F., and Ngobidi, K. C. (2017). Effects of Methanol Seed Extract of *Aframomum melegueta* (Alligator Pepper) on Wistar Rats with 2, 4-Dinitrophenylhydrazine-induced Hemolytic Anemia. *Recent Advances in Biology and Medicine*.7(4),44

Osuntokun, O.T., (2020). *Aframomum melegueta* (Grains of Paradise). Ann. *Microbiol.Infectious Dis*. 4 (3): 1–6.

Oyinloye, B., Ajboye, B.O., Ojo, O.A., Musa, H.M., Onikanni, S.A. and Ojo, A.A. (2016) Ameliorative potential of *Aframomum melegueta* extract in cadmium-induced hepatic damage and oxidative stress in male wistar rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(7):94-99.

Palm, M. and Lundblad, A. (2005). Creatinine Concentration in Plasma from Dog, Rat, and Mouse: a Comparison of 3 Different Methods. Veterinary *Clinical Pathology*, 34(3): 232-236.

Pandey, R. and Upadhyay, Santosh. (2012). *Food Additive*. 10(5).5772-34455.

Parvin, S., Reza, A., Das, S., Miah, M. M. U., and Karim, S. (2023). Potential Role and International Trade of Medicinal and Aromatic Plants in the World. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, *5*(5), 89-99.

Pavithra, K. G., and Jaikumar, V. (2019). Removal of colorants from wastewater: A review on sources and treatment strategies. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 75, 1–19.

Peters, R. J., van Bemmel, G., Herrera-Rivera, Z., Helsper, H. P., Marvin, H. J., Weigel, S., and Bouwmeester, H. (2014). Characterization of titanium dioxide nanoparticles in food products: analytical methods to define nanoparticles. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(27), 6285-6293.

Polshettiwar, S., and Khorate, S. S. (2016). Triticum aestivum-a green gold. *World J Pharm Pharmaceut Sci*, *5*(4), 636–651.

Ramezani, I; Ojinejad, D. and Ghorbani, A. (2017). Effects of sodium nitrite on liver enzymes and histological structure of liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 26(144), 171-179.

Rahal,G. Cardenas, J. A.; and Manzano-Agugliaro, F. (2014). Worldwide research trends on medicinal plants. International *Journal of Environmental Research and Public Health,* 17(10), 3376

Rashid, S., Ali, N., Nafees, S., Ahmad, S.T., Arjumand, W., Hasan, S.K., and Sultana, S. (2013). Alleviation of doxorubicin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity by chrysin in Wistar rats. Toxicol. *Mech. Methods* 23, 337–345.

Reilly, C. (2008). Metal contamination of food: its significance for food quality and human health. *John Wiley and Sons*.5(6).66

Rodrigues, F. A. D. P., Santos, A. D. D. C., de Medeiros, P. H. Q. S., Prata, M. D. M. G., Santos, T. C. D. S., da Silva, J. A, and Havt, A. (2018). Gingerol suppresses sepsis-induced acute kidney injury by modulating methylsulfonylmethane and dimethylamine production. *Scientific reports*, 8(1), 12154.

Ronis, M. J., Huang, J., Longo, V., Tindberg, N., Ingelman-Sundberg, M. and Badger, T. M. (1998). Expression and distribution of cytochrome P450 enzymes in male rat kidney: effects of ethanol, acetone and dietary conditions. *Biochemical pharmacology*, 55, 123-129 .

Rouag, M.; Berrouague, S.; Djaber, N.; Khaldi, T.; Boumendjel, M.; Taibi, F. and Messarah, M. (2020). Pumpkin seed oil alleviates oxidative stress and liver damage induced by sodium nitrate in adult rats: biochemical and histological approach. *African Health Sciences*, 20(1), 413-425.

Roy, A.; Jauhari, N. and Bharadvaja, N. (2018). Medicinal Plants as a Potential Source of Chemopreventive Agents. In Anticancer Plants: Natural Products and Biotechnological Implements. *Springer*.4(7) (pp. 109-139):

Saad, B., Zaid, H., Shanak, S. and Kadan, S., (2017). Anti-diabetes and anti-obesity medicinal plants and phytochemicals. Anti-diabetes and Antiobesity .*Medicinal Plants and Phytochemicals*.5(8).456

Salmerón-Manzano, E.; Garrido-Cardenas, J. A.; and Manzano-Agugliaro, F. (2020). Worldwide research trends on medicinal plants. International *Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(10), 3376.

