

دراسة مقارنة لتأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم على انزيمات الكبد لذكور واناث الفئران المعرضة للإجهاد التأكسدي

منيف صعب احمد الجنابي¹، عصمت جمال جميل²، زياد طارق احمد الدوري¹

¹قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة تكريت، تكريت، العراق

²كلية الطب البيطري، جامعة كركوك، كركوك، العراق

الملخص

اجريت الدراسة الحالية لمقارنة التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات كف مريم بجرعته الاعتيادية الفعالة (50 ملغم/كغم / وزن الجسم) والمضاعفة (100 ملغم/كغم / وزن الجسم) على انزيمات الكبد بين ذكور واناث الفئران البيض المعرضة للكرب التأكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) في ماء الشرب ولمدة 30 يوماً، حيث قسمت الحيوانات الى 10 مجاميع وهي: مجموعة السيطرة، ومجموعة البيروكسيد، ومجموعة الجرعة الفعالة من المستخلص المائي لنبات كف مريم، ومجموعة الجرعة الفعالة من المستخلص المائي و بيروكسيد الهيدروجين، ومجموعة الجرعة الفعالة من المستخلص المائي وبيروكسيد الهيدروجين و فيتامين E، ومجموعة الجرعة الفعالة من المستخلص المائي و فيتامين E، ومجموعة الجرعة المضاعفة من المستخلص المائي لنبات كف مريم، ومجموعة الجرعة المضاعفة من المستخلص المائي و بيروكسيد الهيدروجين، ومجموعة الجرعة المضاعفة من المستخلص المائي وبيروكسيد الهيدروجين و فيتامين E، ومجموعة بيروكسيد الهيدروجين و فيتامين E .

اوضحت النتائج ان بيروكسيد الهيدروجين ادى الى ارتفاع معنوي ($p < 0.01$) في مستوى انزيم ناقل أمين الالانين (ALT) وانزيم ناقل امين الاسبارتيت (AST) وانزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة ولم يلحظ أي فرق معنوي في تأثير بيروكسيد الهيدروجين بين ذكور واناث الفئران البيض، وأدت المعاملة بالجرع من المستخلص المائي لنبات كف مريم (50 و100 ملغم/كغم من وزن الجسم) مع H_2O_2 الى انخفاض معنوي في مستوى انزيم ناقل أمين الالانين (ALT) وانزيم ناقل امين الاسبارتيت (AST) وانزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة، وعند المعاملة بفيتامين E مع بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 أدى ذلك الى انخفاض معنوي في مستوى انزيم ناقل أمين الالانين (ALT) وانزيم ناقل امين الاسبارتيت (AST) وانزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة، واستنتج من الدراسة الحالية الدور المهم للمستخلص المائي لنبات كف مريم وفيتامين E كمضاد للأكسدة من خلال دوره المهم في كبح التأثيرات الضارة لبعض انواع الجذور الحرة داخل الجسم وبالتالي إصلاح الضرر الحاصل في عمل انزيمات الكبد لذكور واناث الفئران ازاء تعرضها للإجهاد التأكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2).

المقدمة

يعد الكبد Liver احد اكبر الأعضاء الجوفية في جسم الانسان ويحتل الموقع الرئيسي والاساسي لعمليات الأيض والافراز، وله دور رئيسي في المحافظة على الاستتباب الذاتي في الجسم، ويشترك في جميع المسارات الكيموحيوية للنمو، وتجهيز المواد الغذائية، ومقاومة الامراض، وتوفير الطاقة والمناعة للخلايا، اضافة الى وظيفة الكبد في أيض الكاربوهيدرات والبروتينات والدهون وازالة السموم وافراز الصفراء و تخزين الفيتامينات ووظائف عديدة اخرى، عند تعرض الكبد وبشكل مستمر لأشكال مختلفة من السموم والمواد الكيميائية والاجهاد التأكسدي بسبب تناول العقاقير والكحول والالتهابات، جميع هذه العوامل يمكن ان تؤدي في النهاية الى الاصابة بأمراض الكبد المختلفة مثل التهاب وتليف الكبد Hepatitis and cirrhosis

وأمراض الكبد الكحولية Alcoholic liver diseases [7].

