



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم : بيولوجيا الحيوان      Département : Biologie Animale.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر

الشعبة: علوم البيولوجيا

تخصص: علم التسمم

تحت عنوان:

دراسة السمية الكلوية للإيثانول: الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي  
(n- butanolique) لنبات طبي جزائري

بتاريخ: 2019/09/04

مقدم من طرف : العايب خديجة

بداوي شيماء

قوت ريمة

أعضاء اللجنة:

رئيسة : زعمة جميلة

مشرف : بوالجاج رضوان

ممتحنة : دالي شاوش سهيلة

ممتحنة : لطرش عائشة

أستاذة: جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1

أستاذ مساعد " أ": جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1

أستاذة محاضرة " ب": جامعة صالح بوبنيدر قسنطينة 3

أستاذة محاضرة " ب": جامعة صالح بوبنيدر قسنطينة 3

السنة الدراسية

2019/2018



## شكر و عرفان

الحمد لله الذي علم بالقلم، علم الإنسان ما لم يعلم، والصلاة والسلام على معلم البشر، وعلى آله وصحبه أجمعين.

أولا وقبل كل شيء نتقدم بأسمى عبارات الشكر والإمتنان و التقدير إلى من تعجز ألسنتنا عن إيجاد العبارات المناسبة لشكره، إلى من سدّد خطانا و أثار طريقنا، إلى من وهبنا الحياة، إلى من منحنا الصحة والقوة والصبر والدعم و القدرة على انجاز هذا العمل المتواضع. إلى ربنا، رب العزة جل جلاله.

نتوجه بخالص تشكراتنا إلى الأستاذ الفاضل **بوالجاج رضوان** على إشرافه، توجيهاته السديدة، نصائحه وسعة صدره خلال مراحل انجاز هذا العمل.

كما نتوجه بجزيل الشكر إلى الأستاذة الغالية **زعمة جميلة** التي كان لها الفضل في توفير كل الإمكانيات التي نحتاجها في بحثنا هذا.

كما نتقدم بالشكر الجزيل إلى أعضاء اللجنة المناقشة:

الأستاذة **زعمة جميلة** بروفيسورة بجامعة قسنطينة 1 التي نفتخر بترأسها للجنة المناقشة وإثراء المذكرة بنصائحها القيمة والهادفة و الشاملة.

وكامل احتراماتنا و تشكراتنا إلى الأستاذة الكرام **دالي شاوش، لطرش عائشة** على قبولهم مناقشة هذه المذكرة، وتشريفنا في لجنة المناقشة وإثراء هذا العمل بوجودهم وتوجيهاتهم ونصائحهم القيمة.

أيضا نتوجه بالشكر الخاص إلى الأستاذ **بحري** الذي لم يبخل علينا بجهده و نصائحه ومساعداته.

كما لا يفوتنا أن نتقدم بخالص شكرنا إلى أساتذتنا الكرام الذين أشرفوا على تكويننا خلال مشوارنا الدراسي طوال الخمس سنوات، دون أن ننسى زملائنا و زميلاتنا في الدراسة.

## إهداء

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على خاتم الأنبياء والمرسلين.  
أولا وقبل كل شيء أشكر الله القدير وأحمده حمدا كثيرا كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم  
سلطانه الذي وفقني لإنجاز هذا العمل المتواضع.

أهدي ثمرة جهدي إلى التي قال في حقها صلوات الله عليه وسلامه أمك ثم أمك ثم أمك،  
إلى نبع الحنان، إلى التي تشقى لتسعدني وتتعب لتريحني إلى من تسهر لنومي، إلى التي لا  
تعرف الملل ولا الضجر إلى من كانت سندي طوال مشواري الدراسي إلى من كانت  
أملي، إلى الشمعة التي أنارت طريقي إلى حبيبة قلبي أمي الغالية.

إلى من كان سندي و مرشدي وألبسني ثوب الإرادة والتحدي أبي الغالي.  
إلى من قدموا لي كل أنواع الدعم إخوتي "محمد" "عبد السلام" "سفيان" و "زين الدين" و  
أخواتي "سهير"، "أمينة" و "لجين".

إلى أحبائ قلبي الصغار "توبة"، "أنيس" و "تيماء".  
كما لا يفوتني أن أخصّ إهدائي بذكر الجدة الغالية التي أعاننتني بالدعاء أطال الله عمرها.  
إلى زميلاتي اللاتي لم يقصرن ولم يتهاون في اثناء عملنا المتواضع: "شيماء"  
و"ريمّة".

و إلى أعز صديقاتي شيماء، إكرام، كوثر، أنوار، رميساء، بثينة و دنيا.  
إلى من تتلمذت على أياديهم، وإلى من أمدوني بنصائحهم وتوجيهاتهم، وإلى كل زملائي و  
زميلاتي طلبة ماستر 2019، إلى كل من ساعدني من قريب أو من بعيد.  
أهدي لكم عملي المتواضع و ثمرة مشواري الجامعي.

خديجة

## إهداء

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على خاتم الأنبياء والمرسلين.

أولا وقبل كل شيء أشكر الله القدير وأحمده حمدا كثيرا كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه الذي وفقني لإنجاز هذا العمل المتواضع.

أهدي هذا العمل إلى اللذين أخذوا بيدي ووفرا لي سبيل التعلم وكانا لي الحنان و الدعم الكبير في حياتي، إلى من عمل بكدي في سبيل نجاحي وسعادتي، إلى من أفتخر بأبوته وحمل اسمه أبي "محمد منصف" رحمه الله، إلى من ربيتني على الشرف والفضيلة وأعاننتني بالدعوات وسهر الليالي، إلى أعلى إنسان في الوجود أُمِّي الغالية "مريم".

إلى أعلى الناس على قلبي إلى اخوتي " فارس" و " زهير" و أخواتي " إيناس"، "بسمة" و"صفية" و إلى صغار العائلة " ميار هبة الرحمان" و "رزان خديجة".

إلى أفراد عائلة "بداوي" و "دلهامي" وخاصة جدتي " الزهراء" التي أعاننتني بالدعاء المستمر.

إلى زميلاتي اللاتي لم يقصرن ولم يتهاون في إثراء عملنا المتواضع: " خديجة" و" ريمة".

و إلى أعز صديقاتي "خديجة"، "يسرى"، "دنيا"، "الهام" و"رندة".

إلى من تتلمذت على أيديهم، و إلى من أمدوني بنصائحهم وتوجيهاتهم وإلى كل زملائي و

زملائي الكرام طلبة ماستر 2019.

إلى كل هؤلاء أهدي ثمرة هذا الجهد المتواضع.

شيماء

## إهداء

إلى روح أمي العزيزة الغالية.

إلى أعز الناس وأقربهم إلى قلبي إلى أبي وزوجته اللذان كانا سنداً وعوناً لي، وكان لدعائهما المبارك أعظم الأثر في تسيير سفينة البحث حتى ترسو في أبيه حلة.

إلى أخواتي الحبيبات: إناس وهدية.

إلى زوج أختي: جزيري حمزة.

إلى أبناء أخواتي: ملاك، هزار، لينا، دينا و يانيس.

إلى أقاربي قوت كريمة ونصيرة وأبناء العم أيمن، صفوان، مولود، شراف الدين، زكريا صلاح الدين، ويحيى وعائلة بن جامع.

إلى زميلاتي اللاتي لم يقصرن ولم يتهاون في إثراء عملنا المتواضع: خديجة وشيماء.

إلى أصدقائي أحبتي: سارة، جواهر، روفيدة، إيناس، كوثر، إكرام، مهدي وأمير.

إلى كل من كان سنداً لي ونصحتني بالإجتهد وقدم لي المساندة المعنوية: قمره ومحمد.

إلى أساتذتي وأهل الفضل عليّ الذين غمروني بالحب والتقدير والنصيحة والتوجيه والإرشاد.

إلى كل هؤلاء أهدي هذا العمل المتواضع، سائلاً الله العليّ التقدير أن ينفعنا به ويمدنا

بتوفيقه وأن ينير دربنا في سبيل العلم والخير.

ريمة



# دراسة السمية الكلوية للإيثانول: الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي (n- butanolique) لنبات طبي جزائري

## الملخص

الهدف من دراستنا هو تقييم نشاط مضادات الأكسدة والدور الوقائي الكلوي للمستخلص البيتانولي لنبات طبي جزائري ضد السمية المستحدثة بواسطة الإيثانول في ذكور الجرذان من نوع Albinos Wistar. في بداية هذه الدراسة تم الإعتماد على نبتتين طبييتين موجودتين في منطقة بوسعادة هما (أ) و (ب)، هذا بغرض إظهار و تقييم التأثير المضاد للأكسدة للمستخلص البيتانولي الخاص بكل نبتة وذلك عن طريق الدراسة المخبرية *In vitro* والتي أظهرت غنى النبتتين بالمركبات الفينولية، حيث كان معدل هذه الأخيرة مرتفعا بشكل ملحوظ في النبتة (ب) (208,55 ± 5, 249 mg EAG/1 g EXS) مقارنة بالنبتة (أ) (69,35 ± 4, 384 mg EAG/ 1g EXS)، كما سمحت المزيد من التحاليل التي قمنا بها بتسليط الضوء على القدرة المضادة للأكسدة و المضادة للجزور الحرة للمستخلص البيتانولي للنبتتين باستخدام الطرق التالية الـ DPPH، موليبادات الفوسفات و FRAP. وبالتالي سمحت نتائج هذه الدراسة بالتأكد من أنّ المستخلص البيتانولي للنبتة (ب) له خصائص مضادة للأكسدة جيدة جداً مقارنة بالمستخلص البيتانولي للنبتة (أ). من جهة أخرى واستنادا على نتائج تجربتنا *in vitro*، هدّفنا أيضا لإثبات الدور الوقائي للنبتة (ب) على السمية الكلوية المحدثّة بواسطة جرعة تقدر بـ 3 غ/كغ من الإيثانول بعد معاملة جرذان ذكور من نوع Albinos Wistar من خلال الدراسة *in vivo*. حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بوضوح أنّ المعاملة اليومية بالإيثانول لمدة 15 يوم تسببت في إحداث سمية كلوية تميزت بزيادة كبيرة في مؤشرات الوظائف الكلوية بالدم ( الكرياتين، اليوريا و حمض اليوريك و كذا إرتفاع تركيز شوارد K<sup>+</sup>). كما لاحظنا من خلال النتائج التي تحصلنا عليها خلا في القدرة على إزالة السموم الذي يظهر من خلال إرتفاع مستوى الـ MDA وانخفاض في قدرة نظام الدفاع المضاد للأكسدة الإنزيمي على مستوى كلى الجرذان المعاملة بالإيثانول مقارنة بمجموعة الجرذان الشاهدة السليمة. إعطاء المستخلص البيتانولي بتركيزين مختلفين 100 ملغ/كغ و 200 ملغ/كغ بالتزامن مع الإيثانول لمدة 15 يوم. أظهر تحسين و تعديل مستويات مؤشرات الوظائف الكلوية بالدم وانخفاض مستوى الـ MDA في المجنس الكلوي، كما ساعد المستخلص البيتانولي على استعادة انزيمات النظام المضاد للأكسدة CAT، SOD، GST و GPx لنشاطها في سيتوزول الكلية. في الأخير، تشير هذه الدراسة إلى أن المستخلص البيتانولي للنبتة (ب) له تأثير مفيد على السمية الكلوية التي يسببها الإيثانول والإجهاد التأكسدي عن طريق تنشيط الإنزيمات المضادة للأكسدة و تقليل الأكسدة الفوقية للدهون على مستوى الكلى.

**الكلمات المفتاحية:** الإيثانول، السمية الكلوية، النباتات الطبية، الإجهاد التأكسدي، الجزور الحرة.



## **Etude de la Néphrotoxicité induite par L'éthanol : Effet préventif d'un extrait n-butanolique d'une plante médicinale Algérienne**

### **Résumé:**

Le but de notre étude est d'évaluer l'activité anti-oxydante ainsi que l'effet réno-protecteur de l'extrait n-butanolique d'une plante médicinale algérienne contre la toxicité induite par l'éthanol chez des rats males de souches Wistar albinos. Au début de cette étude, on a utilisé 2 plantes médicinales A et B de la région de Bousaada, et cela pour montrer et évaluer *in vitro* l'effet anti-oxydant de l'extrait n-butanolique de chaque plante, le résultat on montré que les 2 plantes étaient riches en polyphénol avec une teneur remarquablement élevée dans la plante B ( $208,55 \pm 5,249$  mg EAG/ 1g EXS ) par rapport à la plante A ( $69,35 \pm 4,384$  mg EAG/ 1g EXS ). Les analyses complémentaires ont permis de mettre en évidence les capacités antioxydantes et anti-radicalaires de ces deux extraits selon les méthodes : DPPH, Phospho molybdate et le FRAP. Les résultats de ces travaux nous ont permis d'affirmer que l'extrait n-butanolique de la plante B a en effet des propriétés anti-oxydantes plus importantes que l'extrait butanolique de la plante A. D'autre part et en se basant sur les résultats *in vitro*, on a voulu prouver, *in vivo*, le rôle protecteur de la plante B vis à vis de la toxicité rénale induite par l'éthanol à raison de 3g/ kg sur des rats males de souche wistar albinos. Les résultats obtenus ont confirmé que les doses journalières de l'éthanol a provoqué une toxicité rénale, après 15 jours de traitement, caractérisée par une élévation des marqueurs de la fonction rénale dans le sang (Creatinine, uree, acide urique et des ions K<sup>+</sup>). Les résultats obtenus mettent en évidence une perturbation du potentiel détoxifiant exprimé par l'élévation du taux de MDA, et un défaut du pouvoir anti-oxydant renal. Par ailleurs, la supplémentation de l'extrait n-butanolique de la plante pendant 15 jours à une dose journalière de 100 et 200 mg /kg. après une heure, la dose d'éthanol est fournie, a provoqué une amélioration des marqueurs rénaux dans le sang, une diminution la concentration rénale en MDA et une augmentation de l'activité anti-oxydantes des enzymes CAT, SOD, GST, GPx au niveau des reins. En conclusion, la présente étude suggère que l'extrait n-butanolique de la plante B a un effet bénéfique sur la néphrotoxicité induite par l'éthanol et du stress oxydant, en activant les enzymes antioxydantes et en diminuant la peroxydation lipidique au niveau rénale.

**Les mots clés:** *Ethanol, Toxicité rénale, Plantes médicinales, Stress oxydatif, Les radicaux libres.*

## **Study of ethanol-induced Nephrotoxicity: Preventive effect of an n-butanolic extract of an Algerian medicinal plant**

### **Abstract:**

The aim of our study was to evaluate the antioxidant activity and renal protective role of the butanol extract of Algerian medicinal plant against ethanol-induced toxicity in male Albinos Wistar rats. This is to show and evaluate the antioxidant effect of each plant's betanoly extract on oxidative stress, *in vitro* study, which showed the richness of the two plants with phenolic compounds, where the rate of the latter was significantly higher in plant B  $208,55 \pm 5, 249$  mg. EAG / 1 g EXS) compared to plant A ( $69.35 \pm 4, 384$  mg EAG / 1g EXS), and further analyzes have allowed us to highlight the antioxidant and anti-free radical potential of the plant's butanoly extract using the following methods: DPPH, phosphate molybdate and FRAP. Consequently, the results of this study allowed to confirm that the betanoly extract of plant B has very good antioxidant properties compared to the betanoly extract of plant A. On the other hand, based on the results of our *in vitro* trial, we also aimed to demonstrate the protective role of plant B on nephrotoxicity induced by a dose of 3 g/ kg ethanol after treatment of male Albinos Wistar rats through the study *in vivo*. The results obtained clearly showed that daily treatment with ethanol for 15 days resulted in nephrotoxicity characterized by a significant increase in the renal function indicators of blood (creatine, urea and uric acid as well as high concentration of K<sup>+</sup> electrolytes). We also observed from the results obtained a defect in the ability to detoxify, which is manifested by the high level of MDA and a decrease in the ability of the enzymatic antioxidant defense system at the level of all rats treated with ethanol compared to the control group of healthy rats. With the administration of betanoly extract in two different concentrations 100 mg/ kg and 200 mg/ kg in conjunction with ethanol for 15 days. The improvement and modification of the levels of renal function indicators in the blood and low level of MDA in the renal naturalization, and helped the extract of betanolin to restore the enzymes of the antioxidant system CAT, SOD, GP<sub>x</sub>, for its activity in the total cytosol. Finally, this study suggests that botanical extract of plant B has a beneficial effect on the nephrotoxicity caused by ethanol and oxidative stress by activating antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation at the kidney level.

**Keywords:** *Ethanol, Nephrotoxicity, Medicinal plants, Oxidative stress, Free radicals.*



# الفهرس

الصفحة	المحتوى
	تشكرات
	قائمة العناوين
	قائمة المختصرات
	قائمة الأشكال
	قائمة الجداول
1	المقدمة.....
الجزء الأول: القسم النظري	
الفصل الأول: الكلية	
3	I. الكلية.....
3	1.I. البنية التشريحية.....
3	1.1.I. المسالك البولية.....
3	1.1.1.I. الكؤيسات (Les calices).....
3	2..1.II. الحوض الكلوي ( Le bassinet).....
4	3.1.1.I. الحالبان (Les uretères).....
4	4.1.1.I. المثانة (la vessie).....
4	5.1.1.I. قناة المجرى البولي (L'urètre).....
5	2.I. المرفولوجيا الخارجية و الداخلية للكلية.....
5	1.2.I. البنية الخارجية.....
5	1.1.2.I. الغلاف الخارجي (الطبقة الخارجية) (La fascia rénale).....
5	2.1.2.I. الغلاف الدهني (الطبقة الوسطى) (Lacapsule adipeuse).....
5	3.1.2.I. الغلاف الليفي (الطبقة الداخلية) (La capsule fibreuse).....
6	2.2.I. البنية الداخلية.....

6	.....1..22.I القشرة (Le cortex)
6	.....2..22.I اللب أو النخاع (La medulla)
7	.....3. 2. I البنية المجهرية للنسيج الكلوي
7	.....1. 3. 2. I النفرونات
7	.....2. 3. 2. I تركيبية النفرون
7	.....(Laglomérule rénale) الكبة أو الكبيبة الكلوية
8	.....ب. الأنابيب الكلوية
10	.....4..1I الأوعية الدموية الكلوية
11	.....5..1I تكوين البول
11	.....1. 5. 1.I الإرشاح الكبيبي
11	.....2. 5. 1. I إعادة الإمتصاص الأنبيبي
12	.....3. 5. 1. I الإفراز الأنبيبي
12	.....3. I فيزيولوجيا الكلية
12	.....1.3.I تنظيم الضغط الشرياني Systeme rénine– angiotensine
13	.....2.3.I ضبط التوازن الحامض – قاعدي
14	.....3.3.I إفراز مجموعة من الهرمونات المنظمة
14	.....L'erythropoitrine 1.3.3.I
14	.....2.3.3.I الرنين
14	.....3.3.3.I الفيتامين د
15	.....الفصل الثاني: الإيثانول
15	.....II. الإيثانول
15	.....1.II. عموميات
15	.....2. II الخصائص الكيميائية و الفيزيائية للإيثانول
15	.....1.2. II الخصائص الكيميائية
16	.....2.2.II الخصائص الفيزيائية

16	.....3.II السمية الحركية للإيثانول
16	.....1.3.II الامتصاص
16	.....2.3.II التوزيع
17	.....3.3.II المسار الإستقلابي للإيثانول
17	.....1.3. 3.II الإستقلاب المؤكسد للإيثانول
17	.....أ. أكسدة الإيثانول إلى الأسيتالديهيد
21	.....ب. عملية تحويل الأسيتالديهيد إلى الأسيتات
22	.....ج. مصير الأسيتات المتشكل
22	.....4. الإطراح 3.II
23	.....III السمية الكلوية للإيثانول
23	.....1.III تأثير الإيثانول على التوازن الهيدرو-إليكتروليتي في الجسم
23	.....1.1.III تأثير الإيثانول على توازن الماء
24	.....2.1.III آلية تأثير الإيثانول على توازن الإلكتروليتات
24	.....2.III تأثير الإيثانول على ATP-ase
25	.....3.III تأثير الإيثانول على حمض الفوليك (الفيتامين ب 9)
26	.....4.III الإجهاد التأكسدي الناتج عن الإيثانول
27	.....5.III تأثير الإيثانول على استقلاب الأحماض الدهنية و السيتوكروم p450
28	.....6.III التأثير الغير مباشر للإيثانول على الكلية
29	.....7.III تأثير الإيثانول على بعض الأعضاء الأخرى
29	.....1.7.III السمية الكبدية
30	.....2.7.III السمية العصبية
30	.....3.7.III السمية القلبية
الجزء الثاني: القسم التطبيقي	
31	.....I وسائل وطرق العمل
31	.....1.I المواد المستعملة

31	..... I. 1.1. المادة النباتية
31	..... I. 1.2. الحيوانات المستعملة
31	..... I. 1.3. الكواشف
32	..... I. 1.4. الأجهزة
32	..... I. 2. طرق العمل
32	..... I. 2.1. الدراسة المخبرية <i>IN VITRO</i> : إظهار الدور المضاد للأوكسدة للنببتين
32	..... I. 2.1.1. تحضير المستخلص البيتانولي للنببتين
34	..... I. 2.1.2. طرق التقدير الكمي للفينولات
34	..... أ. تقدير البوليفينول الكلي
35	..... ب. التقدير الكلي للفلافونويدات
35	..... I. 2.1.3. طريقة تقدير الأنشطة المضادة للأوكسدة
35	..... أ. اختبار الـ DPPH : دراسة الفعل الأسر للمستخلص النباتي للجذر الحر DPPH
37	..... ب. اختبار الـ (PPM) (phosphomolyb date): تحديد القدرة الكلية لمضادات الأوكسدة
38	..... ج. تقدير القدرة الإختزالية « FRAP » pouvoir réducteur
39	..... I. 2.2. الدراسة التجريبية <i>IN VIVO</i> : الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبتة (ب) على مؤشرات السمية الكلوية المُحرضة بواسطة الإيثانول لدى الجرذان
39	..... I. 2.2.1. معاملة الحيوانات
41	..... I. 2.2.2. تشريح الحيوانات وأخذ العينات
41	..... أ. سحب الدم
41	..... ب. استئصال الأعضاء
41	..... I. 2.2.3. تحضير المجنس النسيجي الكلوي (L' homogénat) (10%)
42	..... I. 2.2.4. طريقة الحصول على السيتوزول الكلوي (La fraction cytosolique) (10%)
42	..... I. 2.2.5. معايرة المؤشرات البيوكيميائية (معايرة مؤشرات السمية الكلوية)
42	..... أ. الكرياتنين
42	..... ب. اليوريا

43	.....ج. حمض اليوريك
43	.....د. تقدير تركيز $Na^+$ , $K^+$ , $Cl^-$
43	.....ه. الألبومين
43	.....I. 2. 6.2. معايرة المؤشرات الإنزيمية للإجهاد التأكسدي
43	.....أ. تقدير تركيز الـ Malondialdéhyde (MDA)
44	.....I. 2. 7.2. معايرة المؤشرات الإنزيمية للإجهاد التأكسدي
44	.....أ. معايرة الـ Catalase (CAT)
45	.....ب. نشاط السيتوزولي لـ Superoxyde dismutase (SOD)
46	.....ج. معايرة نشاط Glutathion S-Transférase (GST)
46	.....د. معايرة الـ Glutathin peroxydase (GP <sub>X</sub> )
47	.....ه. تقدير كمية البروتينات
48	.....I. 2. 3. التقييم الإحصائي
49	.....II. النتائج
49	.....1.II. الدراسات التحليلية الكمية للمستخلصات البيتانولية للنبتين (أ) و (ب)
49	.....1.1.II. التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافونويدية
49	.....1.1.1.II. تقدير المركبات الفينولية باستعمال حمض الغاليك
50	.....2.1.1.II. تقدير المركبات الفلافونويدية في النبتتين (أ) و (ب) باستعمال مركب الكرستين
52	.....2.1.II. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات البيتانولية للنبتين (أ) و (ب)
52	.....1.2.1.II. نتائج القدرة التثبيطية لجذر الـ DPPH
53	.....2.2.1.II. اختبار موليبdates الفوسفات
55	.....3.2.1.II. تقييم القدرة الإختزالية للحديد FRAP
	.....2.II. الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبنة على مؤشرات السمية الكلوية المُحرّضة بواسطة الإيثانول لدى الجرذان
56	.....1.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبنة على مستويات الكرياتنين المصلي
57	.....2.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبنة على مستويات اليوريا
58	.....3.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبنة على مستويات حمض اليوريك



59	.....تأثير المستخلص البيتانولي للنبته على مستويات الألبومين
60	..... 5.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبته على تركيز الـ $Cl^-$ ، $Na^+$ ، $K^+$
	..... 6.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبته على مؤشرات الإجهاد التأكسدي المحدث بواسطة
61	..... الإيثانول على مستوى الجرذان
62	..... 2.6.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبته على المؤشرات الإنزيمية المضادة
65	..... III المناقشة
74	..... الخلاصة
76	..... المراجع

## قائمة المختصرات

د: دقيقة

دل: دسي لتر

غ: غرام

كغ: كيلو غرام

ل: اللتر

م°: درجة الحرارة

مل: ملي لتر

ملغ: ملي غرام

مم: ملي متر

- %: Pourcentage.
- °C: Degré celsius.
- **ADH**: alcool déshydrogénase.
- **ALD**: maladie hépatique alcoolique
- **ALDH**: Aldéhyde déshydrogénase.
- **ATP**: Adénosine triphosphate.
- **CAT**: Catalase.
- **Cl<sup>-</sup>**: Ion chlore.
- **CYP 2E1**: Cytochrome P450 2E1.
- **DFG**: Débit de filtration glomérulaire
- **DO**: Densitéoptique
- **DPPH**: 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl
- **EDTA**: Ethylene diamine tetraacetic acid
- **EtOH**: éthanol.
- **Fe 3<sup>+</sup>**: Ion ferrique

- **Fe<sup>2+</sup>**: Ion ferreux
- **FRAP**: Pouvoir antioxydant réducteur du fer
- **GPx**: Glutathionperoxydase
- **GSH**: Glutathionréduit
- **GSSG**: Glutathionoxydé
- **GST**: Glutathion–S–transférase
- **H<sup>+</sup>**: Proton.
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Peroxyde d'hydrogène.
- **H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>**: Aacide phosphomolybdique
- **H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>**: Aacide phosphotungstique
- **IC<sub>50</sub>**: concentration d'inhibition de 50%
- **KIM-1**: Molécule de lésion rénale-1.
- **MDA**: malondialdéhyde
- **MEOS**: microsomal ethanol oxydizing system.
- **NADH**: Nicotinamide adenine dinucleotide
- **NGAL**: Lipocaline associée à la gélatinase neutrophile.
- **O<sub>2</sub>**: Oxygène
- **PI** :Pourcentage d'inhibition
- **SOD**: Superoxyde dismutase
- **TBA**: Thiobarbuteric acid
- **TCA**: Trichloroacetic acid
- **NADPH**: Nicotinamide adeninedinucleotidephosphat
- **CYT 2E1**: Cytochrome 2E1
- **ROS**: Reactive oxygen species
- **RL**: Radicaux libre

## قائمة الأشكال

### الصفحة

- الشكل 1 : موقع الكلية على مستوى جسم الإنسان ..... 4
- الشكل 2 : الطبقات الخارجية المغلفة للكلية (مقطع عرضي في تجويف البطن) ..... 5
- الشكل 3 : مقطع طولي يظهر البنية التشريحية للكلية ..... 6
- الشكل 4 : المظهر النسيجي للكبة الكلوية (Corpuscule rénale) ..... 8
- الشكل 5 : مختلف أجزاء النفرون ..... 10
- الشكل 6 : مقطع طولي يظهر الأوعية الدموية ..... 10
- الشكل 7 : آلية تركيب البول ..... 12
- الشكل 8 : جزيئة الإيثانول ..... 15
- الشكل 9 : إستقلاب الإيثانول ..... 18
- الشكل 10 : إنتاج الأسيتالدهيد بواسطة الـ ADH ..... 18
- الشكل 11 : إنتاج الأسيتالدهيد بواسطة مسار الـ MEOS ..... 19
- الشكل 12 : إنتاج الأسيتالدهيد بواسطة مسار الـ Catalase ..... 20
- الشكل 13 : إنتاج الـ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> بواسطة نظام الـ NADPH oxydase ..... 20
- الشكل 14 : إنتاج الـ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> بواسطة نظام الـ Xanthine oxydase ..... 20
- الشكل 15 : تفاعل تحويل الأسيتالدهيد إلى الأسيتات ..... 21
- الشكل 16 : تفاعل تحول الأسيتات إلى الأستيل CoA ..... 22
- الشكل 17 : آلية التأثير الغير مباشر للإيثانول على الكلية ..... 29
- الشكل 18 : مراحل تحضير المستخلص النباتي البيتانولي ..... 33
- الشكل 19 : معادلة DPPH الجذرية وتحولها إلى DPPH ..... 36
- الشكل 20 : آلية التفاعل أثناء اختبار FRAP بين معقد ferricyanide ferrique Fe (III) ومضادات الأكسدة (AH) ..... 38

