مجلة علوم ذي قار المجلد ٤(٢)

الترقيم الدولي ٨٦٩٠ - ١٩٩١ ISSN 1991- 8690

website :http:// jsci.utq.edu.iq Email: utjsci@utq.edu.iq

تأثير المستخلص المائي البارد لأوراق الزيتون *Olea europea* L. في مستوى الاجهاد التأكسدي وبعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذان المعاملة بعقار السايكلوفوسفوأمايد Cyclophosphamide (CP)

إحسان ريسان إبراهيم* خليل جدوع ساچت

قسم علوم الحياة ـ كلية التربية ـ جامعة القادسية

* ihsanbrhmi@yahoo.com

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة لمعرفة الدور المصحح لمستخلص اوراق الزيتون في تقليل التأثيرات السلبية لعقار السايكلوفوسفوأمايد في بعض الجوانب الكيموحيوية ومستوى الاجهاد التأكسدي. حيث تمت دراسة تأثير المستخلص لمرحلة ما بعد المعاملة بالعقار حيث قسمت ١٥ من ذكور الجرذان البيض الى ثلاثة مجاميع جرعت المجموعة الاولى الماء المقطر وأعطيت المجموعة الثانية العقار وبجرعة واحدة مقدارها (٥٠ملغم/كغم) من وزن الجسم تحت البريتون ولمدة ١٤ يوما بينما أعطيت المجموعة الثالثة العقار بجرعة واحدة ايضا وبنفس المقدار(٥٠ملغم/كغم) وبعد(٢٤) ساعة عوملت الحيوانات بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون فمويا وبجرعة (٣٠٠ ملغم /كغم) و لمدة ١٤ يوما. وفي نهاية مدة التجربة تم سحب نماذج الدم وفصل المصل ومن ثم اجراء الاختبارات المطلوبة اذ شملت معايير الدراسة صورة الدهون (الكولسترول الكلي ، الكلسيريدات الثلاثية ، البروتينات الدهنية عالية الكثافة ،البروتينات الدهنية واطئة الكثافة والكلوكوز) كذلك شملت المعايير تقدير مستوى مضاد الاكسدة (الكلوتاثيون) وبيروكسدة الدهون (مالوند يهايد)أدت المعاملة بالعقار الى ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في مستوى انزيمات الكبد (GPT, GOT, ALP) والكولسترول الكلي والكلسيريدات الثلاثية والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة والمالونديهايد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة من جانب آخر أدت المعاملة بالعقار الى حدوث انخفاض معنوي ($p<0.05$) في مستوى البروتينات الدهنية عالية الكثافة والكلوكوز والكلوتاثيون .في حين ان المستخلص سبب ارتفاعا معنويا ($p<0.05$) في الكلوتاثيون والبروتينات الدهنية عالية الكثافة والكلوكوز وانخفاض معنوي ($p<0.05$) في مستوى انزيمات الكبد (GPT, GOT, ALP) والكولسترول الكلي والكلسيريدات الثلاثية والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة والمالونديهايد. وهذا يقودنا الى أن نستنتج من الدراسة الحالية بأن للمستخلص المائي لأوراق الزيتون قدرة في تقليل بعض التأثيرات السلبية للعقار المستخدم لعلاج الامراض السرطانية.

Effect of aqueous extract of *olea europea* l. *plant* in biochemical , oxidation parametrs in male rats treated with cyclophosphamide

Ihsan Raisan Ibrahim Khalil Jadou Sachit

Department of biology_Faculty of education_University of Alqadisiya

Abstract

This study was conducted to determine the role of extract of *Olea europea* L. to reduce the negative effects of cyclophosphamide in some biochemical, oxidation aspects. male rats divided into three groups first group injected with distilled water was given ip. The second group injected ip with cyclophosphamide at dose (50 mg / kg) for 14 days the third group was given also drug with the dose (50 mg / kg) for 14 days then treated animals were given extract at dose (300 mg / kg) for 14 days. Samples of blood were collected and isolated serum , the parameters in study were included lipid profile (total cholesterol ,high density lipoprotien ,low density lipoprotien and triglycerides) ,enzymes(GPT, GOT, ALP)and glucose also included anti-oxidant(Glutathione) and lipid peroxidation

(Malondialdehayde). Results showed a significant increase in enzymes (GPT, GOT, ALP), LDL, total cholesterol, triglyceride and malondialdehyde in while appear significant decrease in glutathione, glucose and HDL in drug injected group compared with the control group. While the extract treatment group caused decreased significantly in enzymes (GPT, GOT, ALP), LDL, TG, Cholesterol and Malondialdehayde, while show results increase in glutathione, glucose and HDL compared with drug injected group. It concluded the ability of aqueous extract of *Olea europea* L. to reduce some of the negative effects of drug cyclophosphamide in white rats.