الهدف من الدراسة :

دراسة مقارنة لتأثير الاجهاد التأكسدي على فعالية بعض الانزيمات ذات العلاقة بوظيفة الكبد (ناقل أمين الألانين Alanin Aminotransferase، ناقل أمين الاسبارتيت Aspartate Alkaline و الفوسفاتيز القاعدي Aminotransferase)

اخذ الاهتمام بالنباتات الطبية يزداد تدريجياً في الونة الاخيرة في الدول الصناعية وكذلك في البلدان النامية [1] اذ خمنت منظمة الصحة العالمية (WHO) أن حوالي 80% من سكان البلدان النامية توفر احتياجاتها من الادوية والرعاية الصحية عن طريق الطب البديل، وان حوالي 25% من الادوية التي توصف وتصرف في الولايات المتحدة تحتوي على عناصر نشطة مستمدة من المواد النباتية [1] [2] اذ أخذ العلاج بالنباتات والاعشاب الطبية مكانة كبيرة في علوم الطب المختلفة علماً أن أكثر الادوية والعقاقير الكيميائية هي من أصل نباتي ولكن العلاجات العشبية والمشتقة من النباتات ليس لها تأثيرات جانبية كبيرة أو تكون قليلة قياساً بالعقاقير الكيميائية [3]، صممت هذه الدراسة لمعرفة تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم *Vitex agnus castus* وهو من النباتات المصنفة عالمياً كنبات طبيعي مضاد للأكسدة لأحتوائه على المركبات الفينولية [4] اذ تم استخدامه في علاج كثير من الامراض مثل الحمى Fever والاسهال Diarrhea ولطرذ الغازات Gases والانتفونزا [5]، وكذلك استخدمت أوراق النوع *V.negundo* كمضاد للفطريات ومضاد للبكتريا، وتم استخدام مستخلص الاوراق نفسها كمناعة للتأكسد [6].

المجموعة الخامسة : جرعت بالمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم بتركيز 500 ملغم/ كغم .

وقد تم التجريب فمويا لكل حيوان وبعد ثلاث ساعات اخذت عينات الدم من المجاميع كافة وذلك عن طريق قطع جزء صغير من الذيل واخذ الدم بواسطة الانبوبة الشعرية Capillary tube ومن ثم فصل الدم بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة ولمدة اربع دقائق، وقياس تركيز الكلوكوز والكوليسترول في المصل [10]، وعلى ضوء ذلك تم اختيار الجرعة الفعالة والأكثر تأثيراً من نبات كف مريم وكانت هي تركيز 50 ملغم/ كغم .

الحيوانات المستعملة في الدراسة used in the study animals :-

استخدمت في هذه الدراسة ذكور واناث الفئران البيض والتي تم الحصول عليها من البيت الحيواني لكلية العلوم – جامعة ديالى بعدد (120) فأراً (60) ذكر و(60) انثى بعمر (12-16) اسبوعاً، وتراوحت أوزانها من (45-55) غم ، ومن ثم تمت تربيتها منزلياً، وبعد فحصها بيظرياً للتأكد من سلامتها من الامراض، وضعت في أقفاص بلاستيكية ذات اغطية معدنية، وارضية مفروشة بنشارة الخشب ، وروعي جانب النظافة للأقفاص من حيث تبديل نشارة الخشب مرتين الى ثلاث مرات اسبوعياً وتعقيم الأقفاص بالمطهرات، وقد اجريت التجربة للفترة من الاول من شهر حزيران ولغاية 31 حزيران لسنة 2015 ، وغذيت الحيوانات بالعليقة الخاصة لها والمتكونة من: (35% حنطة، 35% ذرة صفراء، 20% فول الصويا، 10% بروتين حيواني مركز)، مضافاً إليها فيتامينات ومواد حافظة [11]، وأعطيت الماء والغذاء بشكل يومي طوال مدة الدراسة .

تصميم التجربة Design Of Experiment :-

قسمت الحيوانات إلى (10) مجاميع ، كل مجموعة تضم (6) ذكور و(6) اناث وبأوزان متقاربة ، وكما يأتي :

المجموعة الأولى : (مجموعة السيطرة Group Control) أعطيت ماء الشرب الاعتيادي وغذيت يومياً بالعليقة المناسبة لمدة (30) يوم.
المجموعة الثانية : المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) (0.5%) مع ماء الشرب لمدة (30) يوم وعدت مجموعة سيطرة (مصابة) وغذيت يومياً بالعليقة المناسبة لمدة (30) يوم.
المجموعة الثالثة : جرعت الحيوانات بالمستخلص المائي لنبات كف مريم بجرعته الاعتيادية (50 ملغم/ كغم / وزن الجسم) ولمدة (30) يوم مع ماء الشرب الاعتيادي وغذيت يومياً بالعليقة المناسبة لمدة (30) يوم.

المجموعة الرابعة : جرعت الحيوانات بالمستخلص المائي لنبات كف مريم بجرعته الاعتيادية (50 ملغم/ كغم / وزن الجسم + H_2O_2 0.5 % في ماء الشرب ولمدة (30) يوم وغذيت بالعليقة المناسبة يومياً .

المجموعة الخامسة : جرعت الحيوانات بالمستخلص المائي لنبات كف مريم بجرعته الاعتيادية (50 ملغم/ كغم / وزن الجسم + H_2O_2

(phosphates) في ذكور واناث الفئران البيض ، والتحري عن دور المستخلص المائي لنبات كف مريم وفيتامين E في التغيرات الحاصلة في هذه القيم ولفترة 30 يوماً .

