

Hepatoprotective Effect of aqueous Rosemary extract on amoxicillin induced hepatocytotoxicity in Syrian Hamster

Dr. Ali Daoud*
Dr. Mohamed Morra**
Doha Mohamed***

(Received 13 / 11 / 2016. Accepted 1 / 6 / 2017)

□ ABSTRACT □

The present study aimed to evaluate the hepatoprotective proprieties of aqueous rosemary extract against amoxicillin induced cytotoxicity in liver tissues of Syrian hamster. Thirty-six mal hamsters divided into six groups of six hamsters each were used. Group 1 (control) was received normal food and water for a period of 6 weeks, group 2 received orally a dose of rosemary extract (220 mg/b.w) daily for sex weeks also. Groups 3 and 4 were orally received an amoxicillin dose at 40 and 50 mg/kg body weight respectively three times/week, while Groups 5 and 6 were received Rosemary extract (220 mg/kg b.w) daily for one week then an amoxicillin dose at 40 and 50 mg/kg body weight in combination with aqueous rosemary extract (220 mg/Kg b.w) for five weeks. Biochemical study showed a significant increase in the levels of ALT ($p<0.001$), AST ($p<0.001$), bilirubin, uric acid, and urea ($p<0.001$) in groups 3 and 4, and a significant decrease in the level of these parameters under rosemary extract ($p<0.01$).

Moreover, Study of liver sections of experimental groups that received antibody alone revealed that amoxicillin induced moderate to severe indices of hepatic cells necrosis such as congestion, nucleus and plasma membrane distraction with infiltration of white blood cells. In addition, a dilation of the central hepatic arteries, and portal veins were also noted. Liver profile was significantly improved in Rosemary extract treated hamsters. Also, amelioration of ALT, AST, bilirubin, albumin, urea, and uric acid has been detected. The present results suggest that aqueous rosemary extract could be a potent natural herbal product provide a promising hepatoprotective effect against hepatocytotoxicity induced by amoxicillin antibiotic.

Key words: Rosemary, Amoxicillin, hepatocytotoxicity, Hamster.

* Associate Professor, Department of Faculty of Medicin, Tishreen Univerity , Syria

**Professor , Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Tishreen Univerity , Syria

*** Postgraduate Student of Animal Biology, Faculty of sciences, Tishreen Univerity , Syria

الدور الوقائي للمستخلص المائي لنبات إكليل الجبل على السمية الكبدية المستحثة بالمضاد الحيوي Amoxicillin عند الهامستر السوري

د. علي داود*

د. محمد مره**

ضحى محمد***

(تاريخ الإيداع 13 / 11 / 2016. قبل للنشر في 1 / 6 / 2017)

□ ملخص □

هدفت الدراسة الحالية لتقصي تأثير المستخلص المائي لنبات إكليل الجبل في الإجهاد التأكسدي المستحث بالمضاد الحيوي Amoxicillin في الهامستر السوري. شملت الدراسة 36 حيوان وزعت في ست مجموعات متساوية ضمت كل منها ستة حيوانات: المجموعة (1) شاهدة، والمجموعة (2) جرعت بخلصة إكليل الجبل (220 ملغ/كغ من وزن الجسم) مرة واحدة/يوم لمدة ستة أسابيع، والمجموعتان (3 و 4) جرعتا بالمضاد الحيوي Amoxicillin بتركيز 40 و 50 ملغ/كغ من وزن الجسم على التوالي بمعدل ثلاث مرات أسبوعياً. أما المجموعتان (5 و 6) فقد تم تجريعهما بخلصة إكليل الجبل (220 ملغ/كغ) لمدة أسبوع ثم جرعتا بإكليل الجبل بنفس الجرعة بالتزامن مع تجريعهما بالمضاد الحيوي Amoxicillin بتركيز 40 و 50 ملغ/كغ على التوالي لمدة خمس أسابيع. أظهرت الدراسة الكيميائية ارتفاعاً في تراكيز كل من أنزيمي ALT، وAST ($p < 0.001$)، والبولية، وحمض البول، والبيروبيبين ($p < 0.001$) في مصل دم حيوانات المجموعتين الثالثة والرابعة التي جرعت بالمضاد الحيوي Amoxicillin، وانخفاض هذه التراكيز بشكل معنوي ($p < 0.01$) بفعل التجريع بالمستخلص المائي لنبات إكليل الجبل.

إضافة لذلك، أظهرت دراسة المقاطع النسيجية لأنسجة الكبد في المجموعات التجريبية التي جرعت بالمضاد الحيوي لوحده، ظهور علامات واضحة إلى شديدة لتتخر خلوي مثل انتباج خلايا الكبد وزوال نوى الخلايا وتكسر الأغشية السيتوبلاسمية، وارتشاح التهابي للعدلات واللمفاويات. إضافة لذلك، لوحظ احتقان وعائي في الأوردة المركزية وفي الأوردة البابية للكبد، وقد استعادة أنسجة الكبد وضعها الطبيعي في الحيوانات التي جرعت بإكليل الجبل بالتزامن مع المضاد الحيوي. كما لوحظ تحسن واضح في تراكيز ALT وAST، البيروبيبين، الألبومين، البولية وحمض البول. تفترض نتائج الدراسة الحالية أن الخلاصة المائية لإكليل الجبل يمكن أن تشكل منتج عشبي طبيعي فعال بخصائصه الوقائية للكبد ضد الإجهاد التأكسدي السام المُحدث بالمضاد الحيوي أموكسيسيلين Amoxicillin.

الكلمات المفتاحية: الهامستر، أموكسيسيلين، السمية الكبدية، إكليل الجبل،

* أستاذ مساعد - قسم التشريح المرضي - كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

** أستاذ - قسم علم الحياة الحيوانية - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

*** طالبة ماجستير - قسم علم الحياة الحيوانية - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

مقدمة

أظهرت الدراسات التي أجريت في العقود الأخيرة أهمية المستخلصات النباتية في حماية الأنسجة الحية من التأثيرات الضارة للعوامل المؤكسدة التي تنتج بفعل الإجهاد التأكسدي الناجم عن تناول العديد من العقاقير (Pouret *et al.*, 1997; Hertoget *et al.*, 2014) وعن العلاج الكيميائي للسرطان (Sakret *et al.*, 2012)، وتعاطي الكحول، وتعرض الكائن الحي لعوامل التلوث مثل التلوث بالعناصر الثقيلة والتدخين (Anugya *et al.*, 2009; Sameeh *et al.*, 2009; Elgaml and Hashish, 2014; Kalendar *et al.*, 2005). ومن بين النباتات التي أظهرت فعالية في حماية أنسجة الكبد والكلية من تأثيرات الإجهاد التأكسدي، مستخلصات نباتات الزنجبيل (Sakr, 2007; Baker, 2007; Rehman, 2006; Alexandar *et al.*, 2003)، وقشور الحمضيات (Rehman, 2003)، والكرام (Venkatesan *et al.*, 2000)، وبذور الحلبة (Basch *et al.*, 2003)، وقشور الرمان (Negi *et al.*, 1998)، ونبات الريحان (Osman *et al.*, 2013)، ومستخلص نبات الزعتر (Swayeh *et al.*, 2014; El-Naggar *et al.*, 2015). وأوضحت الدراسات أن مستخلصات هذه النباتات تخفض من مستوى الأنزيمات مضادات الأكسدة وبخاصة الكاتالاز (CAT) Catalase، و(SOD) Superoxide dismutase، (Choi *et al.*, 2014; Farjana *et al.*, 2006; Moreno *et al.*, 2004) المستحثة بالعقاقير، وتؤثر في التراكيز المصلية لعدد من معايير الإجهاد التأكسدي الأخرى مثل الغلوتاتيون المؤكسد، و(MDA) malondialdehyde، والبولية، وحمض البول (العناز، 2011)، وأنزيمات (ALT) alanine aminotransferase، و (AST) aspartate aminotransferase (Ismail & Huseyin, 2008; Maddawy *et al.*, 1995; Yamamoto *et al.*, 2013). إضافة لذلك، أظهرت الدراسات الحديثة الأخرى أهمية وفعالية المستخلصات المائية لنباتات الشاي الأخضر والقرفة والزنجبيل والصفصاف والكرام في كبح نمو الجراثيم المستزرعة مخبرياً (Marasini *et al.*, 2015; Nijimoh *et al.*, 2015)، وفي الحد من نمو الجراثيم الممرضة للإنسان مثل المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*، والإشريكية القولونية *E. coli* (Farjana *et al.*, 2015; Silvamohan *et al.*, 2012; Marasini *et al.*, 2015; Nijimoh *et al.*, 2015). وتحتوي أوراق وأزهار نبات إكليل الجبل عدداً من المركبات الفينولية التي تعد بمثابة مضادات أكسدة طبيعية هامة، مثل Rosamanol، وEpirosamanol، وCarnosol، وCarnosic acid، إضافة إلى نسب عالية من rosmarinic acid وflavonoids (يحيى، 2003، 1994، 1987، Ho *et al.*، 2003). كما تتميز أوراق إكليل الجبل باحتوائها على حمض الفينول الذي يعمل كمقيد للأيونات المعدنية المحفزة للأكسدة وبخاصة الحديد والنحاس (Mecarthy *et al.*, 2001).

وانطلاقاً من الأهمية القصوى للكبد في تنظيم العديد من وظائف الجسم وبخاصة نزعية العقاقير والمواد السامة التي تدخل الجسم من مصادر متعددة، وتخزين الغليكوجين، وتصنيع بروتينات بلازما الدم وغيرها من الوظائف الحيوية، فإن الكبد يمثل العضو الرئيس الذي يتعرض للتأثيرات الضارة لهذه المركبات والعقاقير الكيميائية، ومنها المضادات الحيوية (زيدان، 2011، 2011; Maraschiello *et al.*, 1999). وبالرغم من أهمية المضادات الحيوية فيقتل الجراثيم وتثبيط نموها والشفاء من الانتانات الجرثومية، إلا أن تعاطيها دوائياً يرتبط بسلسلة واسعة من الآثار الضارة، وبخاصة تأثيرها السام على أنسجة الكبد والكلية والذي يتجلى بارتفاع تراكيز أنزيمات مصل الدم وبخاصة ALT و

AST، و ALP، (Altan et al., 2003; Silvamohan et al., 2012)، إضافة إلى الخلل في عدد من معايير الدم الأخرى مثل ارتفاع معدل حمض البول، والبولية، والبيروبين (Sakret et al., 2012). انطلاقاً من هذه الحقائق ونظراً لقلّة الدراسات التي تناولت أهمية مستخلصات إكليل الجبل في التخفيف من الآثار الضارة للمضاد الحيوي Amoxicillin، فقد هدفت الدراسة الحالية إلى معرفة التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات إكليل الجبل على السمية الكبدية المستحثة بالمضاد الحيوي Amoxicillin عند الهامستر السوري.