المقدمة

يعد عقار السايكلوفوسفوامايد من اوسع العقارات الكيميائية المستخدمة في علاج العديد من الامراض السرطانية اذ يصنف ضمن العوامل المؤلكلة Alkylting agents حسب تصنيف الادوية المضادة للسرطان (Hasiett *et al.*, 1999) حيث ان العقار يتداخل مع عمليات استنساخ الاحماض النووية وترجمتها وبذلك يؤثر على عمليات الانقسام الخلوي مسببا ألحاق الضرر بالحامض النوويDNA (Davidson *et al.*, 1990)، كذلك يستخدم العقار ايضاً كمثبط مناعي Immunosuppressor لدى المرضى الذين تجرى لهم عمليات زرع الاعضاء وكذلك يستخدم في علاج امراض المناعة الذاتية مثل التهاب المفاصل (Chabner and Mayers 2001) وكذلك يستخدم كعلاج وقائي مع علاجات كيميائية اخرى بعد عمليات استئصال الاورام السرطانية (Mechael, 2004) وقد وجد (2000) Matsamoto and Colus ان معاملة الحيوانات المختبرية بعقار CP يؤدي الى تطور السرطانات الحميدة في مناطق مختلفة من الجسم خاصة الثدي والرئة والمثانة ويحث على حصول التشوهات الكروموسومية والطفرات الوراثية في الخلايا الجسمية والجنسية وارتفاع تكون النوى الصغيرة (Micronucleus) وعلى الرغم من نجاح عقار CP في علاج كثير من الحالات السرطانية الا انه يسبب الكثير من الاعراض الجانبية وقد يسبب حدوث اورام ثانوية في مواقع ما في الجسم (Gorman, 1995) ومن المضاعفات الرئيسية المسببة له هو حصول انخفاض في الاداء الوظيفي في القلب والأوعية الدموية واضطرابات قلبية وتحصل تلك المضاعفات عندما تتجمع مواد المعالجة الكيميائية بسبب عدم قدرة الكائن الحي على تحطيم الدواء مما يؤدي الى حدوث اعتلال عضلي قلبي (Ihle and Shaw, 1997) ويعد الاكرولين الذي هو احد نواتج ايض CP داخل الجسم مسببا لتهيج المثانة الذي قد يكون مصحوبا بإدرار دموي وتخديش للمثانة وحصول حالة نزف المثانة وهو تأثير شائع الحدوث للعقار (Mechael, 2004) وكذلك لوحظ حدوث ضرر للخلايا الظهاريه في الرئة وخلل تنسج الحويصلات الرئوية (Venkatesan and Chandrakasan, 1995) عند اجراء الفحص لخزعة من الكبد ثبت حدوث التنخر لخلاياه وترشح الخلايا الدموية البيض بالإضافة الى حدوث تغيرات دهنيه فيه (Paul and Micheal, 2001) وقد اكدت الكثير من الدراسات على ان العقار يسبب احداث تشوهات خلقيه في اجنة الحيوانات المختبرية (Micromedex, 2002) ووجد McEvoy (2002) ان معاملة الجرذان الذكور بجرع قليلة من العقار يتسبب بقتل النطف دون التأثير على صحة الحيوان ويعتقد ان العقار يظهر تأثيرات معينه على نواة الخلايا المولدة للنطف وفي دراسة الجوالي (2005) لوحظ ان العقار يسبب حدوث تشوهات هيكلية للأجنة متمثلة بنقص الاطراف او شق الحنك او تغيرات في هيكل الدماغ اضافة الى خطر نشوء فقر الدم نتيجة لنقص كريات الدم الحمراء وكذلك خطر سهولة النزف وفقد القدرة على وقف الجروح وحمايتها من الأحياء المجهرية بسبب انخفاض مناعة الجسم للمريض (Ford *et al.*, 2001).تعتبر شجرة الزيتون *Olea europea* من النباتات المهمة و هي شجرة دائمة الخضرة تنتمي الى العائلة الزيتونية Oleaceae (سعد ، ١٩٨٨).حيث اجريت عليها دراسات علمية وطبية مكثفة توصلت الى كشف الكثير من المكونات النباتية الفعالة طبياً والتي استخدمت كعلاج ضد كثير من الحالات المرضية والفسلجية والعضوية حيث وجد ان مستخلصات اوراقها تحوي مركبات ذات تأثير تثبيطي لنمو العديد من الاحياء المجهرية ومعالجة العديد من الامراض الناجمة من الاصابة بالطفيليات الابتدائية (Markin *et al.*, ٢٠٠٣ ; Walker, 1997) وقد تمكن الباحثين من كشف اهم واقوى الفينولات تأثيراً والموجودة بتراكيز عالية ضمن اوراق الزيتون والذي اطلق عليه اسم مركب الاوليوروبين Oleuropeien واعتبرت هذه المادة من المركبات الفعالة في هذه الشجرة Zarzuelo,) (١٩٩١ وتمكن (Pieroni *et al.*, 1996) من الكشف عن وجود مركبات نباتية وعدوها من اقوى المركبات التابعة لهذه المجموعة والتي شملت Apigenine- ٧.٠، Luteolin، Quercetin، Chrysoeriol، Apignin .اما (٢٠٠٥) Meirinhos *et al.*, فقد تمكنوا من عزل مركبات فلافونودية أخرى والمتواجدة ضمن ورق الزيتون ومن أهمها Rutin، Luteolin-7 ،

rutinoside ، 7-0-Apignin ،Luteolin ٧- ٠ -glucoside ، ٤ -0-diglucoside ، Luteolin ،Diosmetin ، - ٤ -٠- - glucoside واشار الباحثين الى ان المركب glucoside- ٠ -٧ Luteolin هو من اكبر المركبات الفلافونويدية في اوراق النبات ومن جانب آخر اشار Benavente-Garcia *et al.*, (٢٠٠٢) الى وجود مركب Anthocyanine الذي يعتبر من المركبات الفلافونودية الفعالة ضد الجذور الحرة ومن الحوامض الموجودة ضمن اوراق النبات والتي اشار اليها Somova *et al.*,(٢٠٠٣) هو حامض Oleuafricein والذي هو خليط من حامض Uroslic Acid و Acid Oleanolic وحامض الاليونوليك Eleonolic Acid وهو من متأيضات مركب الاوليروبين . ومن المركبات الفينولية الاخرى الموجودة ضمن اوراق هذا النبات والتي تم الكشف عنها من قبل Zhao *et al.*, (2005) و Bitler *et al.*,(٢٠٠٥) هو مركب Hydroxytyrosol و Varbascoidوهما من المركبات المضادة للإجهاد التأكسدي وقد وجد Khayyal *et al.*, (٢٠٠٢) و Zarzulelo *et al.*,(١٩٩١) ان لمادة الاوليروبين دور وقائي لأمراض القلب و المساعدة في تنظيم ضرباته وخفض ضغط الدم وذلك من خلال تسهيل عملية سريان الدم في الاوعية القلبية وقد اشار (Markin *et al.*, ٢٠٠٣) الى قابلية مستخلص اوراق الزيتون في القضاء على الطفيليات المرضية مثل Amoeb و Gardia و Malaria و Cryptosporedia وكذلك يستخدم كمضاد فطري ضد فطر Candida وله القابلية أيضا على تحفيز و تنشيط عملية البلعمة Phagocytosis المسؤولة عن التهاب الميكروبات و الفايروسات و الاجسام الغريبة وذكر Feri (٢٠٠٤) بان مضادات الأكسدة ومن ضمنها مادة الاوليروبين الموجودة في اوراق الزيتون تمنع حصول مرض التصلب العصيدي من جانب آخر فقد ذكر عبد الرحمن (١٩٩٥)على الجرذان والنعيمي (٢٠٠٠) على الدواجن والقطان (١٩٩٨) على الارانب ان له دور في خفض سكر الدم لدى الحيوانات المختبرية وكلك خفض مستوى حامض البوليك Hypouricemia في الدم وقد اشار Walker (١٩٩٧) الى فاعليه مستخلص ورق الزيتون في علاج التهاب المفاصل والعظام والتهاب اللثة والالتهابات الفطرية في الاظافر والاقدام وذكر ان له دور في خفض حالات الاجهاد وكذلك خفض درجة الحرارة ونظرا للخصائص الطبية التي يمتاز بها هذا النبات فقد اجريت هذه الدراسة بهدف تقدير كفاءة المستخلص المائي لأوراق الزيتون في تصحيح الاثار الجانبية الناتجة من استعمال العلاج الكيميائي للحالات السرطانية.