المواد وطرائق العمل

نبات كف مريم : الاسم العلمي
التصنيف العلمي [8] :

Kingdom	: Plantae
Class	: Dicotyledonae
Subclass	: Asteridae
Order	: Lamiales
Family	: Verbenaceae
Genus	: Vitex
Species	: <i>Agnus castus</i>

جمع النباتات المستخدم في الدراسة :

تم الحصول على أوراق نبات كف مريم من مشاتل بغداد/ الاعظمية وشخصت في مختبر (كلية العلوم / جامعة بغداد) من قبل المختصين، بعدها عرضت للهواء النقي بعيداً عن اشعة الشمس حتى جفت وتم طحنها وحفظت في علب بلاستيكية شفافة محكمة الغلق في درجة حرارة الغرفة وظروف خالية من الرطوبة إلى حين بدء تحضير المستخلص .

تحضير المستخلص المائي لكف مريم :

تم وزن 50 ملغم / كغم من أوراق نبات كف مريم بعد طحنها ومزجت مع (5) مل من الماء المقطر المغلي وترك المزيج للتقيع لمدة (10) دقائق بعدها تم ترشيح المنقوع بواسطة ورق الترشيح (Filter paper 0.22 مايكرو) لفصل العوالق الكبيرة، بعدها تم تركيز المحلول باستخدام الحمام المائي لمدة (20) دقيقة لأجل تقليص حجم المحلول ، وبذلك تم الحصول على المستخلص المائي الخام ، بعدها حفظ بالتجميد في قناني زجاجية محكمة الغلق لحين استخدامه في الدراسة [9]، واتبعت نفس الطريقة السابقة في تحضير وزن 100 ملغم/كغم من اوراق نبات كف مريم والتي تعد الجرعة الثانية .

تحديد الجرعة الفعالة من المستخلص المائي لنبات كف مريم :

تمثل هذه الخطوة دراسة أولية Pilot Study لتحديد الجرعة الأكثر تأثيراً والأفضل للمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم المخفض لسكر كلوكوز الدم والكوليسترول ، إذ تم تقسيم الحيوانات السليمة بشكل عشوائي إلى (5 مجاميع) تضم كل مجموعة (3 ذكور) و(3 اناث) ، ووزعت كما يأتي :

المجموعة الأولى : جرعت بالمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم بتركيز 50 ملغم/ كغم .

المجموعة الثانية : جرعت بالمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم بتركيز 100 ملغم/ كغم .

المجموعة الثالثة : جرعت بالمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم بتركيز 200 ملغم/ كغم .

المجموعة الرابعة : جرعت بالمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم بتركيز 400 ملغم/ كغم .

Test Tubes خالية من المادة المانعة للتخثر وتركت لمدة ربع ساعة تقريباً بدرجة حرارة الغرفة (25) درجة مئوية ، بعدها وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000/ دورة في الدقيقة لمدة 15 دقيقة وأخذ المصل Serum منها ثم تم جمعه من الفئران، وحفظت بدرجة حرارة (-20) درجة مئوية في انابيب بلاستيكية جديدة ونظيفة ومحكمة الغلق (Plane Tubes) لحين اجراء الفحوصات الانزيمية المطلوبة .

تقدير فعالية أنزيم ناقل أمين الألنن وأنزيم ناقل أمين الأسبارتيت في مصل الدم Determination the activity of Alanin Aminotransferase (ALT) and Aspartate Aminotransferase (AST) in blood serum

تم تقدير تركيز انزيمي ناقل امين الالنين ALT وناقل امين الاسبارتيت AST في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الجاهزة Kit من شركة (Biolabo) الفرنسية [12] .

تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل الدم Determination of Alkaline Phosphatase (ALP) : Activity in blood Serum

تم تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الجاهزة Kit من شركة (BioMerieux) الفرنسية [13] .

النتائج والمناقشة

تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي لنبات كرف مريم :

يوضح الجدول تحديد الجرعة الأكثر تأثيراً للمستخلص المائي لنبات كرف مريم في خفض مستوى الكلوكون والكوليسترول في دم ذكور و أنثى الفئران السليمة، وقد تبين ان الجرعة (50 ملغم/كغم) هي الأكثر تأثيراً في خفض مستوى الكلوكون والكوليسترول في الدم، وقد اعتمدت كجرعة لتقييم تأثير المستخلص النباتي المستخدم قيد الدراسة.

0.5 % في ماء الشرب + فيتامين E بجرعة 100 ملغم/كغم / وزن الجسم لمدة (30) يوم وغذيت بالعليقة المناسبة يومياً .

المجموعة السادسة : جُرعت الحيوانات بالمستخلص المائي لنبات كرف مريم بجرعته الاعتيادية 50 ملغم/كغم / وزن الجسم + فيتامين E 100 ملغم / كغم / وزن الجسم مع ماء الشرب الاعتيادي ولمدة (30) يوم وغذيت بالعليقة المناسبة يومياً .