- الشكل 21 : المنحنى القياسي لحمض الغاليك (كل قيمة تمثل متوسط ثلاث تكرارات  $\pm$  الخطأ المعياري)..... 49
- الشكل 22 : محتوى البوليفينول الكلي في المستخلص البيتانولي المكافئ لحمض الغاليك لكل من النبتة (أ) و(ب)..... 50
- الشكل 23 : المنحنى القياسي لمركب الكرستين..... 51
- الشكل 24 : محتوى الفلافونويدات الكلية في المستخلص البيتانولي المكافئ للكرستين للنبتتين (أ) و (ب)..... 51
- الشكل 25 : نسبة تثبيط الجذر الحر · DPPH بالنسبة للمرجع حمض الأسكربيك والمستخلص البيتانولي للنبتتين (أ) و (ب) كل قيمة تمثل متوسط ثلاث تكرارات  $\pm$  الخطأ المعياري)..... 52
- الشكل 26 : المنحنى القياسي لحمض الأسكربيك في اختبار موليبيدات الفوسفات (كل قيمة تمثل متوسط ثلاث تكرارات  $\pm$  الخطأ المعياري)..... 54
- الشكل 27 : القدرة الإرجاعية للمستخلص الفينولي للنبتتين المدروستين (أ) و (ب) (كل قيمة تمثل متوسط ثلاث تكرارات  $\pm$  الخطأ المعياري)..... 54
- الشكل 28 : تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص البيتانولي للنبتتين (أ) و (ب) بواسطة طريقة FRAP (كل قيمة تمثل متوسط ثلاث تكرارات  $\pm$  الخطأ المعياري)..... 55
- الشكل 29 : نتائج الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبتة (ب) و سمية الإيثانول على مستويات اليوريا المصلي في الجرذان، وهذا بعد معاملة الجرذان بجرعة 3 غ/كغ من الإيثانول لمدة 15 يوم..... 57
- الشكل 30 : نتائج الدور الوقائي النباتي للمستخلص البيتانولي للنبتة (ب) وسمية الإيثانول بجرعة 3 غ/كغ لمدة 15 يوم على تغيرات مستويات حمض اليوريك المصلي لدى الجرذان..... 58
- الشكل 31 : نتائج الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبتة (ب) و سمية الإيثانول على مستويات الألبومين المصلي في الجرذان، وهذا بعد معاملة الجرذان بجرعة 3 غ/كغ من الإيثانول لمدة 15 يوم..... 59

- نتائج الدور الوقائي النباتي للمستخلص البيتانولي للنبتة (ب) وسمية الإيثانول  
الشكل 32 : بجرعة 3 غ/ كغ لمدة 15 يوم على تركيزات الـ MDA النسيجية لدى  
الجرذان..... 61
- نتائج الدور الوقائي للمستخلص النباتي للنبتة (ب) وسمية الإيثانول (3غ/ كغ) على  
النشاط الإنزيمي للكاتالاز في السيتوزول الكلوي لدى الجرذان بعد المعاملة لمدة 15  
يوم..... 62
- نتائج الدور الوقائي للمستخلص النباتي للنبتة (ب) وسمية الإيثانول (3غ/ كغ) على  
النشاط الإنزيمي لـ SOD في السيتوزول الكلوي لدى الجرذان بعد المعاملة لمدة 15  
يوم..... 63
- نتائج الدور الوقائي للمستخلص النباتي للنبتة (ب) وسمية الإيثانول (3غ/ كغ) على  
النشاط الإنزيمي لـ GST في السيتوزول الكلوي لدى الجرذان بعد المعاملة لمدة  
15 يوم..... 63
- نتائج الدور الوقائي للمستخلص النباتي للنبتة (ب) وسمية الإيثانول (3غ/ كغ) على  
النشاط الإنزيمي لـ GPX في السيتوزول الكلوي لدى الجرذان بعد المعاملة لمدة 15  
يوم..... 63

## قائمة الجداول

الصفحة

- الجدول 1 : الخصائص الفيزيائية للإيثانول..... 16
- الجدول 2: القدرة المضادة للأكسدة (المعبر عنها بـ IC50 (ميكروغرام/مل)) للمستخلصات البيتانولية لكل من النيتتين (أ) و (ب) و الأساس المرجعي (حمض الأسكوربيك)..... 53
- الجدول 3: نتائج التي تظهر الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبتة و سمية الإيثانول على مستويات الكرياتنين المصلي في الجرذان، وهذا بعد معاملة الجرذان بجرعة 3غ/كغ من الإيثانول لمدة 15 يوم..... 56
- الجدول 4: نتائج الدور الوقائي النباتي للمستخلص البيتانولي وسمية الإيثانول بجرعة 3 غ/كغ لمدة 15 يوم على تغيرات مستويات الشوارد  $Cl^-$ ،  $Na^+$ ،  $K^+$  في المصل لدى الجرذان..... 60

المقدمة



## المقدمة

الكلية هي عبارة عن عضو مزدوج حيوي (Marieb, 2008)، يعد المسؤول الأول عن اطراح الأجسام الغريبة السامة التي تستهدف عضوية الكائن الحي (Atessahin et al., 2005) واستقلاب البعض الآخر منها (Lim et al., 1993 ; Lands, 1998 ; Goullé & Guerbet, 2016)، إلا أنّ هذا العضو يتأثر بهذه المواد السامة التي تعبره خاصة اذا كانت بجرعات قوية، وذلك إما بشكل مباشر أو غير مباشر (Anonymous, 1989). من بين السموم التي تحدث خلل على مستوى هذا العضو نجد المبيدات (Ballesterosa et al., 2009)، الأدوية و المشروبات الكحولية... الخ (Labib, 1989 & Amet, 2000). توجد تقارير حديثة من طرف منظمة الصحة العالمية، وجدت ما يقارب لـ 3.3 مليون حالة وفاة أو 5.9 % من جميع الوفيات في العالم تعزى إلى استهلاك الكحول (World Health Organization, 2014).

الإيثانول أو ما يعرف بالمشروب الكحولي (Kacimi, 2008)، يعتبر الكحول الرئيسي في المشروبات ذات التأثير النفسي (Annabelle, 2006)، يتميز الإيثانول بخاصية التأثير على الأعضاء الغنية بالليبيدات (الدماغ، الكبد، الكلية)، وهذا راجع لقابليته الكبيرة على الذوبان في الدهون (Matteo & Gerolami, 1991)، يتم استقلابه على مستوى الكبد و هو المسؤول الأول على هذه العملية بنسبة كبيرة حيث تمر هاته الأخيرة بمجموعة من المراحل المختلفة، يُستقلب أيضا في الكلية بنسبة ضئيلة، تستقبل هاته الأخيرة نواتج استقلاب الإيثانول على مستوى الكبد، و تؤمن عملية إطراحها (Goullé & Guerbet, 2016).

من بين أكثر الأعضاء عرضة للتأثير السمي للإيثانول هي الكلية، هذا راجع إلى مشاركتها في استقلابه (Lim et al., 1993) و غناها بالأحماض الدهنية الغير مشبعة وكونها تلعب دور مهم في عملية الإطراح (Das et al., 2008)، حيث يؤثر الإيثانول على الكلية سواء بتأثير مباشرة عن طريق الإيثانول نفسه أو عن طريق مستقلباته وذلك بشكل غير مباشر (Zoltan, 2017).

من بين آليات تأثير الإيثانول إنتاج الجذور الحرة أثناء عملية استقلابه، فحسب المعطيات التجريبية والدراسات العلمية تبين أن السمية الكلوية مصحوبة بزيادة إنتاج الجذور الحرة، وهذا يؤدي إلى اختلالات وظيفية وهيكلية في الكلية من بينها اضطرابات مستويات المؤشرات البيوكيميائية الكلوية، كذلك يُعتقد أنه يثير الإجهاد التأكسدي الذي يلعب دور في تلف الكلى (Dinu et al., 2005)، حيث تستهدف الجذور الحرة الناتجة عن أيض الإيثانول الجزيئات الضخمة الخلوية عن طريق الارتباط بها محدثة تشوهات طفرية (ADN)، وأكسدة بروتينية و أكسدة الأحماض الدهنية الغير مشبعة (الليبيدات) (Sergent, 2001).

اتجهت الدراسات مؤخرا إلى دراسة الدور الوقائي للنباتات الطبية وإظهار دورها الفعال في الحد من الإجهاد التأكسدي، بالاعتماد على مضادات الأكسدة التي تحتوي عليها (عديدات الفينول، الفلافونويدات)، و ذلك بتعزيز قدرة نظام الدفاع المضاد للأكسدة ومجابهة الإجهاد التأكسدي، بالتالي الحد من التلف الكلوي والتقليل من الأكسدة الفوقية للأحماض الدهنية (Rafieian-kopaei, 2013).

وفقا لكل ما سبق، فقد قمنا بتقسيم دراستنا إلى قسمين، يهدف القسم الأول إلى تقييم تأثير النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص البيتانولي للنبتين (أ) و (ب) على الإجهاد التأكسدي، عن طريق الدراسة المخبرية *In vitro* (خارج العضوية). أما القسم الثاني فالغرض منه هو إظهار السمية الكلوية الناتجة عن تناول الإيثانول، وإظهار الدور الوقائي للنبته ضد هذه السمية، وذلك بالقيام بدراسات تجريبية (داخل العضوية) *In vivo*.



## I. الكلية

### 1.I. البنية التشريحية

الكلية هي عضو مزدوج من أهم الأعضاء الحيوية في الجسم، و جزء من أجزاء الجهاز البولي، تشبه حبة الفاصولياء من حيث الشكل (وجه خارجي محدّب ووجه داخلي مقعر) (Marieb, 2008)، ذات لون بني يميل للأحمر (Boubchir, 2002). تقع الكلى في تجويف البطن، واحدة على كل جانب من العمود الفقري تحت الحجاب الحاجز، تتوضعان بزواوية مائلة قليلاً خلف الغشاء المصلي البطني (الصفاق). فوق كل كلية توجد غدة كظرية (Marieb, 2008 ; Bommas et al., 2008).

تتواجد الكلية اليمنى خلف الكبد، حيث تكون منخفضة أكثر وأصغر حجماً وقريبة قليلاً إلى الوسط مقارنة بالكلية اليسرى، التي تقع بدورها خلف الطحال. ويرجع عدم التماثل الحاصل في البطن إلى موقع وشكل الكبد. يؤمن كل من الضلعين 11 و 12 الحماية بشكل جزئي للجهة العليا لكل كلية (Pebret, 2003) (Tortora & Derrickson, 2010).

عند الشخص البالغ، يتراوح طول الكلية من 10 إلى 12 سم وعرضها من 5 إلى 7 سم وسمكها يقدر بـ 3 سم، كما تزن من 135 إلى 150 غ (Pebret, 2003 ; Tortora & Derrickson, 2010).

#### 1.1.I. المسالك البولية

هي عبارة عن مجموعة من القنوات المُفرزة التي يعبرها البول انطلاقاً من الكليتين وصولاً إليها، حيث تضم المسالك البولية كل من: الكؤيسات، الحوض، الحالب، المثانة والمجرى البولي (Ramé & Thérond, 2007; Mareib, 2008).

##### 1.1.1.I. الكؤيسات (Les calices): تحوي اثني عشر فصاً، توجد بها نفرونات تتصل معاً من خلال

أنابيب كلوية (Ramé & Thérond, 2007 ; Mareib, 2008).

##### 2.1.1.I. الحوض الكلوي (Le bassinet): تجويف يوجد داخل الكلية، في جهة سطحها المقعر.

يعتبر جزءاً من الحالب الذي بدوره يؤمن الاتصال بين حوض الكلية والمثانة (Ramé & Thérond, 2007) (Mareib, 2008).

### 3.1.1.I. الحالبان (Les uretères): قناتان ضيقتان نسيجهما ليفي، يبلغ طول كل منهما ما بين 25

إلى 30 سم و طول قطرها 6 مم، يخرج كل حالب من سرّة الكلية ويمتد إلى الأسفل حتى يصل إلى المثانة، يُفتح فيها بفتحة ضيقة مائلة تسمح بمرور البول إليها وتمنعه من الرجوع إلى الحالب عند امتلاء المثانة

(Ramé & Thérond, 2007 ; Mareib, 2008).

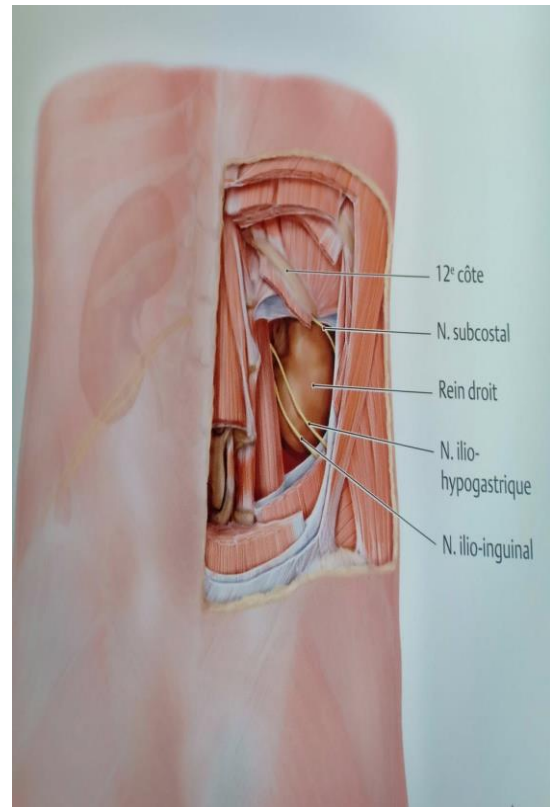
### 4.1.1.I. المثانة (la vessie): محفظة عضلية ملساء، مُبطنة من الداخل بغشاء مخاطي. يُفتح الحالبان

في المثانة بفتحتين مستقلتين في جهتها الخلفية و يُضيقّ الجزء السفلي من المثانة و يسمى عنق المثانة و يحاط بعضلة عاصرة دائرية لا تفتح عند التبول (Ramé & Thérond, 2007 ; Mareib, 2008).

### 5.1.1.I. قناة المجرى البولي (L'urètre): قناة تتصل بالمثانة و تُفتح خارج الجسم بفتحة مستقلة في

حالة الأنثى و بفتحة مشتركة مع القناة القاذفة في حالة الذكر (Ramé & Thérond, 2007 ; Mareib, 2008).

(2008).



الشكل 1: موقع الكلية على مستوى جسم الإنسان (https://www.e-cancer.fr/Patients-et-(proches/Les-cancers/Cancer-du-rein/Anatomie-du-rein).

## 2.I. المرفولوجيا الخارجية والداخلية للكلى

## 1..2I. البنية الخارجية

يتم تغليف الكلى بثلاث طبقات نسيجية:

## 1.1.2.I. الغلاف الخارجي (الطبقة الخارجية) (La fascia rénale): يتكون من نسيج ضام، حيث

يغلف كل من الكلية والغدة الكظرية، يضمن ثبات الكلية وارتباطها بالهيكل القريب منها (Bommas et

*al.*, 2008 ; Christéle, 2008).

## 2.1.2.I. الغلاف الدهني (الطبقة الوسطى) (La capsule adipeuse): يتكون من نسيج دهني، يلعب

دور في حماية الكلية و الحفاظ على ثباتها في موقعها (Bommas et *al.*, 2008 ; Christéle, 2008).

## 3.1.2.I. الغلاف الليفي (الطبقة الداخلية) (La capsule fibreuse): يتميز بالصلابة، يحتوي على

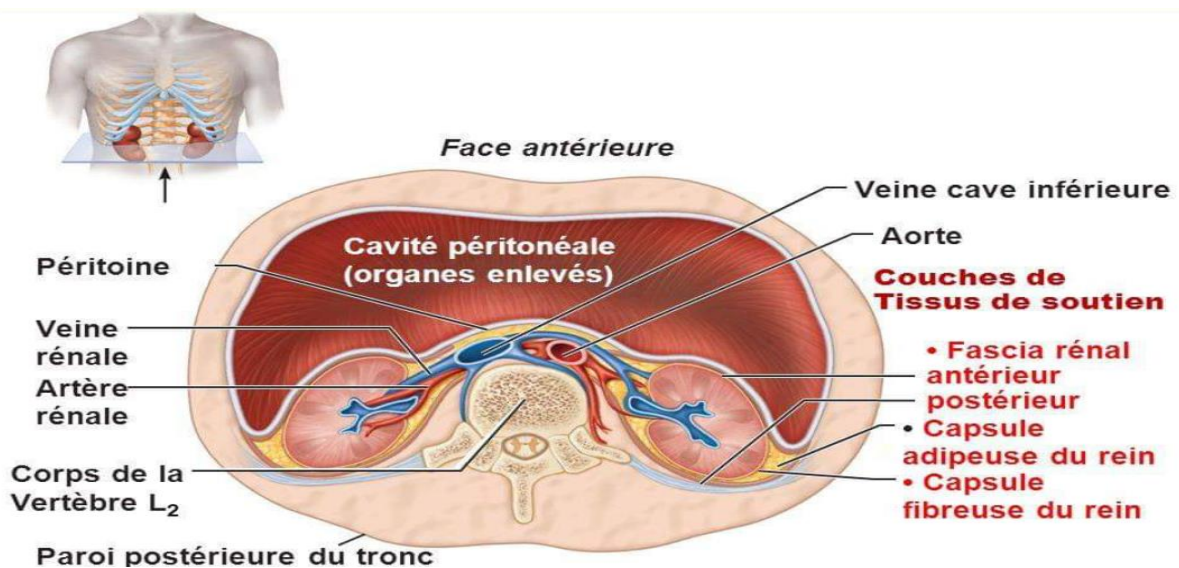
ألياف الكولاجين، يتكون من نسيج ضام شفاف يعمل بمثابة حاجز وقائي للكلى عن طريق منع انتشار و

وصول العوامل المعدية إليها (Bommas et *al.*, 2008 ; Christéle, 2008).

الوجه المقعر الداخلي للكلى يحتوي على ما يسمى بالهيل الكلوي (hile rénale)، الذي يسمح بدخول

وخرج الأوعية الدموية (الشرايين والأوردة الكلوية)، الأوعية اللمفاوية، الألياف والمسالك البولية

(Bommas et *al.*, 2008 ; Christéle, 2008).



الشكل 2: الطبقات الخارجية المغلفة للكلى (مقطع عرضي في تجويف البطن) (<https://slideplayer.fr/slide/10402842>).

## I. 2. 2. البنية الداخلية

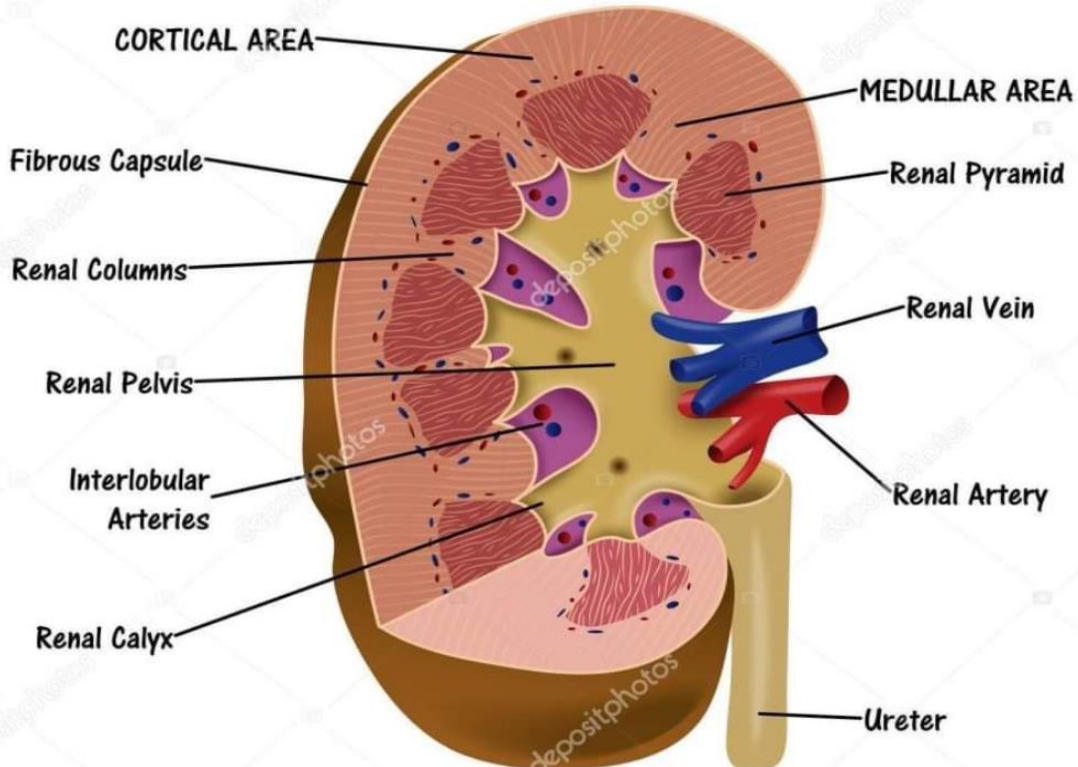
عند إجراء مقطع طولي في الكلية نجدها تتكون من الخارج إلى الداخل من:

### I. 2. 2. 1. القشرة (Le cortex): هي عبارة عن طبقة ضيقة ذات لون مُحمر غنية بالنفرونات، تمتد

مباشرة تحت الغلاف الليفي، تحوي العديد من أجسام مالبيجي، هذه الأخير عبارة عن جسيم كروي الشكل مزدوج الجدران، يحيط بشبكة من الشعيرات الدموية التي تتفرع من الشريان الكلوي، ثم لا تلبث أن تتجمع ثانية مكونة فراغ آخر يخرج من جسم مالبيجي، ويتفرع مرة أخرى إلى شعيرات دموية تلتف حول الجزء العلوي كثير الالتواء من الأنبوبة البولية متعرجة في القشرة، لكنها تستقيم في النخاع وتتجمع في مجموعات هرمية الشكل (Tortora & Derrickson, 2010).

### I. 2. 2. 2. اللب أو النخاع (La medulla): طبقة متسعة ذات لون بني مُحمر، يوجد بها أهرامات

مالبيجي. وهي عبارة عن تجمعات للأنابيب البولية، تُفتح هاته الأخيرة في قمم أهرامات مالبيجي وهذه القمم تبرز في حوض الكلية (Tortora & Derrickson, 2010).



الشكل 3: مقطع طولي يظهر البنية التشريحية للكلية

(<https://fr.depositphotos.com/157794392/stock-illustration-human-kidney-diagram.html>)

## I. 2. 3. البنية المجهرية للنسيج الكلوي

### I. 2. 3. 1. النفرونات

تبين المشاهد المجهرية للنسيج الكلوي أنه يتكون من عدد كبير من النفرونات، ما يقارب المليون وحدة. ترتبط هذه الوحدات فيما بينها بواسطة أوعية دموية، أعصاب و شعيرات لمفاوية. يعتبر النفرون أصغر وحدة تركيبية ووظيفية في الكلية و المسؤول عن تشكيل البول، ويتوزع على مستوى الكلية في منطقتين هما القشرة واللب (النخاع)، حيث تقدر النفرونات القشرية بحوالي 80 % (Les néphrons corticaux)، أما النفرونات النخاعية فحوالي 20 % (Les néphrons juxtamedullaires) (Sherwood, 2006 ; Ader et al., 2013).

### I. 2. 3. 2. تركيبية النفرون

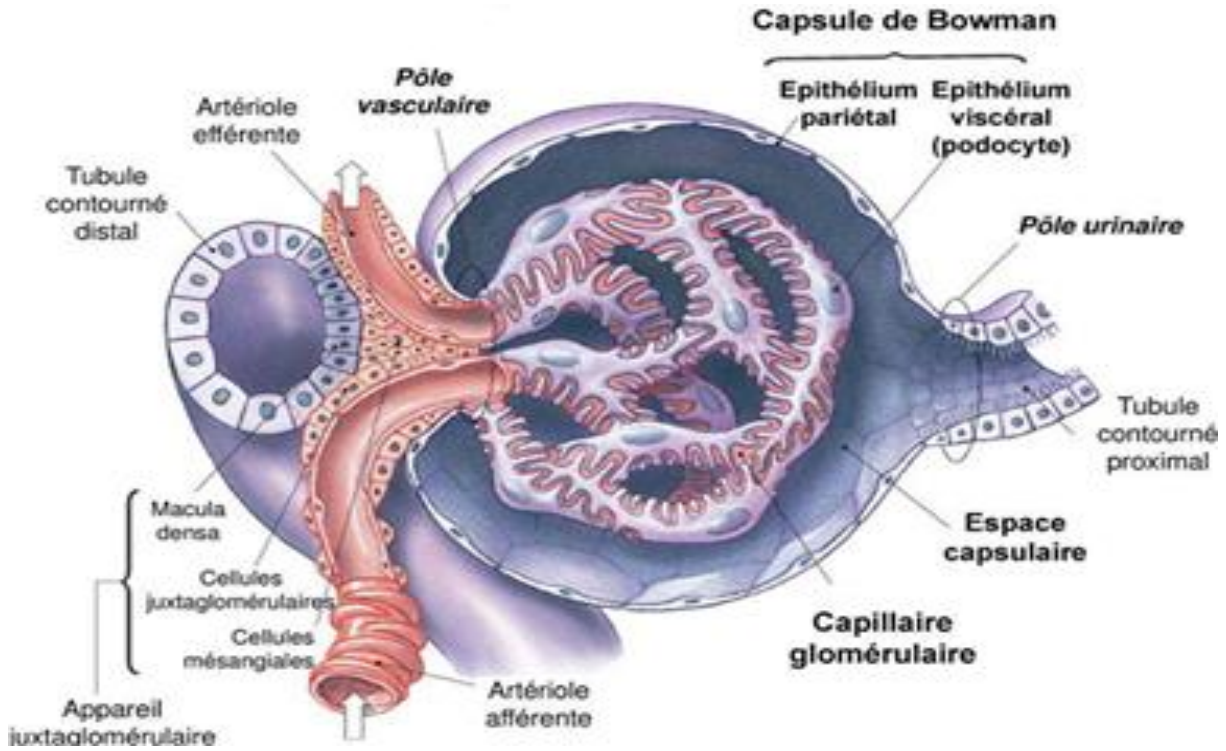
#### أ. الكبة أو الكبيبة الكلوية (La glomérule rénale)

هي حزمة من الشعيرات الدموية المرتبطة فيما بينها تُعرف بالشعيرات الكبيبة، هذه الأوعية ناتجة عن تفرع الشريان الوارد وهو جزء من الشريان الكلوي، بحيث تتجمع الشعيرات الكبيبة فيما بعد لتشكل الشريان الصادر (Tortora & Derrickson, 2010).

تُحاط الكبة بمحفظة تسمى بمحفظة بومان (La capsule de Bowman)، التي تتكون بدورها من طبقتين من الخلايا: الوريقة الحشوية أو الداخلية وخلايا جدارية أو خارجية. تتكون الطبقة الجدارية لمحفظة بومان من صفيحة قاعدية جدارية و أخرى طلائية جدارية، المسافة بين محفظة بومان والبنية الداخلية للكبة تشكل الغرفة الكبيبية (الغرفة البولية) (Mareib, 2008)، التي تحتوي على المرتشح الفوقي الكبيبي أو البولة الأولية. أيضا توجد بها خلايا تأخذ شكل الأرجل الكاذبة (les podocytes)، حيث أنّ الإمتدادات السيتوبلازمية لهاته الأخيرة تمكنها من الإحاطة بالشعيرات الدموية للكبة، كما لها دور مهم في تأمين الارتشاح الكبيبي (Silverthorn et al., 2007; Mareib, 2008)، بالإضافة إلى كل من الخلايا الطلائية والأرجل الكاذبة، توجد خلايا تسمى بـ Les Cellules mésangiales تملك خصائص التمدد،



التقلص والبلعمة، يُمكن أن تصنع في الحشوة خارج خلوية، تلعب هاته الخلايا دور في مراقبة التدفق الدموي الشعيري من خلال خاصية التقلص التي تتمتع بها، وكذا المساهمة في عملية الإرتشاح الكبيبي (Pebret, 2003; Tortora & Derrickson, 2010; Bommas et al., 2008; Widmaier et al., 2013).



الشكل 4: المظهر النسيجي للكبة الكلوية (Corpuscule rénale) (<https://docplayer.fr/152679-La-filtration->) ([glomerulaire-et-sa-regulation.html](https://docplayer.fr/152679-La-filtration-)).