المواد وطرائق العمل

الحيوانات المختبرية

استخدمت في الدراسة الحالية ذكور الجرذان البيض Albino-rats والتي تراوحت مدى اعمارها(١٠-١٢) اسبوع وذات معدل وزن (٢٢٥±٢٥) غم. والتي تم الحصول عليها من معهد ابحاث الأجنة والعقم- بغداد ووضعت الحيوانات في غرفه ذات ظروف مناسبه من درجة حرارة (٢٠-٢٨) مْ . ومدة اضاءة تراوحت ١٢:١٢ساعة ظلام: ضوء ومع وجود مفرغة هواء ومكيف هواء ومحرار طبي . ثم وضعت الحيوانات في اقفاص بلاستيكيه معقمه بعد فرشها بنشارة الخشب وغطيت بمشبك حديد يسمح بتناول الماء والعليقة بكل سهوله.

طريقة تحضير المستخلص المائي البارد لورق الزيتون

تم الحصول على اوراق الزيتون من الاشجار المحلية المتواجدة بكثرة في مدينة الديوانية وتم تجفيفها في الظل ومن ثم تم طحنها بالمطحنة الكهربائية لتصبح على شكل مسحوق اخضر يحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال حيث حضر المستخلص المائي البارد لأوراق الزيتون بإضافة الماء المقطر الى مسحوق ورق الزيتون بنسبة(1:5) w/v مع الاستمرار بالرج لمدة (3 أيام) بواسطة جهاز الهزاز بعد ذلك الترشيح بواسطة الشاش الطبي المعقم وكذلك استخدام جهاز الطرد المركزي وبعد الحصول على المحلول الرائق جففت بواسطة جهاز Oven وبدرجة 45 مْ حيث تم الحصول على المستخلص الجاف النقي لمسحوق ورق الزيتون وحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام (المشهداني ،1999).

تصميم التجربة الرئيسية

وزعت (١٥) من ذكور الجرذان البيض عشوائيا الى (٣) مجاميع وكانت كالاتي :

- مجموعه السيطرة :-

حقنت حيوانات هذه المجموعة بالمحلول الفسيولوجي تحت البريتون ولمره واحده وبمقدار ١مل وبعد ٢٤ ساعة جرعت الحيوانات بالماء المقطر ولمدة ١٤ يوم .

- المجموعة المعاملة الاولى:- حقنت حيوانات هذه المجموعة بعقار الـ Cyclophosphamide (CP) وبجرعه مقدارها ٥٠ ملغم /كغم من وزن الجسم تحت البريتون ثم تركت الحيوانات لمدة ١٤ يوما .
- المجموعة المعاملة الثانية:- حقنت حيوانات هذه المجموعة بعقار الـCP وبجرعه مقدارها ٥٠ ملغم /كغم من وزن الجسم تحت البريتون وبعد ٢٤ساعه جرعت الحيوانات بالمستخلص المائي البارد لأوراق

الزيتون وبالجرعة ٣٠٠ ملغم/ كغم من وزن الجسم ولمدة ١٤يوما ايضا .

الاختبارات الكيموحيوية

- تقدير مستوى الكوليسترول الكلي TCفي مصل الدم:-

قدر مستوى الكوليسترول في الدم باستخدام عدة القياس kit نوع Spanish وهي طريقه إنزيمية واعتماداً على (Burits and Ashwood, 1999)

- تقدير مستوى كولسترول البروتينات الدهنية عالية الكثافة HDL_C

تم اجراء الاختبار باستخدام عدة القياس kit نوع Biomeriux والتي تعمل بالطريقة الانزيمية (Lopes-

- تقدير مستوى الدهون البروتينية واطئة الكثافة LDL-C

تم تقدير مستوى هذا النوع من الدهون البروتينية وفقاً للمعادلة الاتية:-

$$LDL-C = TC - (HDLC + TG/5)$$

- تقدير مستوى إنزيمي GPT و GOT

اعتمدت طريقة Reitman and Frankel (1970) لتقدير فعالية الانزيمات الناقلة لمجموعة الأمين واستخدمت عدة التحاليل kit المجهزة من شركة Spinoreact الإسبانية.

- تقدير مستوى انزيم GPT في مصل الدم

تم العمل بالطريقة اللونية Colorimetric method وباستخدام عدة التحليل الجاهز kit نوع Spinoreact والمعتمدة على حساب كمية Pyruvate المتحررة من تفاعل مادتي α-oxoglutarate مع L- alanine وهي المادة الاساس Substrate وحسب التفاعل الاتي:-

$$\alpha\text{- oxoglutarate} + \text{L- alanine} \xrightarrow{\text{GPT}} \text{L- glutamate} + \text{pyruvate}$$

المحاليل المستخدمة

استخدمت المحاليل المستخدمة المجهزة في عدة التحليل Kit الخاص بقياس انزيم GPT والذي يحتوي على الكواشف R4-R3-R2-R1 وباستخدام جهاز الطيف الضوئي وعلى الطول الموجي 505nm تمت قراءة الامتصاصية للعينات وباستخدام الصيغة الأتية تم حساب مستوى الانزيم:-

$$\text{GPT (ALT) U/L} = \frac{\text{قراءة النموذج – قراءة السيطرة}}{\text{قراءة القياسي – قراءة البلانك}} \times 133$$

- تقدير مستوى انزيم GOT في مصل الدم

تم تقدير مستوى هذا الإنزيم في مصل الدم بالطريقة اللونية Colorimetric method وذلك من خلال استخدام عدة القياس kit الجاهزة والمعتمدة على حساب كمية مادة Oxaloacetate المتحررة من تفاعل مادتي L-Aspartate مع α-ketoglutorte وقد تم قراءة الامتصاصية على الطول الموجي 505 nm باستخدام جهاز المطياف الضوئي.