طرائق البحث ومواده:

حيوانات التجربة: أجريت الدراسة على 36 ذكر من الهامستر السوري بعمر 3-4 شهور وسطيّاً ووزن تراوح ما بين 90-120 غم شراؤها من مصدر تجاري-مركز تربية الحيوانات/اللاذقية. وضعت الحيوانات في شروط مناسبة من حيث درجة الحرارة (25م) والإضاءة (12 ساعة إضاءة/12 ساعة ظلام)، وقدم لها الغذاء المناسب، وتركت للتأقلم لمدة لا تقل عن 10 أيام قبل بدء التجربة.

تم الحصول على المضاد الحيوي Amoxicillin 500 mg من الصيدليات المحلية، ومُدد بالماء المقطر للوصول إلى الجرعات المطلوبة (40 و 50 ملغ/كغ من وزن الجسم) وذلك مباشرة قبل تجريعه لحيوانات التجربة.

تحضير المستخلص المائي لنبات إكليل الجبل: ينتمي نبات إكليل الجبل تصنيفياً إلى الفصيلة الشفوية Lamiaceae الجنس: *Rosmarinus*، النوع: *Rosmarinus officinalis* (قببسي، 2004; Mossa, 1987). استحصل على النبات من حديقة المنزل حيث غسلت أوراقه بالماء المقطر وجففت في الظل لثلاثة أيام قبل سحقها بخلط كهربائي للحصول على بودرة ناعمة. بعد ذلك، أضيف إلى المسحوق النباتي (500 غ) ليتر واحد من ماء مقطر حرارته (35-40 م) وترك المزيج لمدة 24 ساعة في درجة حرارة المختبر. رُشح المحلول مرتين قبل نقل الرشاحة إلى جهاز المبخر الدوار لتبخيره لحين الحصول على بودرة نقية جافة (Amin and Hamza, 2005) وحُفظت البودرة ضمن أنابيب زجاجية مانعة للضوء في البراد بدرجة حرارة 4م⁰ لحين الاستخدام حيث حضرت منها الجرعات المناسبة لتجريب حيوانات التجربة (220 ملغ/كغ من وزن الجسم) يومياً قبل الاستخدام

تصميم التجربة:

وزعت حيوانات التجربة (بعد أقلمتها) عشوائياً في ست مجموعات بواقع ستة حيوانات لكل مجموعة تجريبية على النحو الآتي: المجموعة الأولى، وهي مجموعة الشاهد وقد جُرعت بالماء المقطر فقط وقدم لها الغذاء المناسب. المجموعة الثانية: جُرعت يومياً بخلصة إكليل الجبل (220 ملغ/كغ) بوساطة التغذية الأنبوبية لمدة خمس أسابيع.

جرعت حيوانات كل من المجموعتين الثالثة والرابعة بالمضاد الحيوي Amoxicillin (40 و 50 ملغ/كغ من وزن الجسم) على الترتيب عن طريق أنبوبة تغذية فموية بمعدل ثلاث مرات أسبوعياً ولمدة خمس أسابيع. كما تم تجريب كل من حيوانات المجموعتين الخامسة والسادسة بمستخلص إكليل الجبل بتركيز 220 ملغ/كغ يومياً لمدة أسبوع ثم جرعتا بمستخلص إكليل الجبل بنفس الجرعة يومياً إضافة إلى تجريعهما بالمضاد الحيوي Amoxicillin (40 و 50 ملغ/كغ) على التوالي وذلك لمدة خمس أسابيع. وبعد الانتهاء من التجربة تم تخدير الحيوانات وفتح البطن، ومن ثم الحصول على عينات الدم مباشرة من القلب بوساطة إبرة حقن سعة 3 مل أُدخلت عن طريق ذروة القلب. بعد ذلك، استؤصلت أكباد

حيوانات الهامستر وحفظت بشكل مستقل في عبوات بلاستيكية سعة 50 مل مخصصة لهذه الغاية وتحتوي على محلول الفورمالين بتركيز 10% لحين إجراء الدراسة النسيجية.

الدراسة الحيوية الكيميائية

تركت عينات الدم بعد الحصول عليها بدرجة حرارة 4 م لمدة 15-20 دقيقة لحين تشكل خثره في أسفل الأنبوب، ثم حضرت للنتفيل بسرعة 3000 دورة/د، وفصل المصل عن بقية مكونات الدم، ووضع في أنابيب زجاجية مجهزة بغطاء ومبردة. بعد ذلك، جرى قياس تركيز أنزيمات ALT وAST مباشرة وخلال فترة زمنية لا تتجاوز 2 ساعة في جميع العينات، ثم أجريت معايرة كل من البولة، وحمض البول، والألبومين والبيروبين وفقاً للطرائق المعتمدة (Maddawy *et al.*, 2013).

الدراسة النسيجية

جهزت عينات الكبد لإجراء المقاطع النسيجية بغمرها بالبارافين ضمن قوالب خاصة ثم أجريت المقاطع النسيجية بسماكة 5 ميكرون باستخدام المقطاع النسيجي (Meditome A 550) ثم عولجت تمهيداً لتلوينها بالهيماتوكسيلين - ايوزين وفقاً للطرائق المعتمدة (Drury *et al.*, 1980; Maity *et al.*, 2012). بعد ذلك، درست المحضرات النسيجية مجهرياً باستخدام مجهر ضوئي مجهز بكاميرا رقمية لتحري الضرر النسيجي الناتج عن تجريع الحيوانات بالمضاد الحيوي وتقصي دور مستخلص إكليل الجبل.

التحليل الإحصائي Statistical Analysis

تم التعبير عن النتائج باعتماد متوسطات القياس \pm خطأ الانحراف عن المتوسط لكل معيار من معايير الدم في ست عينات تتبع للحيوانات الست في كل مجموعة. وتم تطبيق الاختبار الإحصائي One way analysis of variance (ANOVA) متنوع بالاختبار الإحصائي Multi-way ANOVA ضمن البرنامج الإحصائي SPSS Soft ware. واعتمدت قيمة $p < 0.05$ كحد أدنى للدلالة الإحصائية المعنوية لتغيرات قيم معايير مصل الدم.

النتائج والمناقشة:

تظهر نتائج الدراسة الحيوية الكيميائية الموضحة في الجدول [1] ارتفاعاً معنوياً في تراكيز كل من أنزيمات ALT، AST وكذلك في تراكيز البولة، وحمض البول، والبيروبين ($p < 0.001$) في مصل دم حيوانات المجموعتان الثالثة والرابعة اللتان جرعتا بالمضاد الحيوي Amoxicillin 40 و 50 ملغ/كغ من وزن الجسم على التوالي وذلك مقارنة مع المجموعة الشاهدة (الجدول 1، والأشكال 1-5). كما سُجل انخفاض معنوي في تركيز الألبومين ($p < 0.001$) عند هذه الحيوانات (الجدول 1، والشكل 6). بالمقابل، أدى تجريع حيوانات المجموعتان الخامسة والسادسة بالمستخلص المائي لإكليل الجبل بشكل متزامن مع تجريع المضاد الحيوي إلى تحسن واضح في معايير مصل الدم الحيوية الكيميائية وبخاصة في المجموعة الخامسة حيث لم نلاحظ أي فرق معنوي ($P > 0.05$) في تراكيز المعايير المعتمدة مقارنة مع المجموعة الشاهدة، إضافة إلى ارتفاع معنوي في تركيز ألبومين مصل الدم ($p < 0.01$). تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج العديد من الدراسات الأخرى التي أجريت عند الفئران والتي أظهرت ارتفاعاً في مستوى تراكيز مصل الدم لأنزيمات ALT وAST وبعض معايير الدم الأخرى مثل البيروبين، والبولة، وحمض البول، بتأثير عدد من عوامل الكرب الخلوي مثل الباراسيتامول (Parmar *et al.*, 2010)، وديكلوفيناك الصوديوم (Maity *et al.*, 2012) و رابع كلور الكربون (Alhassan *et al.*, 2009; Abdel-Wahhab *et al.*,)