#### ب. الأنابيب الكلوية:

- الأنبوب الملتوي القريب (Le tube contourné proximale): يتواجد على مستوى القشرة حيث يتراوح طوله ما بين 12 – 24 مم. يمثل أول جزء في الأنابيب الكلوية، حيث يتبع محفظة بومان بواسطة الجزء الملتوي، ثم يتطاول في النخاع بواسطة جزء مستقيم لينتهي في هرم (Pebret, 2003) Ferrein.

- انحناء أو عروة هانلي (L'anse de Henlé): هي الجزء الذي يلي الأنبوب القريب وتعتبر امتداد له، تكون طويلة نوعا ما من 6 إلى 32 مم (Pebret, 2003)، بحيث تأخذ شكل

حرف U (Prygiel, 2012). تشمل جزء ضيق نازل من القشرة نحو اللب يتبعه جزء صاعد أكثر اتساعاً ويعود من اللب نحو القشرة. تعتبر هذه الأجزاء هي الوحيدة من النفرون المتواجدة في أهرامات مالبيجي (Pebret, 2003 ; Prygiel, 2012).

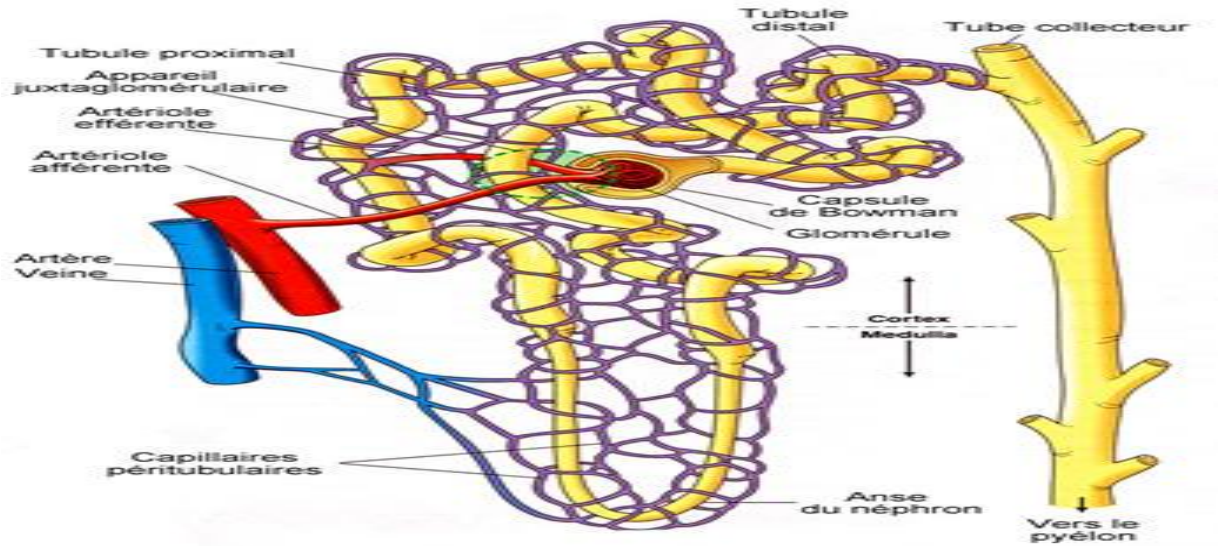
- الأنبوب الملتوي البعيد (Le Tube contourné distal): يكون بعد انحناء هانلي، طوله من 2 إلى 9 مم. يتضمن جزئين الأول مستقيم والثاني ملتوي. يقع هذا الأنبوب في أهرامات Ferrein (Pebret, 2003).

- الأنبوب الجامع أو المجمع (Le Tube collecteur de bellin): أنبوب مستقيم الشكل، طويل (15 مم)، يعبر القسم الأعلى لهرم مالبيجي. بحيث يتوضع بشكل موازي لإنحناء هانلي. يقوم بجمع البول ليفرغه في الكؤيسات ومنها إلى الحوض (Pebret, 2003 ; Nguyen & Bourouina, 2008 ; Prygiel, 2012).

- الجهاز المجاور للكبيبات (Le Complexe Juxtalogoméculaire): يوجد هذا الجهاز في منطقة تماس الأنبوب الملتوي البعيد مع الشريانين الوارد والصادر و يتكون من جزئين:

- الخلايا المجاورة للكبيبات (Les cellules juxtalogoméculaire): هي عبارة عن خلايا عضلية ملساء توجد في جدار الشريان الوارد بالأخص عند نقطة تماسه مع الأنبوب الملتوي البعيد، وهي خلايا كثيفة تحتوي على حبيبات افرازية مكونة من مادة الريبين (Sherwood, 2013).

- اللطخة الكثيفة (La Macula densa): هي خلايا الأنبوب الملتوي البعيد التي تكون على تماس مع الشريان الوارد وهي أكتف من باقي خلايا الأنبوب ولها وظائف افرازية هامة (Sherwood, 2013).

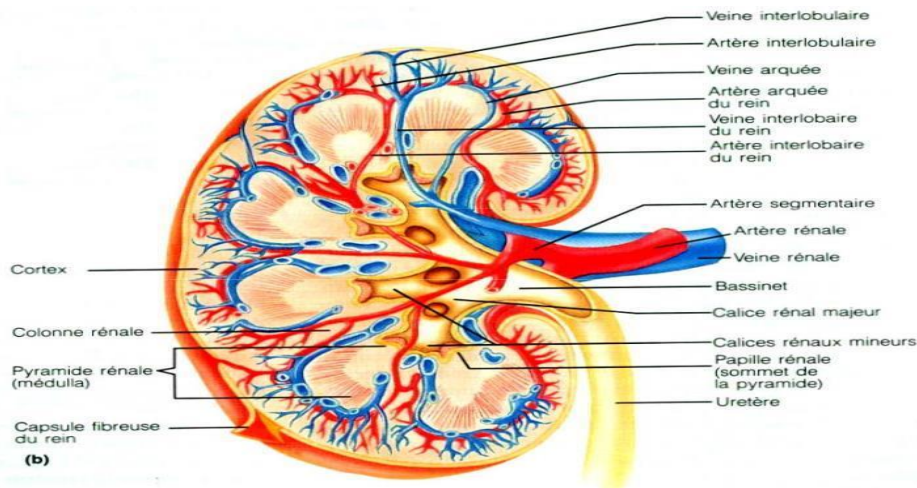


الشكل 5: مختلف أجزاء النفران (<http://corpshumain.ca/Rein.php>)

#### I. 1. 4. الأوعية الدموية الكلوية

تستقبل كل كلية الدم من الشريان الكلوي الذي يتفرع من الشريان الأبهر، بعد دخوله إلى الكلية يتفرع إلى فروع عديدة أصغر ثم إلى شعيرات دموية. تتجمع الشعيرات ثانياً لتكوّن الوريد الكلوي الذي يحمل الدم إلى خارج الكلية، حيث يلتقي ليصب في الوريد الأجوف السفلي الذي يصب بدوره في القلب ويتدفق الدم في الشريان الكلوي بمعدل لتر واحد في الدقيقة حتى يتم تنقية جميع الدم الموجود في الجسم

(Fredric et al., 2009).



الشكل 6: مقطع طولى يظهر الأوعية الدموية- (<https://docplayer.fr/63163264-Dr-bouayed-service>)

([d-anatomie-normale-chu-annee-universitaire.html](http://d-anatomie-normale-chu-annee-universitaire.html))

### I. 1. 5. تكوين البول

يخرج الدم من القلب عن طريق الشريان الأبهر، تُنقل خُمس كمية هذا الدم إلى الكليتين عبر الشريانيين اللذين يتفرعان إلى شريّات صغيرة يسمى كل منها بالشُرّين الوارد ينتهي كل منها بشعيرات دموية (الكبة). ويتم تكوين البول من خلال المراحل التالية:

#### I. 1. 5. 1. الإرتشاح الكببي: تتمثل هذه العملية في ترشيح الدم وتشكيل البولة الابتدائية، بحيث لا

تتم سوى على مستوى الكببية وتكون وفق الآلية التالية:

✓ يدخل الدم في مجموعة من الأوعية الدموية الصغيرة داخل الكبة، حيث تسمح الجدران المبطنة للشعيرات الكببية ومحفظة بومان بمرور الجزيئات الصغيرة، كالشوارد والبيبتيدات الصغيرة والماء وتمنع مرور الجزيئات ذات الوزن الجزيئي الكبير (Silverthorn et al., 2007 ;

Marieb, 2008).

✓ يبلغ حصيل الإرتشاح الكببي (DFG) 125 مل/د وهو حجم لمجموع الكببيات بوحدة زمنية تقدر بـ 180 لتر من الدم ترتشح يوميا. يعاد امتصاص البولة الابتدائية المتشكلة بنسبة 99 % في الأنابيب منتجة 1,5 لتر من البول يوميا (Silverthorn et al., 2007 ; Marieb, 2008).

#### I. 1. 5. 2. إعادة الإمتصاص الأنبيبي: تسمح إعادة الإمتصاص الأنبيبي بالحصول على البولة

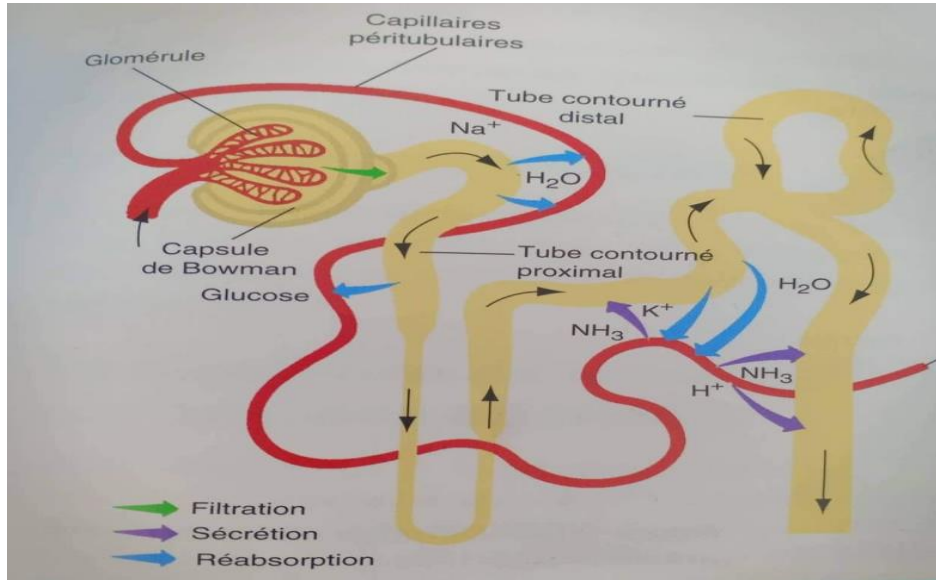
النهائية، حيث تتم هاته العملية مستوى الأنابيب الكلوية، هذه الآليات تسمح بفقدان بعض المركبات المهمة لأجل المحافظة على حالة الهيموستازيا. في الواقع الماء والعديد من الأيونات والمواد المذابة (صوديوم، بوتاسيوم، بيكاربونات، جلوكوز و أيونات الهيدروجين...إلخ) المرتشحة بالكبة يعاد امتصاصها كليا أو بنسب مختلفة بالدم، تعتمد عملية إعادة الإمتصاص على العديد من النواقل (نواة أيونية، مضخات) التي تكون تحت رقابة العديد من العوامل الهيموديناميكية والعصبية - الهرمونية (Silverthorn et al., 2007 ;

Marieb, 2008).

### I. 1. 5. 3. الإفراز الأنبيبي: يسمح الإفراز الأنبيبي بمرور الجزيئات من الشعيرات المحيطة

بالأنابيب اتجاه الراشح عبر خلايا الأنبوب، ويسمح بإزالة المواد غير المرتشحة بالكبة في البولة. آلياته

مماثلة لما هي عليه في إعادة الإمتصاص الأنبيبي (Silverthorn et al., 2007 ; Marieb, 2008).



الشكل 7: آلية تركيب البول (Marieb, 2008).

### I. 3. فيزيولوجيا الكلية

تعمل الكلتيين على تنظيم هيوموستازيا العضوية (Marieb, 2008) وذلك بالتخلص من السموم وتنقية الدم من نواتج عملية الهضم والتمثيل الغذائي (حمض اليوريك، الكرياتينين)، تنظيم الضغط الأسموزي بالحفاظ على التوازن الهيدروإلكتروليتي (الماء والإلكترولونات)، تنظيم ضغط الدم عن طريق نظام rénine-angiotensine بالحفاظ على توازن الماء والأملاح المعدنية (الصوديوم والبوتاسيوم)، تعديل درجة الحموضة والقاعدية في الدم، كذلك تلعب دور غدي بإفراز مجموعة من الهرمونات المنظمة (érythropoïétine، الرنين، الفيتامين د) (Bommas et al., 2008 ; Sherwood, 2015).

#### I. 3. 1. تنظيم الضغط الشرياني Système rénine- angiotensine

تساهم الكلتيان بآلية للسيطرة على الضغط عن طريق نظام الرنين-أنجيوتنسين، وهو عبارة عن سلسلة انزيمية تُعد جزءاً من نظام الغدد الصماء. عند انخفاض الضغط الشرياني يتحرر الرنين من الكلية

بالضبط في خلايا الجهاز المجاور للكبيبات إلى الدم الكلوي، ويعبر من الكليتين إلى الدوران في كامل الجسم. يعمل الرنين بشكل إنزيمي منشط بحيث يقوم بتحويل الأنجيوتنسين المفرز من الكبد إلى أنجيوتنسين I الذي يتحول بدوره إلى أنجيوتنسين II بواسطة Enzyme de conversion de angiotensine I، حيث يعتبر الأنجيوتنسين II العنصر الأكثر نشاطا في هذا النظام من أجل رفع الضغط الشرياني، بحيث يتم نقل الأنجيوتنسين II إلى الخلايا المستهدفة ويتفاعل مع نوعين على الأقل من المستقبلات فيرفع الضغط الشرياني عن طريق انقباض الأوعية و الحفاظ على التوازن بين الماء والمعادن بواسطة خفض طرح الصوديوم والماء. هذا يرفع بشكل بطيء حجم السائل خارج خلوي الذي يزيد بعدها الضغط الشرياني (Fustier, 2004).

### I. 3. 2. ضبط التوازن الحامض - قاعدي

تحافظ العضوية على ثبات درجة الحموضة في الدم عند الحدود النظامية  $pH = 7,4$ ، حيث يؤمن هذا الثبات كل من التهوية الرئوية و الإطراح البولي لشوارد الهيدروجين. تغير الـ pH يكون نتيجة تدخل عدة أسباب من بينها: النظام الغذائي، نواتج الأيض الخلوي أو الأمراض (Silverthorn, 2007 ; Nguyen & Bourouina, 2008).

يساهم التنفس في تعويض هذه التغيرات حيث يحدث فرط في التهوية مما يُحرض هبوط في الضغط الجزئي للكربون في الدم (hypocapnie) وبالتالي حدوث حالة acidose، بينما تُحرض نقص التهوية حدوث ما يسمى بـ (hypercapni) مسببا حالة alcalose (Silverthorn, 2007 ; Nguyen & Bourouina, 2008).

بالنسبة للكلى في حالة زيادة الحامضية في السائل الخارج خلوي، أي فرط في شوارد الـ  $H^+$  (acidose). تقوم بإطراح هذا الأخير والحفاظ على أيونات البيكاربونات ( $HCO_3^-$ ) التي تملك وظيفة مُعدّلة، بينما في حال زيادة قاعدية السائل الخارج خلوي، تعمل الكلية على طرح أيونات  $HCO_3^-$  للحفاظ على شوارد الـ  $H^+$  (Silverthorn, 2007 ; Nguyen & Bourouina, 2008).

### I. 3.3. إفراز مجموعة من الهرمونات المنظمة

الكلية ليست بغدة صماء لكنها تسلك السلوك الغدّي عن طريق إفراز مجموعة من الهرمونات المنظمة التي تتمثل في:

#### I. 1.3.3. L'érythropoïétine: ينتج الـ EPO من قبل الخلايا الكلوية النخاعية، هو عبارة

عن هرمون ينتمي لعائلة السيتوكينات. مسؤول على تنظيم إنتاج، تكاثر ونضج الكريات الحمراء على مستوى نقي العظام (Silverthorn, 2007 ; Nguyen & Bourounia, 2008).

#### I. 2.3.3. الرنين: الجهاز المجاور للكبيبات يؤمن إفراز الرنين وهذا الأخير يعتبر إنزيم، يلعب

دور في تنظيم إنتاج الهرمونات المنظمة لهيموستازيا الصوديوم و مراقبة الضغط الشرياني للعضوية (Silverthorn, 2007 ; Nguyen & Bourounia, 2008).

#### I. 3.3.3. الفيتامين د: مجموعة من الإنزيمات الكلوية تلعب دور في تحويل الفيتامين د إلى

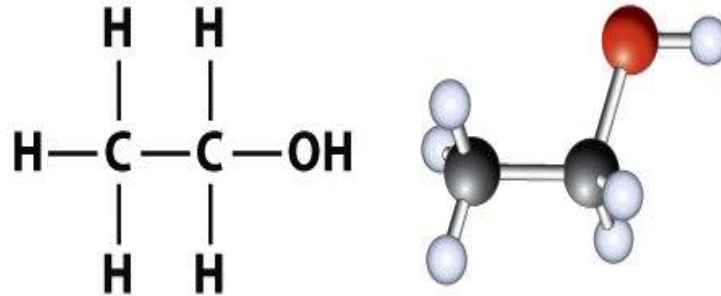
هرمونات منظمة لتوازن الكالسيوم (Silverthorn, 2007 ; Nguyen & Bourounia, 2008).

## II. الإيثانول

### 1.II. عموميات

الإيثانول (EtOH) أو ما يعرف أيضا بالكحول الإيثيلي، الكحول النقي، الكحول الحبيبي أو مشروب الكحول (Kacimi, 2008) يعتبر الكحول الرئيسي في المشروبات ذات التأثير النفسي، وهو عبارة عن كحول يتكون من سلسلة خطية، صيغته الجزيئية  $\text{CH}_2\text{H}_5\text{OH}$ ، كما يرمز له أيضا بـ  $\text{CH}_3\text{-OH}$ ، حيث تشير إلى أنّ الكربون الخاص بمجموعة الميثيل ( $-\text{CH}_3$ ) مرتبط بكربون الميثيلين ( $\text{CH}_2$ )، هذا الأخير مرتبط بأكسجين مجموعة الهيدروكسيل ( $\text{OH}^-$ ) (Annabelle, 2006).

يستعمل الإيثانول بشكل عام كمذيب لعدة مواد ذات الاستعمال البشري منها: العطور، المنكّهات، الملونات، الأدوية، الأصبغة... إلخ (Jill, 2013). يعتبر في الكيمياء عنصر أساسي من المذيبات، كما يُستعمل كمادة أولية في تصنيع عدة منتجات (Annabelle, 2006).



الشكل 8: جزيئة الإيثانول - <https://sites.duke.edu/apcp/module-1-gender-matters/content/content-what-is-alcohol>

## II. 2. الخصائص الكيميائية و الفيزيائية للإيثانول

### II. 1.2. الخصائص الكيميائية

يعتبر الإيثانول مُنتج مستقر في الشروط العادية، فهو يتمتع بالخصائص العامة للكحول الأولي (تفاعل الأكسدة، إزالة الهيدروجين، التجفيف و الأسترة)، بحيث يمكن أن يتفاعل بقوة مع المواد القوية



على سبيل المثال نذكر acide nitrique و acide perchlorique، وبشكل عام يتفاعل مع جميع المركبات الكيميائية أو المعادن الغنية بالأوكسجين الغير مستقر (INRS, 2007).

## 2.2.II. الخصائص الفيزيائية

الإيثانول عبارة عن سائل حركي، سريع الالتهاب، عديم اللون، متطاير و قابل للامتزاج مع الماء.

**الجدول 1: الخصائص الفيزيائية للإيثانول (INRS, 2011 ; Annabelle, 2006).**

46,07	الكتلة المولية
-114C°	درجة الانصهار
78-78,5° C	درجة الغليان
0,789	الكثافة في 20 درجة مئوية
5,9KPa à 20° C / 10KPa à 30°C/29,3KPa à 50°C	الضغط البخاري
423°C à 425 °C	درجة الالتهاب الذاتي
حدود الانفجار في الهواء (% في الحجم)	أعلى من 19 % ; أقل من 3,3 %
القدرة الحُريرية	7 Kcal/g

## 3.II. الحركية السمية للإيثانول

### 1.3.II. الامتصاص

يُمتص الـ EtOH بسرعة عن طريق الفم، الجهاز التنفسي، والقليل منه عبر ملامسة الجلد (Jones & Jönsson, 1994). بعد ابتلاع الإيثانول يتم امتصاصه على مستوى المعدة (10%)، وبالأخص في الإثني عشر والصائم (Jéjunum) (من 70 % إلى 80%)، نظرا لخصائصه المحبة للماء والدهون، فإنه يعبر بسهولة الحاجز المعوي بواسطة الانتشار البسيط (Matteo & Gerolami, 1991).

### II. 3. 2. التوزيع

بعد الامتصاص، يتم توزيع الإيثانول لكل الأجزاء المختلفة من الجسم، حيث يُضح عبر الدم ويكون في صورة حرة. لا يرتبط هذا الكحول الحر بأي بروتين خاص على مستوى الدم.

الأعضاء الغنية بالأوعية الدموية كالدماع، الرئتين والكبد هم الأكثر عرضة لتضرر بسبب الإيثانول (يستغرق وصول الـ EtOH لها من 7 إلى 8 دقائق) (Jones et al., 1991 ; Matteo & Gerolami, 1991 ; al., 1990).

ترتبط الفروق الحركية الدوائية بين النساء والرجال بشكل أساسي بالإختلاف في محتوى الماء في الجسم مع انخفاض حجم التوزيع بالنسبة للنساء، هذا ما يفسر إرتفاع التركيز البلازمي (pic de concentration plasmatique) (Mumenthaler et al., 1999).

### 3.3.II. المسار الإستقلابي للإيثانول

#### 3.II. 1.3. الإستقلاب المؤكسد للإيثانول

يعتبر الكبد المسؤول الأول عن أيض الـ EtOH الممتص وبنسبة كبيرة (90 - 95 %)، كما يتم استقلاب جزء صغير منه على مستوى الكلية، بالإضافة إلى مشاركة الجهاز الهضمي في هذه العملية (5 - 10 %) (Lim et al., 1993 ; Lands, 1998 ; Goullé & Guerbet, 2016).

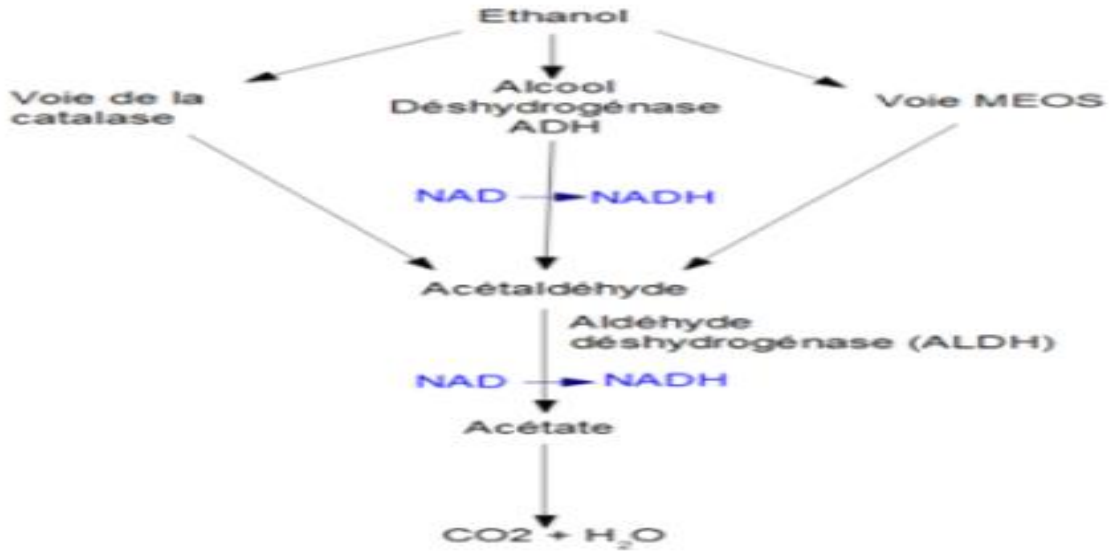
يتم أكسدة معظم الـ EtOH على مستوى خلايا الكبد، و يمر إستقلابه بنوعين من الأكسدة، بحيث في البداية يتحول الـ EtOH على مستوى السيتوزول إلى أسيتالدهيد، ثم يُحول بعد ذلك الأسيتالدهيد إلى أسيتات على مستوى الميتوكوندري (INSERM, 2001 ; silvain & Chagneau -Derrode, 2006).

#### 1. أكسدة الإيثانول إلى الأسيتالدهيد

تتم أكسدة الإيثانول إلى الأسيتالدهيد وفق ثلاث مسارات إنزيمية، تتواجد كل منها في تجزئة خلوية مختلفة. يرتبط المسار الرئيسي بـ Alcohol dehydrogenase (ADH) الذي يمثل تقريبا نسبة 80% من القدرة الإستقلابية، ونظام الـ MEOS بالنسبة للـ 20 % المتبقية، أما بالنسبة للمسار الأخير فهو يُصنف كملحق، تتم فيه عملية الأكسدة بواسطة الـ Catalase (Nagy, 2004 ; Setshedi, 2010).

يُطرح جزء كبير من الأسيتات في الدورة العامة ويؤكسد إلى ثاني أكسيد الكربون CO<sub>2</sub> والماء

H<sub>2</sub>O في الأنسجة الخارج كبدية (Lieber, 1977 ; Krivochta, 2003).

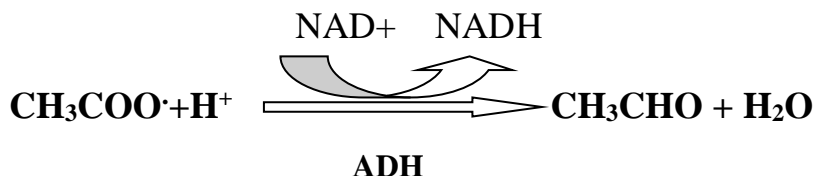


الشكل 9: إستقلاب الإيثانول (Krivochta, 2003).

### •Alcool déshydrogénase(ADH)

يعتبر الـ ADH المسار السائد في إستقلاب الإيثانول، هذا الأخير هو عبارة عن إنزيم سيتوبلازمي، يكون بشكل مركّز في الكبد ولكنه يوجد أيضا في الكلى والرئتين والقناة الهضمية ويكون أيضا على شكل آثار خفيفة على مستوى الدماغ (Fouquet, 1986). وهو بروتين ثنائي الوحدة، يحتوي على ذرتين من الزنك لكل وحدة فرعية، واحدة من أجل الوظائف التحفيزية والأخرى للوظائف الهيكلية (de-Izoppo, 2003). يوجد حاليا سبعة جينات للـ ADH تم التعرف عليها عند الإنسان (من ADH 1 إلى ADH 7)، التي تشفر من أجل تحت وحدات مختلفة (Bosron & Li, 1986 ; Ehrig et al., 1990). تتجمع التحت وحدات مثنى مثنى من أجل تشكيل الإيزوانزيمات، مقسمة إلى خمس فئات وذلك حسب خصائصها الهيكلية والحركية (Bosron & Li, 1986 ; Ehrig et al., 1990).

يعمل هذا الإنزيم السيتوزولي مع العامل المساعد  $NAD^+$  والذي يحفز التفاعل التالي:



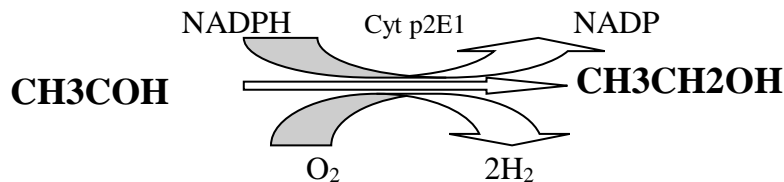
الشكل 10: إنتاج الأسيتالدهيد بواسطة الـ ADH (Jornvall et al., 2010).

بالنسبة للإنسان، يعتبر هرمون الـ ADH الكبدى هو الأكثر ملائمة من أجل استقلاب جرعات معتدلة من الكحول، لأن نشاط هذا الإنزيم ينخفض لدى مستهلكين الكحول بشكل مزمن ومفرط (Thomas) (et al., 1982 ; Crabb, 1995).

● **نظام الـ MEOS أو المسار الميكروزمي (Système microsomal de l'oxidation de l'ethanol)**  
يعتبر نظام الـ MEOS ثاني أكثر الطرق المتدخلة في أكسدة الـ EtOH (Lieber & de Carli, 1968)، حيث يتضمن بشكل أساسي إنزيم السيتوكروم P2E1 (Koop & Coon, 1986)، ينتمي هذا الأخير إلى عائلة السيتوكروم P450، التي بدورها تستخدم كل من NADPH و O<sub>2</sub> كعوامل مساعدة. بعض الإنزيمات الأخرى التي تنتمي لنفس عائلة Cyt p450، تساهم هي أيضا في عملية استقلاب الـ EtOH مثل: Cyp1A2 و Cyp3A4 (Salmela et al., 1998).