المحاليل المستخدمة

استخدمت العدة الخاصة بالقياس المكونة من R3-R2-R1 و تم قياس الامتصاصية على الطول الموجي 505nm بجهاز المطياف الضوئي واستخدمت الصيغة الاتية لحساب مستوى الانزيم:-

$$\text{GOT (AST) U/L} = \frac{\text{قراءة النموذج – قراءة السيطرة}}{\text{قراءة القياسي – قراءة البلانك}} \times 67$$

- مستوى انزيم الفوسفاتيز القاعديALP في مصل الدم

تم تقدير مستوى انزيم ALP في مصل الدم بالطريقة اللونية باستخدام جهاز الطيف الضوئي Spectrophotometer وهي طريقة أنزيميه تستند الى حساب كمية الفينول المتحررة من المادة الاساس Substrate التي يعمل عليها الانزيم وفق الصيغة الكيميائية الأتية:-

$$\text{Phenyl phosphat} \xrightarrow[\text{pH 10}]{\text{ALP}} \text{ePhenyl} + \text{phosphate (Burits and Ashwood, 1999)}$$

المحاليل المستخدمة

استخدمت محاليل العدة الخاصة بتقدير مستوى انزيم ALP والمكونة من الكواشف R4-R3-R2-R1 وتم قياس الامتصاصية على الطول الموجي 510 nm مقابل محلول Blank tube وتم حساب مستوى الانزيم وفق الصيغة الآتية:-

$$\text{ALP(U/l)} = \frac{\text{A. serum sample} - \text{A. serum blank}}{\text{A. standard}} \times \text{stand conc.} \quad (142\ \text{U/l})$$

- A: قراءة الامتصاصية
- تقدير مستوى الكلوكوز في مصل الدم

تم تقدير مستوى السكر بالدم باستخدام عدة التحليل kit نوع Spinreat وهي طريقه انزيميه حيث يتأكسد الكلوكوز وحسب تفاعل Trinder وفق المعادلات الآتية:-

$$\text{Glucose} + O_2 + H_2O \xrightarrow[\text{اكسدة الكلوكوز انزيمياً}]{\text{Glucose oxidase}} \text{Gluconate} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4-Amino.Antipyrine} + \text{phenol} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{quinoneimine} + 4H_2O$$

محلول ذو لون وردي يتناسب اللون مع تركيز الكلوكوز في مصل الدم (Burits and Ashwood , 1999).

- تقدير مستوى المالوندايالدهايد (MDA)ي مصل الدم

تم تقدير مستوى MDA في مصل الدم بالاعتماد على طريقة (Burtis and Ashwood, 1999) وباستخدام الطريقة اللونية بجهاز الطيف الضوئي وذلك بالاعتماد على تفاعل حامض الثايوباربيوترك مع MDA ويحسب تركيز MDA وفق المعادلة الاتية:-

$$D \times \frac{A.\ of\ sample}{L \times \varepsilon} = (U/l)\ (\text{تركيز}\ \mathbf{MDA})$$

L- light path(1cm)
ε- extinction coefficient $1.56 \times 10^{5}\ m^{-1}\ cm^{-1}$
D- dilution factor of sample = 6.7

- تقدير مستوى الكلوتاثيون GSH في مصل الدم

تم تقدير مستوى الكلوتاثيون في مصل الدم بالاعتماد على طريقة Burtis and Ashwood (1999) باستخدام الطريقة اللونية بجهاز الطيف الضوئي ثم تقاس الامتصاصية على الطول الموجي ٤١٢nm وتم حساب تركيز الكلوتاثيون حسب المعادلة الآتية:-

$$\text{GSH concentration}\ \mu mol\ /L = \frac{A.\ of\ sample}{L \times Eo}$$

O = extinction coefficient = $13600\ M^{-1}\ CM^{-1}$
L =light path (Cm)

النتائج

اظهرت النتائج الموضحة في الجداول (١، ٢، ٣) ارتفاعاً معنوياً (p < ٠.٠٥) في مستوى انزيمات الكبد (GOT , GPT , ALP) والكولسترول الكلي والكلسيريدات الثلاثية والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة والمالونديهايد بينما سجلت النتائج انخفاضا معنويا (p < ٠.٠٥) في مستوى الكلوكوز والكلوتاثيون وكولسترول البروتينات الدهنية HDL في المجموعة المعاملة بعقار الـCP مقارنة مع مجموعة السيطرة من جانب أخر أوضحت المجموعة المعاملة بالمستخلص بعد العقار حصول ارتفاعا معنوياً (p < ٠.٠٥) في مستوى الكلوكوز والكلوتاثيون وHDL بينما حصل انخفاضا معنويا (p < ٠.٠٥) في مستوى أنزيمات الكبد (GOT , GPT, ALP) وMDA و TG و LDL والكولسترول مقارنة مع مجموعة العقار.