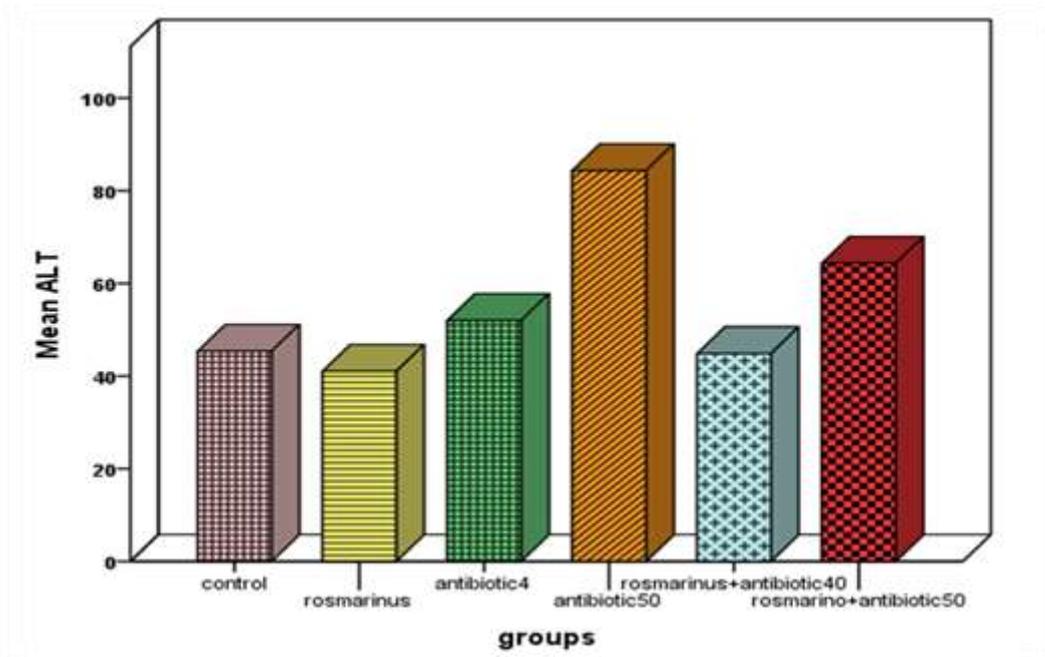
(Elgaml and Hashish, 2014)) والكادميوم (2011; Sakret *al.*,2012; Anosike *et at.*,2013 ومضادات السرطان وبخاصة Adriamycin (Jyouthi *et al.*, 2013) و Cisplatin El-sayyed *et* (2009;Liao *et al.*,2008). وكذلك الأبحاث التي أظهرت أهمية المستخلصات النباتية في حماية أنسجة الكبد من الضرر المحدث بفعل المضادات الحيوية مثل السيبروفلوكساسين (Adikwua *et Bramaifa*, 2012)، والدور الوقائي لمستخلص إكليل الجبل في حماية أنسجة الكلية والخلايا المولدة للنطاف من الموت الخلوي المحدث بالمضاد الحيوي جنتاميسين (2011, Tavafi *et Ahmadvan*, 2014; Zahedi *et al.*, 2012; Zahedi *et al.*). كما تتفق نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات العديدة التي أوضحت احتواء الخلاصة المائية لنبات إكليل الجبل على نسب عالية من مضادات الأكسدة وبخاصة المركبات الفينولية مثل الفلافونويد flavonoid و الكارنوزول carnosol ومركب 12-methoxycarnosic التي تقي في حماية خلايا الكبد من الإجهاد التأكسدي الذي يتجلى بارتفاع نسب أنزيمات مصل الدم ومضادات الأكسدة الطبيعية (Carvalho *et al* 2005; Brewer, 2011). وبالرغم من فعالية مستخلص إكليل الجبل في تخفيض قيم أنزيمات ALT وAST وبقية معايير مصل الدم في المجموعة السادسة ($P < 0.001$) إلا أن قيم هذه المعايير بقيت أكثر ارتفاعاً من القيم الطبيعية في المجموعة الشاهدة وذات دلالة معنوية ($p < 0.05$)، وهذا يفترض أن جرعة المستخلص النباتي لم تكن كافية لحجر الإجهاد التأكسدي المحدث بتأثير المضاد الحيوي أموكسيسيلين (50 ملغ/كغ). بالمقابل، أوضحت النتائج أن تجريع هامسترات المجموعة الثانية بالمستخلص المائي لنبات إكليل الجبل لوحده قد خفض بشكل بسيط ولكن بشكل معنوي تراكيز كل من البولة، وحمض البول، والبيروبين، وأنزيمه AST ($P < 0.01$ على الأقل) مقارنة مع المجموعة الشاهدة (الجدول 1). وربما يعود ذلك إلى رد الفعل الخلوي لخلايا الكبد تجاه الفعل مضاد الأكسدة للخلاصة المائية لإكليل الجبل وزيادة اصطناع مضادات الأكسدة الطبيعية من قبل خلايا الكبد، ولا يعود لتأثير المستخلص النباتي على اصطناع وإفراز أنزيمات ALT وAST كما توضح نتائج الدراسة وبخاصة مع نتائج حيوانات المجموعتين الثالثة والرابعة وكذلك المجموعة السادسة.

الجدول رقم (1): يبين المقارنة بين متوسطات المعايير الحيوية الكيميائية المدروسة والفروق المعنوية بين المجموعة الشاهد وبقية

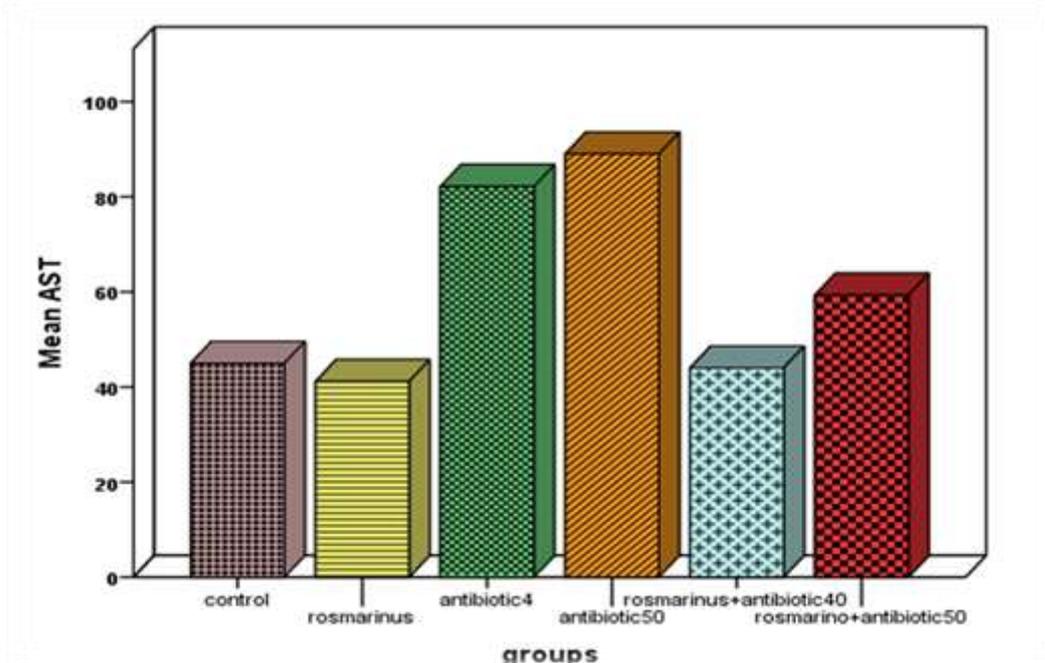
المجموعات التجريبية. ($p < 0.001$ ***, $p < 0.01$ **, $p < 0.05$ *)

الألبومين	البولة	حمض البول	البيروبين	AST	ALT	المجموعة
2.8±0.06 g/dl	37.5±6.1 mg/dl	3.3±.36 mg/dl	.4±.05 mg/dl	45.0±.6 IU/L	45.3±3.9 IU/L	المجموعة الشاهدة
3.0±.12 g/dl	31.3±2.8 mg/dl	3.0±.24 mg/dl	.2±.08 mg/dl	41.1±1.4 IU/L	41.0±2.0 IU/L	المجموعة الثانية (إكليل الجبل)
0.006**	0.000***	0.01**	0.01**	0.003**	0.17	Sig
2.6±.08 g/dl	40.5±2.8 mg/dl	3.6±.13 mg/dl	.6±.11 mg/dl	82.1±2.4 IU/L	52.0±5.5 IU/L	المجموعة الثالثة (Max 40)
0.006**	0.17	0.03*	0.00**	0.000***	0.04	Sig
2.5±.08 g/dl	53.5±3.4 mg/dl	4.2±.25 mg/dl	.7±.18 mg/dl	89.0±2.8 IU/L	84.3±7.0 IU/L	المجموعة الرابعة (Max 50)
0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	Sig
2.8±.12 g/dl	35.6±1.9 mg/dl	3.3±.08 mg/dl	.4±.08 mg/dl	44.0±2.5 IU/L	44.8±1.3 IU/L	المجموعة الخامسة (إكليل Max 40 +)
1.00	0.39	0.61	1.00	0.41	0.87	Sig

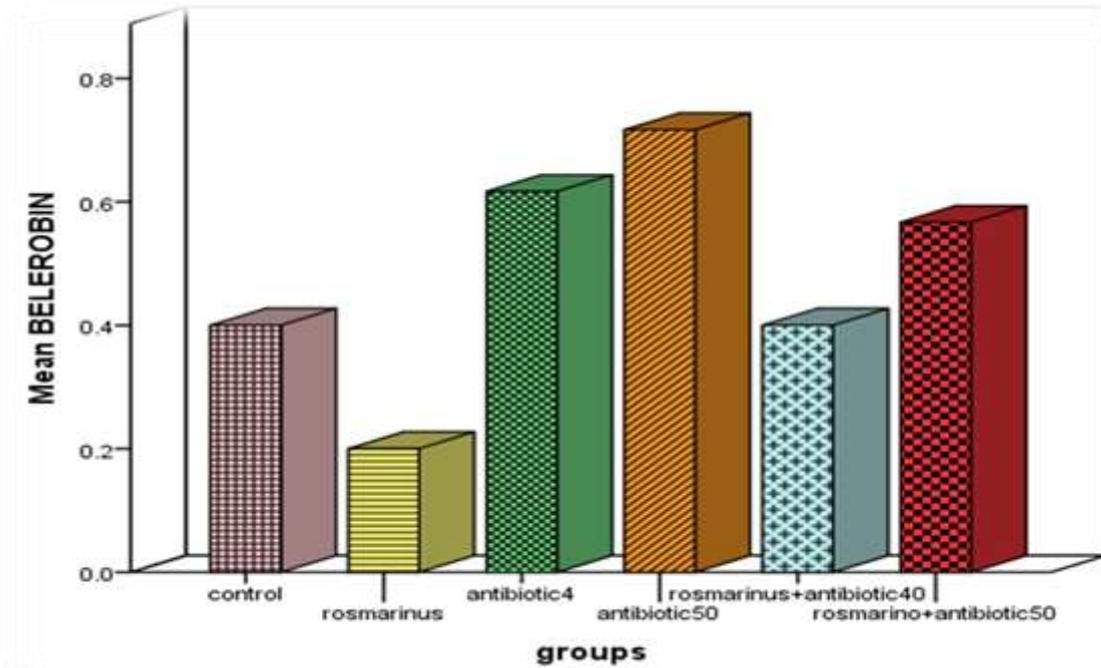
2.6±.17 g/dl	42.1±3.4 mg/dl	3.4±.16 mg/dl	.5±.17 mg/dl	59.3±1.6 IU/L	64.3±8.6 IU/L	المجموعة السادسة (إكليل + Max (50
0.00**	0.03*	0.70	0.03*	0.000***	0.000***	Sig