Sankapal, B. R., Gajare, H. B., Karade, S. S., Salunkhe, R. R., and Dubal, D. P. (2016). Zinc oxide encapsulated carbon nanotube thin films for energy storage applications. *Electrochimica Acta*, 192, 377-384.

Seibert, K., and Masferrer, J. L. (1994). Role of inducible cyclooxygenase (COX-2) in inflammation. *Receptor*, *4*(1), 17-23.

Selvaraj Aranganathan, S. A., and Namasivayam Nalini, N. N. (2013). Antiproliferative efficacy of hesperetin (citrus flavanoid) in 1, 2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Journal of Environmental Research and Public Health*.8(44)1657

Sezgin, A. C., Ayyıldız, S., and Sezgin, A. C. (2017). Food additives: colorants. Science within Food: Up-to-Date Advances on Research and Educational Ideas. *Biotechnology* .6(66)87-94.

Shahid, M.; Dumat, C.; Khalid, S.; Schreck, E.; Xiong, T.; and Niazi, N. K. (2017). Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. *Journal of Hazardous Materials, 325*, 36–58

Shehzad, M. aamir, Khan, M. A.; Ali, A.; Mohammad, S.; Noureldeen, A.; Darwish, H.; Ali, A.; Ahmad, A.; Khan, T.; and Khan, R. S. (2021). Interactive effects of zinc oxide nano particles and different light regimes on growth and silymarin biosynthesis in callus cultures of Silybum marianum L. Artificial Cells, *Nanomedicine, and Biotechnology*, 49(1), 523–535. https://doi.org/10.1080/21691401.2021.1946069

Sheng, A., Lin, L., Zhu, J., Zhuang, J., Li, J., and Chang, L. (2021). Micro/nanodevices for assessment and treatment in stomatology and ophthalmology. *Microsyst Nanoeng* 7: 1–19.

Shi, H., Magaye, R., Castranova, V., and Zhao, J. (2013). Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Particle and fibre toxicology*, 10, 1-33.

Shimizu, M., Tainaka, H., Oba, T., Mizuo, K., Umezawa, M., and Takeda, K. (2009). Maternal exposure to nanoparticulate titanium dioxide during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse. *Particle and fibre toxicology*, 6, 1-8.

Shinohara, N., Danno, N., Ichinose, T., Sasaki, T., Fukui, H., Honda, K., and Gamo, M. (2014). Tissue distribution and clearance of intravenously administered titanium dioxide (TiO2) nanoparticles. *Nanotoxicology*, 8(2), 132-141.

Shirani, M., Khorsandi, L., and Alidadi, H. (2020). Quercetin effects on hepatotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in rats. Jundishapur *Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 15(3).999

Shirdare, M., Jabbari, F., Salehzadeh, M., Ziamajidi, N., Nourian, A., Heidarisasan, S., ... and Abbasalipourkabir, R. (2022). Curcuma reduces kidney and liver damage induced by titanium dioxide nanoparticles in male Wistar rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 12(5), 537.

Silva, A. B. W. R., Herath, H., Senanayake, S. P., and Swarnathilaka, D. B. R. (2018). Phenetic and genetic characterization of selected economically important species in the family Zingiberaceae. *Journal of Natural Pharmaceutical Products* .3(2)65

Silva, M. M., Reboredo, F. H., and Lidon, F. C. (2022). Food colour additives: A synoptical overview on their chemical properties, applications in food products, and health side effects. *Foods*, 11(3), 379.

Singh, J., Dutta, T., Kim, K. H., Rawat, M., Samddar, P., and Kumar, P. (2018). 'Green'synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of Nanobiotechnology*, 16, 1-24 :84.

Singh, K., Singhal, S., Pahwa, S., Sethi, V. A., Sharma, S., Singh, P., ... and Sagadevan, S. (2024). Nanomedicine and drug delivery: A comprehensive review of applications and challenges. *Nano-Structures and Nano-Objects*, 40, 101403.