جدول (١) تأثير مستخلص ورق الزيتون في بعض المعايير الكيموحيوية بعد المعاملة بالسايكلوفوسفوأمايد

المجاميع	Glucose mg/ml	GPT U/L	GOT U/L	ALP U/L
السيطرة	6.05∓99 A	2.9∓22.3 C	2.23∓38.7 C	2.16∓ 75 C
العقار	3.6∓63 C	3.01∓44.8 A	1.95∓79.6 A	1.3∓125.6 A
المستخلص بعد العقار	5.77∓68 B	2.7∓39.2 B	3.77∓55.7 B	4.2∓94 B

الارقام تمثل المعدلات ∓ الخطأ القياسي

الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية ($p< 0.05$)

جدول (٢) تأثير مستخلص ورق الزيتون على الدهون بعد المعاملة بالسايكلوفوسفوأمايد

المجاميع	TC mg/dl	HDL mg/dl	LDL mg/dl	TG mg/dl
السيطرة	2.5∓95 C	3.3∓ 54 A	1.3∓27.4 C	2∓65.5 C
العقار	3.1+ 138 A	2.2∓24.7 C	2.3∓51.5 A	2.5∓ 96 A
المستخلص بعد العقار	3.2 ∓119 B	15∓34 B	1.3∓38 B	2.2∓80 B

الارقام تمثل المعدلات ∓ الخطأ القياسي

الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية ($p< 0.05$)

جدول (٣) تأثير مستخلص ورق الزيتون على الكلوتاثيون والمالونديهايد بعد المعاملة بالسايكلوفوسفوامايد

المجاميع	الكلوتاثيون µmol/l	المالوندايالديهايد µmol/l
السيطرة	0.04 ∓2.62 A	0.02 ∓ 1. 4 C
العقار	0.01∓1.14 C	0.03∓2.3 A
المستخلص بعد العقار	0.02∓1.92 B	0.01∓1 .63 B

الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية ($p< 0.05$)

المناقشة

اظهر عقار CP ضرراً في مختلف الانسجة والاعضاء وأول هذه الاعضاء هو الكبد فقد ذكر Paul and Michael (٢٠٠١) ان العقار يسبب اضراراً سلبية متمثلة بتنخر نسيج الكبد واحداثه خللاً في وظيفته مسبباً حصول ارتفاع معنوي في مستوى انزيمات الكبد (GOT ,

GPT , ALP) في المجموعة المعاملة بالعقار وفي المجال نفسه اوضح (١٩٨٩) Bonnefo *et al.,* بان عقار CP يسبب حدوث زيادة في نفاذية الخلايا الكبدية ومن ثم تسرب انزيمات الكبد الى خارج الخلايا وانتقالها الى مجرى الدم وبالتالي زيادة تراكيزها وقد ذكر (٢٠٠٠)Liu and Jan بان العقار يسبب حدوث حالة الاجهاد التأكسدي في الخلايا الكبدية وبالتالي إلحاق الاذى في الاغشية الخلوية لهذه الخلايا مسبباً فقدان خاصية التوازن الازموزي وبالتالي تحرر الانزيمات الكبدية الى مجرى الدم مؤديا ذلك الى ارتفاع مستواها وقد اشار(١٩٩٥) Laslett بأن العقار يؤدي الى نقص في وزن الكبد في الحيوانات المعاملة كذلك حدوث ارتفاع في المؤشرات الانزيمية الموجودة في المايكروسوم الكبدي مثل مايكروسوم P450 وسايتوكروم B5 كما وجد (١٩٩٢) Vermeulene *et al.,* ان العقار يسبب حدوث خللاً وظيفياً في الكبد معللاً ذلك هو ان نظام السايتوكروم P450 يلعب دوراً في حدوث التنخر الخلوي لنسيج الكبد والكلية والذي ينتج عنه حدوث التنكس الخلوي وخلل في الاغشية الخلوية الذي يؤدي الى تسرب الانزيمات وزيادة مستواها في الدم وقد توافقت نتائج دراستنا الحالية مع ما توصلت اليه البحوث السابقة في حصول ارتفاع معنوي في مستوى انزيمات الكبد والتي تعطي مؤشراً على مقدار الضرر الذي يلحقه العقار لهذا العضو المهم اما نتيجة تداخل المستخلص مع العقار فقد اظهرت النتائج انخفاضا واضحا في مستوى انزيمات الكبد حيث ابدت مجموعة الزيتون انخفاضا معنويا في مستوى الانزيمات مقارنة بمجموعة العقار وهذا يدل على تحسن حالة التلف النسجي التي سببها العقار والحد من حالة الاجهاد التأكسدي داخل الخلايا وذلك من خلال منع الجذور الحرة المتحررة من تأثيرات العقار إلحاق الضرر بالمكونات الخلوية وقد اكد (١٩٩٩) Chuaya and Mishra ان للمستخلص آلية خاصة في منع العوامل الضارة من اختراق جدار الخلايا والنفوذ الى داخل الكبد وبذلك تحافظ على سير العمليات الايضة وبالتالي رجوع المعايير الانزيمية الى مستواها الطبيعي. لقد اظهرت الدراسة الحالية جدول(١) انخفاضا واضحا في مستوى السكر في الدم للمجموعة المعاملة بالعقار مقارنة بمجموعة السيطرة فقد ذكر(١٩٩٨) Saber ان العقار يسبب انخفاض في مستوى السكر في الدم وقد أعزى ذلك الى الضرر الذي يلحقه العقار بالكبد والجهاز الهضمي مسببا خللا في امتصاص المواد الكربوهيدراتية عن طريق الامعاء كذلك فقدان الكبد لوظيفته التنظيمية مثبطاً بذلك عملية بناء الكلوكوز هذا بالإضافة الى الضرر الذي يلحقه العقار بالخلايا المصنعة لهرمون الانسولين مسببا بذلك زيادة تحرره الى مجرى الدم مؤديا ذلك الى هبوط مستوى السكر في الدم .اما بالنسبة لدور المستخلص ضد تأثيرات العقار فلم تظهر مجموعة الزيتون اختلافا معنويا عن مجموعة العقار وهذا يرجع الى دور المركبات الفعالة لمستخلص اوراق الزيتون في خفض مستوى السكر في الدم فقد اشار Trovato *et al.,* (1993) الى انخفاض مستوى السكر في الجرذان المعاملة بمستخلص اوراق الزيتون وفي المجال نفسهُ اشار عبد الرحمن (١٩٩٥)على الجرذان و Gent *et al.,* (١٩٩٩) على الجرذان والقطان (٢٠٠٢) في فروج اللحم الى حصول انخفاض معنوي في مستوى سكر الدم عند المعاملة بمستخلص ورق الزيتون مقارنة بمجموعة السيطرة من جانب آخر فقد ذكر عبد الرحمن (١٩٩٥) إن لمستخلص ورق الزيتون آلية معينة في خفض مستوى السكر وذلك من خلال منعه الضرر التأكسدي للعناصر المؤكسدة التي يولدها العقار في الخلايا الكبدية وزيادة حساسيتها لهرمون الانسولين مثبطا بذلك عملية بناء الكلوكوز. ومن التأثيرات التي يسببها العقار هو احداث تغيرات في مستوى الدهون البروتينية في دم الجرذان فقد اشارة نتائج الدراسة الحالية الى حصول ارتفاعاً معنوياً في تركيز الدهون البروتينية واطئة الكثافة LDL–C وكذلك حصول ارتفاع في مستوى الكولسترول الكلي والكلسيريدات الثلاثية في الدم من جانب اخر سجلت النتائج انخفاضاً معنوياً في مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL–C ويعزي(١٩٩٩) Sies *et al.,* هذه التغيرات الى الاضرار التي تسببها جذور الاوكسجين الحرة ROS الناتجة من تأثيرات العقار وقد ذكر ان هذه الجذور تسبب حدوث تغيرات أيضية على المستوى الخلوي والنسجي للمركبات البروتينية والكربوهيدراتية والدهون البروتينية مما يؤدي الى تغير في مستواها في الدم من جانب آخر فقد ذكرا (٢٠٠٨) Oboh and Omotome ان الكبد هو المسؤول عن ازالة الكولسترول الزائد في الدم وذلك عن طريق زيادة مستقبلات LDL–C على سطوح الخلايا الكبدية ونتيجة للضرر الذي يلحقه العقار بخلايا الكبد فانه يؤدي الى ارتفاع في مستوى الكولسترول في الدم وكذلك ارتفاع مستوى LDL–C وفي المجال نفسه ذكر (١٩٩٨) Hemila أن حصول خلل في انزيم Lipase وهو الانزيم المسؤول عن تنظيم مستوى الدهون في الدم سوف يؤدي الى ارتفاع مستوى الكولسترول الكلي والكلسيريدات الثلاثية وكذلك مستوى LDL–C من جانب اخر حصول انخفاض في مستوى HDL–C. اما بالنسبة للتداخل بين مستخلص اوراق الزيتون والعقار وتأثيره على مستوى صورة الدهون فقد اظهرت نتائج الدراسة الحالية دور مستخلص اوراق الزيتون في تقليل التأثيرات الضارة التي