السيتوكروم P2E1: هو عبارة عن إنزيم غشائي يتواجد بشكل رئيسي على مستوى الشبكة الأندوبلازمية، يتم التعبير عنه بكميات كبيرة في خلايا الكبد، وتصل إلى 100 ضعف مقارنة بتواجده في الأنسجة خارج الكبد ( الرئتين، القلب، المريء، الأمعاء، الدماغ و الخلايا اللمفاوية) (Lieber, 1999)، كما تؤثر كل من العوامل الهرمونية والغذائية على هذا التعبير (Johansson et al., 1988).

معظم عمليات أيض التراكيز المنخفضة من الـ EtOH تتم بواسطة مسار الـ ADH، بينما بالنسبة للتراكيز العالية الناتجة عن التعرض المزمن للإيثانول، فيتدخل مسار الـ MEOS (Lieber, 1999). عملية الأكسدة بواسطة هذا المسار تتم وفق التحول التالي:



**الشكل 11: إنتاج الأسيتالدهيد بواسطة مسار الـ MEOS (Jornvall et al., 2010).**

من المهم أيضا الإشارة إلى أن Cyt p2E1 يلعب دور مهم في تحفيز إستقلاب أكثر من 100 مادة تفاعل (Guengerich & Shimada, 1991). كما يؤثر على أنواع أخرى من الكحول (غير الإيثانول)، المذيبات العضوية والأدوية (Peter et al., 1990 ; Lucas et al., 1999).

#### • La catalase (CAT)

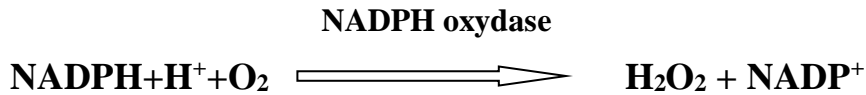
الـ CAT عبارة عن هيموبروتين يتواجد على مستوى بيروكسيزومات أغلب الأنسجة، حيث يملك القدرة على أكسدة الـ EtOH وهذا فقط في وجود بيروكسيد الهيدروجين (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Fong et al., 1973 ; Mbira, 2014).

هذا المسار يؤكسد الـ EtOH إلى أسيتالدهيد وفق التفاعل التالي:

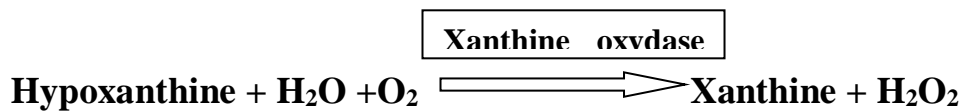


الشكل 12: إنتاج الأسيتالدهيد بواسطة مسار الـ Catalase (Vachonfrance, 1986).

هذا المسار هو الأكثر ضرر مقارنة بالمسارات الأخرى، يتدخل بعد تجاوز الـ EtOH للمسار الأول (ADH) والمسار الثاني (MEOS) وفي حال الاستهلاك المزمن للإيثانول (Mbira, 2014). يتوقف عمل هذا المسار على مستوى الـ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> وليس على كمية الـ Catalase. كما يقترن أيضا بعدة أنظمة منتجة لبيروكسيد الهيدروجين، ليعتمد على هذا الأخير في إستقلاب الـ EtOH، من بين هاته الأنظمة la NADH oxydase أو xanthine oxydase (Sorel, 2004).



الشكل 13: إنتاج الـ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> بواسطة نظام الـ NADPH oxydase (Nordmann, 1978).



الشكل 14: إنتاج الـ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> بواسطة نظام الـ Xanthine oxydase (Nordmann, 1978).

### ب. عملية تحويل الأسييتالديهيد إلى الأسييتات

يعتبر الأسييتالديهيد مستقلب شديد السمية (نشط جدا)، هو وسيط ضروري في عملية الإستقلاب التأكسدي للإيثانول، هذا المركب يستطيع تشكيل إضافات (adduits) للجزيئات المحيطة (البروتينات، الإنزيمات... إلخ)، كذلك يغير خصائص بعض البروتينات (على سبيل المثال: تقليل النشاط الإنزيمي)، وجدت هذه الإضافات أيضا على مستوى الكبد والدماغ (OMS, 2000 ; Berr, 2001).

يمكن إجراء هذه الأكسدة الثانية وفقا لعدة مسارات إنزيمية مثل مسار الـ (L'aldéhyde

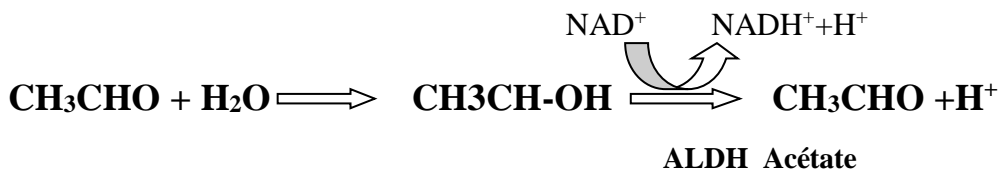
(déshydrogénALDH) (Yoshida et al., 1992; Crabb, 1995 ; Vasiliou et al., 1999).

### • Aldéhyde déshydrogénase (ALDH)

الـ ALDH هو عبارة عن إنزيم يتواجد في الخلايا الكبدية. ينتمي إلى عائلة إنزيمية تتكون من 16 جين في الإنسان (Vasiliou & papp, 2000). بحيث يتواجد في شكل أربعة إيزوانزيمات (ALDH 1، ALDH 2، ALDH 3 و ALDH 4) (Girre et al., 1995).

إن الإيزوانزيمين الأكثر أهمية في إستقلاب الإيثانول هما الـ ALDH 1 الذي يتواجد في السيتوزول والـ ALDH 2 يتواجد على مستوى الميتوكوندري (Yoshida et al., 1992 ; Crabb, 1995 ; Vasiliou et al., 1999). عند مقارنة كل من ALDH 1 و ALDH 2 فإن هذا الأخير له إنجذاب أكثر مع الأسييتالدهيد، إذن فإن الـ ALDH 2 هو المسؤول الأكبر من أجل أكسدة الأسييتالديهيد إلى أسييتات (Stewart et al., 1995).

كما يعتبر إنزيم الـ ALDH مثل إنزيم الـ ADH، بحيث يستعمل الـ  $NAD^+$  كعامل مساعد والذي يقوم بتحفيز التفاعل التالي:



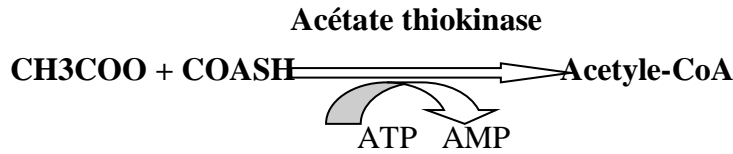
الشكل 15: تفاعل تحويل الأسييتالديهيد إلى الأسييتات (Vachonfrance, 1986).

هذا التفاعل الحركي الحراري هو تفاعل غير رجعي في الظروف الفيزيولوجية، تحتوي هذه الإيزوانزيمات على ثوابت قوية لـ NADH، على عكس من الـ déshydrogénase التي تثبط أثناء عملية التمثيل الغذائي للإيثانول، تبقى الـ ALDH نشطة على الرغم من زيادة الـ NADH/ NAD<sup>+</sup> التي تحدث أثناء إستقلاب الإيثانول (Crabb, 1995).

يتم التعبير عن كل من الـ ALDH 1, 2 بكثرة في الكبد، وأيضاً يكون بوفرة في الكلى والعضلات والقلب. أما الدماغ والمشيمة والبنكرياس فيحتوي كل منهم على القليل فقط من هذه الإنزيمات (Crabb, 1995).

### ج. مصير الأسيتات المتشكل

يتحول الأسيتات المتشكل إلى الأسيتيل CoA على مستوى سيتوزول الخلايا الكبدية:



الشكل 16: تفاعل تحول الأسيتات إلى الأسيتيل CoA (Vachonfrance, 1986).

الأسيتيل CoA المتشكل يدخل في أنظمة إستقلابية مختلفة مثل: حلقة كريبس مع إنتاج طاقة في صورة ATP، تخليق الأحماض الدهنية والكلستيرول وفي تخليق الأجسام الكيتونية...إلخ.

### 3.II. 4. الإطراح

يتم التخلص بشكل أساسي من الكحول عن طريق الكبد بعد إستقلابه، ويفرز الباقي في صورته الإبتدائية بواسطة الرئتين والكليتين بمعدل 0,06 ل/ ساعة و بمعدل 0,02 ل/ ساعة بالنسبة لشخص يزن 70 كغ (Brown, 1985 ; Nanji, 2003). كما يتم التخلص منه أيضاً عن طريق حليب الأم (الرضاعة) (Lands, 1998). يمكن أن يصل الإطراح الخارج كبدي من 2 إلى 10 % عندما يكون تركيز الكحول في البلازما مرتفع (Salaspuro, 1999).

### III. السمية الكلوية للإيثانول

ينتج عن التناول المزمن للإيثانول تغيرات مرضية مختلفة على مستوى عضوية الكائن الحي (Labib, 1989)، حيث من بين الأعضاء المستهدفة الكلية (Amet, 2000)، وهذا راجع إلى مشاركة هذه الأخيرة في عملية إستقلاب الكحول (Lim et al., 1993 ; Lands, 1998 ; Goullé & Guerb, 2016) بالإضافة إلى دورها المهم في عملية الإطراح، بحيث يمر الإيثانول وعناصره عبرها ليُفرز في البول، و يكون محتواه في هذا الأخير أعلى من محتواه في الدم والكبد (Das et al., 2008).

#### III.1. تأثير الإيثانول على التوازن الهيدرو-إليكتروليتي في الجسم

التعرض الحاد للإيثانول يُغيّر من الإفراز الخلوي للصوديوم والبوتاسيوم، أما في حالة الإستهلاك المزمن فتظهر اضطرابات حادة بالنسبة للتوازن الحامض- قاعدي في الجسم. كذلك يُعطّل آليات التنظيم الهرموني التي تؤثر على الوظائف الكلوية، ويحفز أيضا أمراض كبدية. كما ينجم عن هذا التناول المتكرر آثار ضارة أخرى على مستوى الكلى بالأخص اختلال توازن الصوديوم والسوائل في الجسم و حتى الفشل الكلوي الحاد (Das & Vasudevan, 2008).

#### III.1.1. تأثير الإيثانول على توازن الماء

من أهم التأثيرات الخطيرة التي يسببها الـ EtOH هي الإخلال بالوظيفة الكلوية في الحفاظ على التوازن المائي في الجسم عن طريق التسبب في زيادة إدرار البول (Heidland et al., 1985) و ذلك بالاستهداف المباشر للهرمون المضاد لإدرار البول (ADH) (hormone antidiurétique) أو ما يعرف بـ vasopressine (AVP) (منظم فيزيولوجي رئيسي لإعادة الامتصاص المائي الكلوي عند الثدييات)، عن طريق تثبيط إفراز هذا الأخير من قبل المحور تحت السريري البصري والغدة النخامية (Das & Vasudevan, 2008). بحيث تكمن آلية تثبيط ADH في سد قنوات الكالسيوم على مستوى النهايات النخامية العصبية. منع إفراز الـ ADH ينتج عنه ما يعرف بالسكرى الكاذب، وهي حالة تتميز بارتفاع تركيز الصوديوم في الدم (Wang et al., 1991).



### III.2.1. آلية تأثير الإيثانول على توازن الإلكتروليتات

الاضطرابات في استقلاب المعادن والإلكتروليتات يمكن أن تحدث من خلال عدة آليات من بينها، الإسهال، القيء والنظام الغذائي الغير كافي. الاستهلاك المزمن للإيثانول يؤدي إلى انخفاض تركيز الشوارد الرئيسية في الدم ( $Mg^{+}, Na^{+}, Ca^{+}$ ) (Cecchin & De Marchi, 1996).

يساهم الـ EtOH في زيادة تركيز الأنسولين في الدم، وفرط التهوية وزيادة القاعدية في الجهاز التنفسي و كذلك رفع المساهمة العالية للأدرينالين على المستوى البلازمي في نقص البوتاسيوم (Hypokalaemie)، نقص المغنيزيوم (Hypomagnesaemia)، نقص الكلس (Hypocalcaemia) ونقص الفوسفات في الدم (Hypophosphataemia)، عن طريق تشجيع حركة الأيونات في الخلايا (Cecchin & De Marchi, 1996).

الخلل الوظيفي للأنايب الكلوية الناتج عن الإيثانول يساهم في حدوث تغيرات في التركيبة الأيونية المصلية لعدم قدرتها على تنظيم و استرجاع الأيونات التي تم خسارتها، كما تؤدي اضطرابات الشوارد إلى أخطار مهددة لحياة مرضى الكلى (Cecchin & De Marchi, 1996).

ينتج عن نقص البوتاسيوم في الدم عدم الانتظام في ضربات القلب، بينما نقص المغنيزيوم يؤدي إلى ضعف عام في العضلات، أما بالنسبة لنقص الفوسفات فيؤدي إلى انحلال عضلي، اضطرابات على مستوى الدماغ، نوبات غيبوبة، انقطاع التنفس و أحيانا شلل (Cecchin & De Marchi, 1996).

### III.2. تأثير الإيثانول على ATP-ase

يحدث الإيثانول إختلالات وظيفية متعددة على مستوى الأنايب الكلوية، هاته التغيرات الناجمة عنه تستهدف مكونات أغشية الخلايا الطلائية المبطنة للأنايب، وكذلك عملية الأكسدة الفوقية للدهون على مستواها (Das & Vasudevan, 2008).

يتداخل الـ EtOH مع وظيفة الناقل  $\text{Na}^+ / \text{K}^+\text{ATP-ase}$  عن طريق تقليل نشاط هذا الأخير. بينما يعزز هذا النشاط في حال الاستهلاك المزمن للإيثانول، فهو يتوافق مع زيادة احتباس  $\text{Na}^+$  في الكلية (Das & Vasudevan, 2008).

يمكن شرح آلية التعزيز الناجم عن الإيثانول على  $\text{Na}^+ / \text{K}^+\text{ATP-ase}$  للكلية، من خلال زيادة الوحدات التحفيزية. بحيث يؤثر الـ EtOH على انتقائية هذا الناقل لشوارد  $\text{Na}^+$  أو  $\text{K}^+$ ، حيث يعزز تقارب  $\text{Na}^+$  ومواقع  $\text{K}^+$  أو تقليل التقارب بين  $\text{K}^+$  و المواقع الخاصة بها (Rothman et al., 1994). يتأثر نشاط وحدات  $\text{Na}^+ / \text{K}^+\text{ATP-ase}$  الخاصة بالغشاء البلازمي لخلايا الأنابيب القريبة بشكل مختلف بالإيثانول (Rothman et al., 1992).

بالإضافة إلى أن الإيثانول يُنقص من نشاط  $\text{Na}^+ / \text{K}^+\text{ATP-ase}$ ، كذلك فهو ينقص من إعادة الامتصاص الأنبيبي للكالسيوم (Moses et al., 2001).

### 3.III. تأثير الإيثانول على حمض الفوليك (الفيتامين ب 9)

يُسبب الإستهلاك المزمن للإيثانول انخفاض مستويات حمض الفوليك في البلازما وزيادته في البول، وبالتالي يساهم بصفة عامة في تطور نقص هذا الفيتامين (Ross & Mcmartin, 1996). يُنقل حمض الفوليك عبر غشاء الخلايا الطلائية للأنابيب الكلوية وهذا ليتم إعادة امتصاصه والحفاظ على توازنه في الجسم (Hamid & Kaur, 2006). تناول الإيثانول بصفة مزمنة يؤدي إلى إختلالات على مستوى غشاء الخلايا الكلوية، عن طريق إحداث تغيرات هيكلية ووظيفية في الطبقة الثنائية الفوسفوليبيدية (Elgavish & Elgavish, 1985)، زيادة على ذلك يؤثر الـ EtOH على بروتين ربط حمض الفوليك المتواجد على مستوى الحافة المشطية للخلايا الطلائية المبطننة للأنابيب المتوية القريبة وبالتالي التأثير على إعادة امتصاصه على مستوى الكلية واستقلابه (Ross & Mcmartin, 1996).

يتداخل الـ EtOH مع حالة الروابط الكبريتية الحساسة لدرجة الحرارة،  $\text{Na}^+$  وعلى التبادل الكاتيوني لعملية النقل، كما تعتمد هذه الأخيرة على درجة الحموضة، لكن ليس للإيثانول أي تأثير على

درجة الـ pH المُثلى لنقل حمض الفوليك، مع ذلك تتأثر عملية الامتصاص الكلي له (Hamid & Kaur, 2006).

يؤثر الـ EtOH مباشرة على مخزون الـ 5-CH<sub>3</sub>-H<sub>4</sub>PteGlu في الكلية (Collins et al., 1992)، ويُخفض من تراكم التايمين على مستواها و ذلك عن طريق تثبيط فسفرة التايمين إلى فوسفات التايمين (Mahajan & Acara, 1994).

#### 4.III. الإجهاد التأكسدي الناتج عن الإيثانول

يمتلك الكحول قدرة إحداث تغييرات على مستوى العضوية سواء بشكل مباشر عن طريق التأثير بالإيثانول نفسه، أو عن طريق تأثير غير مباشر والذي يكون بواسطة كميات مفرطة من المنتجات التي يتم تشكيلها عند استقلابه (الجزور الحرة (Ros)، NADH، الأسيثألديهيد)، كل هذه الاختلالات تؤدي إلى تلف الكلى (Zoltan, 2017).

تسبب الجزور الحرة تلفا خلويا (Cederbaem et al., 2009). يتمثل هذا التلف في كون أن هذه الـ Ros تهاجم وتدمر مكونات الخلية لتحث بها أضرار بالغة في مادتها الوراثية (ADN)، كما تهاجم الليبيدات وخاصة الأحماض الدهنية العديدة الغير مشبعة والتي تكون سهلة الأكسدة، حيث ينتج عنها الأكسدة الفوقية للبيدات، و بما أن الأغشية الخلوية غنية بهذه الأحماض الدهنية فأكسدتها تتلف التركيب البنوي للخلية، زيادة على ذلك، تستهدف البروتينات أيضا. لكن يمكن إزالة هذا التلف بواسطة مضادات الأكسدة، وهي عبارة عن مركبات تُنتج في الجسم وهي مهمة جدا في الدفاع عن الخلايا من التلف الناتج عن الـ Ros (Jones et al., 2000).

في حال اختلال التوازن بين الـ Ros و مضادات الأكسدة تنتج لدينا حالة إجهاد تأكسدي، حيث يسفر عنها العديد من الأضرار التي تسبب فقدان التكامل الوظيفي و حتى الموت الخلوي (Jones et al., 2000)، وهذه الحالة تحدث في الأنسجة المرتبطة بالإيثانول، بحيث تنتج في الكبد (Cederbaem et al., 2009)، القلب (Tan et al., 2012 ; Varga et al., 2015) و الكلى (Latchoumycandane, 2015).

يتورط الإجهاد التأكسدي في التسبب في مجموعة واسعة من الأمراض الكلوية، حيث تعتبر الكلية عضو معرض بدرجة كبيرة للتلف الناتج عن الجذور الحرة للأكسجين، ويرجع ذلك على الأرجح لوفرة الأحماض الدهنية غير المشبعة طويلة السلسلة في تكوين الدهون الكلوية (Das & Vasudeva, 2008). تنتج الجذور الحرة في الأعضاء من مصدرين، مصدر غير إنزيمي ناتج عن خلل في سلسلة الناقلات للإلكترونات في الميتوكوندري (Mantena et al., 2008 ; Gyamfi et al., 2012)، مصدر إنزيمي مثل: NADPH oxydase (Kono et al., 2000) و إنزيم Cyt 2 E 1، هذا الأخير له أهمية خاصة في الآليات المحتملة لتلف الكلى المرتبط بالكحول (Lu & Cederbaum, 2008).

وجد أنّ Cyt 2E1 يوجد بنسبة كبيرة في الكلى مقارنة بالكبد (Roberts et al., 1994 ; Zerilli et al., 1995)، هذا الكم الكبير من هذا الإنزيم على مستوى الكلية يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي، زيادة على ذلك يعدل الفوسفوليبيدات في الأنسجة الخلوية. هذه الأخيرة المعدلة قد تنشط بدورها الخلايا المناعية التي تدعى العدالات المحببة، والتي تزيد من تقاوم الإجهاد التأكسدي، و بالتالي تشوهات هيكلية على مستوى الكلية (Latchoumycandane, 2015).

### 5.III. تأثير الإيثانول على استقلاب الأحماض الدهنية و السيتوكروم p450

يُسفر عن الإستهلاك المزمن للإيثانول تغيرات على مستوى آلية استقلاب الأحماض الدهنية (Amet et al., 2000)، وذلك عن طريق زيادة أكسدة هذه الأخيرة بواسطة الميكروزومات والبيروكسيزومات الكلوية (Zawada et al., 1985). حيث ترتبط مدة الاستهلاك ارتباطاً وثيقاً بزيادة بروتين Cyp450 2E1 على مستوى الميكروزومات الكلوية (3 إلى 4 مرات في مدة شهر أو شهرين) (Amet et al., 2000).

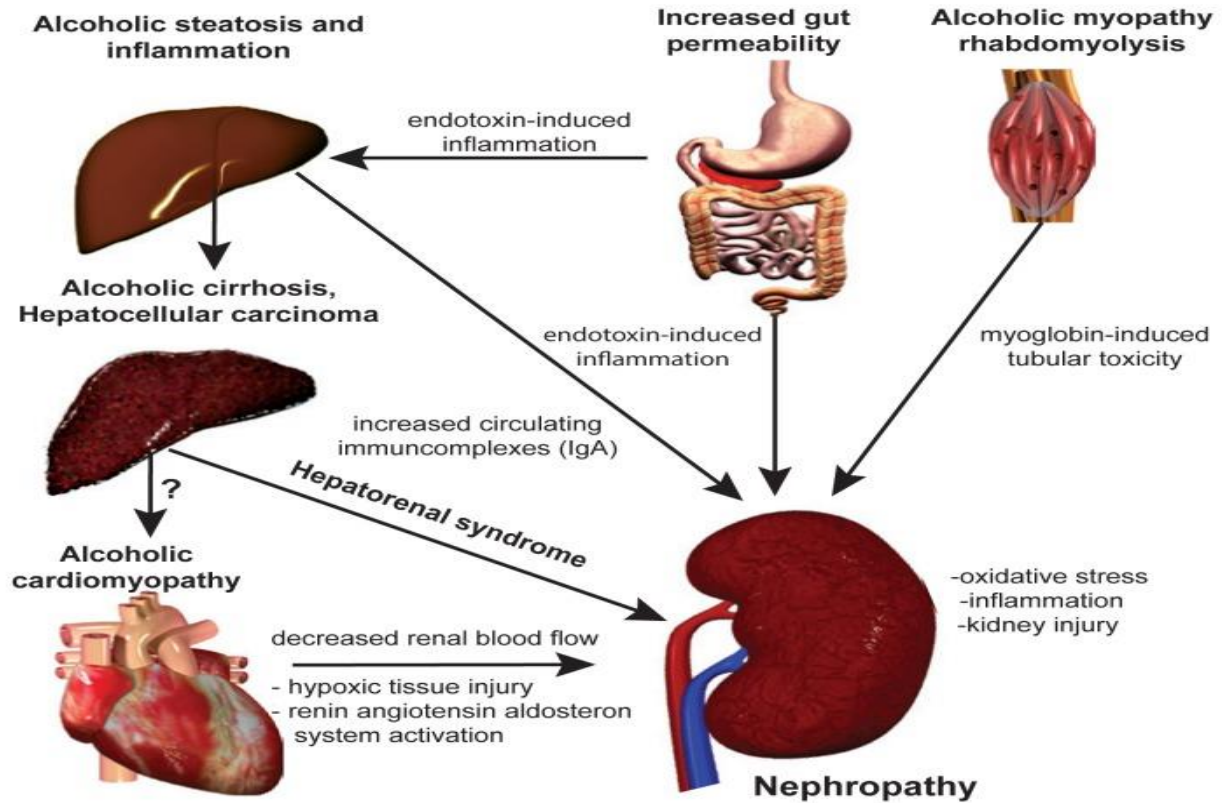
يزيد الـ EtOH المزمن من عملية طرح الأحماض الدهنية خارج الميتوكوندري، واستنفاد مخزون طلائع الـ prostaglandine في الكلية، بالإضافة إلى خفض منسوب حمض L'arachidounique وحمض docosahexaénoïque في الدهون الكلوية (Zawada et al., 1985).

يمكن للإيثانول أن يُشتت نوعاً ما عملية الأكسدة الإرجاعية في الكلية دون تثبيط لعملية تصنيع الجلوكوز، بينما في وجود حمض الأوليك الذي يتفاعل بدوره مع الـ EtOH تتم تثبيط عملية تخليق الجلوكوز على مستوى الكلية، وهذه العملية تعتمد على تركيز الأحماض الدهنية داخل الكلى (Crabb & Sidhu, 1993).

### 6.III. التأثير الغير مباشر للإيثانول على الكلية

بالإضافة إلى التغيرات المرضية المباشرة المحدثة على فيزيولوجيا الكلية نتيجة التناول المزمن للإيثانول، فإن إستهلاك هذا الأخير يؤدي إلى إصابات عميقة في العديد من الأجهزة الأخرى في الجسم والتي بدورها تزيد من التأثير الضار للـ EtOH ونواتج إستقلابه على الكلية. حيث من بينها زيادة نفاذية الجهاز الهضمي، وكذلك تحميل السموم الداخلية. ينتج عنه تشحم كبدي، والذي بدوره ينتج عنه زيادة مفرطة في الأجسام المضادة من نوع أ (Immunoglobuline A(IgA)) (زيادة الإفراز المعوي له و انخفاض إزالته بواسطة الكبد)، بحيث تتراكم رواسبه في الكلى محدثة اعتلالات على مستوى كبيبات هاته الأخيرة (Zoltan, 2017).

تلف العضلات الناتج عن التناول المتكرر للـ EtOH يؤدي إلى زيادة الميوجلوبين المنتشر في الدم، مما ينتج عن هذا الأخير زيادة الإجهاد التأكسدي والذي بدوره يتلف الأنابيب الكلوية. تطور اعتلالات القلب الناتج عن الكحول، يسبب تطور نقص الأكسجين الكلوي المزمن، وبالتالي يُنشط نظام الرنين - انجيوتنسين، حيث يؤدي هو الآخر إلى إنتاج المزيد من الجذور الحرة و انتشار المسارات الليفية (Zoltan, 2017).



الشكل 17: آلية التأثير الغير مباشر للإيثانول على الكلية (Zoltan, 2017).

### 7.III. تأثير الإيثانول على بعض الأعضاء الأخرى

#### 7.III.1. السمية الكبدية

عند الإنسان، يكون تركيز الأسيتالديهيد مرتفع ويؤدي إلى أضرار على مستوى العديد من الأنسجة، بحيث تظهر آثاره بصفة كبيرة على مستوى الكبد. لأن هذا الأخير يعتبر المسؤول الأكبر على تحويل الإيثانول (Doraa, 2004 ; ASNBQ, 2007).

تعرض الأمراض الكبدية بسبب الاستهلاك الكحولي المفرط والتي تتمثل في التشحم الكبدى، الإلتهاب الكبدى، والتليف الكبدى. قد يكون كل مرض من هذه الأمراض منفصل عن الآخر كما قد تكون هذه الأمراض مرتبطة مع بعضها البعض (Rueff, 1995 ; Zeitoun et al., 2011).

ينتج التشحم الكبدى أو التراكم الدهنى عن التغيرات المحدثة بواسطة الكحول فيما يخص إستقلاب الأحماض الدهنية، حيث يظهر بكمية كبيرة في الكبد. يوجد منه نوعان: التشحم الكبدى ذو الفجوات الكبيرة macrovacuolaire والتشحم الكبدى ذو الحويصلات الصغيرة microvésiculaire. التراكم الدهنى

من مصدر كحولي هو في الغالب يكون من نوع macrovacuolaire ونادرا جدا ما يكون من النوع الثاني (Nasrallah, 2004 ; Maëlys, 2015).

التليف الكبدي: هو الذي يشكل الخطر الأكبر، والذي يحدث في حالة الشخص الذي يستمر في استهلاك الكحول، بحيث يتم اجتياح الأنسجة الكبدية عن طريق التليف مما يدمر بنية الكبد ويمكن أن يتسبب في وجود عقيدات شاذة، بمجرد أن يستقر التليف في الكبد لا يمكن التخلص منه فقد يبقى مستقر أو يتطور (Nasrallah, 2004 ; Maëlys, 2015).