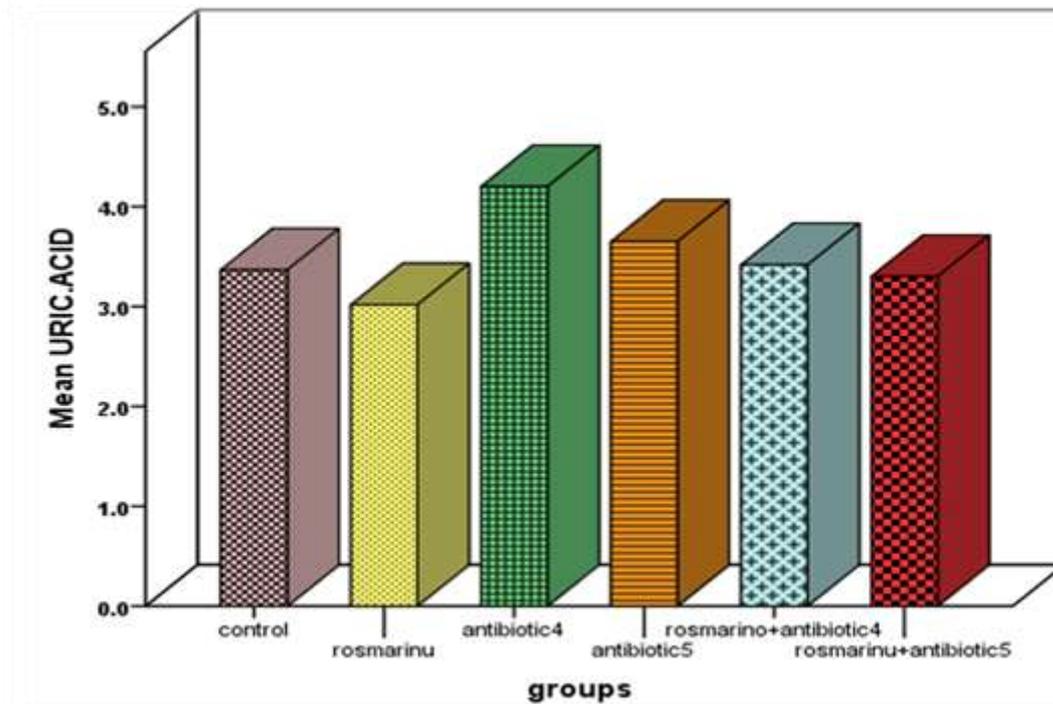
الشكل (1): تغيرات متوسطات تركيز أنزيمه آلانين أمينو ترانسفيراز (ALT) في مصل دم حيوانات المجموعات التجريبية.



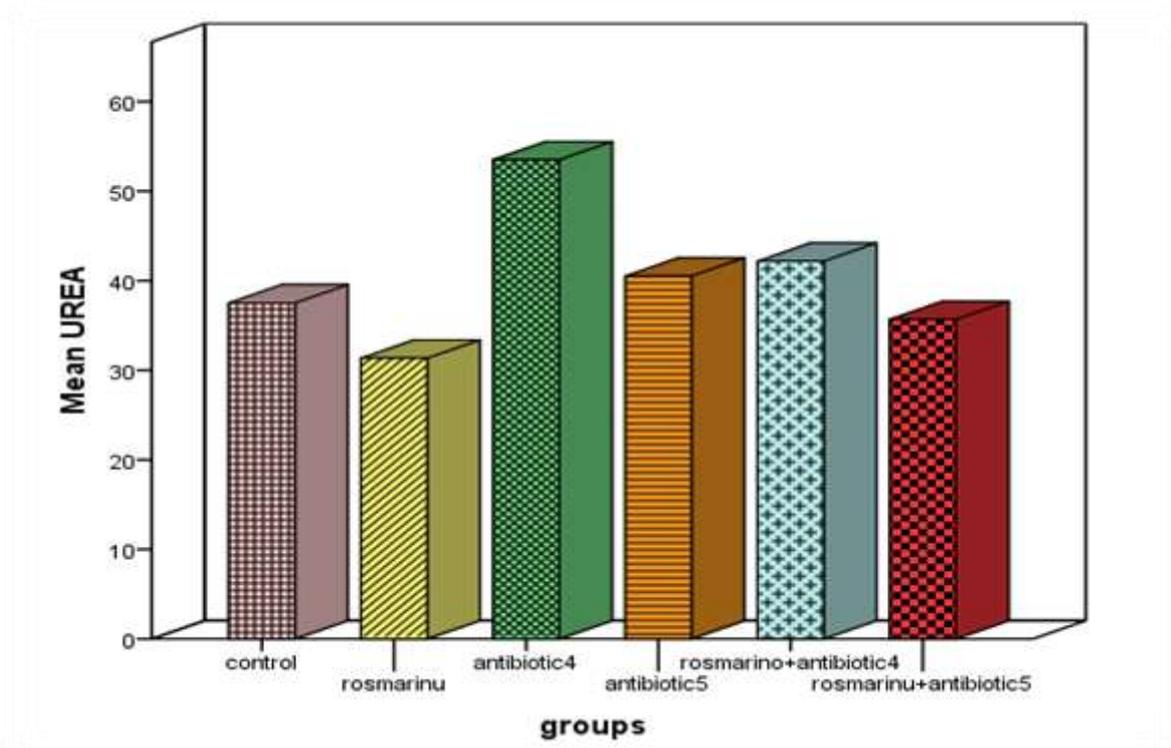
الشكل (2): تغيرات متوسطات تركيز أنزيمه أسبارتات أمينو ترانسفيراز (AST) في مصل دم حيوانات المجموعات التجريبية.



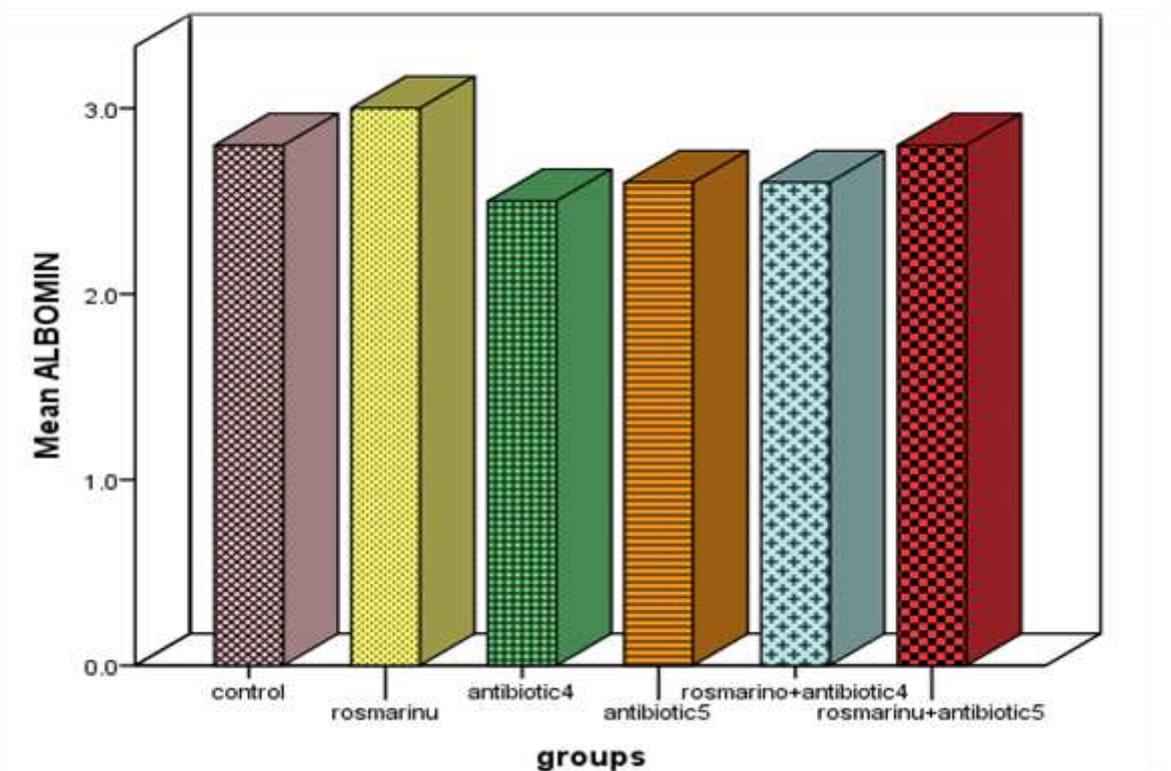
الشكل (3): اختلاف متوسطات تركيز البيلروبين Belerobin بين المجموعات التجريبية.



الشكل (4): شكل يوضح تغيرات متوسطات تركيز حمض البول Uric acid في مصل دم حيوانات المجموعات التجريبية.



الشكل رقم(5): اختلاف تركيز البولة Urea بين المجموعات التجريبية.



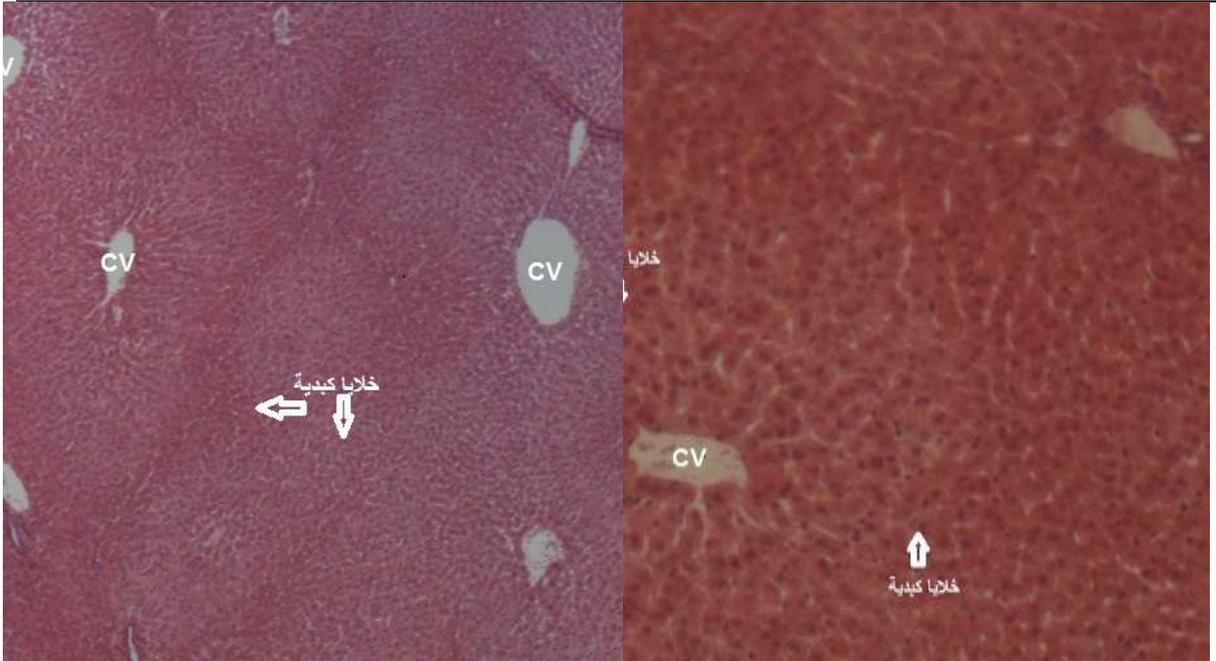
الشكل رقم (6): يبين اختلاف متوسطات تركيز الألبومين Albomin بين المجموعات التجريبية.