Sodipe, O. G., Ajayi, O. A., Agbo, S. O., Iyeh, C. I., Abioja, M. O., Osunkeye, O. J., and Osinowo, O. A. (2019). Effects of *Aframomum Melegueta* Seed Extract on the Haematological and some Biochemical Parameters in Albino Rats. FUOYE *Journal of Pure and Applied Sciences (FJPAS)*, 3(1), 122-129.

Solymosi, K., Latruffe, N., Morant-Manceau, A., and Schoefs, B. (2015). Food colour additives of natural origin. In Colour additives for foods and beverages. *Woodhead Publishing*. 56(2)(pp. 3-34).

Souha d.e, Dumat, C.; Khalid, S.; Schreck, E.; Xiong, T.; and Niazi, N. K. (2023). Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. *Journal of Hazardous Materials, 325*, 36–58.

Sudeep, H. V., Aman, K., Jestin, T. V., and Shyamprasad, K. (2022). *Aframomum melegueta* Seed Extract with Standardized Content of 6-Paradol Reduces Visceral Fat and Enhances Energy Expenditure in Overweight Adults–A Randomized Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Study. *Drug design, development and therapy*, 6(16), 3777.

Sugita, J., Yoneshiro, T., Hatano, T., Aita, S., Ikemoto, T., Uchiwa, H., Iwanaga, T., Kameya, T.,Kawai, Y., Saito, M., (2013). Grains of paradise (Aframomum melegueta) extract activates brown adipose tissue and increases whole-body energy expenditure in men.*The British Journal of Nutrition* .7(22). 1–6.

Sun, B., and Wang, J. (2017). Food additives. Food Safety in China: *Science, Technology, Management and Regulation*, 4(11)186-200.

Suvarna, K. S., Layton, C., and Bancroft, J. D. (2018). Bancroft's theory and practice of histological techniques *E-Book. Elsevier health sciences*

Tassinari, R., Cubadda, F., Moracci, G., Aureli, F., D'Amato, M., Valeri, M., ... and Maranghi, F. (2014). Oral, short-term exposure to titanium dioxide nanoparticles in Sprague-Dawley rat: focus on reproductive and endocrine systems and spleen. *Nanotoxicology*, 8(6), 654-662.

Tharmaratnam, T., Iskandar, M. A., Doherty, S., D'Urzo, K. A., Kopalakrishnan, S., Tabobondung, T. C.Sivananthan, N. (2018). The role of physical activity prescription in cardiovascular disease prevention amongst South Asian Canadians. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *5(3),* 165.

Tijjani, H., and Luka, C. D. (2013). Effects of *Afromomum melegueta*, Zingiber officinale and Piper nigrum on Some Biochemical and Haematological Parameters in Rats Fed with High Lipid Diet. *Academic Press*. 3(55)145.

Tu, V.C., Bahl, J.J., and Chen, Q.M.(2002). Signals of oxidant-induced car-cardiomyocyte hypertrophy: key activation of p70 S6 kinase-1 and phosphoinositide 3-kinase. *Journal. Pharmacol. Exp. Ther*, 300:1101-1110.

Umukoro, S., and Aladeokin, A. C. (2011). Therapeutic effects of grains of Paradise (*Aframomum melegueta*) seeds. In Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention .*Academic Press*. 4(76):pp. 535-543.

Umukoro, S., and Ashorobi, B. R. (2008). Further pharmacological studies on aqueous seed extract of *Aframomum melegueta* in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 115(3), 489-493.

Umukoro, S., and Ashorobi, R. B. (2005). Further evaluation of the anti–inflammatory activity of *Aframomum melegueta* seed extract and its possible mechanism of action. *Nigerian Journal of Health and Biomedical Sciences*, 4(1), 35-39.

Umukoro,S.,Ashorobi,R.B.,(2003).Pharmacologicalevaluationoftheantidiarrheal activity of *Aframomum melegueta* seed. *West African Journal ofPharmacology and DrugResearch*19,51–54.

Valentini, X., Rugira, P., Frau, A., Tagliatti, V., Conotte, R., Laurent, S., ... and Nonclercq, D. (2019). Hepatic and renal toxicity induced by TiO 2 nanoparticles in rats: a morphological and metabonomic study. *Journal of Toxicology*.65(33).7654

Van Wyk, B. E., and Wink, M. (2018). Medicinal plants of the world. *CABI*. 13(2), 118 .