المجموعة السابعة : جُرعت الحيوانات بالمستخلص المائي لنبات كرف مريم بجرعته المضاعفة 100 ملغم/كغم / وزن الجسم مع ماء الشرب الاعتيادي ولمدة (30) يوم وغذيت بالعليقة المناسبة يومياً .

المجموعة الثامنة : جُرعت الحيوانات بالمستخلص المائي لنبات كرف مريم بجرعته المضاعفة 100 ملغم/كغم / وزن الجسم + H_2O_2 0.5% في ماء الشرب ولمدة (30) يوم وغذيت بالعليقة المناسبة يومياً .

المجموعة التاسعة : جُرعت الحيوانات بالمستخلص المائي لنبات كرف مريم بجرعته المضاعفة 100 ملغم/كغم / وزن الجسم + H_2O_2 0.5 % في ماء الشرب + فيتامين E بجرعة 100 ملغم/كغم / وزن ولمدة (30) يوم وغذيت بالعليقة المناسبة يومياً .

المجموعة العاشرة : جُرعت الحيوانات بفيتامين E بجرعة 100 ملغم/كغم / وزن الجسم + H_2O_2 بتركيز 0.5% في ماء الشرب ولمدة (30) يوم وغذيت بالعليقة المناسبة يومياً .

الحصول على العينات الدموية Collection of Blood Samples :

بعد نهاية فترة التجربة جوعت الحيوانات لمدة 12 ساعة ثم خدرت وذلك بوضع الفئران داخل وعاء زجاجي ذو غطاء محكم حاوي على قطن مشبع بمادة الكلوروفورم لبضعة ثواني، ثم شرحت وأخذت عينات الدم مباشرة من القلب بواسطة الطعنة القلبية ووضع في انابيب اختبار

جدول تحديد الجرعة الفعالة على خفض مستوى السكر والكوليسترول في دم ذكور واناث الفئران

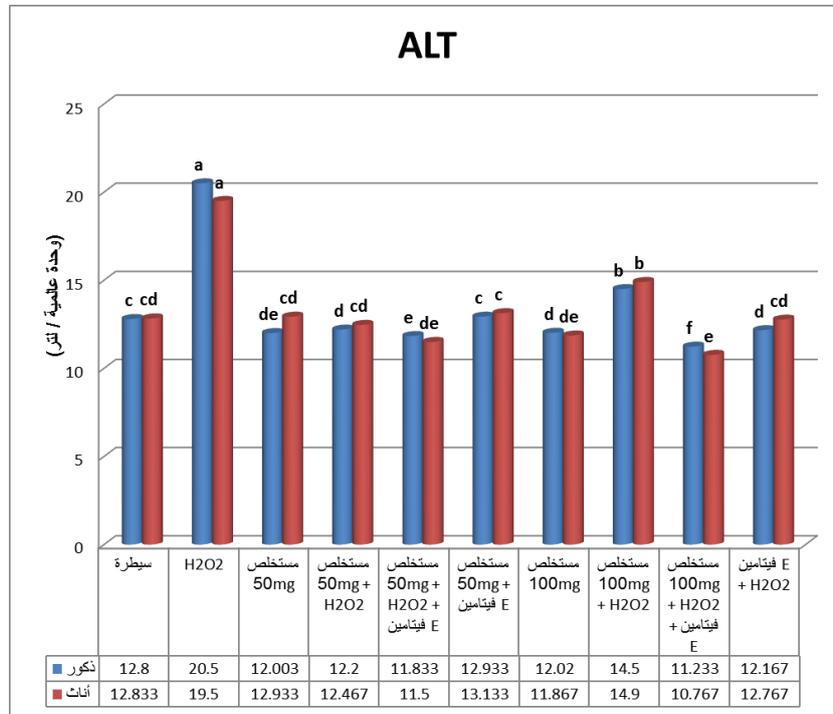
تراكمات المستخلص المائي لنبات كرف مريم ملغم/كغم / وزن الجسم					المعاملات
500	400	200	100	50	
177.33 ±16.5	146.67 ±4.04	165.67 ±10.02	163.33 ±5.69	135.0 ±3.61	تركيز الكلوكون للذكور ملغم/100 مل
172.67 ±3.51	138.67 ±4.04	151.67 ±4.04	139.67 ±4.04	122.67 ±4.04	تركيز الكلوكون للإناث ملغم/100 مل
138.33 ±12.34	83.00 ±5.57	101.33 ±6.51	88.3 ±5.69	71.00 ±4.0	تركيز الكوليسترول للذكور ملغم/100 مل
152.00 ±10.54	91.67 ±4.51	102.00 ±11.97	85.00 ±6.56	71.00 ±5.00	تركيز الكوليسترول للإناث ملغم/100 مل