نتائج الدراسة النسيجية:

أظهرت دراسة المقاطع النسيجية (التشريح المرضي) في حيوانات المجموعة رقم 2 التي جُرعت بالمستخلص المائي لإكليل الجبل خلايا كبدية طبيعية مماثلة لخلايا المجموعة الشاهدة (شكل 1). بالمقابل، أظهرت الدراسة النسيجية لأكباد حيوانات المجموعتين الثالثة والرابعة التي جُرعت بالمضاد الحيوي Amoxicillin بجرعة 40 و 50 ملغ/كغ من وزن الجسم على التوالي، حدوث حالات احتقان متكررة داخل الأوعية الدموية وبخاصة في الوريد المركزي (CV)، إضافة إلى إنتاج خلوي حاد وضعف تلون الخلايا الكبدية، وكذلك فقدان الخلايا لأنويتها وتكسر الأغشية السيتوبلاسمية، وارتشاح لخلايا الدم البيض من عدلات ولمفاويات إلى أماكن عديدة في نسيج الكبد مما يشير إلى حدوث تنخر خلوي Necrosis بفعل تجريع المضاد الحيوي (الأشكال 2-6). دون ملاحظة أي أثر لحدوث تليف في نسيج الكبد عند هذه الحيوانات.

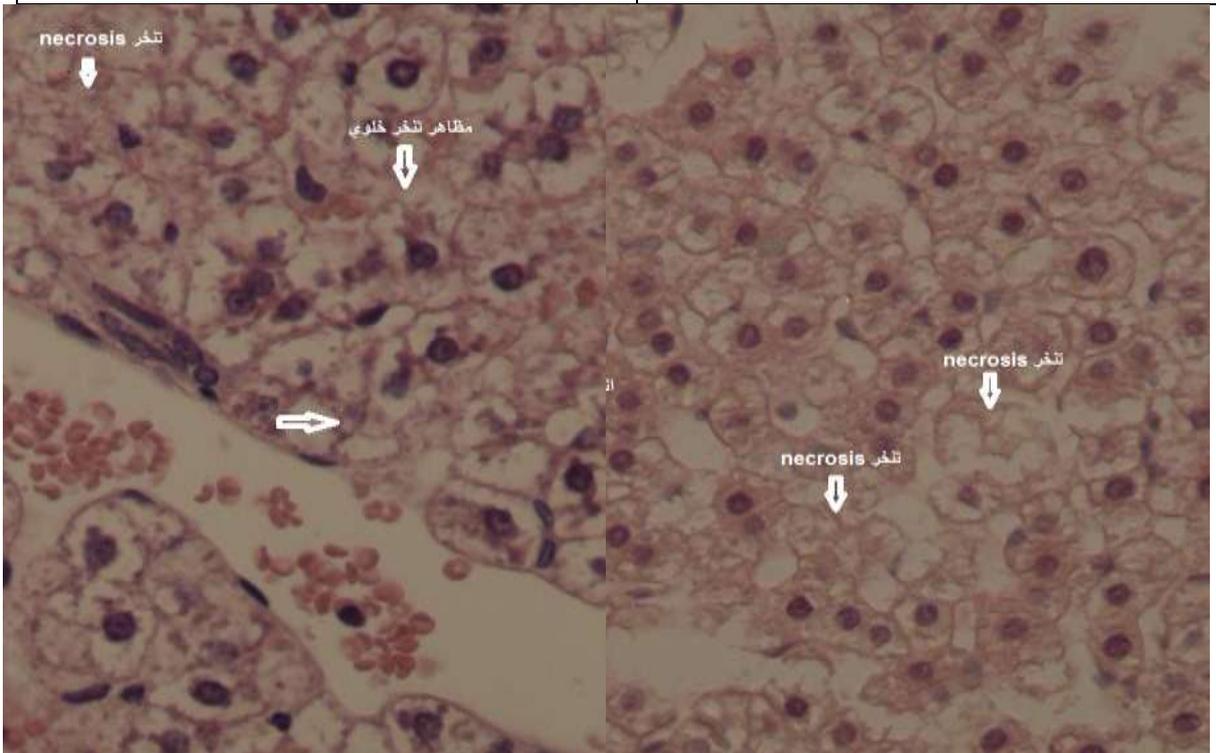
إضافة لذلك، أظهرت الدراسة النسيجية لأكباد حيوانات المجموعتين الخامسة والسادسة التي جرعت بخلصة إكليل الجبل بالتزامن مع المضاد الحيوي تحسناً واضحاً في بنيتها النسيجية حيث زال القسم الأكبر من الانتباج الخلوي ومظاهر التنخر الخلوي الأخرى واقتربت بنيتها النسيجية من البنية النسيجية الطبيعية للمجموعة الشاهد (شكل 3) وبخاصة بالنسبة لحيوانات المجموعة الخامسة، في حين لوحظ بقاء آثار لبعض المناطق المتضررة التي تحتوي على ارتشاح لخلايا الدم البيض، وبعض مظاهر الاحتقان الخفيف بالنسبة لحيوانات المجموعة السادسة التي جرعت بالمضاد الحيوي بجرعة 50 ملغ/كغ من وزن الجسم (الأشكال 7-9).

وتتفق نتائج الدراسة النسيجية الحالية التي أظهرت تأثيراً معنوياً وقائياً للمستخلص المائي لنبات إكليل الجبل في حماية الكبد من الضرر المحدث بالمضاد الحيوي amoxicillin مع نتائج العديد من الدراسات التي بينت التأثير الواقي لعدد من المستخلصات النباتية و بخاصة القرفة والزنجبيل في حماية أنسجة الكبد من الضرر المحدث بفعل المضادات الحيوية مثل السيبروفلوكساسين (Adikwua et Brambaifa, 2012)، وأهمية مستخلص إكليل الجبل في حماية أنسجة الكلية والخلايا المولدة للنفط من الموت الخلوي المحدث بالمضاد الحيوي جنتاميسين، Tavafiet Ahmadvan, (2011; Zahedi et al., 2012; Zahedi et al., 2014). كما تتفق مع نتائج الأبحاث التي أوضحت التأثير الموقى لمستخلص نبات الزعتر في حماية خلايا الكبد من الإجهاد التأكسدي المحدث بعقار Methotrexate عند الأرناب (Swayeh et al., 2014) وكذلك عقار Fenitrothion عند الفئران (EL-Naggar et al., 2015).



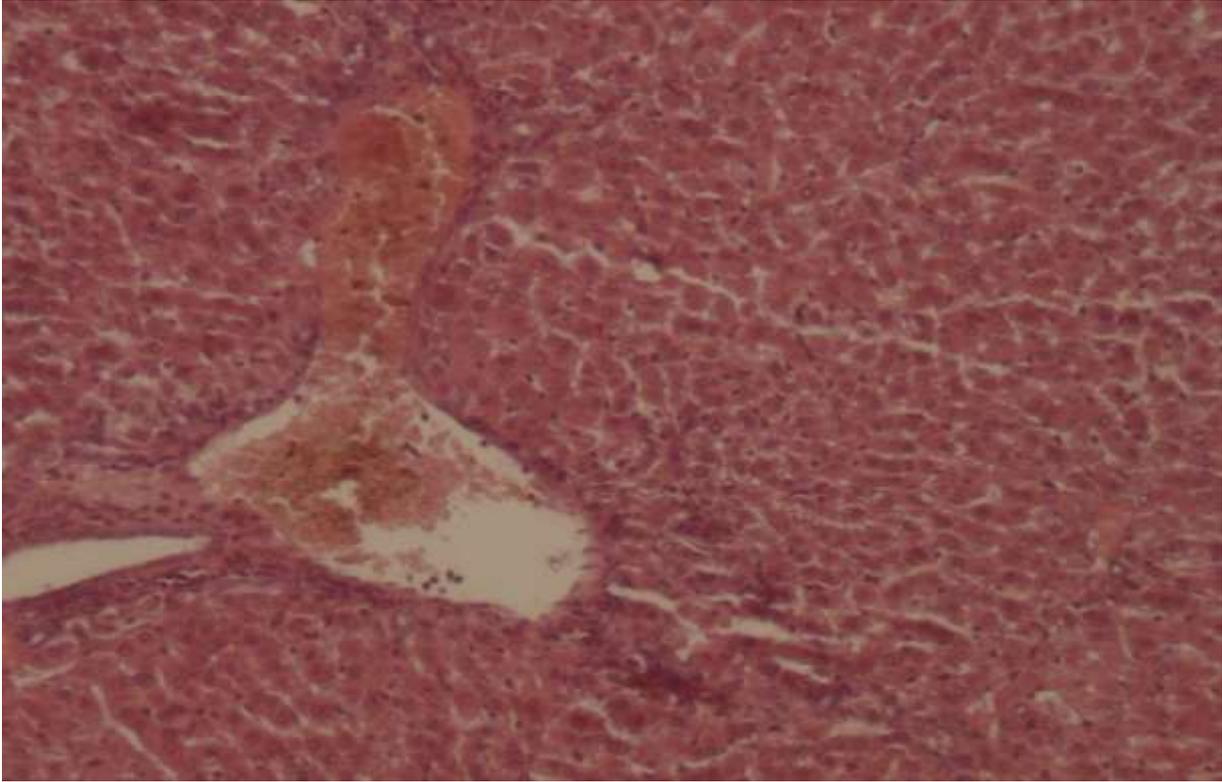
شكل (1B): مقطع في نسيج كبد حيوان تم تجريعه بخلصة إكليل الجبل. نلاحظ خلايا طبيعية مماثلة لنسيج كبد المجموعة الشاهدة. CV: الوريد المركزي. (x10).