Vance, M. E., Kuiken, T., Vejerano, E. P., McGinnis, S. P., Hochella Jr, M. F., Rejeski, D., and Hull, M. S. (2015). Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein journal of nanotechnology*, 6(1), 1769-1780.

Vasantharaja, D., Ramalingam, V., and Reddy, G. A. (2015). Oral toxic exposure of titanium dioxide nanoparticles on serum biochemical changes in adult male Wistar rats. *Nanomedicine journal*, 2(1).44

Venkateshaiah, A., Padil, V. V. T., Nagalakshmaiah, M., Waclawek, S., Černík, M., and Varma, R. S. (2020). Microscopic techniques for the analysis of micro and nanostructures of biopolymers and their derivatives. *Polymers*, 12(3), 512.

Venugopal, R, and Liu, R. H. (2012) Phytochemicals in diets for breast cancer prevention: The importance of resveratrol and ursolic acid. *Food Science and Human Wellness*, *1*(1), 1-13.

Verleysen, E., Waegeneers, N., Brassinne, F., De Vos, S., Jimenez, I. O., Mathioudaki, S., and Mast, J. (2020). Physicochemical characterization of the pristine E171 food additive by standardized and validated methods. *Nanomaterials*, 10(3), 592.

Villarreal, J. C., Cargill, D. C., Hagborg, A., Söderstrom, L., and Renzaglia, K. S. (2010). A synthesis of hornwort diversity: Patterns, causes and future work. *Phytotaxa*, *9*(1), 150-166.

Voeks, R. (2013). Ethnobotany of Brazil's African diaspora: the role of floristic homogenization. *African ethnobotany in the Americas*, 67(3)395-416.

Wang, J., Zhou, G., Chen, C., Yu, H., Wang, T., Ma, Yand Chai, Z. (2007). Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicology letters*, 168(2), 176-185.

Winkler, H. C., Notter, T., Meyer, U., and Naegeli, H. (2018). Critical review of the safety assessment of titanium dioxide additives in food. *Journal of nanobiotechnology*, 16, 1-19.

Wopara, I.; Uwakwe, A.A.;Modo, E.U.; Ikenazor, H.O.; Offor, H. and Ofodile ,J.O. (2018). Possible effect of Sphenocentrum jollyanum, Baphia nitida and seeds of Pinus koraiensisand sildenafilon sodium, potassium, urea and creatinine levels of albino rats. *Int. Journal. Biol. Res*.,3(2): 45-50.

World Health Organization (2012). Food additives. Retrieved from www.who,int/topics/food additives/en/. Accessed on 19/05/2021

Wu, L., Zhang, C., Long, Y., Chen, Q., Zhang, W., and Liu, G. (2022). Food additives: From functions to analytical methods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(30), 8497-8517.

Yang, Y., Doudrick, K., Bi, X., Hristovski, K., Herckes, P., Westerhoff, P., and Kaegi, R. (2014). Characterization of food-grade titanium dioxide: the presence of nanosized particles. *Environmental science and technology*, 48(11), 6391-6400.

Yaniv, Z. (2014). Introduction: Medicinal plants in ancient traditions. In Medicinal and Aromatic Plants of the Middle-East. *Springer, Dordrecht*. 54(64).(pp. 1-7).

Ying, S.; Guan, Z.; Ofoegbu, P. C.; Clubb, P.; Rico, C.; He, F.; and Hong, J. (2022). Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environmental Technology and Innovation, 26*(3) 102336

Younes, M., Aquilina, G., Castle, L., Engel, K. H., Fowler, P., and Wright, M. (2021). Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive. *Efsa Journal*, 19(5), e06585.

Yu Sheng Toh, E., Lim, C. L., Pick Kiong Ling, A., Chye, S. M., and Koh, R. Y. (2019). Overview of the Pharmacological Activities of Aframomum melegueta. Pertanika *Journal of Tropical Agricultural Science*, 42(1).345.