اظهرت نتائج الدراسة والمبينة في الشكلين (1) و(2) ارتفاعاً عالي المعنوية عند مستوى ($P \leq 0.01$) في تركيز أنزيم ناقل أمين الألنن (ALT) وانزيم ناقل أمين الأسبارتيت (AST) في مصل دم ذكور واناث الفئران البيض لمجموعة السيطرة المصابة (المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين H_2O_2) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة ، وجاءت هذه النتائج متفقة مع النتائج التي حصل عليها كل من [14] و [15]

تأثير المعاملات المختلفة في تراكمات أنزيم ناقل أمين الألنن (ALT) Alanine aminotranseferase و انزيم ناقل أمين الأسبارتيت (AST) Aspartate aminotranseferase في مصل دم ذكور واناث الفئران البيض السليمة والمصابة بالإجهاد التأكسدي لفترة 30 يوما :

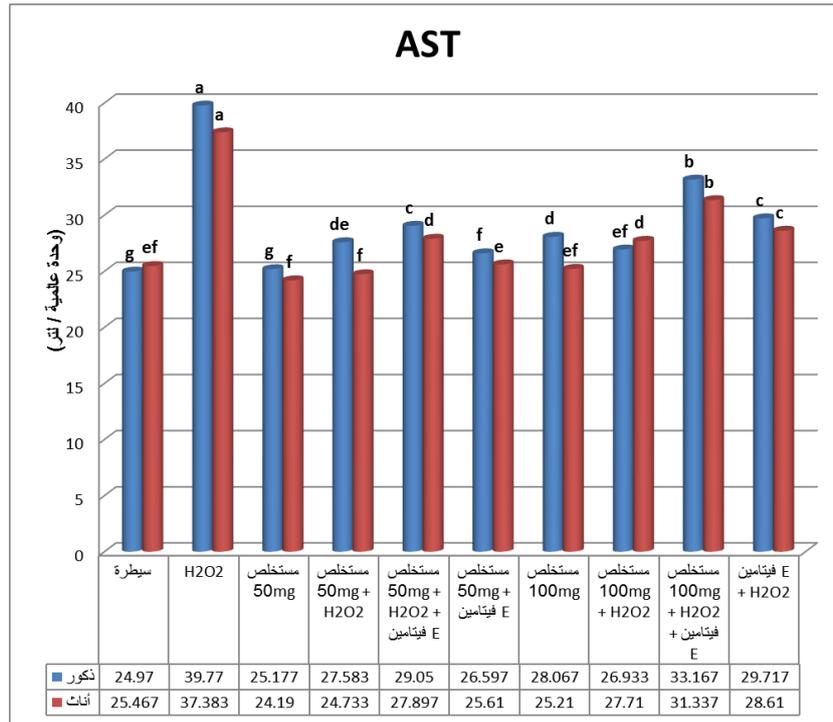
نقص في كفاءة النظام المضاد للأوكسدة خلال الضرر الكبدي [19]. بينما في المجموعات المعاملة بالمستخلص المائي لنبات كف مريم بالجرعتين (50 و 100 ملغم/كغم) وبيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 اظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي في تركيز انزيم ALT بالمقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة (مجموعة H_2O_2) ويعتقد ان سبب هذا الانخفاض هي المركبات الفعالة الموجودة في المستخلص المائي لهذا النبات والتي كان لها الدور في التخلص من الجذور الحرة [20]. كما تبين ان عملية التجريع بفيتامين E مع بيروكسيد الهيدروجين كان فعالا في حدوث انخفاض معنوي في تركيز انزيم ALT بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين وللفترة نفسها، ويعزى سبب ذلك الى فعالية هذا الفيتامين في كونه مضادا للتأكسد والذي قام بتقليل الاجهاد التأكسدي الناتج عن زيادة تكوين الجذور الحرة في خلايا الكبد وبالتالي حماية الخلايا الكبدية من الاذى التأكسدي وفي نفس الوقت يحسن وظيفة الكبد [21].

و[16] و[17] في دراستهم على الجرذان المعاملة مع بيروكسيد الهيدروجين، اذ تعد AST و ALT من أهم الأنزيمات في العمليات البايولوجية في جسم الكائن الحي اذ توجد بنسبة عالية في الكبد، وتدل الزيادة في تراكيزها خارج هذا العضو وخاصة في مصل الدم على حدوث ضرر نسجي ينتج عنه تسرب هذه الأنزيمات في الدورة الدموية [18]، وأشارت الدراسات إلى أن المواد المؤكسدة ومنها بيروكسيد الهيدروجين تسبب ارتفاع في فعالية أنزيمات الكبد مصحوبة بزيادة في بيروكسيد الدهون مع انخفاض في مستويات الأنزيمات المضادة للأوكسدة، ويعزى سبب زيادة النشاط إلى الخلل الوظيفي الكبدي نتيجة لتأثير الجذور الحرة، أذ تحدث اضطرابات في التركيب الوظيفي لهذه الأنزيمات مع تغير في نفاذية اغشية خلايا الكبد، حيث يكون الارتفاع في مستوى هذه الأنزيمات مصحوب دائما بأضرار نسجية وأن حدوث هذا الضرر الخلوي يشير إلى وجود علاقة بالتسرب الأنزيمي في الخلايا الكبدية مما يؤدي إلى نفاذية أنزيمات الدورة الدموية كما لوحظ