شكل (1A) مقطع في نسيج كبد حيوان يتبع المجموعة الأولى الشاهدة. نلاحظ خلايا طبيعية تماماً. CV: الوريد المركزي. (x10)

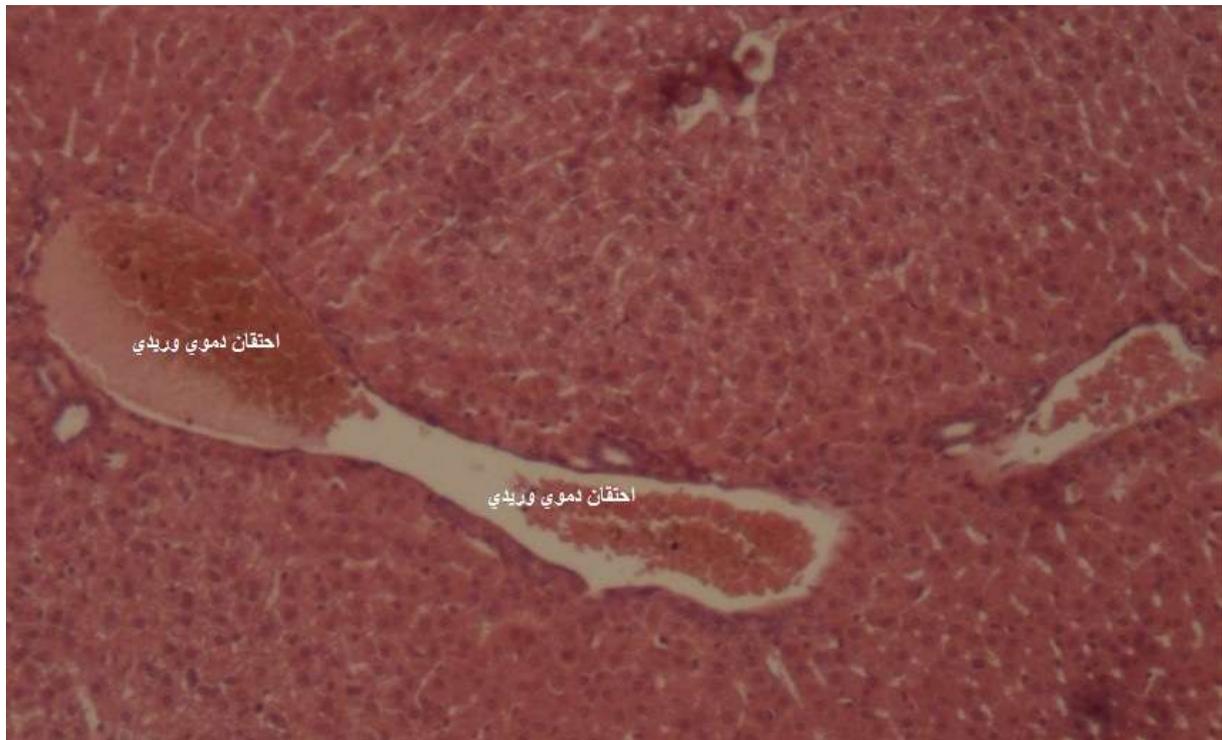


الشكل (2B): مقطع في نسيج كبد حيوان في المجموعة الرابعة التي جرعت بالمضاد الحيوي 50ملغ. نلاحظ انتباج خلوي شديد وتخر خلوي واحتقان دموي في الوريد المركزي. (تكبير x40).

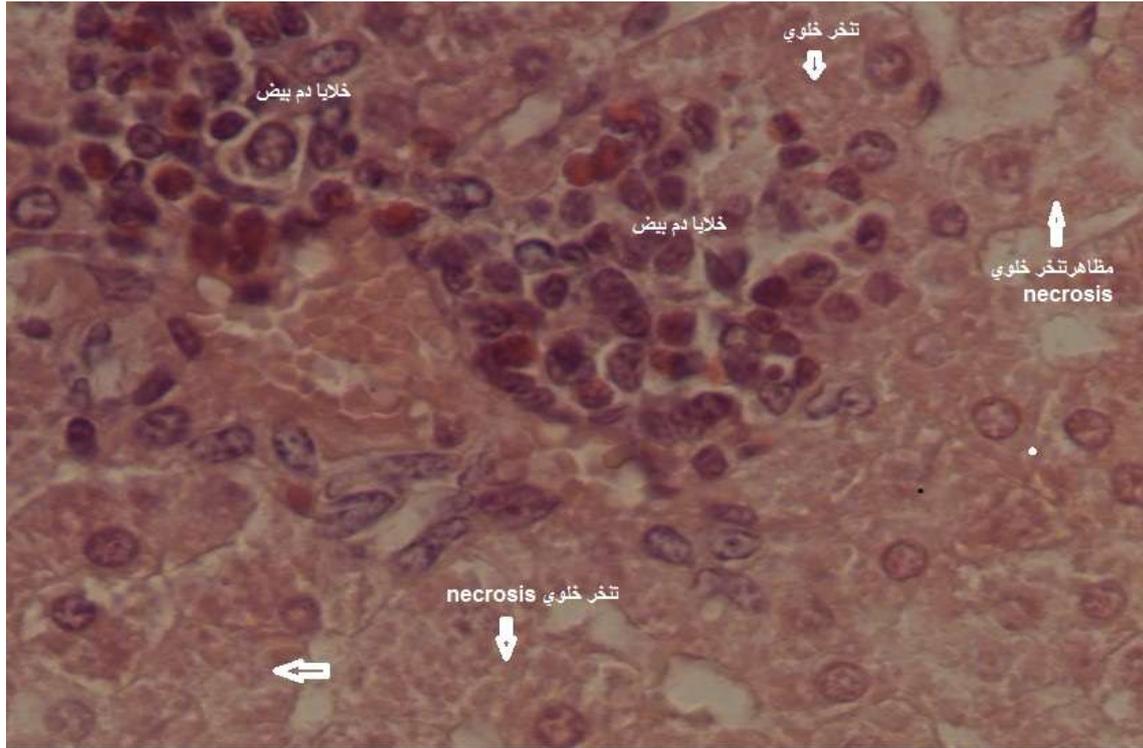
الشكل (2A): مقطع في نسيج كبد حيوان في المجموعة الثالثة التي جرعت بالمضاد الحيوي 40ملغ. نلاحظ انتباج خلوي شديد ومظاهر تخر خلوي. (تكبير x40).



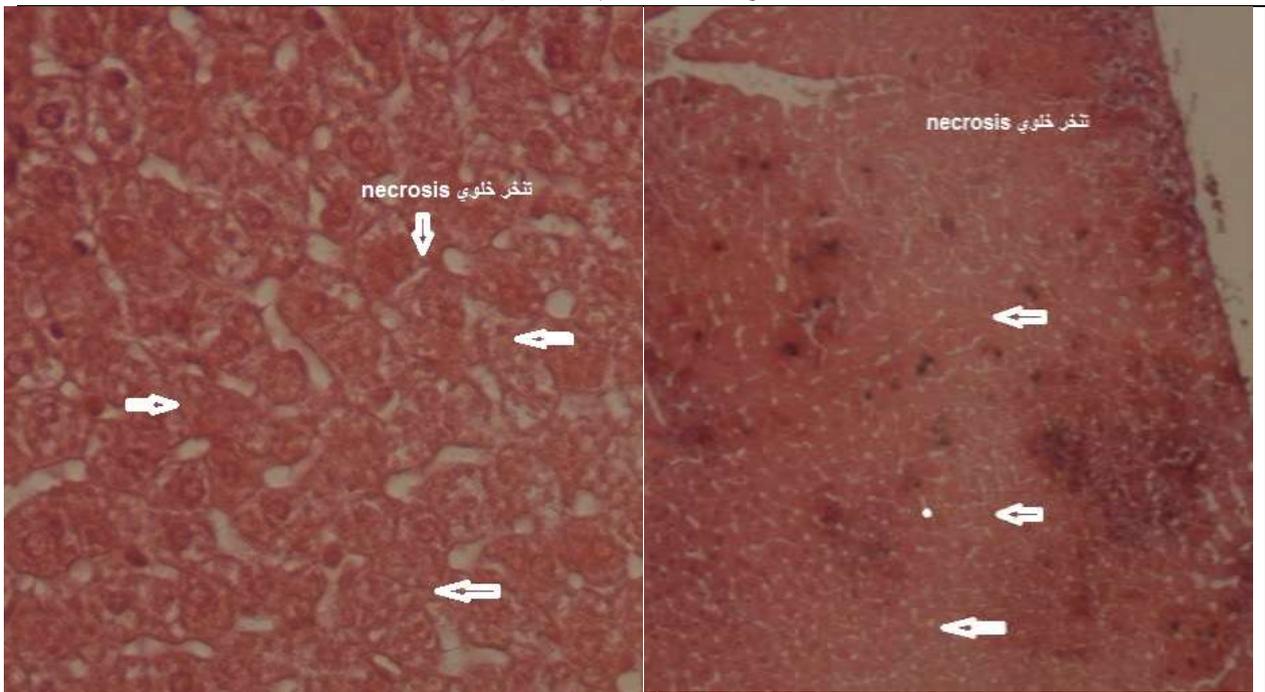
الشكل (3): مقطع في نسيج كبد حيوان يتبع المجموعة الثالثة (مضاد الحيوي 40 ملغ)، نلاحظ احتقان شديد في الأوردة المركزية



الشكل (4): مقطع في نسيج كبد حيوان مجرع بالمضاد الحيوي 50ملغ، (المجموعة الرابعة). نلاحظ احتقان شديد في الأوردة المركزية