### III.7.2. السمية العصبية

يملك الدماغ حساسية عالية وضعف اتجاه الكحول. بحيث تظهر العديد من المضاعفات، سواء مركزيا أو محيطيا (ASNBO, 2007 ; Dorra, 2014). على مستوى المخ، يكون للكحول أثر على ميوعة الأغشية وعلى النواقل العصبية، بحيث أن التغيير الوظيفي الخلوي يعتمد على الجرعة و يكون له آثار على القنوات الأيونية، النواقل العصبية (الغلوتامات، الـ GABA) و مستقبلاتها وكذلك على تنظيم التعبير الجيني (Littleton et al., 2004 ; Gonezn, 2014).

### III.7.3. السمية القلبية

يمكن معرفة التأثيرات الكحولية على نظام القلب والأوعية الدموية، من خلال دراسة تأثير استهلاك الكحول على مستوى عوامل الخطر القلبية الوعائية الرئيسية، وكذلك توجد عوامل أخرى تتدخل في هيوموستازيا الأوعية الدموية. يمكن أن يسبب الـ EtOH حدوث اعتلال عضلة القلب، وعدم انتظام ضرباته وكذلك التهاب الشرايين في الأطراف السفلى (INSERME, 2001).





## I. وسائل وطرق العمل

### 1.I. المواد المستعملة

#### I. 1. 1. المادة النباتية

استعملت في هذه التجربة نبتتان طبيتان تنموان بمنطقة بوسعادة، حيث تجمع و تُغسل العينات و تُجفف في الهواء الطلق بعيدا عن أشعة الشمس (في الظل). بعدما تجف، يتم طحن الجزء الهوائي فيها و يُخزن في أوعية مُحكمة الغلق، و تُوضع في مكان محمي من الضوء والحرارة وذلك قبل استخدامها.

#### I. 1. 2. الحيوانات المستعملة

في هذه الدراسة قمنا باستعمال جردان ذكور من نوع Albinos wistar (36جرذ). يتراوح وزنها ما بين 250 غ – 300 غ (في بداية التجربة)، تمت تربيتها والإعتناء بها على مستوى مستودع الحيوانات لمعهد العلوم الطبيعية والحياة لجامعة منتوري قسنطينة 1 مع توفير الظروف الملائمة من حرارة و رطوبة و تغذية.

#### I. 1. 3. الكواشف

✓ المذيبات العضوية المستعملة في مختلف أجزاء هذه الدراسة: الميثانول (méthanol)، الكلوروفورم (chloroforme)، acétate d'éthyle و n-butanol المقتناة من Sigma-aldrich، الإيثانول من Honeywell.

✓ الأحماض: acide sulfurique، acide trichloroacétique (TCA)، acide gallique المشتراة من Sigma-aldrich.

✓ المتفاعلات الكيميائية: B hydrazyl، diphenylpicryl (DPPH)، ammonium molybdate، trichlorure d'aluminium و folin-ciocalteu المقتناة من UCB Belgique و ferricyanide de Potassium من Sigma-aldrich.

✓ الأملاح: bicarbonate de sodium من Vel، chlorure de Sodium من Honeywell، phosphate de potassium phosphatedibasique من Sigma-aldrich، potassium monobasique من Fluka.

✓ استعملت مواد كيميائية أخرى: chlorure ،quercetine ، Chlorure de potassium.(butylhydroxytoluèneBHT) من Vel ، acétate ، sodium ،Merck من aluminium chlorure ،Chiminova ، de sodium ،Sigma-aldrich من TRIS و phosphate monobasic .

#### 4. 1.1. I. الأجهزة

- ✓ جهاز الطرد المركزي Sigma 3K30 .
- ✓ جهاز الـpH متر Hanna .
- ✓ جهاز المطياف الضوئي Jenway 7305 .
- ✓ جهاز الحمام المائي .
- ✓ جهاز السحق (T25) IKA-Labortechnik .
- ✓ ميزان دقيق Ohaus .
- ✓ ميزان غير دقيق KEERN .
- ✓ خلاط كهربائي مزود بسخان IKA .

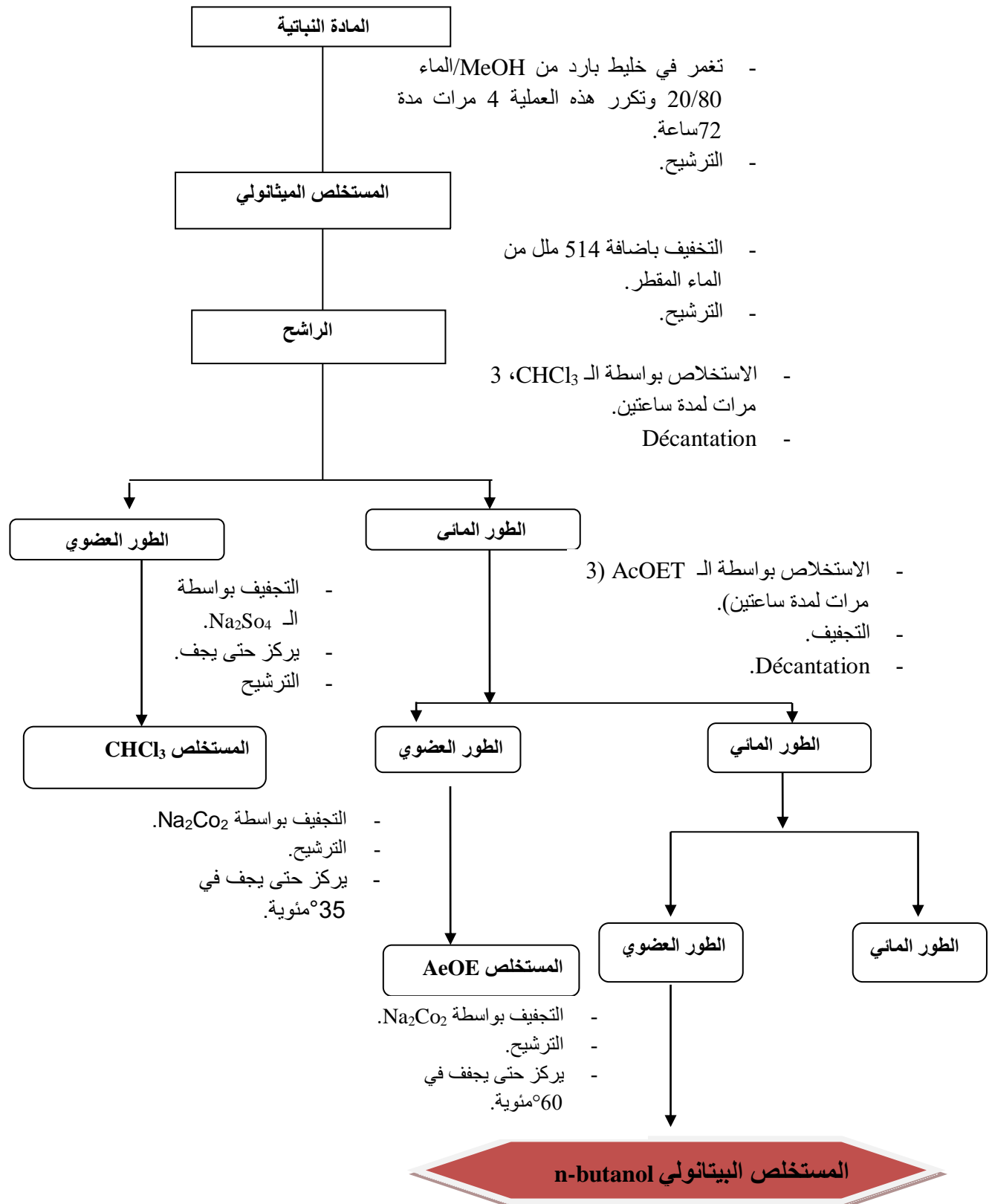
#### 2. I. طرق العمل

أجريت هذه الدراسة على قسمين، قسم يخص الدراسة المخبرية *in vitro* لإظهار الدور المضاد للأكسدة بالنسبة للنببتين، أما القسم الثاني، يُعنى بالعمل التجريبي *in vivo* الذي تم فيه التطبيق المباشر على الجرذان التجريبية لأثبتات الدور الوقائي للنبتة (ب).

#### 1.2.I. الدراسة المخبرية *IN VITRO*: إظهار الدور المضاد للأكسدة للنببتين

##### 1.1.2.I. تحضير المستخلص البيتانولي للنببتين

المراحل المختلفة المتبعة في عملية تحضير المستخلص البيتانولي للنببتين والتي تمت على مستوى وحدة البحث: تثمين الموارد الطبيعية والبيولوجية، كلية العلوم الدقيقة لجامعة منتوري، حيث تمت عملية الاستخلاص وفق المخطط التالي:



الشكل 18: مراحل تحضير المستخلص البيتانولي للنباتين (Harborne, 1967).

## 2.1.2.I طرق التقدير الكمي للفينولات

### أ. تقدير البوليفينول الكلي

يعتمد التقدير الكلي للبوليفينول على طريقة استعمال الكاشف Folin-Ciocalteu الذي تم وصفه من قبل Singleton et Rossi سنة 1965. منذ ذلك الحين، أصبح استعماله منتشر على نطاق واسع وذلك من أجل تمييز المستخلصات النباتية ذات الأصول الأكثر تنوعاً.

#### ✓ المبدأ

كاشف الـ Folin-Ciocalteu هو حمض ذو لون أصفر يتكون من خليط مشكل من *acide phosphotungstique* ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) و *acide phosphomolybdique* ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). يتم إختزاله أثناء أكسدة الفينولات إلى خليط من *oxyde bleu de tungstène* و الـ *molybdène* (Ribéreau, 1968). يتناسب اللون الناتج مع كمية البوليفينول المتواجدة في المستخلصات النباتية بحيث يكون أقصى إمتصاص له ما بين 760-765 نانومتر (Boizot & Charpentier, 2006).

#### ✓ طريقة التقدير

يتم تقدير البوليفينول الكلي مطيافياً، وذلك وفقاً للبروتوكول التطبيقي من قبل Wong ومساعديه سنة 2006. يُحضر وسط تفاعلي يتم فيه خلط 125 ميكرو لتر من مستخلص النباتات المخفف في الميثانول مع 500 ميكرو لتر من الماء المقطر و125 ميكرو لتر من الكاشف Folin-Ciocalteu، ثم يضاف لهذا الوسط بعد 5 دقائق 1250 ميكرو لتر 2% من كربونات الصوديوم و1000 ميكرو لتر من الماء المقطر. بعد حضانة الخليط التفاعل لمدة 90 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة وفي الظلام، يتم قياس الإمتصاص عند الطول الموجي 760 نانومتر.

يتم تجسيد منحنى المعايرة بواسطة حمض الغاليك بتركيزات مختلفة ( 0 - 500 ميكروغرام/ مل) و ذلك في نفس الظروف ونفس خطوات التقدير ويعبر عنه بالملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل 1 غرام من الوزن الجاف للمستخلص، تكرر جميع القياسات 3 مرات.

### ب. التقدير الكلي للفلافونويدات

#### ✓ المبدأ

يعتمد تقدير محتوى الفلافونويدات للطور n-butanolique للنببتين على تجسيد طريقة trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) (Quittier et al., 2000). يرجع ظهور اللون الأصفر في هذه الطريقة إلى تشكل معقد بين chlorure d'aluminium وذرات الأكسجين الموجودة على الكربونات 4 و 5 في الفلافونويدات.

#### ✓ طريقة التقدير

باختصار، 1 مل من المستخلص المحضر في الميثانول يضاف إلى 1 مل من الـ AlCl<sub>3</sub>-6H<sub>2</sub>O (Solution méthanolique)، بعد ساعة من التفاعل، يُقرأ الإمتصاص عند 415 نانومتر.

يُجسد منحنى المعايرة بواسطة الكرسيتين، بتركيزات مختلفة (0 – 100 ميكروغرام/ مل). في نفس الشروط ونفس مراحل التقدير. يتم التعبير كذلك عن النتائج بالملغ المكافئ للكرستين من الوزن الجاف للمستخلص. تتكرر كل القياسات 3 مرات.

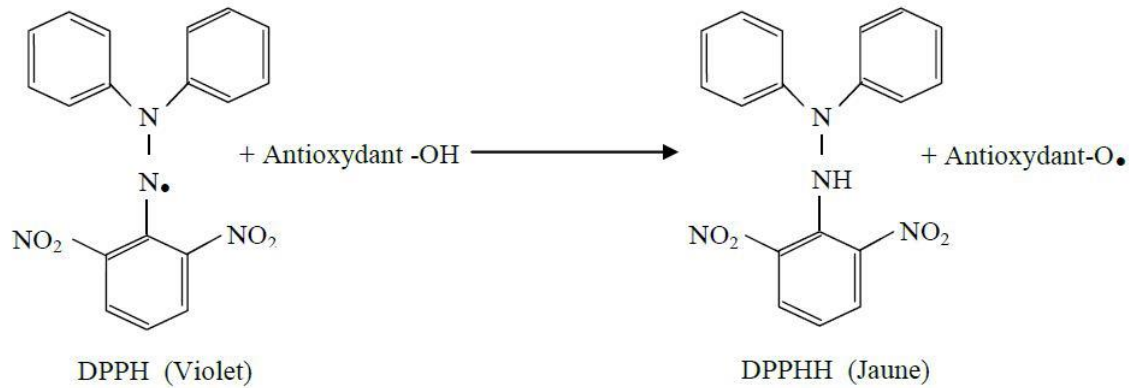
### 2.1. 3. طريقة تقدير الأنشطة المضادة للأكسدة

#### أ. اختبار الـ DPPH : دراسة الفعل الآسر للمستخلص النباتي للجذر الحر DPPH

#### ✓ المبدأ

إختبار الـ DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) هو طريقة تستخدم على نطاق واسع في تحليل النشاط المضاد للأكسدة.

في الواقع، يتميز الـ DPPH بقدرته على إنتاج جذور حرة مستقرة. يرجع هذا الإستقرار إلى تغير مكان الإلكترونات الحرة المتضمنة داخل الجزيء. وجود جذور DPPH يعطي اللون البنفسجي الداكن للمحلول، واختزالها بواسطة عامل مضاد للأكسدة يؤدي إلى تغير لون المحلول (Molyneux, 2004). يمكن اتباع التغير اللوني فوتومتريا، عند الطول الموجي 517 نانومتر، وبهذه الطريقة يمكن لمضادات الأكسدة لمادة أو لمستخلص أن تحدد (Popovici et al., 2010 ; Molyneux, 2004).



**شكل 19: معادلة DPPH الجذرية وتحولها إلى DPPH (Talbi et al., 2015).**

#### ✓ طريقة التقدير

تم تقييم هذا الإختبار وفقا للبروتوكول المطبق في سنة 2007 من قبل Kuramasamy ومساعديه. باختصار، 1 مل من محلول ميثانولي من DPPH (0,2 مل مول) مع 1 مل من مختلف التخفيفات من المستخلصات النباتية (0 - 1 ملغ/مل)، بعد ذلك يتم الإحتفاظ بالمزيج الناتج بعيدا عن الضوء وفي درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة، ثم يقاس الإمتصاص عند الطول الموجي 517 نانومتر، وهذا ضد الأنبوب الشاهد الذي يتكون من 1 مل من محلول DPPH و 1 مل الميثانول.

تُحضر كل من العينات والشواهد (حمض الأسكريك) والأنبوب blanc في نفس الشروط

التجريبية.

يقاس إنخفاض الإمتصاص في جهاز المطياف الضوئي ويتم حساب (PI% نسبة التثبيط) حسب

العلاقة التالية:

$$PI\% = DO \text{ de blanc} - DO \text{ de l'échantillo} / DO \text{ de blanc} \times 100$$

يسمح تحقيق حركية هذا النشاط بتحديد التركيزات التي تتوافق مع تثبيط 50% من (IC50)،

بحيث أن أدنى قيمة لـ IC50 تتوافق مع كفاءة أقصى قيمة للمستخلص. يعبر عن قيمة IC50 بالميكروغرام/مل (تكرر 3 مرات بالنسبة لكل تركيز).

### ب. اختبار الـ (PPM) (phosphomolybdate): تحديد القدرة الكلية لمضادات الأكسدة

اختبار الـ PPM هو بديل لإختبار DPPH. خلال هذا الإختبار، يتم نقل كل من الهيدروجين

والإلكترون من مركب مختزل (مضاد الأكسدة – المستخلص) إلى معقد مؤكسد (PPM). هذا النقل يعتمد على احتمالية الأكسدة، درجة الحموضة للوسط و بنية مكونات مضادات الأكسدة.

#### ✓ المبدأ

يعتمد هذا الإختبار على اختزال الـ molybdène MO (VI) المتواجد على شكل أيونات

الـ-molybdate  $MoO_4^{2-}$  إلى  $MoO^{2+}$  (V) molybdène MO (V) وهذا في وجود المستخلص أو عامل مضاد

الأكسدة. يتحقق هذا الإختزال بواسطة تشكل معقد مُخضر (phosphat MO(V)) وذلك في درجة حامضية

من الـ pH (Priteto et al., 1999). تقاس الزيادة في لون معقد الـ molybdène VI في وجود مضادات

الأكسدة. على عكس الإختبارات الأخرى، هذا الاختبار لا يسمح فقط بتدعيم نشاط مضادات الأكسدة في

البوليفينولات ولكن أيضا لمركبات أخرى مضادة للأكسدة مثل: فيتامين C، E... الخ.

#### ✓ طريقة التقدير

تتوقف هذه الطريقة على القيام بوضع 200 ميكرو لتر من المستخلص بتركيزات مختلفة في

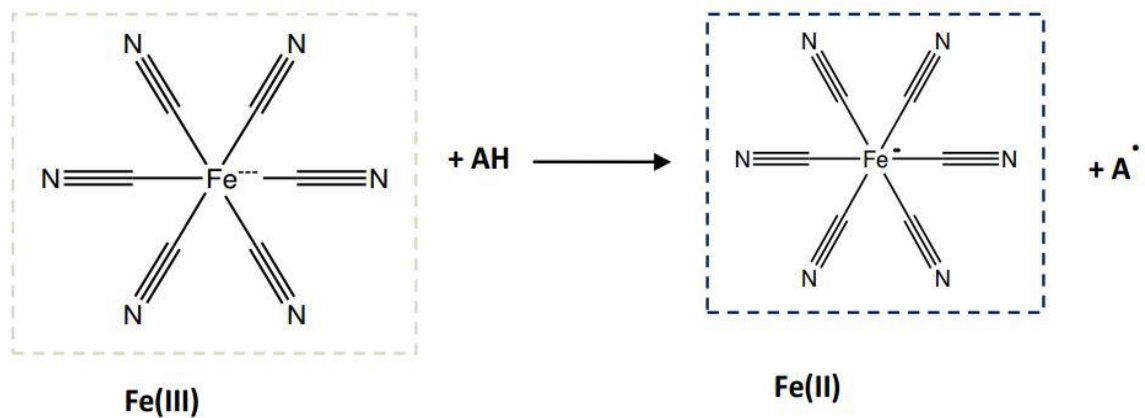
أنبوب والتي تمزج مع 200 ميكرو لتر من كاشف يتكون من (6,0 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> مول) ومن (4 Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 28 مل

مول) و (molybdate d'ammonium) (4 مل مول)، ثم يتم إغلاق وحضن الأنبوب عند 95 درجة مئوية لمدة 90 دقيقة. بعد التبريد، يتم قياس الامتصاص عند الطول الموجي 695 نانومتر. كما يحتوي الأنبوب الشاهد على 200 ميكرو لتر من الميثانول يمزج مع 2000 ميكرو لتر من الكاشف المذكور أعلاه. يتم حضن كل من العينات والشواهد في نفس الشروط، كما يتم التعبير عن النتائج المتحصل عليها بالملغ المكافئ لحمض الأسكربيك لكل غرام من المادة الجافة للمستخلص.

### ج. تقدير القدرة الإختزالية « FRAP » pouvoir réducteur

#### ✓ المبدأ

تعتمد طريقة FRAP على إختزال أيون الحديدك ( $Fe^{3+}$ ) إلى أيون الحديدوز  $Fe^{2+}$ . تعمل هذه الطريقة على تقييم القدرة الإختزالية للمركبات (Ou et al., 2001). وجود عوامل الإلتزان (AH) في المستخلصات النباتية يحفز إختزال  $Fe^{3+}/\text{complex ferricyanide}$  إلى الحديدوز. لذلك يمكن تقييم هذا الأخير وذلك بقياس ومراقبة الزيادة في كثافة اللون الأزرق السماوي وسط التفاعل وهذا عند الطول الموجي 700 نانومتر (Chung et al., 2002). في الواقع، يمنح نظام  $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$  للطريقة حساسية من أجل تحديد « نصف- كمي » لتراكيز مضادات الأكسدة، التي تشارك في تفاعل الأكسدة والإختزال (Amarowicz et al., 2004).



الشكل 20: آلية التفاعل أثناء اختبار FRAP بين معقد ferric cyanide Fe (III) ومضادات الأكسدة (AH).



## ✓ طريقة التقدير

يعتمد البروتوكول المستعمل في المخبر على ذلك الذي تم وضعه من قبل Oyazu (1986). في أنبوب اختبار زجاجي يحتوي على 200 ميكرو لتر من محلول العينة بتركيزات مختلفة. يتم إضافة 500 ميكرو لتر من منظم الفوسفات (0,2 مول و درجة حموضة 6,6)، ثم إضافة 500 ميكرو لتر من potassium hexacyanoferrate [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] 1% في الماء المقطر، يتم تسخين المزيج السابق عند درجة حرارة 50 درجة مئوية في حمام مائي لمدة 20 دقيقة. ثم يتم إضافة حجم من acide trichloracétique (10%) يقدر بـ 500 ميكرو لتر. يتم الطرد المركزي للخليط عند 3000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق، يُنقل مباشرة 500 ميكرو لتر من الطافي في أنبوب مغاير يُضاف إليه 500 ميكرو لتر من الماء المقطر و100 ميكرو لتر من (1% FeCl<sub>3</sub>).

يتم تحضير أنبوب blanc الذي يكون خال من العينة ويحضر في نفس الظروف بحيث يستبدل المستخلص بالميثانول.

يتم قراءة الامتصاص من وسط التفاعل عند الطول الموجي 700 نانومتر ضد أنبوب blanc محضر في نفس الشروط

### 2.2.I. الدراسة التجريبية *IN VIVO*: الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبته (ب) على

مؤشرات السمية الكلوية المُحرّضة بواسطة الإيثانول لدى الجرذان

#### 1.2.2.I. معاملة الحيوانات

من أجل دراسة الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبته (ب)، التي تم الإعتماد عليها انطلاقاً من نتائج الدراسة *in vitro* و السمية الكلوية المستحدثة بواسطة التناول المزمن للإيثانول، تُقسم الجرذان إلى 6 مجموعات متماثلة تقريباً من حيث الوزن.

خلال فترة الدراسة تم وضع الحيوانات في أقفاص بلاستيكية ذات غطاء حديدي يحوي كل قفص 3 جرذان، تم استعمال رضاعات من البلاستيك للشرب، مع الحرص على المراقبة اليومية وتأمين الماء

والغذاء والحفاظ على نظافة الأقفاس وذلك عن طريق غسلها بالماء والجافيل وتغيير النجارة كل يومين خلال فترة التجربة، كل هذا كان في درجة حرارة من 20° إلى 22°م و رطوبة تقدر ب 45.

استغرقت فترة المعاملة مدة 15 يوم، بحيث تم إعطاء جرعات الإيثانول والمستخلص النباتي عن طريق الفم باستعمال إبرة خاصة لكل منهما و ذلك على النحو التالي:

● **المجموعة الأولى (S):** المجموعة الشاهدة السليمة: تضم 6 جرذان، تم إعطائها جرعة من الماء الفيزيولوجي (4 مل/ كغ) (0.9 NaCl %)، و بعد ساعة تُعطى جرعة من الماء المقطر (12 مل/ كغ) عن طريق الفم وذلك كل صبيحة خلال 15 يوم.

● **المجموعة الثانية (S+P100):** حيوانات سليمة + مستخلص النبتة (100ملغ/ كغ): تتكون من 6 جرذان، حيث تتلقى هي الأخرى كل صبيحة جرعة تُقدر ب 100ملغ/ كغ من المستخلص النباتي و بعد ساعة يقدم لها جرعة من الماء المقطر على طول فترة التجربة وعن طريق الفم.

● **المجموعة الثالثة (S+P200):** حيوانات سليمة + مستخلص النبتة (200ملغ/ كغ): تتكون من 6 جرذان حيث تتلقى هذه المجموعة كل صبيحة و عن طريق الفم جرعة بمقدار 200ملغ/ كغ من المستخلص النباتي و بعد ساعة يُقدم لها جرعة من الماء المقطر على طول فترة التجربة.

● **المجموعة الرابعة (EtOH):** مجموعة معاملة بالإيثانول: تضم 6 جرذان يتم كل صبيحة إعطائها جرعة من الماء الفيزيولوجي و بعد ساعة تُعطى جرعة من الإيثانول (3غ/ كغ و درجة النقاوة 30%) عبر المجرى الفموي طول فترة التجربة (15 يوم).

● **المجموعة الخامسة (ET+P100):** مستخلص النبتة (100ملغ/ كغ) + إيثانول (3غ/ كغ): تحتوي على 6 جرذان، تُعطى جرعة من المستخلص تقدر ب 100ملغ/ كغ و بعد ساعة تُعطى جرعة من الإيثانول (3غ/ كغ) عن طريق الفم كل صبيحة لمدة 15 يوم.

• المجموعة السادسة (ET+P200): مستخلص النبتة (200ملغ/ كلغ) + إيثانول (3غ/

كلغ): تحتوي على 6 جرذان، تُعطى جرعة من المستخلص تقدر بـ 200ملغ/ كلغ وبعد ساعة

تُعطى جرعة من الإيثانول (3غ/ كلغ) عن طريق الفم كل صباح لمدة 15 يوم.

## I. 2. 2.2. تشريح الحيوانات وأخذ العينات

### أ. سحب الدم

عند نهاية التجربة، تُصوم الجرذان لمدة 12 ساعة، وفي صباح اليوم السادس عشر تم تشريح

الحيوانات و ذلك بعد تخديرها بواسطة مادة الكلوروفورم. يتم سحب الدم من الوريد الباطني الكبدي

باستعمال حقنة ووضعها بعد ذلك في أنابيب جافة، تُترك الأنابيب لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة، ثم

بعد ذلك تُوضع عينات الدم في جهاز الطرد المركزي بسرعة تقدر بـ 6000 دورة/ لمدة 15 دقيقة في

4°م، ويستعمل المصل في معايرة المؤشرات البيوكيميائية (الكرياتينين، اليوريا، حمض اليوريك،

الألبومين و الشوارد).

### ب. استئصال الأعضاء

بعد سحب الدم من الجرذان حتى موتها (Euthanasie)، تستأصل الأعضاء التالية: الكبد، الكلى،

القلب و الدماغ. يُنظف و يُغسل كل عضو بالماء الفيزيولوجي البارد (0.9 NaCl %)، يُجفف جيدا

باستعمال ورق wattman، و يتم وزنه بعد ذلك.

يتم تجزئة كل من الكبد، القلب و الدماغ إلى قطع ووضعها في أنابيب، هذه الأخيرة توضع في

المجمد في درجة حرارة - 20°م، لتستعمل لاحقا في دراسات أخرى.

تجزأ الكلى هي الأخرى إلى قطع صغيرة، يتم وزنها ووضعها في أنابيب اختبار لتستعمل في هذه

التجربة.

## I. 3.2.2.1. تحضير المجنس النسيجي الكلوي (L' homogénat) (10%)

نأخذ قطعة من الكلية (0.5غ)، تعلق في محلول KCl (1.15%) (5 مل) البارد، يتم سحقها

بواسطة السحق الكهربائي للحصول على مجنس متجانس، بعدها يوضع في جهاز الطرد المركزي

بسرعة 3000 دورة/ لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة 4°م ليستعمل الناتج في معايرة الأكسدة الفوقية للبيدات (malonyldialdehyde MDA).

#### 4.2.2.I طريقة الحصول على السيتوزول الكلوي (La fraction cytosolique)(10%)

يخلط جزء من الكلية 0.5 غ مع حجم 5 مل من المنظم Tris-HCl-EDTA (0.1 Mm, pH 7.6) ثم يسحق بواسطة جهاز السحق، وبعدها يوضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة /لمدة 15 دقيقة، بعدها يسترجع الطافي، ويوضع مرة أخرى في جهاز الطرد المركزي لمدة 45 د وبسرعة 10000 دورة/ دقيقة، عند درجة حرارة 4°م للحصول على الطبقة السيتوزولية لإستعمالها في قياس المؤشرات التالية : CAT، SOD، GST، GP<sub>x</sub>.