يلحقها العقار في مستوى الدهون البروتينية فقد اشار عبد الرحمن (١٩٩٥) الى ان استخدام مغلي ورق الزيتون وبجرعة ٢٥٠٠ ملغم/كغم في الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي ادى الى خفض مستوى الكولسترول والدهون البروتينية الضارة في بلازما الدم وفي دراسة مماثلة لـ(٢٠٠٠) Khudiar فقد سجل انخفاضا معنويا في مستوى الدهون البروتينية (الكولسترول الكلي والكلسيريدات الثلاثية و LDL–C) وارتفاع في مستوى HDL–C في الجرذان المعاملة بالمستخلص المائي لورق الزيتون وبجرعة ٩٠ ملغم/كغم من وزن الجسم وقد اظهرت نتائج دراستنا الحالية توافقا مع ما توصل اليه الباحثين في حصول انخفاض في مستوى الدهون البروتينية الضارة الكولسترول والكلسيريدات الثلاثية و LDL–C من جانب آخر فقد حصل تحسن في مستوى HDL–C وهذا يدل على امتلاك اوراق الزيتون مركبات فعالة في تثبيط التأثيرات الضارة للعقار من خلال تنشيط عملية تخليق الدهون وقد اشار (٢٠٠٣) Farag *et al.,* الى ان المركبات الفينولية التي يحتويها مستخلص ورق الزيتون تمتلك آلية في رفع مستوى تركيز HDL–C وخفض مستوى الكولسترول الكلي والكلسيريدات الثلاثية و LDL–C في دم الحيوانات المعاملة وفي المجال نفسه أوضح (١٩٩٤) Ahmed *et al.,* بان للمستخلص دور في خفض تركيز الدهون البروتينية الضارة في الدم في افراخ الدجاج وقد بين (١٩٨٤) Cheij احتواء اوراق الزيتون على مادة Resin التي تعمل على تقليل امتصاص احماض الصفراء من الامعاء وبذلك يزداد تحويل الكولسترول في الكبد الى احماض صفراء جديدة بشكل ينعكس على انخفاض مستواه في الدم يرافقه ارتفاعاً معنوياً في تركيز HDL–C ومن جانب آخر اشار (١٩٩٢) Gonzalez *et al.,* الى أن وجود مادة Oleuropeoside في ورق الزيتون تساعد في تنشيط افراز الانسولين الامر الذي يؤدي الى استعمال الدهون كمصادر بديلة للسكر في انتاج الطاقة مؤديا بذلك الى انخفاض في مستوياتها الطبيعية في الدم .لقد أكدت أغلب الدراسات على حدوث حالة الاجهاد التأكسدي في معظم الانسجة تقريبا والذي تم الاستدلال على وجوده من خلال التغيرات النسجية وتلف الأعضاء المصابة وكذلك حدوث تغيير في مستوى مؤشرات الاجهاد التأكسدي في بلازما الدم متمثلة بحصول ارتفاع معنوي في مستوى المالونديهايد الذي يعد من اهم النواتج النهائية لبيروكسدة الدهن المتسببة من تفاعلات الجذور الحرة مع جزيئات المركبات الحيوية وتعد الحوامض الدهنية المتعددة غير المشبعة للأغشية الخلوية الهدف الاكثر تعرضا لتفاعلات الجذور الحرة بسبب امتلاكها اواصر مزدوجة تمثل الهدف الرئيس للجذور الحرة وبأكسدة هذه الحوامض الدهنية بتفاعلات الجذور الحرة ينتج المالونديهايد بعملية بيروكسدة الدهن Lipid peroxidation والتي تزداد في الكثير من الحالات المرضية كناتج لارتفاع حالة الاجهاد التأكسدي يقابله حدوث الانخفاض المعنوي في مستوى الكلوتاثيون الذي يعد اهم مضادات الاكسدة غير الانزيمية في ازالة الجذور الحرة ونواتجها متحولا الى شكله الثاني غير الفعال (الكلوتاثيون ثنائي الكبريت) Glutathione disulfide. حيث تعد مجموعة الكبريت في تركيب الكلوتاثيون عاملاً مختزلاً جيداً تهب ذرة هيدروجين بسهولة وذلك لضعف الاصرة بين الكبريت والهيدروجين (S–H) وبذلك فهي تقوم بحماية الاغشية الخلوية من الاذى التأكسدي (Lands *et al.*,1999) وفي دراسة تأثير العقار فقد اظهرت دراسة على الفئران ان للمعالجة الكيميائية للفئران المصابة بالسرطان تأثير على مستوى المالونديهايد والكلوتاثيون مؤديةً الى زيادة نشاط بيروكسيد الهيدروجين والذي ينتج عنه ارتفاع في مستوى المالونديهايد (Cornelissen *et al.*, 1997)ولدراسة دور المستخلصات النباتية على مستوى الاجهاد التأكسدي في الحيوانات الخاضعة للعقار فقد تم اعتماد اختبار الكلوتاثيون GSH واختبار المالونديهايد MDA كمؤشرات كيموحيوية على مستوى الاجهاد التأكسدي فقد أظهرت النتائج حصول ارتفاع في مستوى الـ GSH يقابله حدوث انخفاض في مستوى الـ MDA وقد اعزى Benavent–Garcia *et al.*, (2002) حصول هذا التحسن المعنوي الى دور المركبات الفلافونية القوية المفعول التي يمتلكها مستخلص ورق الزيتون في حماية الانسجة والجزيئات الحيوية من اضرار الاجهاد التأكسدي وذلك من خلال عملها كعوامل مختزلة في إبطال تأثير الجذور الحرة وكذلك تزويدها الجسم بالمواد الاولية والضرورية لبناء مضادات الاكسدة حيث وجد (٢٠٠٣)*et al.*, Dickinson ان هناك بعض المركبات الفعالة التي تمتلك آلية في إعادة مضادات الأكسدة من الشكل الغير فعال الى الشكل الفعال وامتلاك الكلوتاثيون آلية خاصة في خفض مستوى المالونديهايد الناتج من العقار.