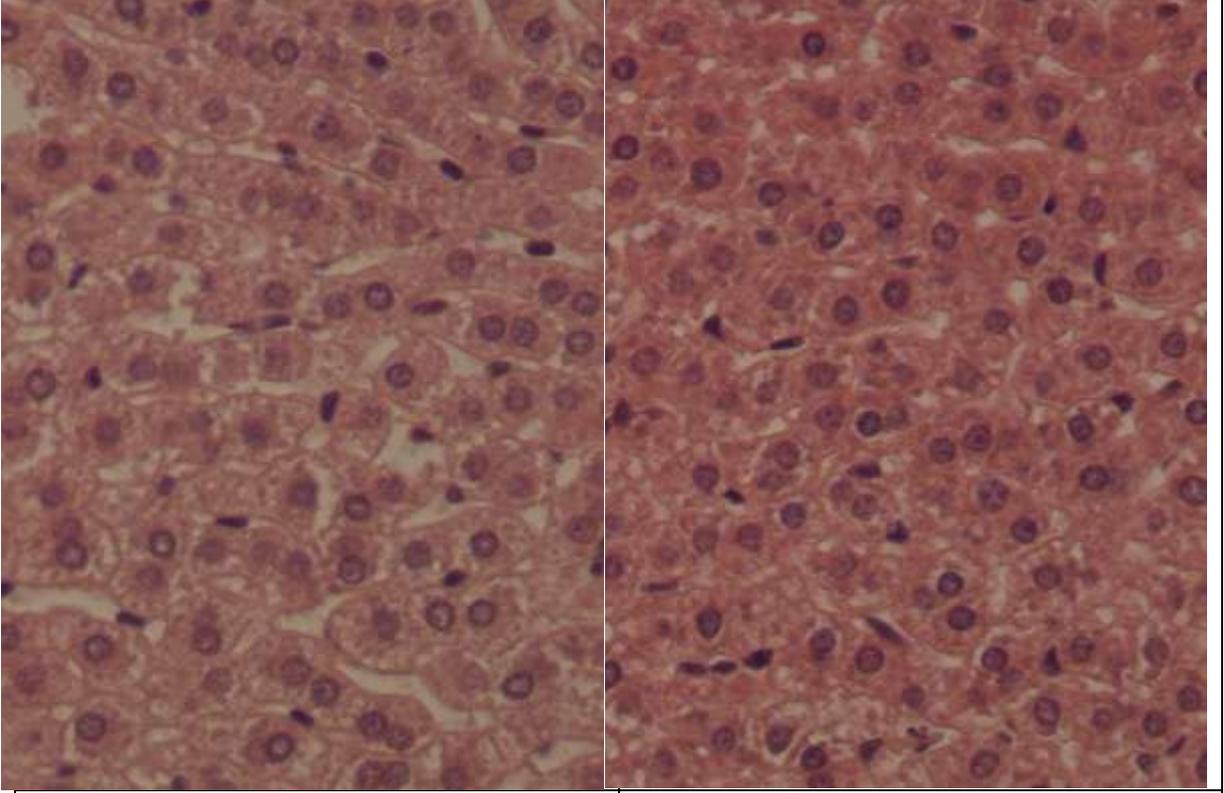


الشكل (5) : صورة لمقطع في نسيج كبد حيوان مجرع بالمضاد الحيوي 50ملغ، (المجموعة الرابعة).
نلاحظ ارتشاح شديد لخلايا الدم البيض إلى أماكن التنخر.



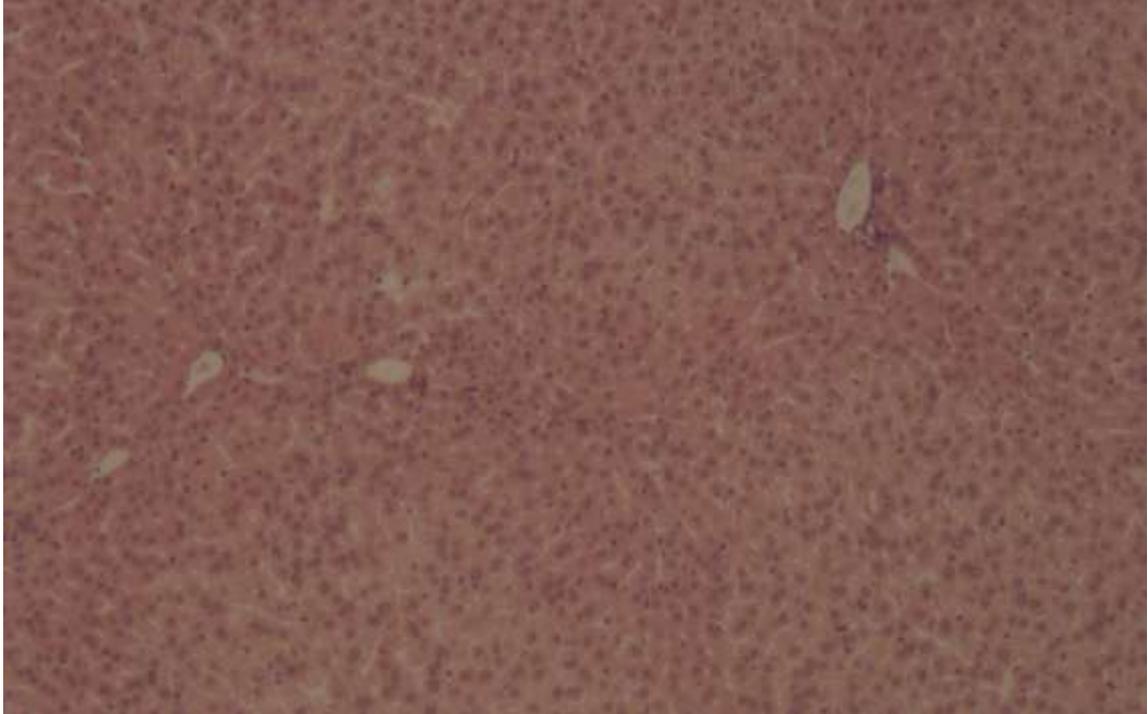
شكل (6B) : صورة لمقطع نسيجي توضح بعض مظاهر التنخر الخلوي (زوال الأنوية) في أنسجة كبد حيوانات المجموعة الرابعة. (40 x)

شكل (6A) : صورة لمقطع نسيجي يوضح التنخر الخلوي (زوال الأنوية) مع ظهور بؤر التهابية في أنسجة كبد حيوانات المجموعة الرابعة. (10 x)



الشكل (8): صورة لمقطع في نسيج كبد لحيوان (x40) من المجموعة السادسة (خلاصة إكليل الجبل + مضاد حيوي 50). نلاحظ زوال معظم الانتباج

الشكل (7) : صورة لمقطع نسيجي في كبد لحيوان (x40) من لمجموعة الخامسة (خلاصة إكليل الجبل + مضاد حيوي 40). لا نلاحظ أي تنخر الخلوي.



الشكل (9) : مقطع في نسيج كبد لحيوان (x10) من المجموعة الخامسة (خلاصة إكليل الجبل + مضاد حيوي 40). نلاحظ زوال الانتباج ولا نجد مظاهرالتنخر الخلوي

الاستنتاجات والتوصيات:

- 1- يسبب استخدام المضاد الحيوي Amoxicillin ضرراً نسيجياً على الكبد يتجلى بارتفاع معدل المعايير الحيوية الكيميائية لأنزيمات الكبد في مصل الدم ويستمر ذلك طيلة فترة التجريب وبعدها بعدة أيام على الأقل، إضافة إلى ظهور علامات تنخر خلوي واضحة جداً وبخاصة الانتباج الخلوي وزوال نوى الخلايا وحدث تدفق لخلايا الدم البيض إلى أماكن الضرر النسيجي.
- 2- يؤدي المستخلص المائي لإكليل الجبل دور وقائي واضح في حماية أنسجة الكبد ضد التأثيرات الضارة المحدثة بالمضاد الحيوي أموكسيسيلين.
- 3- لذلك ينصح المرضى الذين يتعاطون المضادات الحيوية وبخاصة الأموكسيسيلين بتعاطي مشروب خلاصة إكليل الجبل أثناء فترة العلاج.
- 4- عزل المركبات الفعالة في مستخلص إكليل الجبل وإجراء المزيد من الأبحاث والتجارب العلمية بخصوص الاستعمال الدوائي للمستخلص ومركباته الفعالة.

المراجع:

- 1-العناز، رجاء. تأثير نبات إكليل الجبل وبيروكسيد الهيدروجين في بعض الجوانب الفيزيولوجية والنسجية والكيموحيوية لذكور الفئران البيض. مجلة زراعة الرافدين، 2011، المجلد، (39)، العدد (3).
- 2-زيدان، نور الهدى. السمية الكبدية والكلىوية للمبيدات. مجلة أسبوط للدراسات البيئية، 2011، العدد 35، 65-90.

- 3-قبيسي، حسان. معجم الأعشاب والنباتات الطبية. دار الكتب العلمية، بيروت، لبنان، 2004، ص 16
- 4-يحيى، توفيق الحاج. النباتات والطب البديل. الدار العربية، مطبعة المتوسط، بيروت، لبنان، 2003، 156

المراجع الأجنبية

- 1-ABDEL-WAHHAB,K; EL-SHAMY, K; EL- BEIH,N; MORCY,F. *Protective effect of a natural herb (Rosmarinus officinalis) against hepatotoxicity in male albinorats*. *Comunicata Scientiae*, 2(1), 2011, 9-17.
- 2-ADIKWU, E; BRAMBAIFA, N. *Ciprofloxacin Cardiotoxicity and Hepatotoxicity in Humans and Animals*. *Pharmacology & Pharmacy*, 2012, 3, 207-213
- 3-ALEXANDRA, B; MARIE, C; HUBERT, R; CLENDETTE, B. *Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extract*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol, 46, 1998, 2123-2129.
- 4-ALHASSAN, A.; SULE, M; ALIYU, S; ALIYU, M. *Ideal Hepatotoxicity Model in Rats using CCl4*. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 2 (20), 2009, 185 – 187
- 5-ALTAN, O; PABUCCUGLU, A; ALTAN, A; KONYALIOGLU; H. BAYRAKTAR, . *Effect of heat stress on oxidative stress, lipidperoxidation and some stress parameters in broilers*. *Br. Poult. Sci.* 44, 2003, 545-550
- 6-AMIN, A; HAMZA, A. *Hepatoprotective effects of hibiscus, rosemarinus and salvia on azathioprine-induced toxicity in rats*. *Life Sciences*;77, 2005, 266-278
- 7-ANOSIKE, C; OSSAI, E; OBIDOA, O; EZEANYIKA, L. *Modulatory effect of Zingiberoffinale on chemical induced gastric mucosal damage and hepatotoxicity in rats*. *Research J. Pharma. Biolo. Chem. Sci.* vol 4 (3), 2013, 413-423.