#### 5.2.2.I معايرة المؤشرات البيوكيميائية (معايرة مؤشرات السمية الكلوية)

تمت معايرة كل من الكرياتينين، اليوريا، حمض اليوريك و الألبومين وتراكيز ايونات الصوديوم (Na<sup>+</sup>)، البوتاسيوم (K<sup>+</sup>) و الكلور (Cl<sup>-</sup>)، على مستوى مستشفى حي البير (بوزراع صالح) بقسنطينة بالإعتماد على مشخصات الـ Kit.

##### أ. الكرياتينين

تقدير الكرياتينين كان بالإعتماد على الـ Kit الذي تم اقتناؤه من Biomaghreb و على أساس أنه في الوسط القاعدي يتفاعل الكرياتينين الموجود في العينة مع البيكرات مكوناً معقد كرياتينين – بيكرات، حيث يقاس الامتصاص عند طول الموجة 492 نانومتر، بحيث أن زيادة الامتصاص تتناسب طرداً مع تركيز الكرياتينين في العينة.

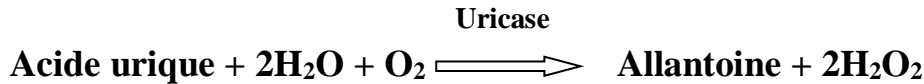
##### ب. اليوريا

كان التقدير بالإعتماد على مشخصات الـ Kit من نوع Erba (UREA 275)

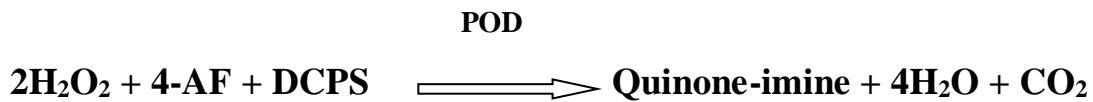
### ج. حمض اليوريك

يتم تقدير حمض اليوريك بالاعتماد على مشخصات الـ Kit المشتري من Spinreact (Ref:1001010-20)، وفقاً لمبدأ التفاعل التالي:

يتأكسد حمض اليوريا عن طريق انزيم الـ uricase ليعطي مركب الـ Allantoine و بيروكسيد الهيدروجين (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) وفق المعادلة التالية:



بيروكسيد الهيدروجين المُتشكل في المرحلة الأولى في وجود إنزيم الـ Peroxidase (Pod) و مركب الـ 4-aminophénazone (4-AF) و 2-4Diclorophénol sulphonate (DCPS)، يُعطي معقد وردي اللون وفق المعادلة التالية:



كثافة الـ Quinone-imine الأحمر المُتشكل تتناسب مع تركيز حمض اليوريك المتواجد في العينة المختبرة، تقاس درجة الامتصاص عند طول موجي 520 نانو متر.

### د. الألبومين

تم التقدير بالاعتماد على مشخصات الـ Kit من نوع ( Erba (ALB 440, REF : XSYS 0001

### هـ. تقدير تركيز Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>

تم تقدير أيونات Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> باستخدام مشخصات الـ Kit المقتنى من Erba (Erba Iyte (QCSolution, REF : ReG 00001.

### 6.2.2.I. معايرة المؤشرات الإنزيمية للإجهاد التأكسدي

#### أ. تقدير تركيز الـ Malondialdéhyde (MDA)

يعتبر الـ MDA أحد المنتجات النهائية المتشكلة أثناء عملية الأكسدة الفوقية للأحماض الدهنية غير المشبعة طويلة السلسلة.

في هذه الدراسة تم قياس نسبة الـ MDA في الكلية بالإعتماد على طريقة Ohkawa et al., (1979)، حيث يعتمد هذا الإختبار على التفاعل بين جزيئة MDA و جزيئتين من TBA، وذلك في وسط حامضي ودرجة حرارة 100°م، بحيث يمكن استخلاص ناتج التفاعل بواسطة مذيب عضوي، مثل الكحول البيتانولي (n-Butanol)، ويمتص الناتج ذو اللون الوردي عند طول موجة 530 نانومتر.

#### ✓ طريقة المعايرة

في أنبوب زجاجي يتم وضع 0.5 مل من TCA (25%)، ثم يضاف له 1 مل من TBA (0.67%)، بعد ذلك نضيف 0.5 مل من المجنس النسجبي الكلوي، بعدها يتم حضنها في الحمام المائي على درجة حرارة 100°م لمدة 30 دقيقة، يتم اخراج الأنابيب فيما بعد لتوضع في حمام جليدي لتبريدها. ثم يضاف لها 4 مل من الكحول البيتانولي، يتم وضعها بعد ذلك في جهاز الطرد المركزي على سرعة 3000 دورة/ لمدة 10 دقائق ودرجة حرارة 4°م. وهذا مقارنة بأنبوب الشاهد السلبي (Tube Blanc) الذي وضع فيه 0.5 مل من TCA (25%)، يضاف له 1 مل من TBA (0.67%)، بعدها يتم وضع 0.5 ماء مقطر.

عند انتهاء عملية الطرد المركزي تُترك الأنابيب لمدة 15 د على درجة حرارة الغرفة، بعدها تُقرأ الطبقة الطافية على طول موجة 532 نانومتر.

#### 7.2.2.I. معايرة المؤشرات الإنزيمية للإجهاد التأكسدي

##### أ.معايرة الـ Catalase (CAT)

نشاط إنزيم الـ CAT يتم تقديره بالإعتماد على طريقة Abie (1984). هذه الطريقة تستند على خاصية الـ CAT في هدم بيروكسيد الهيدروجين، تتم القراءة بصورة مستمرة لمدة دقيقتين، على طول موجي 240 نانومتر.

### ✓ المبدأ التجريبي

مبدأ التجربة يعتمد على معدل تفكك و إختفاء H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> في درجة حرارة 25°م في وجود المصدر الإنزيمي في الجزء السيتوزولي.

### ✓ طريقة المعايرة

في انبوب اختبار نضع 2.75 مل H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (19 مل مول/مول) المحضر في المحلول المنظم PBS (pH 7.4) ، ثم يضاف لها 25 ميكرو لتر من السيتوزول، يتم متابعة تغير الامتصاص على طول موجة 240 نانومتر خلال مدة 2 د، حيث تتم القراءة ابتداءً من زمن 0 وكل 15 ثانية.

### ب. معايرة النشاط السيتوزولي لـ (SOD) Superoxyde dismutase

يعتبر الـ SOD بروتين معدني ذو نشاط انزيمي يمنع تشكل جذر الهيدروكسيل انطلاقاً من أنيون فوق الأكسيد حيث يحفز تحويل الـ O<sub>2</sub> إلى H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> كما هو موضح في التفاعل التالي:



يعتمد تقدير نشاط الـ SOD السيتوزولي على طريقة (Marklund 1985).

### ✓ المبدأ التجريبي

يتوقف هذا المبدأ على قدرة تثبيط الأكسدة الذاتية للـ pyrogallol بواسطة الـ SOD.

### ✓ طريقة المعايرة

تمت معايرة هذا النشاط السيتوزولي بتحضير وسط تفاعلي يحتوي على 4 مل من المحلول المنظم Tris HCl (pH = 8,2) يضاف اليه 20 ميكرو لتر من سيتوزول العينة (الكلية)، يضاف إلى هذا الوسط 40 ميكرو لتر من الـ pyrogallol (20 مل مول) ( 24 مل مول محضرة في 10 مل مول من الـ HCl). يتم متابعة الإمتصاص عند الطول الموجي 420 نانومتر خلال مدة 3 دقائق، بحيث تتم القراءة بصورة

مستمرة ابتداء من الزمن 0 د وكل 15 ثانية حتى انتهاء الوقت المحدد للقراءة. هذا يكون مقارنة مع الأنبوب Blanc الذي تم تحضيره في نفس الظروف التجريبية ونفس المراحل لأنابيب العينات بحيث يحتوي هذا الأنبوب على الـ Tris EDTA بدل العينة السيتوزولية.

### ج. معايرة نشاط (GST) Glutathion S-Transférase

تم تقدير نشاط هذا الأنزيم حسب طريقة (Habig et al.,1974).

#### ✓ المبدأ:

يعتمد المبدأ على تفاعل بين GST ومادة التفاعل 1-Chloro2,4dinitrobenz (CDNB) التي تتفاعل مع العديد من أشكال أنزيم GST و GSH، ينتج عن هذا التفاعل تشكيل جزيء جديد هو 1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène وذلك يسمح بقياس نشاط GST. قيمة الكثافة الضوئية تكون متناسبة مع كمية المعقد المتشكلة وهي مرتبطة بشدة نشاط GST.

#### ✓ طريقة المعايرة:

تكمّن المعايرة في تفاعل 25 ميكرو لتر من الطافي مع 100 ميكرو لتر من خليط CDNB (30 مل مول)، 100 ميكرو لتر من GSH (30 مل مول) و 2,5 مل من PBS (6,7 pH). وهذا مقارنة بأنبوب blanc الذي يحتوي على 25 ميكرو لتر من الماء المقطر كبديل لكمية الطافي. قراءة الإمتصاص تكون كل دقيقة خلال 3 دقائق عند طول الموجة 340 نانومتر.

### د. معايرة الـ (GP<sub>x</sub>) Glutathin peroxydase

تم تقدير النشاط الانزيمي للـ GP<sub>x</sub> وفقا لطريقة Flohe & Gunzler (1984).

#### ✓ المبدأ

يعتمد التقدير على الـ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> الذي يستعمل كمادة تفاعل.



### ✓ طريقة المعايرة

باختصار تم تحضير وسط تفاعلي مشكل من 100 ميكرو لتر من السيتوزول (سيتوزول العينة الكلوية) يضاف اليه 200 ميكرو لتر من الـ (0,1 GSH مل مول)، ثم يضاف 100 ميكرو لتر من المحلول المنظم (0,67 K/ Na<sub>2</sub> Hpo<sub>4</sub> مل مول) بعد هذا تم حضن الخليط المتشكل في حمام مائي على درجة حرارة 25<sup>0</sup> لمدة 5 دقائق. بعد مرور الوقت المحدد تم اضافة 100 ميكرو لتر من الـ (1,3) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> مل مول) فيبدأ التفاعل عند اضافة هذا الأخير مع ترك أنابيب العينات لمدة 10 د على درجة حرارة الغرفة. بعد انتهاء المدة يضاف 500 مل (1 %) ويترك أيضا في الثلاجة لمدة 10 د، ثم وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي 3000 دورة/ لمدة 10 د ودرجة حرارة 4<sup>0</sup>م. يسترجع 240 ميكرو لتر من الجزء الطافي المتحصل عليه ويضاف اليه 1100 ميكرو لتر من الـ (0,32) Na<sub>2</sub> Hpo<sub>4</sub> مل مول) ثم يضاف للخليط 160 ميكرو لتر من الـ DTNB ويخلط المزيج قليلا بالخلاط الكهربائي ويحضن لمدة 5 د عند درجة حرارة الغرفة مع العلم أن هذه المدة تحسب فور اضافة الـ DTNB للخليط، وعند مرور هذه المدة تقاس الكثافة الضوئية عند الطول الموجي 412 نانو متر.

تحضر أنبوبة شاهدة Blanc، تحتوي على المحلول المنظم الفوسفاتي (8 pH) PBS بدل الطافي المتحصل عليه مع مراعاة كل المراحل المسبقة في تحضير أنابيب العينات وتقرأ أيضا عند نفس الطول الموجي.

### ه. تقدير كمية البروتينات

تم تقدير البروتينات بواسطة مشخصات الـ (spinreact) Kits بالإعتماد على الطريقة اللونية

(Colorimétrique) لتفاعل Biuret.

### ✓ المبدأ التجريبي

في وسط قاعدي: تُعطي البروتينات لونا ازرق / بنفسجي في وجود أملاح النحاس، التي بدورها تحتوي على اليود الذي يلعب دور مضاد للأكسدة. الشدة اللونية المتشكلة تتناسب مع تركيز البروتينات في العينة.

### ✓ طريقة التقدير

في أنبوب اختبار العينة: 0.1 مل من الكاشف البيوري، بعد ذلك نضيف 25 ميكرو لتر من السيتوزول. يتم رج خليط كل أنبوب، ثم يترك لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة. يتم قياس الكثافة الضوئية للمادة اللونية المتشكلة عند طول موجة 540 نانومتر، حيث تبقى المادة اللونية الناتجة مستقرة لمدة 30 دقيقة وهذا مقارنة بأنبوب الشاهد السلبي الذي نضع فيه 0.1 مل من الكاشف البيوري و أنبوب الشاهد الإيجابي (Tube Etalon)، الذي وضعنا فيه 0.1 مل من الكاشف البيوري، ويضاف لها 25 ميكرو لتر من الـ Etalon. (تقاس الكثافة الضوئية عند الطول الموجي 540 نانومتر)

### 3.2.I. التقييم الإحصائي

تم تخطيط المنحنيات والمخططات البيانية بواسطة برنامج Microsoft Excel 2007. يعبر عن نتائج الإختبارات التي تم إجراؤها بالمتوسط  $\pm$  الخطأ المعياري.

الشفاعة

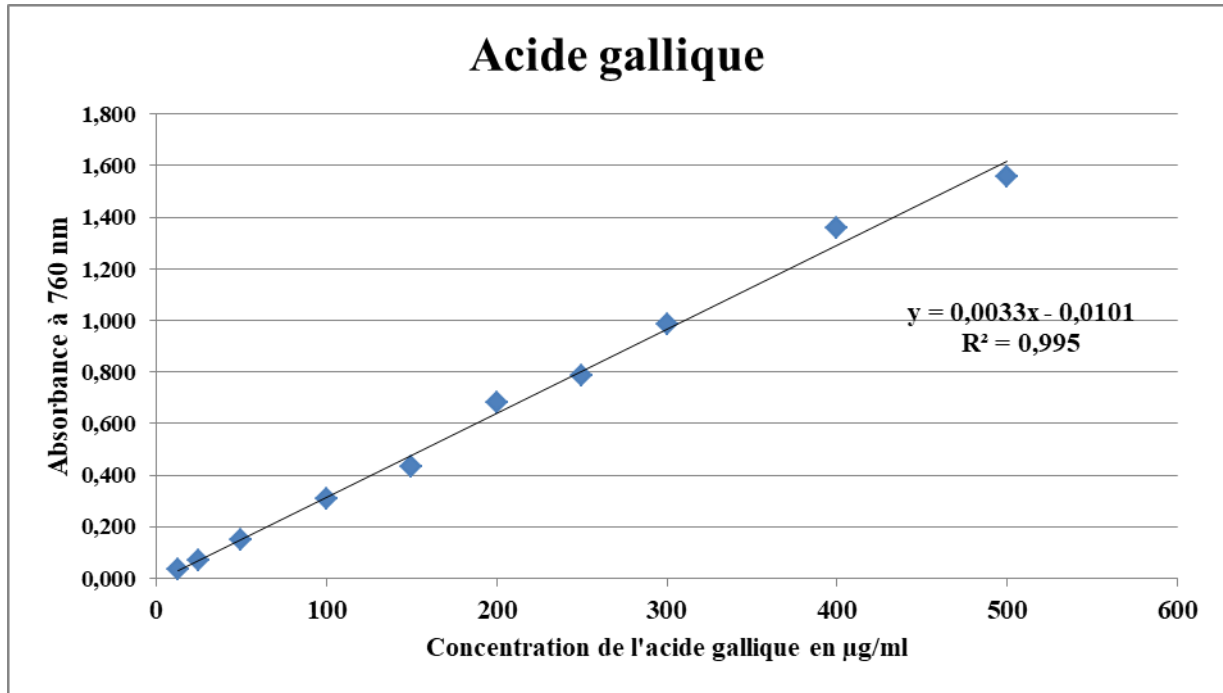
## II. النتائج

### 1.II. الدراسات التحليلية الكمية للمستخلصات البيتانولية للنبتين (أ) و (ب)

#### 1.1.II. التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافونويدية

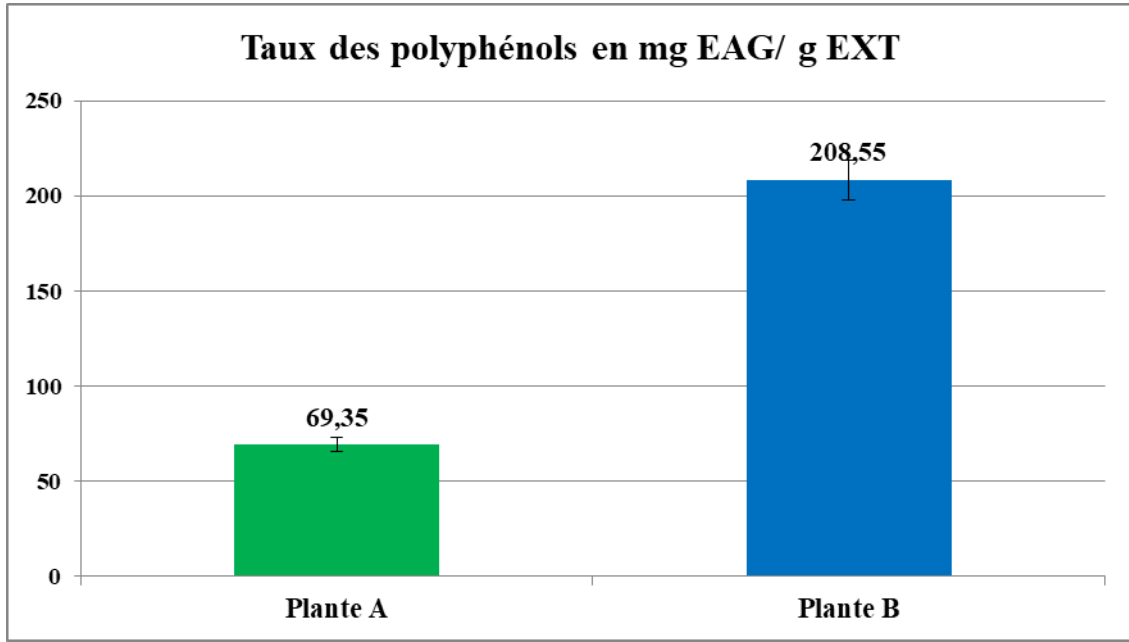
##### 1.1.1.II. تقدير المركبات الفينولية باستعمال حمض الغاليك

يقدر المحتوى الكلي للفينولات بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu لكل من المستخلصات البيتانولية للنبتين. في هذه الدراسة استعملنا حمض الغاليك كفينول مرجعي، هذا بالإعتماد على مجموعة قياسية مع تراكيزات مختلفة منه، فنتحصل على منحنى العيارية بدلالة التركيز والذي تتمثل معادلته القياسية بـ  $y = 0,0033x - 0,0101$  ;  $R^2 = 0,995$ ، النتائج المتحصل عليها يعبر عنها بالملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل 1 غرام من الوزن الجاف للمستخلص.



الشكل 21: المنحنى القياسي لحمض الغاليك (كل قيمة تمثل متوسط ثلاث تكرارات  $\pm$  الخطأ المعياري).

باستعمال منحنى العيارية لحمض الغاليك، تم تدوين النتائج المتعلقة بتقدير المركبات الفينولية.

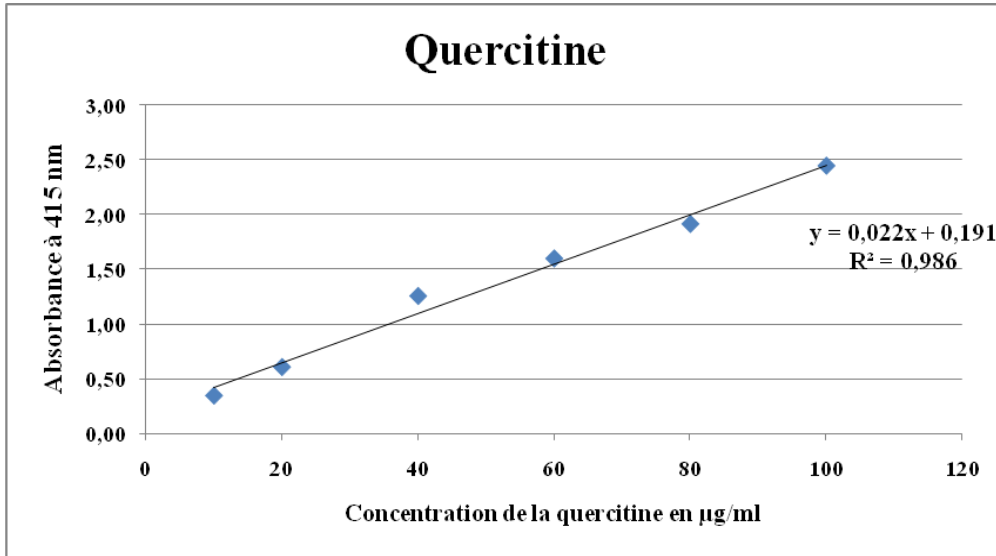


الشكل 22: محتوى البوليفينول الكلي في المستخلص البيتانولي المكافئ لحمض الغاليك لكل من النبتة (أ) و (ب).

من خلال الشكل (22)، نلاحظ أن النتائج تعبر عن أن المستخلص البيتانولي للنبتة (أ) يحتوي على كمية قليلة من المركبات الفينولية والتي قدرت بـ  $4,38 \pm 69,35$  ملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل 1 غ من الوزن الجاف للمستخلص مقارنة مع المستخلص النباتي للنبتة (ب) الذي قدر فيه محتوى الفينولات بـ  $5,25 \pm 208,55$  ملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل 1 غ من الوزن الجاف للمستخلص.

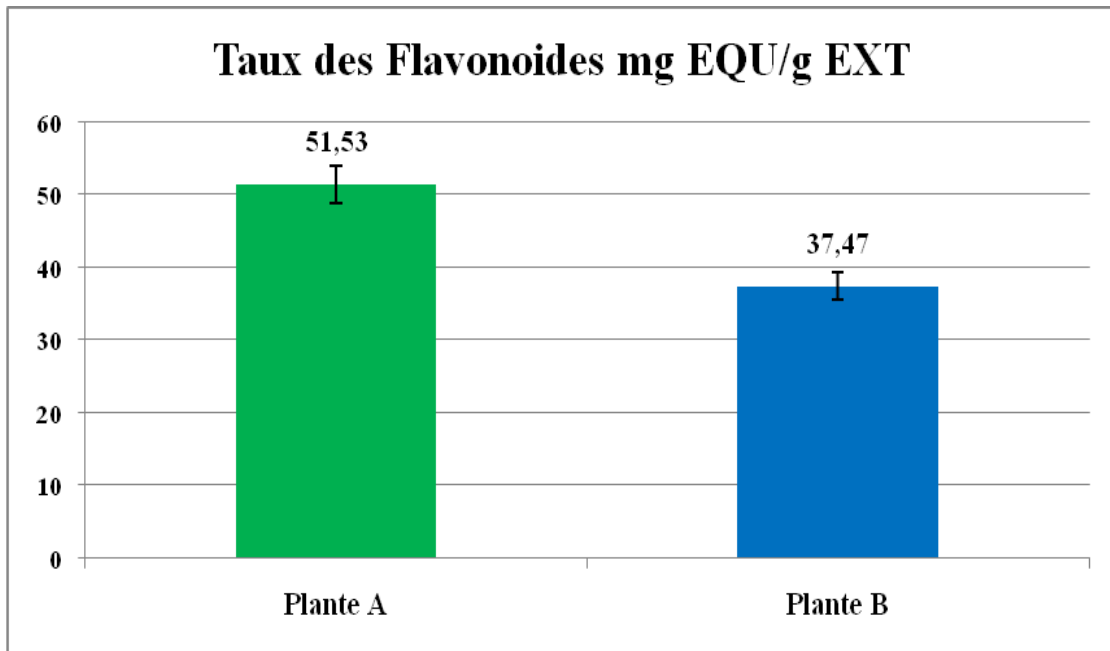
#### 2.1.1.II. تقدير المركبات الفلافونويدية في النبتتين (أ) و (ب) باستعمال مركب الكرسيتين

بعد الإتماد على طريقة trichlorure d'aluminium من أجل تقدير محتوى الفلافونويدات الكلية للنبتتين المدروستين. نتحصل على منحنى العيارية بدلالة التركيز والمحلول المرجعي هنا هو الكرسيتين تتمثل معادلة هذا المنحنى القياسية بـ  $(y = 0,0226x + 0,1911 ; R^2 = 0,9866)$  الشكل (23)، النتائج المتحصل عليها يعبر عنها بالملغ المكافئ للكرستين من الوزن الجاف للمستخلص.



الشكل 23: المنحنى القياسي لمركب الكرسيتين.

باستعمال منحنى العيارية لمركب الكرسيتين، تم تدوين النتائج المتعلقة بالفلافونويدات.



الشكل 24: محتوى الفلافونويدات الكلية في المستخلص البيتانولي المكافئ للكرستين للنبتين (أ) و (ب).

بعد النتائج المتحصل عليها في الشكل (24)، نلاحظ أن مستخلص البيتانولي للنبته (أ) يحتوي على

أعلى محتوى من الفلافونويدات الكلية والتي قدرت بـ  $51,53 \pm 0,74$  ملغ المكافئ للكرستين من الوزن

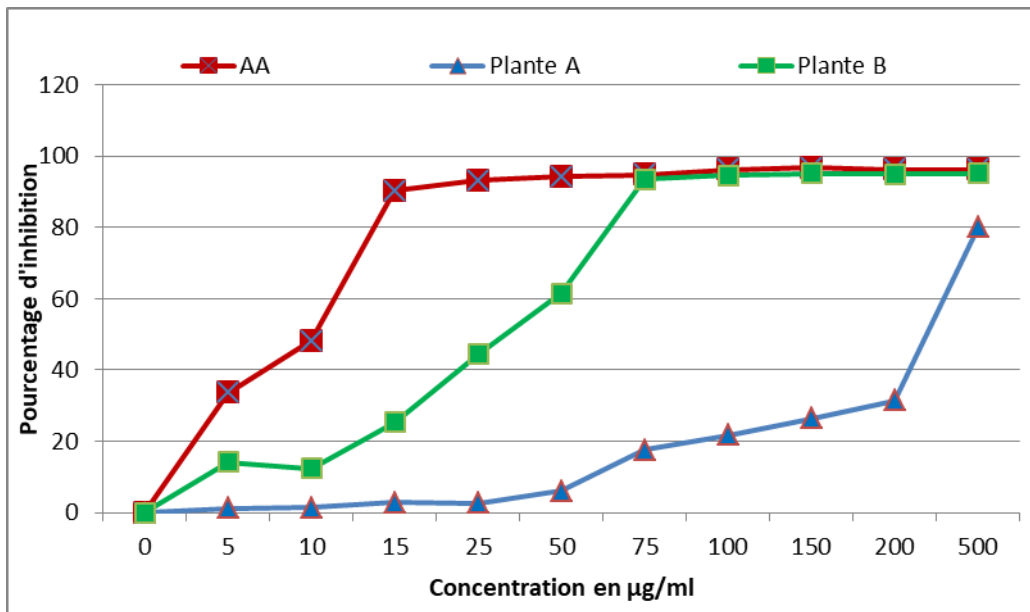
الجاف للمستخلص مقارنة مع مستخلص النبتة (ب) الذي قدرت فيه كمية الفلافونويدات الكلية بـ 37,47

$\pm 1,77$  ملغ المكافئ للكرستين من الوزن الجاف للمستخلص.

## 2.1.II. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات البيتانولية للنبتين (أ) و (ب)

### 1.2.1.II. نتائج القدرة التثبيطية لجذر الـ DPPH

من خلال نتائجنا المتحصل عليها في دراستنا تمكنا من ترجمة القراءات الضوئية في صورة منحنيات خطية للنشاط الإقتناسي للـ DPPH بالمستخلص البيتانولي للنبتين كل على حدة بدلالة تراكيز مختلفة و كذا حمض الأسكربيك والموضحة في الشكل (25)، مع العلم أنه تم استعمال حمض الأسكربيك كأساس مرجعي.



الشكل 25: نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH بالنسبة للمرجع حمض الأسكربيك والمستخلص البيتانولي

للنبتين (أ) و (ب) (كل قيمة تمثل متوسط ثلاث تكرارات  $\pm$  الخطأ المعياري).

لاحظنا من خلال النتائج أن نسبة تثبيط جذر الـ DPPH ترتفع بإرتفاع تركيز المستخلص البيتانولي للنبتين أو الأساس المرجعي. إلا أن نسبة التثبيط بالنسبة للمستخلص البيتانولي للنبتين تكون أقل مقارنة مع حمض الأسكربيك. كما لوحظ أن القدرة التثبيطية في النبتة (ب) قُدرت بـ 97 % عند تركيز 500 ميكروغرام/مل، قُدرت بـ 79 % بالنسبة للنبتة (أ) عند نفس التركيز و بالتالي إمتلاك النبتة (ب) قدرة تثبيطية أكبر مقارنة بالنبتة (أ).