Yusuf, H., Abdu-aguye, S.N., Yusuf, I.L., Ashemi, F.H., (2016). Analgesic Effect and Phytochemical Analysis of Ethanolic Seed Extract of Veterinary Science *Aframomum Melegueta* . *Springer*. 2(45).1234

Zhang, D., Cheng, X., Sun, D., Ding, S., Cai, P., Yuan, L., Hu, Q.-N. (2020). AdditiveChem: A comprehensive bioinformatics knowledge-base for food additive chemicals. *Food Chemistry*, 5(308), 125519.

Zhang, D.; Ma, X.; Gu, Y.; Huang, H.; and Zhang, G. (2020). Green synthesis of metallic nanoparticles and their potential applications to treat cancer. *Frontiers in Chemistry*. 8(6), 799.

Zhang, L., Xie, X., Zhou, Y., Yu, D., Deng, Y., Ouyang, J., ... and Kuang, H. (2018). Gestational exposure to titanium dioxide nanoparticles impairs the placentation through dysregulation of vascularization, proliferation and apoptosis in mice. *International journal of nanomedicine*, 22(56)777-789.

Zhang, R., Niu, Y., Li, Y., Zhao, C., Song, B., Li, Y., and Zhou, Y. (2010). Acute toxicity study of the interaction between titanium dioxide nanoparticles and lead acetate in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30(1), 52-60.

Zhang, X.-F., Liu, Z.-G., Shen, W., and Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and

therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9), 1534.

Zia-Ul-Haq, M.; Ahmad, S.; Calani, L.; Mazzeo, T.; Rio, D. Del, Pellegrini, N.; and Feo, V. De. (2012). Compositional study and antioxidant potential of Ipomoea hederacea Jacq. and *Lepidium sativum* L. seeds. *Molecules*, 17(9), 10306–10321

Abstract

Abstract

The current study aimed to determine the protective effect of the aqueous and nano-extract of the *Aframomum melegueta*, to reduce the effect of liver and kidney damage caused by the preservative titanium dioxide nanoparticles (Tio2NPs) in male albino rats by studying some functional and histological changes.

The study was conducted in the animal house of the College of Pharmacy - University of Karbala for the period from September 2023 until November 2023. (36) Adult (10) weekes male white rats were used, their weight ranged between (180-300) grams, and they were randomly divided into (6)groups including (6) animals for each group were dosed orally for a period of (30) days. The first group was considered G1 (the negative control group dosed orally and daily with tap water, and the second group was the positive control group (G2) was dosed orally with nano-titanium dioxide at a high concentration(100)mg/kg dissolved in distilled water, the third group (G3) was dosed with the aqueous extract of *A.melegueta* seeds at a concentration of (200) mg/kg, the fourth group (G4) was dosed with the nano-extract of *A.melegueta* seeds at a concentration of (100) mg/kg, and the fifth group (5G) was dosed With the aqueous extract of *A.melegueta* seeds at a concentration of (200) mg/kg, then it was dosed with nano-titanium dioxide at a concentration of (100) mg/kg after (3-4) hours. As for the sixth group (G6), it was dosed with the nano-extract of the *A.melegueta* plant at a concentration of (100). mg/kg, then dosed with nano-titanium dioxide at a concentration of (100) mg/kg after (3-4) hours.

Blood samples were collected in the six groups after (30) days of oral dosing, and blood serum was obtained for the purpose of measuring the level of the following functional parameters: levels of the liver enzymes Aspartate transaminase (AST), Alanine transaminase (ALT), Alkalinephosphatase (ALP), and urea. Urea and

creatinine, and indicators of enzymatic oxidative stress that included maloaldialdehyde (MDA), the antioxidant enzyme catalase (CAT), the enzyme superoxide dismutase (SOD), and measurement of lipid standards and cholesterol (CH), high-density lipoprotein (HDL) and low-density lipoprotein (LDL), in addition to taking histological sections of the liver and kidney to study the histological changes in them, and we obtained the following results:

Histological study showed the presence of histological changes in the liver tissue of the positive control group (G2), including severe dilatation and congestion in the central vein, congestion, and dilatation in the sinusoids, with irregularity in the hepatic cords, as well as infiltration of inflammatory cells compared to the negative control group. No effects were observed on the histological structure of liver tissue in the two groups treated with the aqueous and nano extracts of the *Aframomum melegueta* (G3, G4) at a concentration of (200, 100) mg/kg of body weight, indicating the safety of these extracts and concentrations on liver tissue. The results of histological examination of liver tissues in the preventive groups treated with the aqueous and nano extracts of the *Aframomum melegueta* (G5, G6) at a concentration of (200, 100) mg/kg and nano titanium dioxide at a concentration of (100) mg/kg showed that the aqueous and nano extracts contributed to reducing the toxic effects of nano titanium dioxide in liver tissues, The liver tissue in the G5 preventive group was less affected by the toxicity of nano-titanium dioxide when compared to the positive control group treated with nano-titanium dioxide (100) mg/kg, The toxic effects of nano titanium dioxide on liver tissue were reduced, as central vein congestion and regularity of the hepatic cords, with a slight expansion of the sinusoids and the normal of hepatic cell. As for group (G6) treated with the nano extract of fig seeds at a concentration of (100) mg/kg, a high degree of improvement was observed, and the tissue was closer to the normal state, the normal central vein,

regularity of the hepatic cords, clarity of normal hepatic cells and their nuclei, with the presence of sinusoids in their normal form.

As for the histological changes in the kidney tissue of the positive control group (G2), they included shrinkage of the renal glomeruli, , and shedding of their lining, with the observation of blood congestion and infiltration of inflammatory cells compared to the negative control group. No effects were observed on the histological structure of the kidney tissue of the two groups treated with the aqueous and nano extracts of *Aframomum melegueta* (G3, G4) at a concentration of (200, 100) mg/kg of body weight, which indicates the safety of these extracts and concentrations on kidney tissue, The results of histological examination of kidney tissues in the preventive groups treated with the aqueous and nano extracts of the *Aframomum melegueta* (G5, G6) at a concentration of (200, 100) mg/kg and nano titanium dioxide at a concentration of (100) mg/kg showed that the aqueous and nano extracts contributed to reducing the toxic effects of nano titanium dioxide in kidney tissues. It appears that the nano extract at a concentration of (100) mg/kg of body weight is the best in prevention as it contributed to reducing the negative effects.

The physiological study of the positive control group dosed with nano titanium dioxide (100) mg/kg showed a significant increase ($P \leq 0.05$) in liver enzymes (ALP, AST, ALT), kidney functional indicators (urea, creatinine), (MDA), (TC), (LDL) and a significant decrease ($P \leq 0.05$) in (HDL), antioxidants (CAT, (SOD) compared to the negative control group. As for the oral dose of the experimental animals with the aqueous and nano extract of *Aframomum melegueta* (G3, G4) at a concentration of (200, 100) mg/kg of body weight daily for a period of (30) days, no significant change was recorded in the functional parameters concentration rate of (MDA), a no change in the concentration rate of (CAT), and (SOD) and LDL levels(TC), and (HDL) concentration compared to the negative control group, The results of the

functional parameters of the preventive groups (G5, G6) at a concentration of (200, 100) mg/kg and nano titanium dioxide at a concentration of (100) mg/kg showed a significant decrease ($P \leq 0.05$) in liver enzymes (ALT, ALP, AST), kidney functional parameters (urea, creatinine), and lipid parameters that included (TC, LDL) and enzymatic oxidation indicators (MDA) compared to the positive control group, and a significant increase ($P \leq 0.05$) in each of (HDL, SOD, CAT) compared to the positive control group.

We conclude from the current study the effectiveness of the aqueous and nano extracts *Aframomum melegueta*, especially the nano extract, in inhibiting the activity of free radicals and neutralizing the oxidative stress induced by the additive nano titanium dioxide in the liver and kidney tissues and some functional parameters in male white rats.

University of Karbala
College of Education for pure Sciences
Department of Biology

Study the protective role of aqueous and nano-extracts of *Aframomum meleguet* seeds on some Histological and Physiological parameters in male albino rats treated with Titanium dioxid

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 Doctor of Philosophy degree in

Biology-Zoology

Written by

Fatima Hussein Falih Hassan

Supervised by:

Assist prof.Dr. Mohammed Wisam AL-Muhanna

2025 A.D./ March 1446 A.H./ Ramadan