المصادر References

- القطان ، منتهى محمود داوود (١٩٩٨). تأثير بعض النباتات المخفضة لكلوكوز الدم (بذور الحلبة ، ورق الزيتون) في بعض الصفات الفسلجية ومعامل التحويل الغذائي للأرانب. رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

- الجوالي ، نجلاء خزعل فتحي عمر (٢٠٠٥). تأثير استخدام جرع مختلفة وبفترات حمل مختلفة لعقار **Cyclophosphamide** الى إحداث التشوهات في أجنة الفئران المهقاء **Mus musculus**.رسالة ماجستير ،جامعة الموصل.
- المشهداني ، هدى طارق جاسم (**1999**). دراسة تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات الكالبتوز ***Eucalyplus camaldulensis*** على مستوى كلوكوز وبروتينات مصل الدم في الارانب السليمة والمحدث بها داء السكر تجريبيا. رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد.

النعيمي ، سعد محمد علي (١٩٩٩). تأثير بعض النباتات المخفضة لكلوكوز الدم في بعض الصفات الفسلجية والكيميائية الحياتية ومعامل التحويل الغذائي لدجاج اللحم .رسالة ماجستير ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل.

- الرحمن ، صائب يونس (١٩٩٥). تأثير التجويع وداء السكري التجريبي على مستوى مانعات الاكسدة وزناخة الدهن في الجرذان . اطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل.
- سعد ، شكري ابراهيم (١٩٨٨) . النباتات في خدمة الانسان .مجلة العلوم الحديثة. جمعية مدرسي العلوم – جامعة عين شمس . ص ٢٤ – ٢٨
- Ahmed T.Y. , Al-Khayat I. , Mahmood , S. (1994) . Hypoglycemic activity of *Olea europaea Leaves* . *J. Educ. Sci.* 15 : 54-61
- Benavente-Garcia O. , Castillo, J.; Lorente, J. and Alcaraz, M. (2002). Radioactive effects in vivo of phenolic extracted from Olea europea L. leaves against X-ray-induced chromosomal damage Comparative study versus several flavonoids and sulphur-containing compounds. *J. Med. Food.* 5 (3): 125- 135.
- Bitler, C.M;Viale, T.M and Damaj ,B. G. ,R(2005) . Hydrolyzed olive leaves vegetative water in mice has anti inflammatory activity. *j. nutr* 135;1475-1479
- Bonnefoi, M.; asim, M.; Sauvagnac, P.; Burgat, V. and Braun, J. P. (1989) Liver enzyme changes in a Guinea-pig model of facial eczema (Sporidesmiotoxicosis). Enzyme, 42: 39-46
- Burtis, C. and Ashwood E.(1999):Clinical Enzymology: In tietz testbook of clinical chemistery (Burtis C. and Ashwood E. editers) 3rd ed. WB Saunders company, London. PP:477-480
- Chabner, B. and Myers, C. (1989). Clinical Pharmacology of Cancer Principles and Practice of Oncology, 3rd ed. Philadelphia: Jblippin Cott Co.
- Chuaya, G. and Mishra, S.H. (1999). Antihepatotoxic activity of P-methoxy benzoic acid from *Capparis spinosa*. J. Ethnopharmacol., 66: 187-192
- Cheij R. (1984) McDonald Encyclopedia of Medical plants . McDonald and Co.,(publishers) Ltd, London, pp. : 209,309 , 313
- Cornelissen, J., Kuilenburg, A.B., Boute, PA .and Van gennip, H. (1997). MIBC causes oxidative stress and up-regulation of anti-oxidant enzymes in the human neuroblastoma cell line sk-n-BE (2c). *Int. J. Cancer*. 72 (3) 486-490
- Davidson, N.; Khanna, S.; Kirwan, P. and Naftalin, N. (1990). Long term Survival after chemotherapy with cisplatinum Adriamycin and cyclophosphamide for carcinoma of the ovary:*Clin. Oncol. Radiol*.2:pp.206- 209.
- Dickinson, D., Lu, C. and Forman, H. (2003). Glutathione synhtesis. *Oxygen Society* Education Program. Society for Free Radical Biol. and Med.
- Farag, R. S.; El-Baroty, G. S. and Basuny, A. M. (2003). Safety evaluation of olive phenolic compounds as natural antioxidants. *Int. J. Food Sci. nutr*. 4:159-174
- Feri, B.(2004) reactive oxygen species and antioxidants vitamins. *Cir*., 101: 2264-2270 Ford, M.; Delaney, k.; Ling, L.; Erickson, T. (2001). "Clinical Toxicology" W.B. Saunders Company. 6 .
- Gent – S. , kale – RK , Baquer – NZ . (1999) . Effect of vanadate , insulin and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) on creatine kinase levels in tissues of diabtic rat Indian – *J. Exp-Biol*. 37 : 200-202 .
- Gonzalez M. , Zarzuelo A. , Gamez MJ , utrilla MP , Jimenez J. , osuna I. (1992) . Hypoglyceamic activity of olive leaf , *planta Med*. 58 : 313-315 .
- Gorman, N. (1995). "Chemotherapy"in white, R. (ed.), Manual of small animal oncology.KCO company. Gluceestershire .pp.127-1600
- Hasiet, C.; Chilvers, E.; Hunter, J. and Boon, N.(1999)."Davidson's Principle and Practice of Medicine. Sydney,18th ed. :pp.1057-1061