يتم تحديد القدرة المضادة للأكسدة لمختلف المستخلصات النباتية بالإعتماد على قيمة الـ IC50 وهي التركيز الازم للحد من اقتناص 50 % من الجذر الحر DPPH. بحيث كلما انخفضت قيم IC50، زاد نشاط مضادات الأكسدة في مركب ما (Hebi & Eddouks, 2016).

الجدول 2: القدرة المضادة للأكسدة (المعبر عنها بـ IC50 ( ميكروغرام/ مل)) للمستخلصات البيتانولية لكل من النيتتين (أ) و (ب) و الأساس المرجعي (حمض الأسكوربيك)

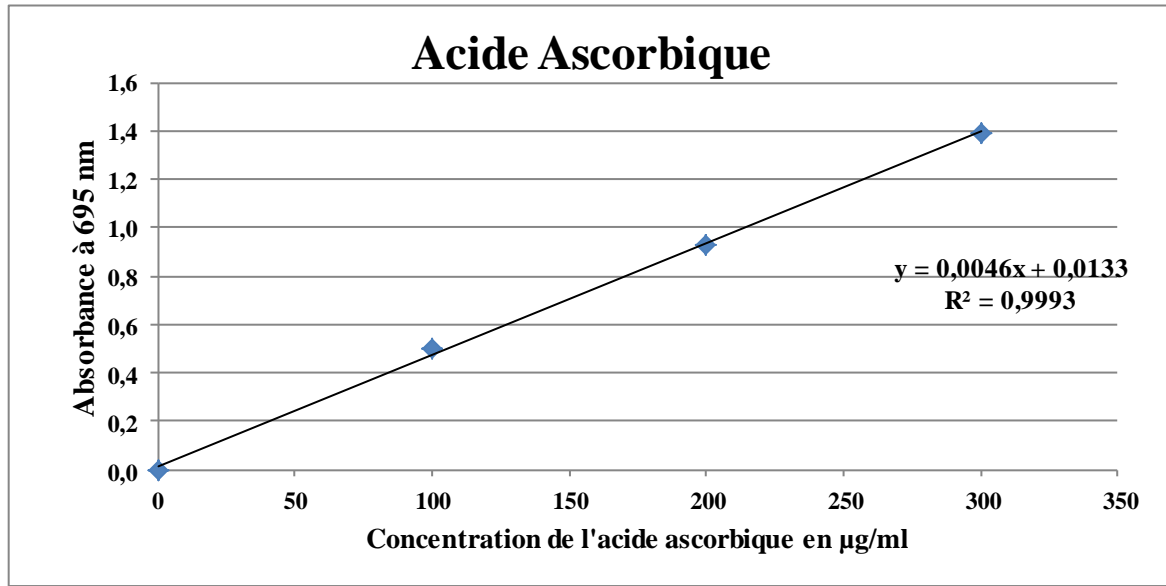
IC50 ±Ecart type (En µg /ml)	
Acide ascorbique	8,40± 0,06
PLANTE A	303,5±3,06
PLANTE B	37,02 ± 0,95

انطلاقاً من النتائج الموضحة في الجدول (2) تقدر قيمة الـ IC50 لحمض الأسكوربيك الذي تم الإعتماد عليه كأساس مرجعي بـ  $8,40 \pm 0,06$  ميكروغرام/ مل وهي أقل قيمة مقارنة مع المستخلصين النباتيين وبالتالي تملك نشاط مضاد للأكسدة عال جداً مقارنة بهما، حيث قدرت قيمة الـ IC50 في النبتة (ب) بـ  $37,02 \pm 0,95$  ميكروغرام/ مل وهي أقل بكثير مقارنة بالنبتة (أ) التي قدرت فيها قيمة الـ IC50 بـ  $303,5 \pm 3,06$  ميكروغرام/ مل.

## 2.2.1.II. اختبار موليبيدات الفوسفات

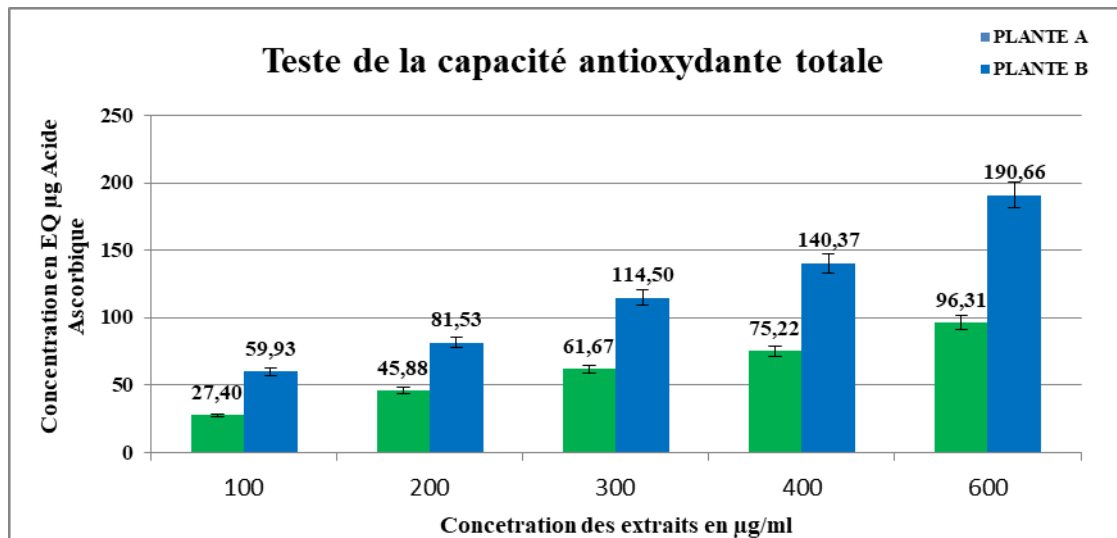
استعمل في هذا الاختبار حمض الأسكريبك (Vit C) كأساس مرجعي في أسر الجذور الحرة. تحصلنا على المنحنى القياسي لحمض الأسكريبك والذي تتمثل معادلته القياسية بـ  $y = 0.0046x + 0.0133$  (الشكل (26)،  $R^2 = 0.9993$ )، النتائج المتحصل عليها يعبر عنها بالملغ المكافئ لحمض الأسكريبك لكل غرام.





الشكل 26: المنحنى القياسي لحمض الأسكربيك في اختبار موليبيدات الفوسفات (كل قيمة تمثل متوسط ثلاث تكرارات ± الخطأ المعياري).

تُحسب القدرة الإرجاعية للمستخلص البيتانولي للنبتين (أ) و (ب) فنتحصل على الشكل (27).



الشكل 27: القدرة الإرجاعية للمستخلص البيتانولي للنبتين المدروستين (أ) و (ب) (كل قيمة تمثل متوسط ثلاث تكرارات ± الخطأ المعياري).

من خلال النتائج الموضحة في الشكل (27)، نلاحظ عند تركيز 600 ميكروغرام/مل، وظيفة

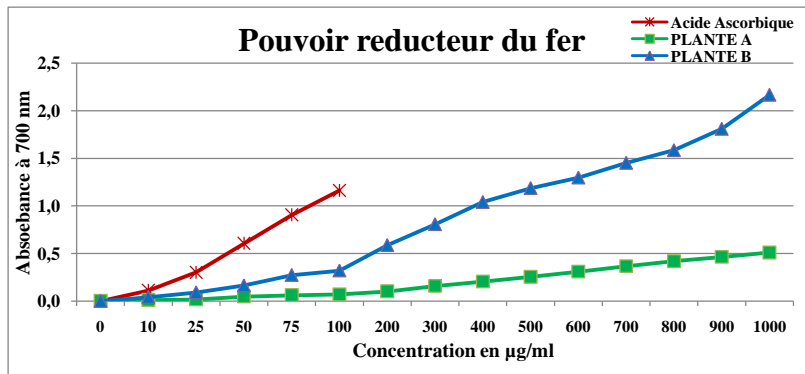
المستخلص البيتانولي للنبنة (ب) بالنسبة لقدرة مضادات الأكسدة تكون مرتفعة والتي تقدر بـ 190,66 ±

ملغ المكافئ لحمض الأسكربيك لكل غ وهذا مقارنة مع المستخلص البيتانولي للنبنة (أ) الذي قدر بـ

96,31 ملغ المكافئ لحمض الأسكريك لكل غرام. تُلاحظ قدرة مضادات الأكسدة في كل من المستخلصين (أ) و (ب) وهذا قد يدل على غنى النباتين بعديدات الفينول بالأخص الفلافونويدات.

### 3.2.1.II. تقييم القدرة الإختزالية للحديد FRAP

نتائجنا المتحصل عليها في دراستنا مكنتنا من ترجمة القراءات الضوئية في صورة منحنيات خطية للقدرة الإختزالية للحديد FRAP للمستخلص البيتانولي للنبتين كل على حدة بدلالة تراكيز مختلفة وكذا حمض الأسكوربيك والموضحة في الشكل (28)، مع العلم أنه تم استعمالنا حمض الأسكوربيك كأساس مرجعي.



**الشكل 28: تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص البيتانولي للنبتين (أ) و (ب) بواسطة طريقة FRAP (كل قيمة**

**تمثل متوسط ثلاث تكرارات  $\pm$  الخطأ المعياري).**

نلاحظ من خلال نتائج الدراسة أن القدرة الإختزالية للمستخلص البيتانولي للنبتين (أ) و (ب) متناسبة مع الزيادة في تركيز المستخلص وكذا حمض الأسكوربيك. مع العلم أن هذا الأخير ينفذ عند التركيز 100 ميكرو غرام/ مل.

النتائج المتحصل عليها تُظهر قدرة المستخلص البيتانولي على اختزال الحديد، عند التركيز 1000 ميكروغرام/ مل فإن القدرة الإختزالية تكون كبيرة خاصة في النبتة (ب) ( $DO = 2,2$ ) مقارنة مع المستخلص النباتي للنبتة (أ) التي تقدر الـ  $DO$  فيها بـ 0,4.

الدراسة *in vivo*

## 2.II. الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبته على مؤشرات السمية الكلوية المُحرضة بواسطة الإيثانول لدى الجرذان

### 1.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبته على مستويات الكرياتينين المصلي

يُظهر الجدول (3) التأثيرات الناتجة عن معاملة الجرذان لمدة 15 يوم بجرعة 3 غ/كغ من الإيثانول، على منسوب الكرياتينين المصلي، كذلك مستويات هذا الأخير في الجرذان المعاملة بجرعة 100 ملغ/كغ من المستخلص النباتي و الإيثانول بالتزامن و أخرى بنفس الشروط لكن بتركيز 200 ملغ/كغ بالنسبة للمستخلص البيتانولي، في الجرذان الشاهدة السليمة وفي المجموعة المعاملة بمستخلص النباتي فقط بنفس التركيزين السابقين.

الجدول 3: نتائج الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبته (ب) و سمية الإيثانول على مستويات الكرياتينين المصلي في الجرذان، وهذا بعد معاملة الجرذان بجرعة 3 غ/كغ من الإيثانول لمدة 15 يوم.

Créatinine (mg/L)	
Sain témoin	5,50 ± 0,50
Sain +P 100mg/kg	6,00±0,28
Sain +P 200mg/kg	5,50±0,50
EtOH	6,33±0,44
EtOH+P 100mg/kg	5,33± 0,33
EtOH+P 200mg/kg	5,00±0,00

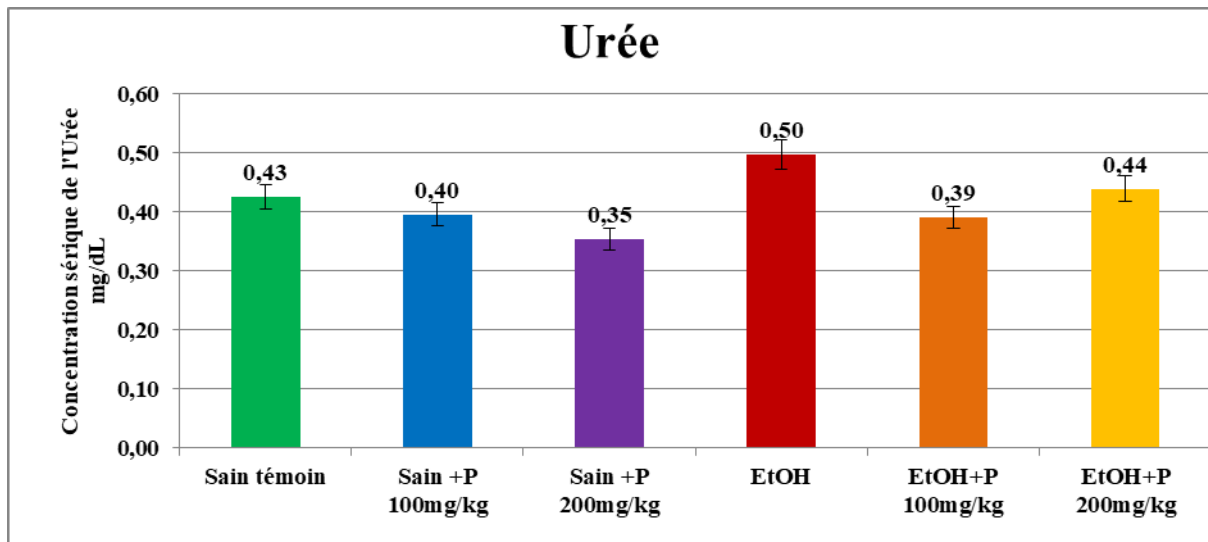
أظهرت الجرذان المعاملة بجرعة من الإيثانول تقدر بـ 3 غ/كغ ولمدة 15 يوم، ارتفاعا بنسبة 15.09 % ( $6,33 \pm 0,44$  ملغ/ل مقارنة بـ  $5.50 \pm 0.50$  ملغ/ل) في مستويات الكرياتينين في مصل الدم مقارنة بالمجموعة الشاهدة السليمة.

أعربت الجرذان المعاملة بواسطة المستخلص البيتانولي للنبته والإيثانول بالتزامن، إستعادة مستويات الكرياتينين المصلية تقريبا لحدودها الطبيعية. حيث سُجل مستواها في المجموعة المعاملة بتركيز

100 ملغ/ كلغ  $0.33 \pm 5.33$  ل مقارنة ب  $0.44 \pm 6.33$  ملغ/ ل، في المجموعة المعاملة بتركيز 200 ملغ/ كلغ  $0,00 \pm 5$  ملغ / ل مقارنة ب  $0,44 \pm 6.33$  ملغ/ ل وهذا مقارنة بمجموعة الإيثانول. عند الجرذان السليمة المعاملة بالمستخلص البيتانولي للنبته، مستويات الكرياتينين فيها وجدت مرتفعة ارتفاعا طفيفا على الحدود الطبيعية في المجموعة المعاملة بتركيز 100 ملغ/ كلغ بنسبة 9.09%، ومساوية لمستوياته الطبيعية في المجموعة المعاملة بتركيز 200 ملغ/ كلغ، مقارنة بالمجموعة الشاهدة السليمة.

## 2.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبته على مستويات اليوريا

نتائج الدراسة التي قمنا بها لمدة 15 يوم لإظهار السمية الكلوية للإيثانول والدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبته على مستويات اليوريا في المصل موضحة في الشكل رقم 29.



الشكل 29: نتائج الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبته (ب) وسمية الإيثانول بجرعة 3 غ/ كلغ لمدة 15 يوم على

### تغيرات مستويات اليوريا المصلية لدى الجرذان.

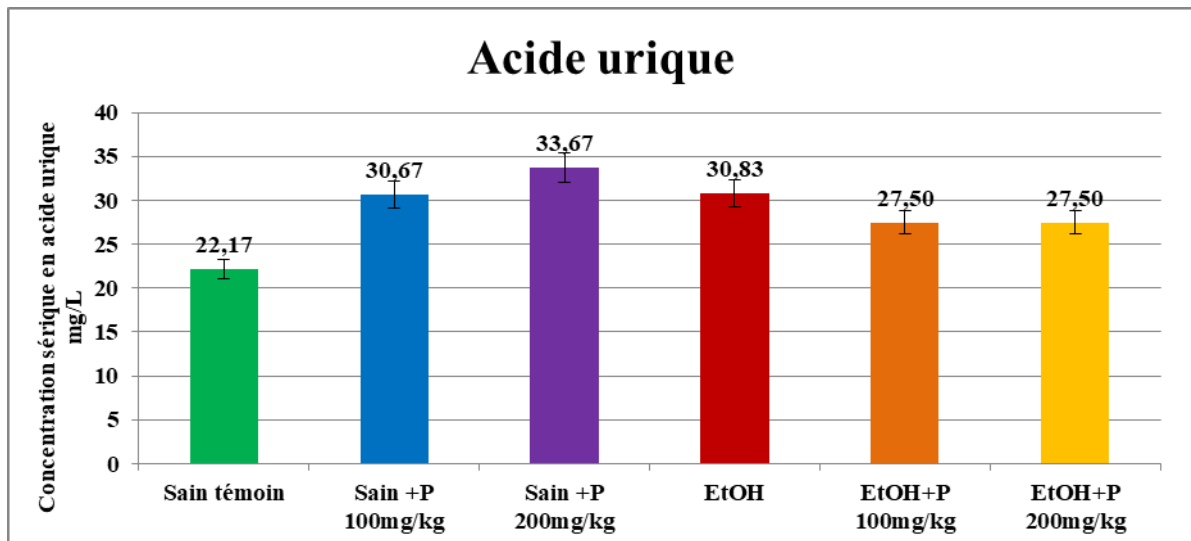
الجرذان التي تم معاملتها بالإيثانول لمدة 15 يوم بجرعة تقدر ب 3 غ/ كلغ، أظهرت نتائج ارتفاع في مستويات اليوريا المصلية في مجموعة الإيثانول بنسبة 16.27% مقارنة بالمجموعة الشاهدة السليمة. بينت نتائج المجموعة المعاملة بالمستخلص البيتانولي للنبته (ب) والإيثانول بالتزامن، عودة مستوى اليوريا تقريبا إلى تركيزه الطبيعي في المصل مقارنة مع مجموعة الإيثانول. حيث انخفض

تركيزه بـ 22 % في المجموعة المعاملة بجرعة (100ملغ/كغ) و (12 %) في المجموعة المعاملة بجرعة (200 ملغ/كغ) مقارنة بمجموعة الجرذان التي تم معاملتها بالإيثانول.

كشفت المقارنة بين المجموعة السليمة المعاملة بالمستخلص و المجموعة الشاهدة السليمة عن تقارب في مستويات اليوريا بين المجموعتين. بحيث أن في المجموعة المعاملة بالمستخلص يقدر مستوى اليوريا بـ  $0.02 \pm 0.40$  ملغ/ دل و  $0.02 \pm 0.35$  ملغ/ دل بالنسبة لكلي التركيزين 100 ملغ/كغ و 200 ملغ/كغ على التوالي.

### 3.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبتة على مستويات حمض اليوريك

النتائج المتحصل عليها في دراستنا التي تهدف لمعرفة ودراسة الفعل الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبتة (ب)، عند جرعة (100ملغ/كغ) و (200ملغ/كغ) وسمية الإيثانول التي تكون عند جرعة 3 غ/كغ وكل هذا في مدة 15 يوم. بالنسبة لمستويات حمض اليوريا في المصل موضحة في الشكل الآتي:



الشكل 30: نتائج الدور الوقائي النباتي للمستخلص البيتانولي لنبتة (ب) وسمية الإيثانول بجرعة 3 غ/كغ لمدة 15 يوم على تغيرات مستويات حمض اليوريك المصلي لدى الجرذان.

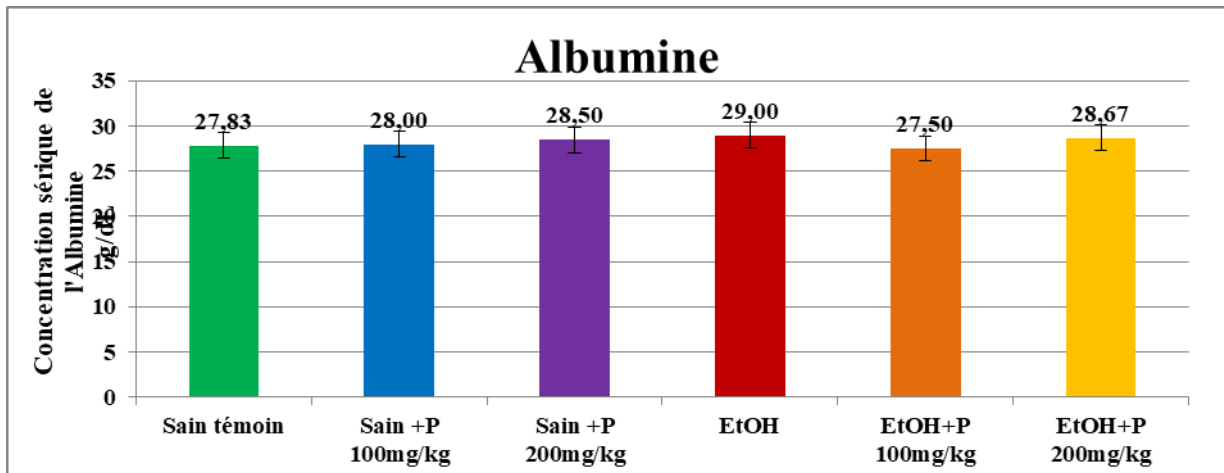
تتمثل نتائج هذا الإختبار بالنسبة للجرذان التي عوملت بجرعة من الإيثانول التي قدرت بـ 3 غ/كلغ، في ارتفاع في مستويات حمض اليوريك في المصل وذلك بنسبة قُدرت بـ 39.06 % مقارنة مع المجموعة الشاهدة السليمة.

بينما نتائج المجموعة المعاملة بالمستخلص البيتانولي للنبتة (ب) والإيثانول بالتزامن، أظهرت انخفاض في مستوى حمض اليوريك في المصل مقارنة مع مجموعة الإيثانول، حيث قدر هذا الانخفاض في المصل بـ 10.81 % في كلتا الجرعتين (100 ملغ/كلغ) و (200 ملغ/كلغ).

المجموعة السليمة التي عوملت بالمستخلص البيتانولي بينت المقارنة بينها وبين المجموعة الشاهدة السليمة إختلاف في مستوى حمض اليوريك في المجموعة المعاملة بالمستخلص حيث قُدر بـ  $4.22 \pm 30.67$  ملغ/ل و  $2.44 \pm 33.67$  ملغ/ل وهذا لكلي التركيزين على التوالي (100 و 200 ملغ/كلغ).

#### 4.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبتة على مستويات الألبومين

مجموعة الجرذان المعاملة بجرعة 3 غ/كلغ من الإيثانول و الأخرى المعاملة بالمستخلص البيتانولي للنبتة بتركيزين مختلفين (100 غ/كلغ و 200 غ/كلغ) وبالتزامن مع الإيثانول و الجرذان المعاملة بالمستخلص لوحده، لم يطرأ عليها اي تغيير في مستوى الألبومين المصلي مقارنة بالمجموعة الشاهدة السليمة، هذا ما يتضح من خلال النتائج الموضحة في الشكل (31).



الشكل 31: نتائج الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبتة (ب) و سمية الإيثانول على مستويات الألبومين

المصلي في الجرذان، وهذا بعد معاملة الجرذان بجرعة 3 غ/كلغ من الإيثانول لمدة 15 يوم.

## 5.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبته على تركيز الـ $Cl^-$ ، $Na^+$ ، $K^+$

تُظهر مستويات الشوارد في المصل بعد معاملة الجرذان بجرعة يومية عن طريق الفم لمدة 15 يوم بالإيثانول وذلك بجرعة تُقدر بـ 3 غ/كغ، هذا بغرض إظهار السمية الكلوية المحدثة من قبله وكذا دراسة الدور الوقائي النباتي للمستخلص البيتانولي بتركيزين مختلفين (100ملغ/كغ و200 ملغ/كغ) بحيث تكون هذه النتائج موضحة في الجدول (4)

**الجدول 4: نتائج الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبته (ب) وسمية الإيثانول بجرعة 3 غ/كغ لمدة 15 يوم على تغيرات مستويات الشوارد  $Cl^-$ ،  $Na^+$ ،  $K^+$  في المصل لدى الجرذان.**

	$Na^+$ mmole/L	$K^+$ mmole/L	$Cl^-$ mmole/L
Sain témoin	140 ± 0.67	5.08 ± 0.68	108.83 ± 1.17
Sain +P 100mg/kg	141 ± 0.67	7.58 ± 0.25	108.50 ± 1.50
Sain +P 200mg/kg	141.67 ± 0.44	7.08 ± 0.41	108.67 ± 1.56
EtOH	141.83 ± 0.83	8.00 ± 0.40	109.33 ± 1.33
EtOH+P 100mg/kg	142 ± 0.67	7.97 ± 0.51	110.17 ± 1.22
EtOH+P 200mg/kg	142.67 ± 0.67	7.37 ± 0.20	108.83 ± 1.22

سُجل ارتفاع في قيمة الـ  $K^+$  في مصل الجرذان المعاملة بالإيثانول مقارنة بالمجموعة الشاهدة السليمة، بحيث تُدر هذا الإرتفاع بنسبة 57.48 % ( $0.40 \pm 8.00$  مل مول/ل مقارنة بـ  $5.08 \pm 0.68$  مل مول/ل).

أما بالنسبة للمجموعة المعاملة بالمستخلص البيتانولي بالتزامن مع الإيثانول، فلو حظ فيها انخفاض في هذه القيمة في المصل عند مقارنتها مع المجموعة التي زُودت بجرعة 100 ملغ/كغ من المستخلص، وذلك بنسبة 0.38 % ( $0.51 \pm 7.97$  مل مول/ل مقارنة بـ  $0.4 \pm 8.00$  مل مول/ل) وبنسبة 7.88 % ( $0.20 \pm 7.37$  مل مول/ل مقارنة بـ  $0.40 \pm 8.00$  مل مول/ل) بالنسبة للمجموعة المُزودة بجرعة 200ملغ/كغ.

بينما المجموعة السليمة المعاملة بالمستخلص فقد أظهرت المقارنة بينها وبين المجموعة الشاهدة السليمة فرق والذي تمثل في أنّ المجموعة المعاملة بالمستخلص فقط تُدرت قيمة الـ  $K^+$  فيها بـ

0.25±7.58 مل مول/ل لجرعة 100 ملغ/كغ. قدرت بـ  $0.41 \pm 7.08$  مل مول/ل بالنسبة للمجموعة المعاملة بالجرعة الثانية (200 ملغ/كغ).

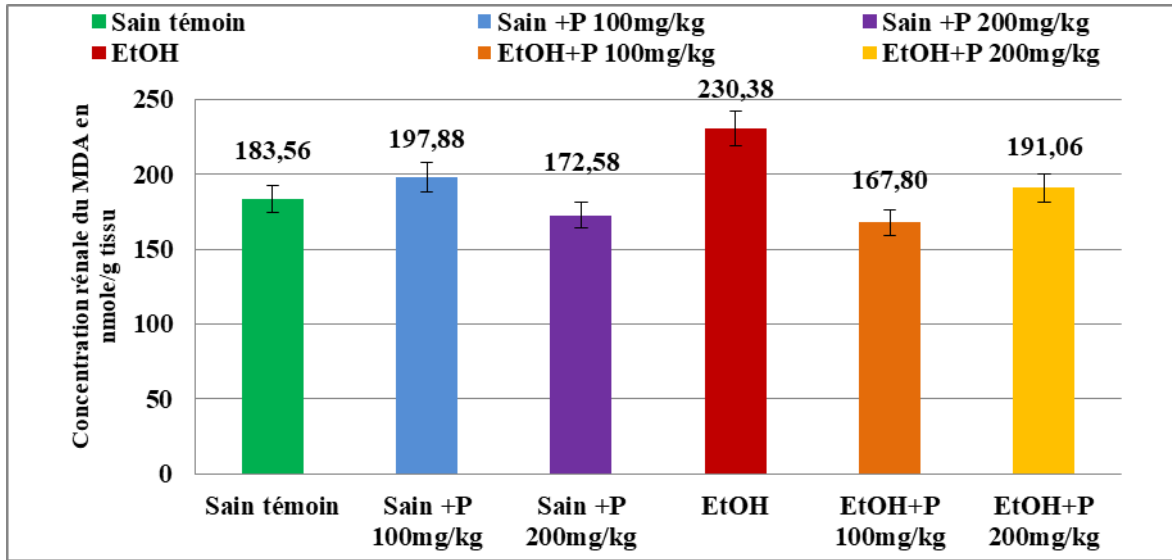
لكن لم يطرأ أي تغيير لقيمة شوارد الـ  $Na^+$  و الـ  $Cl^-$  في مصد الجرذان.