شكل (1): تأثير المعاملة لمدة (30 يوماً) بالمستخلص المائي لنبات كف مريم (50 ملغم و 100 ملغم/كغم / وزن الجسم) وفيتامين E (100ملغم/كغم / وزن الجسم) في تركيز انزيم ناقل امين الالنين (ALT) في ذكور وإناث الفئران المعرضة لإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب لمدة 30 يوماً

- القيم تمثل المعدل \pm الانحراف القياسي .
- عدد الحيوانات 6 ذكور و 6 إناث لكل مجموعة .
- الحروف الصغيرة المختلفة تشير الى وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.01$) ضمن الفترة 30 يوماً .



شكل (2): تأثير المعاملة لمدة (30 يوماً) بالمستخلص المائي لنبات كف مريم (50ملغم و 100 ملغم/كغم / وزن الجسم) وفيتامين E (100ملغم/كغم / وزن الجسم) في تركيز انزيم ناقل امين الاسبارتيت (AST) في ذكور وإناث الفئران البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب لمدة 30 يوماً

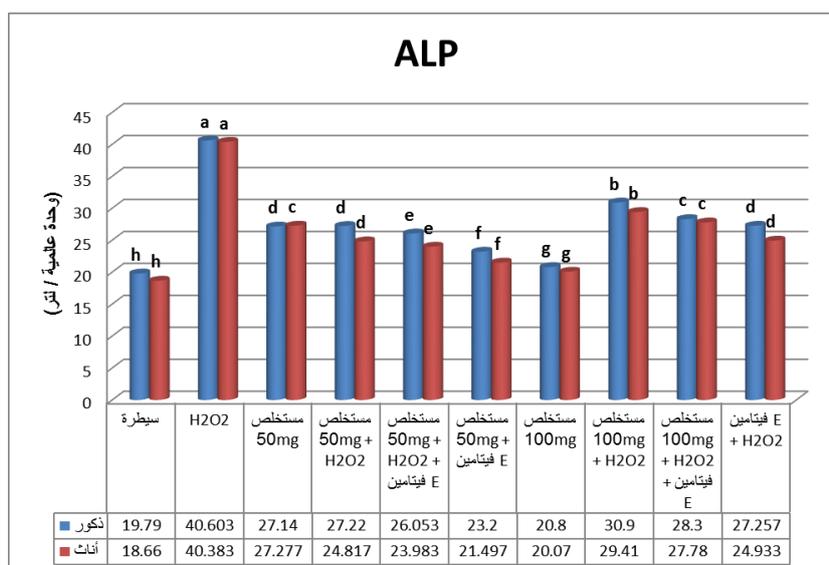
- القيم تمثل المعدل \pm الانحراف القياسي .
- عدد الحيوانات 6 ذكور و 6 إناث لكل مجموعة .
- الحروف الصغيرة المختلفة تشير الى وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.01$) ضمن الفترة 30 يوماً .

تأثير المعاملات المختلفة في فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) في مصل دم ذكور وإناث الفئران البيض السليمة والمصابة بالإجهاد التأكسدي لفترة 30 يوماً :

تبين النتائج في الشكل (3) وجود ارتفاع عالي المعنوية عند مستوى ($P \leq 0.01$) في فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP في مصل دم ذكور وإناث الفئران البيض لمجموعة السيطرة المصابة (المعاملة بيروكسيد الهيدروجين) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة ، واتفقت هذه النتائج مع نتائج [15] و [22] في ذكور الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي بيروكسيد الهيدروجين ، وقد يعود سبب هذا الارتفاع الى الاجهاد التأكسدي الذي عمل على احداث تغييرات ضارة في تركيب و وظيفة الخلايا الكبدية من خلال زيادة نفاذية اغشية هذه الخلايا مما يعطل نقل المتأيضات ، وأن اي تلف او ضرر في اغشية الخلايا الكبدية ينتج عنه تحرر هذا الانزيم الى مجرى الدم حيث يرتبط هذا الانزيم اساسا بالغشاء البلازمي لخلايا الكبد [23].

اما بالنسبة لمجاميع الحيوانات المعاملة بالمستخلص المائي لنبات كف مريم بالجرعتين (50ملغم و 100ملغم) وبيروكسيد الهيدروجين فقد اظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً ملحوظاً في فعالية انزيم ALP بالمقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة (مجموعة H_2O_2) وقد يعزى سبب ذلك الى المركبات الفعالة الموجودة في المستخلص المائي مثل الفينولات والفلافونيدات والكاروتينات والتي تعمل كمضادات اكسدة تكافح الجذور الحرة وتكبح تأثيرها السليبي [24] و [25].