- 8-ANUGYA, M ; RADHEY, S ; NALINI, S. *Chlorpyrifos induced alterations in the levels of hydrogen peroxide, nitrate and nitrite in rat brain and liver*. Pesticide Biochemistry and Physiology 94, 2009, 55–59
- 9-BAKR.R; EL-SAYED. A; OMER; KHALED .A; ABD EL-RAZIK. S; ABU ELNAGA, E; DANIAL; ABD EL-NASER, G. *Antioxidant and anti-listerial activities of selected Egyptian medicinal plants*. Afr. J. Microbiol. Res, 2013,7(37):p:4590-4595
- 10-BASCH, E; ULBRICHT, C; KUO, G; SZAPARY, P; SMITH, M. *Therapeutic:20–27.applications of Fenugreek, Alternative. Med. Rev. 8(8) :(2003).234-243.*
- 11-BREWER, M.S. *Natural antioxidants sources, compounds, mechanisms of action and potential applications*. Comprehensive Reviews 10 (4); 2011, 221-247.
- 12- CARVALHO, R.N; MOURA, L.S, ROSA, P.T.V; MEIRELES, M.A.A.. *Supercritical fluid extraction from rosemary (Rosmarinus officinalis): kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity*. J Supercrit Fluids35, 2005,197–204.
- 13-CHOI, E; STOCKERT, A; LEIMKUHNER, S; HILLE, R. *Studies on the mechanism of action of xanthine oxidase*. JInorgBiochem. 98; 2004, 841-848.
- 14-DRURY, A; WILLINGTON, E ; CARLETON. *Histological Technique 5th ed. Oxford University Press*. 1980, 129-212
- 15-ELGAML,S; HASHISH ,E. *Clinicopathological studies of Thymus vulgaris Extract Against Cadmium Induced Hepatotoxicity in Albino Rats*. Global J. Pharmacol,2014 , 8 (4): 501-509
- 16-EL-NAGGAR, S; SELIM, A; EL-MAHALAWAY, A. *Effects of Thyme Extract on Hepatotoxicity Induced by Fenitrothion on Mice: Histological, Histochemical and Immunohistochemical, Study*. Journal of Cell and Tissue Research Vol. 15(1), 2015, 4737-4746
- 17-EL-SAYYED, H; ISMAIL, M; SHALABY ,F; ABOU-EL-MAGD ,R; GAUR ,R;FERNANDO ,A; RAJ ,M; OUHTIT ,A . *Histopathological effects of cisplatin, doxorubicin and 5-fluorouracil (5-FU) on the liver of male albino rats*. Int. J. Biol. Sci., 5, 2009, 466-473
- 18-FARJANA,A; ZERIN,N; KABIR,S. *Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria*. Asian Pacific Journal of Tropical Disease.2014, P S920–S923.
- 19-JOYTHI, B; MOHANALAKSHMI, S; ANITHA, K ; KLIN ,P. *Protective effect of Mirabilis Jalapa leaves on anti-tubercular drugs induced hepatotoxicity*. Res. Vol:3, 2013, 221-224
- 20-HERTOG, S; FEHILY, A; ELWOOD, AND KROMHOUT . *Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men*. American Journal of Clinical Nutrition, 1997,65: 1489–1494
- 21-HO, C; FERRARA, T; CHEN, Q; ROSEN, R; HUANG, M. *Phytochemicals in teas and rosemary and their cancer preventive properties in: food phytochemicals for cancer prevention*. American Chemical Society, Washington, DC,1994, pp.2-19
- 22-ISMAIL ,C; HUSEYIN ,S. *The hematological effects of methyl parathion n rats*. Journal of Hazardous Materials 153, 2008, 1117–1121
- 23-KAILENDER ,Y; YEL, M; KALENDER, S. *Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats. The effects of vitamin E and catechin*. Toxicology, 209(1), 2005, 39-45

- 24-LIAO, Y; LU, X; LU, C; LI, G; JIN, Y; TANG, H. *Selection of agents for prevention of cisplatin-induced hepatotoxicity*. Pharmacol. Res., 57, 2008, 125-131
- 25-MADDAWY, Z; IBRAHIM, M; EL-ASHMAWY. *Hepato-Renal and Ematological Effects of Diclofenac Sodium in Rats*. Global Journal of Pharmacology, 7 (2), 2013, 123-132.
- 26-MAITY, T; AHMAD, A; PAHARI, N; SUBARNA, G. *Hepatoprotective Activity of Mikaniascandens (L.) Willd. against diclofenac sodium induced liver toxicity in rats*. Asian J Pharm Clin Res, 2012; 5(2): 185-189.
- 27-MARASCHIELLO, C; SARRAGE, C; REGUEIRO, J. *Glutathione peroxidase activity, t-bars and alphasatocopherol in meat from chicken fed different diets*. J. Agric. Food Chem. 47, 1999, 867-872.
- 28-MARASINI, B; BARAL, P; ARYAL, P; KASHI, R; NEUPANE, S; DAHAL, N; SINGH, A; GHIMIRE, L; HRESTHA, K. *Evaluation of Antibacterial Activity of Some Traditionally Used Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria*. BioMed Research International. 2015, pages 6.
- 29-ME CARTHY, T; KERRY, J; KERRY, J; BLYNCH, P; BUCKLEY, D. *Evaluation of antioxidant potential of natural food / plant extracts compared with synthetic antioxidant and vitamin E, in raw and cooked pork patties*. Meat Sci, 57, 2001, 45-52.
- 30-MORENO, S; SCHEYER, T; ROMANO, C; VOINOV, A. *Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition*. Free Radical Research, 40 (2), 2006, 223-231
- 31-MOSSA, J.S. *Medicinal Plants of Saudi Arabia Published by King Saud University Libraries*. Riyadh, 1987, p: 24418-
- 32-NEGI, P. S; JAYAPRAKASHA, G; JENA, B. *Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts*. Food Chemistry, 80, 2003, 393-397
- 33-NIJIMOH, D., L.; JULES, C. MOKAKE, A; NYHALAH, D; YINDA, C; SANDJON, B. *Antimicrobial Activities of a Plethora of Medicinal Plant Extracts and Hydrolates against Human Pathogens and Their Potential to Reverse Antibiotic Resistance*. International Journal of Microbiology, 2015, 15 pages
- 34-OSMAN, I; TANTAWAY, A. *Antioxidant activity and protective effects of commercial propolis on gentamicin induced nephrotoxicity in rabbits- in vitro study*. Turk J Biochem; 38(4), 2013, 409-415
- 35-PARMAR, S; VASHRAMBHAI, P; KALIA, K. *Hepatoprotective Activity of Some Plants Extract Against Paracetamol Induced Hepatotoxicity in Rats*. J. Herbal. Med. Toxicol. 4(2), 2010, 101-106.
- 36-POUR, H; NOROUZZADE, R; HEIDARI, M; OGUT, S; YAMAN, H; GOKCE, S. *Therapeutic Properties of Zingiberofficinale Roscoe*. European Journal of Medicinal Plants, 2014, 4(12): 1431-1446
- 37-REHMAN, Z. U. *Evaluation of antioxidant activity of methanolic extract from peanut hulls in fried potato chips*. Plant Foods for Human Nutrition, 58, 2003, 75-83
- 38-REHMAN, Z. *Citrus peel extract – A natural source of antioxidant*. Food Chemistry 99, 2006, 450-454
- 39-SAKR, S.A. *Ameliorative effect of ginger (Zingiberofficinale) on mancozeb fungicide induced liver injury in albino rats*. Australian J. Basic Appl. Sci., 1(14), 2007, 650-656
- 40-SAKR, S; LAMFON, H. *Protective effect of rosemary (Rosmarinus Officinalis) leaves extracts on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in albino rats*. Life science journal, 9(1), 2012, 779-785

- 41-SAMEEH ,A ; ABDEL-TAWAB, H; MOSSA. *Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc*. Pesticide Biochemistry and Physiology 93: 2009, 34–39
- 42-SILVAMOCHAN, T; RAMADAS S. KISHORE ,S. *Antimicrobial activity of selected medicinal plants against some selected human pathogenic bacteria*. Advances in Applied Science Research, 3 (5):, 2012,3374-3381
- 43-SWAYEH, N; ABU-RAGHIF, A; QASIM, B; SAHIB, H. *The Protective Effects of Thymus vulgaris Aqueous Extract against Methotrexate-Induced Hepatic Toxicity in Rabbits*. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res, 29(2) : 2014, 187-193
- 44-TAVAFI ,M ; AHMADVAND, H. *Effect of rosmarinic acid on inhibition of gentamicin induced nephrotoxicity in rats*. Tissue and Cell. 43(6): 2011, 392-397
- 45-VENKATESAN, N; PUNITHAVATHII, D; ARUMUGAN, V. *Curcumin prevents adriamycin nephrotoxicity in rats*. Br J Pharmacol .12: 2000, 231-234
- 46-YAMAMATO, K; FUKUDA, N; SHIROJ, S; SHIOTSUKI, Y; NAGATA, Y; TANI, T; SAKAI, T. *Effect of dietary antioxidants on the susceptibility to hepatic microsomal lipid peroxidation in the rat*. Ann. Nutr. Metab., 39 ; 1995, 99-106
- 47-ZAHEDI ,A; FATHIAZAD, F;KHAKI, A;AHMADNEJED, B.*Protective Effect of Ginger on Gentamicin-induced Apoptosis in Testis Rats*.Advanced Pharmaceutical Bulletin,2(2) ,2012 ,197-200
- 48-ZAHEDI,A; KHAKI,A. *Recovery effect of Zingiberofficinale on testis Tissue after treatment with gentamicin in Rats*. J.Med.Plant Res, 8(6);2014, 288-291.