- Oboh , H.A. and Omotome , C.O. (2008) : The Effects of Heat Treated Lima Beans (Phaseolus lunatus)onPlasmaLipid in Hypercholesterolemic Rats . *Pakistan Journal of Nutrition* ;7 (5): 636-639.
- Paul, D. and Michael C.P.(2001).Hepatotoxicity of chemotherapy ;6(2):162-17616 .
- . Pieroni, A.; Heimler, D.; Pieters, L.; Van Poel, B. and Vlietinck, A. J. (1996). In vitro anti-complementary activity of flavonoids from olive (Olea europaea L.) leaves. *Pharmazi.* 51: 765-768
- Reitman , S . and Frankle ,S . (1970). The principle of determination of serum GOT . *Clin . Path* . , 28 – 56
- Saber, A.S. and Saleh, A.T. (٢٠٠١) . Histochemical changes induced by cyclophosphamide in the testicular tissue of mice. *J. Egypt. Ger. Soc. zool*. 1(12): 71-86
- Sies ,H. (1999). Glutathione and its role in cellular functions. Free Radical Biology and Medicine: 916–921.
- Somova, L. I.; Shode, F. O.; Ramnanan, P. and Nadar, A. (2003). Antihypertensive, antiatherocsclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from Olea europaea, subspecies African leaves. *J. Ethropharmacol*. 84: 299-305
- Trovato A, Foreteri A.MIauk ,KBarbera R,MonfoteM ,Tand Galati E.M(1993) hypoglycemic activity of defferent extract of Olea europaealin the rat plat med phytor 19-26
- Venkatesan, N. and Chandrakasan, G. (1995). Mollecular cell biochemistry. 142 (1) 79 - 87.
- Vermeulene, N.P.E.; Bessems, J.G.N. and Van de Straal, R. (1992). Molecular aspects of paracetamol-induced hepatotoxicity and its mechanism-based prevention. *Drug Metab. Rev*., 24: 367-407.
- Walker, M. (1997). Natures antibiotic olive leaf extract. Kensington. Publishing corp., NY.
- ZarZuelo, A.; Duarte, J.; Jimenez, J.; Gonzalez, M. and Utrilla, M. P. (1991). Vasodilator effect of olive leaf. *Planta Med.* 57: 417-419.
- Zhao, C.; Dodin, G.; Yuan, C.; Chen, H.; Zheng, R.; Jia, Z. and Fan, B. T. (2005). " In vitro" protection of DNA from fenton reaction by plant polyphenol verbascoside. 25: 114-123
- Hemila, H.(1998) : Vitamin C and Plasma Cholesterol. Critical Reviews in Food Science and Nutrition;32(l):33-57.
- Ihle, S.; Shaw, D. (1997). "Small animal internal medicine "Williams and Willkins. Maryland,:pp.65 – 102.
- Khayyal, MT.; El-Ghazaly, MA.; Abdallah, DM.; Nasser, NN.; Okpanyi, SN. and Kreuter, MH.(2002).Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (Olea europaea) in L-NAME induced hypertension in rats. Arzneimittel Forschung Drug Research. 52 (11) :797-802
- Khudiar, K. K. (2000). The role of aqueous extracts of olive (Olea europaea) leaves and garlic (Allium sativum) in ameliorating the effects of experimentally induced atherosclerosis. Ph.D. Thesis, College of Veterinary Medicine. University of Baghdad
- Lands, LC., Grey, VL. and Smountas AA. (1999) Effect of supplementation with a cysteine donor on muscular performance. *J. Appl Physiol.* 87:1381-1385.
- Laslett,T. (1995).Xenobiotical. 25(10):1031-9 .
- Liu, F. and Jan, K.Y. (2000). DNA damage in arsenite-and cadmium-treated bovine aortic endothelial cells. *Free Radical Biology and Medicine*. 28(1): 55-6
- Matsumoto, F. E. and Colus, I. M. (2000) . Micr Apinane and terpenoides from *Salvia officinalis .Phytochem*.;58(8):
- Markin,D;Duek, L. and Berdecevsky ,I.(2003) invitro anti microbial activity of Olive leave .*Mycoses.*46:132-136
- McEvoy, G. (2002). American hospital formulary service drug information. Bethesda, MD: American Society of Health – System Pharmacists, Inc. 960.
- Micromedex, T. (2002). Drug Information for the Health Professional. 22nd ed. (1) Pharmacoepial, Inc. 1102.
- Michael,C.(2004) Chemotherapy of cancer .American College of Rhematology . 2th ed.NewYourk.pp.127.
- Meirinhos, J.; Sliva, B. M.; Valento, P.; Seabra, R. M.; Pereira, J. A.; Dias, A.; Andrade, P. B. and Ferreres, F. (2005). Analysis and quantification of flavonoidic compounds from Portuguese olive (Olea europaea L.) leaf cultivars. *Nat. Prod. Res.* 19;189-1997