كما لوحظ ايضا انخفاضاً معنوياً في مجموعة الحيوانات المعاملة بفيتامين E مع بيروكسيد الهيدروجين عند المقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة (مجموعة H_2O_2) وللفترة نفسها ويمكن تفسير ذلك بالتأثير الايجابي لفيتامين E المضاد للتأكسد على الخلية الكبدية ضد الفعل المدمر للجذور الحرة التي ينتجها بيروكسيد الهيدروجين ، فقد كان له دوراً واضحاً في خفض تركيز هذا الانزيم.



شكل (3): تأثير المعاملة لمدة (30 يوماً) بالمستخلص المائي لنبات كرف مريم (50 ملغم و 100 ملغم/كغم / وزن الجسم) وفيتامين E (100ملغم/كغم / وزن الجسم) في فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) في ذكور وإناث الفئران المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب لمدة 30 يوماً

- القيم تمثل المعدل \pm الانحراف القياسي .
- عدد الحيوانات 3 ذكور و 3 إناث لكل مجموعة .
- الحروف الصغيرة المختلفة تشير الى وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$) ضمن الفترة 30 يوماً .

المصادر

1. Abere, T. A., Okoto, P. E., Agoreyo, F. O. (2010). Antidiarrhoea and toxicological evaluation of the leaf extract of *Dissotis rotundifolia* Triana (Melastomataceae). *BMC Complement Altern. Med*; 10: 71.
2. Jadeja, R. N., Thounaojam, M. C., Ansarullah, Jadav, S. V., Patel, M. D., Patel, D. K., Salunke, S. P., Padate, G. S., Devkar, R. V., Ramachandran, A.V. (2011). Toxicological evaluation and hepatoprotective potential of *Clerodendron glandulosum*. Coleb leaf extract. *Hum. Exp. Toxicol*; 30(1): 63-70 .
3. Hemalatha, M., Arirudran, B., Thenmozhi, A. and Mahadeva Rao; (2011). U.S Antimicrobial Effect of Separate Extract of Acetone, Ethyl Acetate, Methanol and Aqueous from Leaf of Milkweed (*Calotropis gigantea* L. *Asian J. Pharm. Res.*; 1. (4) 102-107 .
4. Ibrahim .N.A, Shalaby. A.S, Farag. R.S, Elbaroty. G.S, Nofal. S and Hassan. E.M.(2007). Phytochemical Investigation and Hormonal Activity of *Vitex agnus-castus* Fruits growing in Egypt. Faculty of Agric., Cairo Univ., Egypt.
5. Okuyama E Fujmori S Yamazaki M and Deyama T.(1998). Pharmacologically active components of *Vitex Fructus* (*Vitex rotundifolia*) II. The components having analgesic effects. *Chem. Pharm. Bull*
6. Singh V Dayal R and Bartley JP. (1999). Volatile constituents of *Vitex negundo* leaves. *Plant. Med.*; 65:580.
7. Lee, C.P.P.; Shih, H.; Hsu, C.L.; Yen, G.C.(2007). Hepatoprotection of tea seed oil (*Camellia oleifera* Abel.) Against CC14-induced oxidative damage in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 6, 888-895 .
8. Watson, L. and M. J. Dallwitz (1992). The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identifications and information retrieval. U.S.A.
9. السعدون، محمد بحري حسن عيد (2005). عزل عدد من المركبات من بذور نبات الكرفس *Apium graveolens* ودراسة تأثيرها في الفئران المعرضة للكرب التأكسدي. أطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة الموصل.
10. الأمري، أحمد كمال محمد. (2003). تأثير بعض المستخلصات النباتية على مستوى سكر الدم في ذكور الجرذان السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة تكريت - قسم علوم الحياة.
11. Balucci-Roslindo, E.; Sliviro, K.; Gorge, M. and Ganazaga, H.(2001). Effect of isotretinoin on tooth germ of palate development I mouse embryos. *Braz. Dent.J.* 12(2):115-119 .
12. Tietz, N. W. (1999). Textbook of clinical chemistry. 3rd ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders. pp: 819 - 861, 1245-1250.
13. Belfield, A. and Goldberg, D.M. (1971). Revised assay for serum phenyl phosphatase activity using 4- amino-antipyrine . *Enzyme* . 12 :561-573.

14. عائشة، لطرش (2011). دراسة الدور الوقائي لكل من الفيتامين E وبعض المستخلصات النباتية أتحاه سمية المبيد كلوروبيريغوس، رسالة ماجستير، كلية علوم الطبيعة والحياة، قسم بيولوجيا الحيوان _ جامعة فنتوري _ قسنطينة.

15. الدوري، بشرى اسماعيل ابراهيم (2012). تأثير المستخلص المائي لحشيشة الليمون في بعض المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية للدم والكبد المستحدثة ببيروكسيد الهيدروجين في ذكور الجرذان. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة تكريت .

16. Fusheng, Miao ;Wengian, Ya; Yaoguang, wang; Meijuan, wang; xian gyan, Li. (2010). Effect of corn peptides on exercise tolerance, free radical metabolism in liver and serum glutamic-pyruvic transaminase avitivity of mice .African J. of pharmacy and pharmacology, 4(4),pp: 178-183 .

17. Suna ,K.; Fatma, G .U.; Dilek, D.; Filiz ,D. and Yusuf ,K. (2010). Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. Food and Chemical Toxicology (48); 633–638 .

18. Ismail, C. and Huseyin, S.(2008). The hematological effects of methyl parathion in rats. Hazardous Materials 153, 1117-1121.

19. Sameeh ,A. M. and Abdel-Tawab, H. M. (2009). Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. Pesticide Biochemistry and Physiology 93: 34–39 .

20. Zargar, Z. Bilal; mubashir; Ahmed Bahar and Ganie, A. Showkat (2011). Phytoconstituents and therapeutic uses of Rheum emodi wall. Ex meissn. Food chemistry, 128(3)P:585-589 .

21. Luis,A., Carlos,F., Salvador,M., Oscar,O., Carlos,G., and Joel, H. (2009). Incidencia de patologías uterinas y fertilidad de vacas Holstein tratadas con selenio y vitamina E antes y después del parto. J.Vet.Méx; 40(2): 133-140.

22. الخطيب ، سؤدد أسامة ضياء الدين (2013). تأثير المستخلصات المائية للزعفران والزنجيل في التغيرات الفسلجية والنسجية والكيموحيوية المستحدثة ببيروكسيد الهيدروجين في ذكور الجرذان البيض ، أطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة تكريت .

23. Lee, D.; Lim, B.-S.; Lee, Y.K.; and Yang, H.-C.(2006). Effects of hydrogen peroxide (H₂O₂) on alkaline phosphatase activity and matrix mineralization of odontoblast and osteoblast cell lines. Cell Biology and Toxicology. 22, (1): 39-46(8) .

24. Yeh, Y.H., Hsieh, Y.L., Lee, Y.T., Hu, C.C., (2012). Protective effects of Geloina eros extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. Food Res.Int. 48, 551-55.

25. Desai, S.N., Patel, D.K., Devkar, R.V., Patel, P.V., Ramachandran, A.V., (2012). Hepatoprotective potential of polyphenol rich extract of *Murraya koenigii* L.:an in vivo study. Food chem. Toxicol. 50,310-314.

A Comparative Study of the effect of aqueous extract of *Vitex agnus-castus* plant on male and female's liver's enzymes of mice exposed to oxidative stress

Muneef Saab- Ahmed Al-Janabi¹ , Usmat Jamal Jamel² , Zeyad Tariq Ahmed Al-Duri¹

¹ Dept of Biology, College of Education for Pure Science, Tikrit University , Tikrit , Iraq

² College of Veterinary Medicine , University of Kirkuk , Kirkuk , Iraq

Abstract

This study was conducted to determine the Protective effect of aqueous extracts of *Vitex agnus castus* plant both doses, Normal active does(50mg/kg) and double (100mg/kg) in the liver enzymes and compared the deferent effect of it between the male and female's of Mice, that exposed to oxidative stress induced by hydrogen peroxide (0.5%) with drinking water for (30) days, there were distributed into 10 groups which are (control group, H₂O₂ group, active dose of aqueous extracts of *Vitex* group, active dose of aqueous extracts of *Vitex* + H₂O₂, active dose of aqueous extracts of *Vitex* + H₂O₂ + vitamin E, active dose of aqueous extracts of *Vitex*+ vitamin E, double dose of aqueous extracts of *Vitex*, double dose of aqueous extracts of *Vitex*+H₂O₂, double dose of aqueous extracts of *Vitex*+H₂O₂+vitamin E, vitamin E + H₂O₂ .

The results showed that hydrogen peroxide led to a significant increase (p<0.01) in ALT, AST and ALP levels, compared with the control group, and no significant effect were showed in the hydrogen peroxide between both male and female's, The treating with aqueous extracts of the *Vitex* plant (50 &100 mg/kg) with H₂O₂ led to a significant decrease in ALT, AST and ALP levels in compare with infected control group , The treatment with Vitamin E and H₂O₂ led to a significant decrease in ALT, AST and ALP levels in compare with infected control group , It was concluded from the current study, the important role of aqueous extracts of the *Vitex* and vitamin E as an antioxidant through its important role in curbing the harmful effects of certain types of free radicals within the body and thus repair the damage done in changes of the mices liver enzyme over exposure to oxidative stress induced by hydrogen peroxide (H₂O₂) .