## 6.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبتة (ب) على مؤشرات الإجهاد التأكسدي المحدث بواسطة

### الإيثانول على مستوى الجرذان

#### 1.6.2.II. تأثير المستخلص البيتانولي للنبتة على تركيز الـ (MDA)

تم تقدير تركيز الـ MDA في المجنس النسيجي الكلوي، حيث تبين نتائج الدراسة الخاصة برصد الفعل المضاد للأكسدة للمستخلص البيتانولي للنبتة، بأن الجرذان المعاملة بجرعة من الإيثانول تقدر بـ 3 ملغ/كغ لمدة 15 يوم، أظهرت الضرر المؤكسد للإيثانول على الكلية والذي يظهر في زيادة معتبرة في تراكيز الـ MDA في المجنس الكلوي بنسبة 25.50% ( $35.20 \pm 230.38$  نانو مول/غ نسيجي مقارنة بـ  $6.84 \pm 183.56$  نانو مول/غ نسيجي) مقارنة بالمجموعة الشاهدة السليمة ويظهر هذا في الشكل (32).



الشكل 32: نتائج الدور الوقائي للنبتة (ب) للمستخلص البيتانولي وسمية الإيثانول بجرعة 3 غ/كغ لمدة 15 يوم على

#### تركيزات الـ MDA النسيجية لدى الجرذان.

الجرذان المعاملة بمستخلص النبتة والإيثانول بالتزامن، أظهرت دورا فعالا للنبتة ضد الأكسدة

الفوقية للأحماض الدهنية الغير مشبعة (MDA) وذلك بنسبة 27.17% ( $12.68 \pm 167.80$  نانو مول/غ

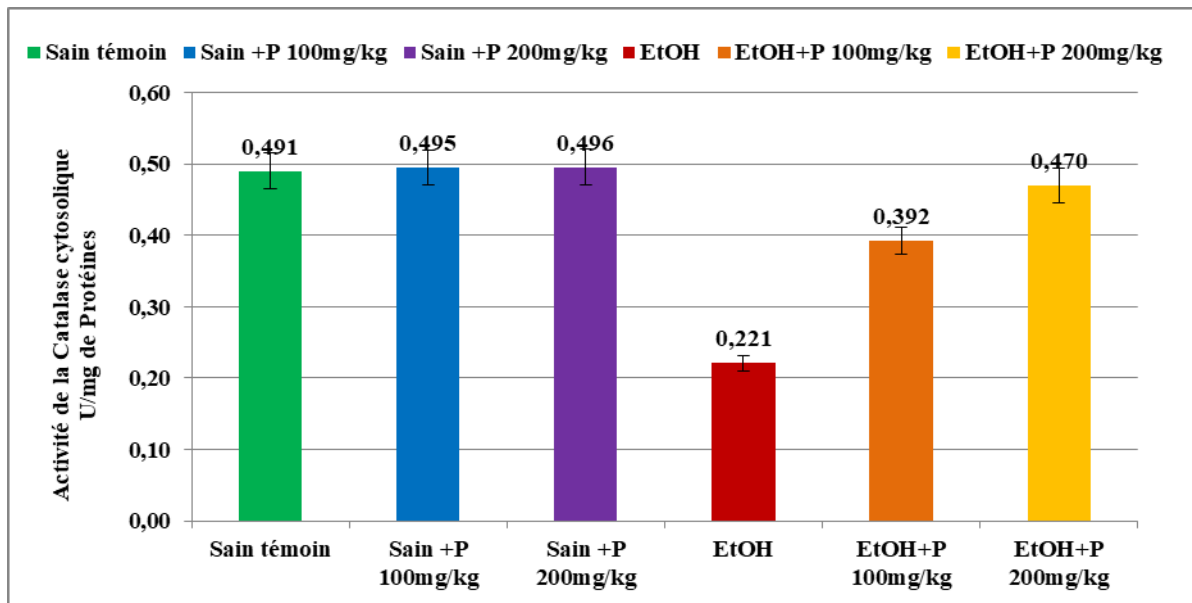


نسيجي مقارنة بـ  $35.20 \pm 230.38$  نانو مول/ نسيجي) في جرعة تقدر بـ (100 ملغ/ كلف)، مقارنة بمجموعة الإيثانول و 17.07% ( $13.43 \pm 191.06$  نانو مول/ غ نسيجي مقارنة بـ  $35.20 \pm 230.38$  نانو مول غ نسيجي) في المعاملة بجرعة (200 ملغ/ كلف).

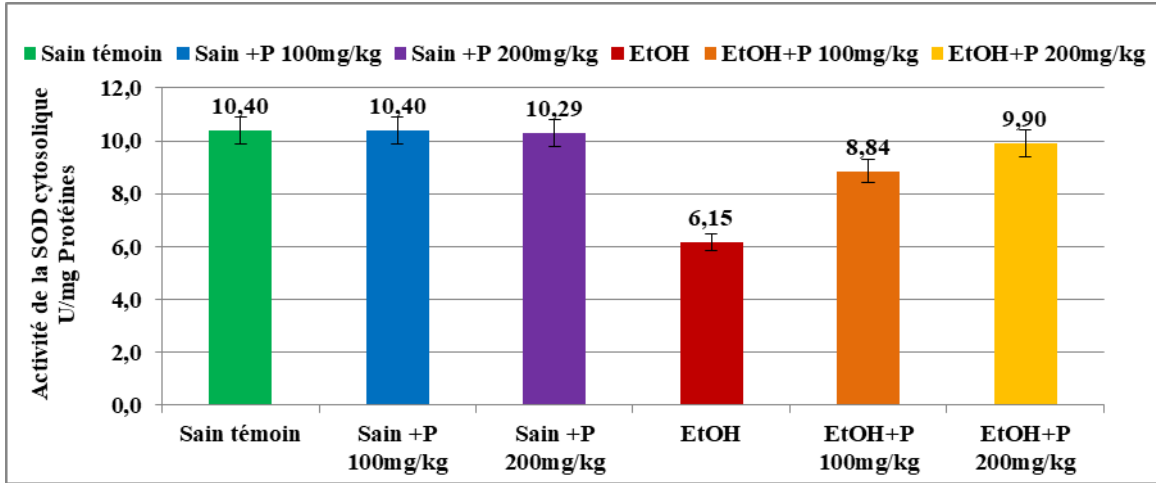
تجلت نتائج معاملة الجرذان السليمة بمستخلص النبتة (ب) في وجود تركيز من الـ MDA في الجنس الكلوي، لكن تكون قريبة من الحدود الطبيعية مقارنة مع المجموعة الشاهدة السليمة.

## II.2.6.2. تأثير المستخلص البيتانولي للنبتة على المؤشرات الإنزيمية المضادة للأكسدة

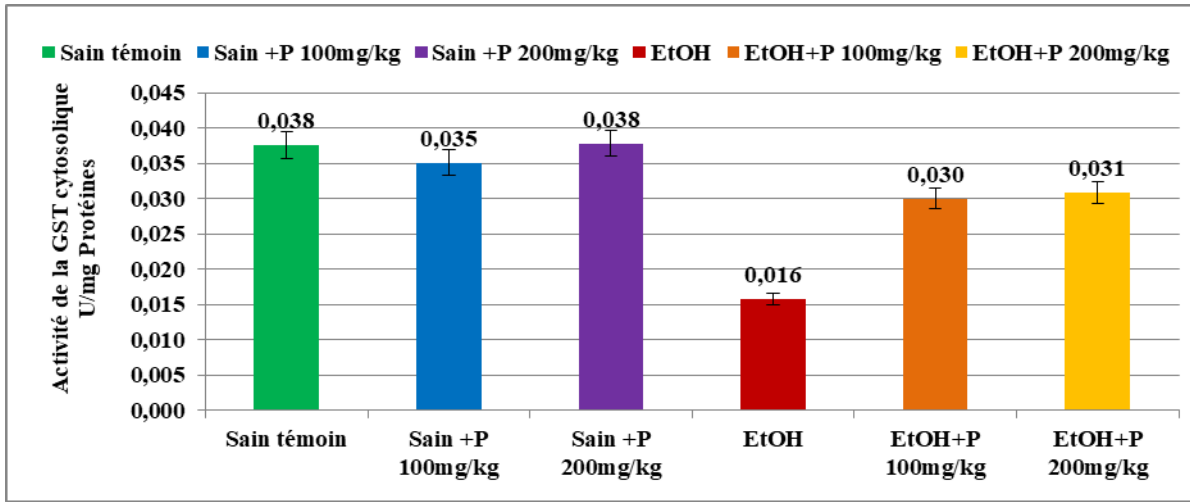
تُظهر كل من الأشكال 33، 34، 35 و 36 نتائج السمية المحدثة بواسطة جرعة تقدر بـ 3 غ/ كلف من الإيثانول والدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبتة (ب) بعد معاملة لمدة 15 يوم على النشاط الإنزيمي لمضادات الأكسدة في السيتوزول الكلوي لدى الجرذان.



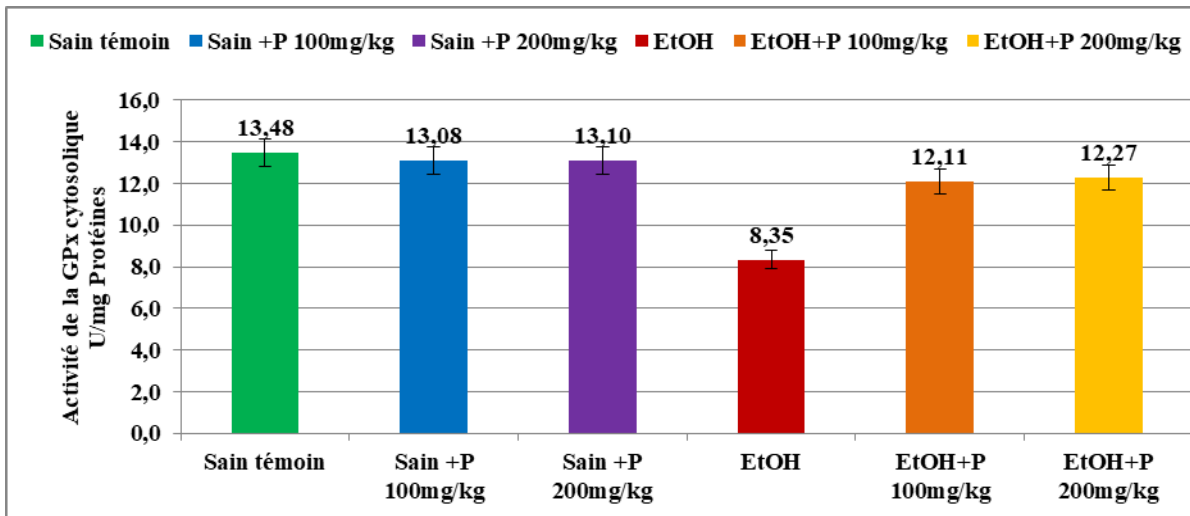
الشكل 33: نتائج الدور الوقائي للمستخلص النباتي للنبتة (ب) وسمية الإيثانول (3 غ/ كلف) على النشاط الإنزيمي للكاتالاز في السيتوزول الكلوي لدى الجرذان بعد المعاملة لمدة 15 يوم.



الشكل 34: نتائج الدور الوقائي للمستخلص النباتي للنبتة (ب) وسمية الإثانول (3 غ/كغ) على النشاط الإنزيمي لـ SOD في السيتوزول الكلوي لدى الجرذان بعد المعاملة لمدة 15 يوم.



الشكل 35: نتائج الدور الوقائي للمستخلص النباتي للنبتة (ب) وسمية الإثانول (3 غ/كغ) على النشاط الإنزيمي لـ GST في السيتوزول الكلوي لدى الجرذان بعد المعاملة لمدة 15 يوم.



الشكل 36: نتائج الدور الوقائي للمستخلص النباتي للنبتة (ب) وسمية الإثانول (3 غ/كغ) على النشاط الإنزيمي لـ GPx في السيتوزول الكلوي لدى الجرذان بعد المعاملة لمدة 15 يوم.

كشفت المقارنة بين الجرذان المعاملة بالإيثانول و المجموعة الشاهدة السليمة، عن انخفاض كبير في تركيز مضادات الأكسدة الإنزيمية المتمثلة في كل من CAT (44.01%)، SOD (59.13%)، GST (42.10%)، GP<sub>x</sub> (62.94%) في المجموعة المعاملة بالإيثانول مقارنة بالمجموعة الشاهدة السليمة.

المعاملة المتزامنة بين المستخلص النباتي و الإيثانول، أظهرت تحسن في الضرر المُحدث في النظام المضاد للأكسدة في كلية الجرذان واستعادة نشاطه المضاد للأكسدة لكل من CAT (0.031±0.392 وحدة دولية/ ملغ بروتينين مقارنة بـ 0.068 ± 0.221 وحدة دولية/ ملغ بروتينين)، SOD (1.69±8.84 وحدة دولية/ ملغ بروتينين مقارنة بـ 0.99 ± 6.15 وحدة دولية/ ملغ بروتينين)، GST (0.004±0.030 وحدة دولية/ ملغ بروتينين مقارنة بـ 0.001 ± 0.016 وحدة دولية/ ملغ بروتينين)، GP<sub>x</sub> (0.54 ± 12.11 وحدة دولية/ ملغ بروتينين مقارنة بـ 1.06 ± 8.35 وحدة دولية/ ملغ بروتينين) في الجرعة المقدره بـ 100 غ/ كلغ أما بالنسبة للجرعة المقدره بـ 200 ملغ/ كلغ من CAT (0.042 ± 0.470 وحدة دولية/ ملغ بروتينين مقارنة بـ 0.068 ± 0.221 وحدة دولية/ ملغ بروتينين)، SOD (0.98 ± 9.90 وحدة دولية/ ملغ بروتينين مقارنة بـ 0.99 ± 6.15 وحدة دولية/ ملغ بروتينين)، GST (0.003 ± 0.031 وحدة دولية/ ملغ بروتينين مقارنة بـ 0.001 ± 6.15)، GP<sub>x</sub> (1.27 ± 12.27 وحدة دولية/ ملغ بروتينين مقارنة بـ 1.06 ± 8.35 وحدة دولية/ ملغ بروتينين) مقارنة بالمجموعة المعاملة بالإيثانول لكن دون الوصول للحدود الطبيعية.

إعطاء الجرذان السليمة جرعة من المستخلص البيتانولي للنبته، أسفر عن أنّ نشاط مضادات الأكسدة في المعاملة متماثلة تماما لما هو عليه في المجموعة الشاهدة السليمة و ذلك في مستويات كل من الـ CAT، و الـ SOD، الـ GST (100%) أما مستويات الـ GPX فكان التماثل بنسبة 97.03% في مجموعة الجرذان المعاملة بتركيز 100ملغ/ كلغ، وفي المجموعة المعاملة بتركيز 200ملغ/ كلغ كانت النتائج مماثلة تماما في كل من الـ GST و الـ CAT (100%)، في الـ SOD فبلغت نسبة التماثل 98.94%، و في الـ GP<sub>x</sub> قدرت بـ 97.19%.

المنافسة

## III. المناقشة

ينتج عن التناول المزمن للإيثانول تغيرات مرضية مختلفة على مستوى عضوية الكائن الحي (Labib, 1989)، حيث من بين الأعضاء المستهدفة الكلية (Amet, 2000)، هذا راجع إلى مشاركة هذه الأخيرة في عملية إستقلاب الكحول (Lim et al., 1993 ; Lands, 1998 ; Goullé & Guerbet, 2016) بالإضافة إلى دورها المهم في عملية الإطراح، بحيث يمر الإيثانول و عناصره عبرها ليُفرز في البول ويكون محتواه في هذا الأخير أعلى من محتواه في الدم و الكبد (Das et al., 2008).

إنّ الاكتشافات الفيتوكيميائية أدت إلى اكتشاف المواد الفعالة في النباتات المستعملة في الطب التقليدي و الاعتماد عليها في صناعة نسبة كبيرة من الأدوية ذات المصدر النباتي (Farnsworth et al., 1986) ومن أهم المركبات التي أثبتت فعاليتها البيولوجية نذكر عديدات الفينول أو الفلافونويدات الكلية التي تلعب عدة أدوار كمضادات للأكسدة، قانصات للجذور الحرة، مضادات للميكروبات ومضادات للفيروسات... الخ (Satyajit, 2007).

أبرزت الدراسات أثر الحماية الكلوية لبعض النباتات الطبية ضد السمية الكلوية المحدثة بالإيثانول، حيث أن اعطاء هاته المستخلصات يعدّل بشكل كبير الخلل الوظيفي للخلايا الأنوبوية الكلوية القريبة و ذلك من خلال إسترجاع مؤشرات الوظيفة الكلوية في الدم لحدودها الطبيعية نوعا ما و استعادة النظام المضاد للأكسدة لنشاطه.

هدفنا من خلال خطوات عملنا إلى:

- ✓ إجراء دراسة مخبرية *In vitro* يتم من خلالها التحديد الكمي للبوليفينول الكلي والفلافونويدات وقياس القدرة المضادة للأكسدة لنبتتين طبييتين جزائريتين (أ) و (ب).
- ✓ دراسة السمية الكلوية المستحدثة بالإيثانول والتأثير الوقائي لمستخلص البيتانولي لأحد هاته النبتتين الطبييتين.

في الجزء الأول أظهرت نتائج دراستنا إحتواء المستخلص البيتانولي للنبتين (أ) و (ب) على المركبات الفينولية، لكن بكمية كبيرة في النبتة (ب) والتي قدرت بـ  $5,55 \pm 208,25$  من حمض الجاليك المكافئ/ 1 غ من الوزن الجاف للمستخلص، مقارنة بالنبتة (أ) التي كانت فيها المركبات الفينولية بكمية ضعيفة قدرت بـ  $4,38 \pm 69,35$  من حمض الجاليك المكافئ/ 1 غ من الوزن الجاف للمستخلص.

محتويات البوليفينول التي تم تحديدها ليست مقاييس مطلقة لكميات الفينولات للمادة الأولية، فهي في الواقع تعتمد على القدرة الاختزالية مكافئة لحمض الغاليك. توفر القيم التي تم الحصول عليها من خلال طريقة القياس اللوني معلومات مباشرة عن كمية مجموعات مضادات الأكسدة الفينولية للمستخلص والتي تعتمد بشكل أساسي على عدد مجاميع الهيدروكسيل في الأخير (Balasunderam et al., 2006).

قد يختلف شكل البوليفينول في المستخلصات النباتية تحت تأثير عدة عوامل بما في ذلك، النوع، المناخ والموقع الجغرافي (Ryan et al., 1999 ; Benlarbi, 2004) والأمراض المختلفة التي قد تؤثر على النبات، نضج النبات (Park & Cha, 2003)، درجة الحرارة ومذيبات الإستخلاص (Sousa et al., 2008 ; Conde et al., 2009).

ومع ذلك ، فإن المحتوى الفينولي في مستخلصات النبات يعتمد أيضًا على نوع المستخلص، أي قطبية المذيب المستخدم في الاستخراج. الذوبان العالي للفينولات في المذيبات القطبية يعطي تركيز عال من هذه المركبات في المستخلصات التي تم الحصول عليها باستخدام المذيبات القطبية للاستخلاص.

من خلال دراستنا لاحظنا ان نتائج الفلافونويدات غير مرتبطة مع نتائج البوليفينول حيث قدرت الفلافونويدات بالنبتة (أ) بـ  $0,74 \pm 51,53$  ملغ المكافئ للكروستين من الوزن الجاف للمستخلص مقارنة مع مستخلص النبتة (ب) الذي قدرت فيه كمية الفلافونويدات الكلية بـ  $1,77 \pm 37,47$  ملغ المكافئ للكروستين من الوزن الجاف للمستخلص، وهذا يفسر باحتواء النبتة (أ) على مركبات فينولية ذات طبيعة فلافونويدية أكبر من النبتة (ب).

تركيز الفلافونويدات في المستخلصات النباتية يعتمد أيضا على نوع الأساس المرجعي المستخدم (الكرستين) الذي يمكنه أيضا تغيير النتائج (Ghedadb, 2015).

الـ DPPH هو عبارة عن جذر يستعمل في تقييم النشاط المضاد للأكسدة، هذا راجع إلى دور مضادات الأكسدة في إقتناص جذر الـ DPPH، بفضل قدرتها على إعطاء جزيئة هيدروجين (Bouman, et al, 1979 ; Nail et al., 2003)، ويعد الـ DPPH جذر حر له القدرة على استقبال إلكترون أو ذرة هيدروجين وذلك ليتحول إلى جزيئة مستقرة. هذا ما يؤدي إلى تناقص تركيز هذه الجذور الحرة وفي المقابل تناقص الكثافة الضوئية خلال زمن التفاعل إلى أن تنتهي قدرة مضادات الأكسدة المعطية لذرات الهيدروجين. يتم تقدير التأثير الإزاحي للمستخلص البيتانولي لـ جذر DPPH أو ما يعرف بالـ IC 50 و التي تمثل التركيز المثبط لـ 50 % من هذا الجذر بحيث أن أدنى قيمة لها تعني التأثير الإزاحي الأفضل للعينة.

وقد بينت نتائج دراستنا قدرة المستخلص البيتانولي للنبتين (أ) و (ب) على إقتناص جذر الـ DPPH، حيث كانت القدرة التثبيطية لهذا الأخير في النبتة (ب) والتي قدرت فيه الـ IC50 بـ  $37,02 \pm 95$  ميكروغرام/مل وهي أعلى بكثير من النبتة (أ) التي قدرت فيها بـ  $303,5 \pm 3,06$  ميكروغرام/مل، هذا يدل على إمتلاك النبتة (ب) نشاط مضاد للأكسدة أكثر من النبتة (أ) وكلتا النبتتين تملك نشاط مضاد للأكسدة أقل من الأساس المرجعي و هو حمض الأسكوربيك الذي قدرت فيه قيمة IC50 بـ  $8,40 \pm 0,06$  ميكرو غرام/مل وهذا قد يفسر بقدرة المستخلص البيتانولي للنبتين على إعطاء ذرة هيدروجين ويتبين هذا من خلال التغير اللوني من البنفسجي إلى الأصفر ويظهر هذا بالعين المجردة.

توافقت وتطابقت نتائج النشاط المضاد للأكسدة في النبتة (أ) و (ب) مع نتائج أعمال سابقة لأنواع مختلفة من المستخلصات النباتية المعروفة، التي أثبت نشاطها المضاد للأكسدة مثل مستخلص قشرة الكاجو. كما تمكن Mahbood و آخرون (2005) و Mahabood & Gurjot (2007) من اثبات أن المعالجة

المسبقة بمستخلص الشاي الأسود والأخضر على التوالي، تحتوي على النشاط المضاد للأكسدة لهذا المستخلص، وغناه بمختلف المركبات الفلافونويدية وهذا ما يطابق نتائج دراستنا.

أما نتائجنا المتحصل عليها في اختبار موليبيدات الفوسفات، تؤكد النشاطية الضد تأكسدية التي تمتلكها النبتة (ب) والتي قدرت بـ 190,66 مل غرام مكافئ لحمض أسكوربيك لكل غرام كما تؤكد أيضا ضعف النبتة (أ) لهذه النشاطية والتي قدرت بـ 96,31 مل غرام مكافئ لحمض أسكوربيك لكل غرام وهذا يدل على أنّ هذه الفينولات هي فعالة في ارجاع الموليبيدات.

بالإضافة إلى هذا وانطلاقا من النتائج التي تم الحصول عليها في اختبار الـ FRAP والتي تُظهر قدرة المستخلص البيتانولي على اختزال الحديد، عند التركيز 1000 ميكروغرام/ مل فإن القدرة الإختزالية تكون كبيرة خاصة في النبتة (ب) ( $DO = 2,2$ ) مقارنة مع المستخلص النباتي للنبتة (أ) التي تقدر الـ DO فيها بـ 0,4.

تجدر الإشارة إلى أنّ القدرة الإختزالية للمستخلصات النباتية تعتمد على الجرعة (التركيز)، وهذا يعني أنّ قدرة الحد من الحديد تتناسب مع الزيادة في تركيز المستخلص النباتي. من المحتمل أن تكون القدرة المختزلة لمستخلصات النبات ناتجة عن وجود مجموعة الهيدروكسيل في المركبات الفينولية التي يمكن أن تكون بمثابة مانح للإلكترون (Bougandoura et Bendimerad, 2012) و من المحتمل أيضا أن تكون القدرة الإختزالية لبعض المستخلصات النباتية تعود لإحتوائها على بعض الفلافونويدات التي تعمل على مخلبة المعادن و تثبيط تفاعل Fenton الذي يعتبر مصدر أساسي لإنتاج الأشكال الأكسجينية النشطة (Puppo, 1992). كما أظهرت بعض الدراسات السابقة أن القدرة الإختزالية للمركب ما يمكن أن تكون مؤشرا هاما يعبر على نشاطه المضاد للأكسدة المحتمل (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

أثبتت دراستنا الخارج العضوية غنى المستخلص البيتانولي للنبتة (ب) بمركبات عديدة الفينول و الفلافونويدات الكلية ودورها الأسر للجذور الحرة. من هنا حاولنا إظهار الدور الوقائي للمستخلص



البيتانولي لهذه النبتة من خلال الدراسة الداخل العضوية. حيث أظهرت العديد من الدراسات فيما يخص استهلاك الإيثانول دور هذا الأخير في إحداث مجموعة من التغيرات المعقدة والمسؤولة عن تلف الوظائف لمجموعة متنوعة من الأعضاء، بما في ذلك الكلية (Rodrigo, 1997)، هذا راجع إلى طبيعة الـ EtOH المحبة للدهون التي تسمح له بالإرتباط مع الأغشية الخلوية خاصة مع الفوسفوليبيدات ثنائية الطبقة (Mattio & Gerolami, 1991) فيخترق الغشاء متوجها إلى سيتوبلازم الخلية زيادة على ذلك قدرة الإيثانول على توليد الجذور الحرة خلال عملية استقلابه (Nordman, 1994)، بواسطة CYP 2E1 (Eckström & Ingelman-Sundberg, 1989) حيث يُنتج هذا الأخير أنواع مختلفة من الأصناف الجذرية (Albano et al., 1999). تستهدف هي الأخرى أهم الجزيئات الحيوية الخلوية المتمثلة في الحمض النووي، البروتينات، الأحماض الدهنية (kukielka, 1994).

يتسبب الإيثانول في مجموعة من الإضطرابات في العمليات الفيزيولوجية و الكيميائية الحيوية الكلوية من بينها، الإخلال بالوظيفة الكلوية في الحفاظ على التوازن المائي في الجسم عن طريق التسبب في زيادة إدرار البول (Heidland et al., 1985)، اختلال في توازن الصوديوم والسوائل في الجسم و الفشل الكلوي، اضطرابات في التوازن الحامض قاعدي (Das & Vasudevan, 2008) وبالتالي المؤثرات البيوكيميائية الكلوية، كما تؤدي الجذور الحرة الناتجة عن استقلاب الإيثانول إلى الإجهاد التأكسدي (Jones et al., 2000) مسببة اضطرابات في نشاط مضادات الأكسدة (Scott, 2007).

تُسببت جرعة 3غ/كغ لمدة 15 يوم من الإيثانول في دراستنا هذه، في ارتفاع مستويات كل من الكرياتنين (15 %) واليوريا (16.27 %) المصلين، حيث يعد هذين الأخيرين منتجات رئيسية لاستقلاب البروتينات ودليل على سلامة الوظيفة الكلوية، أي بالضبط على النشاط الكبيبي الترشيحي والإخراج الأنبوبي (Lorz et al., 2004) وبالتالي مؤشر حساس للسمية الكلوية، مثل ما جاء في دراسات قام بها Sinceur و آخرون (1985) وأخرى من قبل kukielka وآخرون (1994) والتي أكدت أنّ تناول الإيثانول قد يعمل على تحريض السيتوكروم p450 2E1 المتواجد على مستوى الشبكة الأندوبلازمية،

يُحفز هذا الأخير توليد الجذور الحرة أثناء أيضه للإيثانول. تستهدف الجذور الحرة المتشكلة أهم الجزيئات الحيوية الخلوية المتمثلة في الحمض النووي، البروتينات، الأحماض الدهنية.

من خلال نتائج التجربة التي قمنا بها على الجرذان لإظهار الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للنبتة (ب)، على السمية الكلوية للإيثانول (3غ/كغ) لمدة 15 يوم. حيث تم تطبيق المستخلص البيتانولي النباتي بتركيزين مختلفين (100مغ/كغ و 200مغ/كغ)، سجلنا قدرة هذا الأخير على تعديل مستويات كل من الكرياتينين و اليوريا، هذا راجع إلى الدور المضاد للأكسدة الذي تتمتع به النباتة لاحتوائها على عديدات الفينول، التي تعتبر المجموعة الأكبر والأوسع نشاط و انتشار المعروفة بتنشيط الجذور الحرة، بالتالي تنشيط عملية الأكسدة، مثل ما جاء في دراسة قام بيها Rafeian-kopaei (2013).

أما حمض اليوريك هو المركب النهائي لعملية هدم القواعد البيريميديية و البيورينية. قد تعود زيادته (39.06 %) التي ظهرت في الدراسة التي قمنا بها بعد المعاملة بجرعة 3غ/كغ من الإيثانول لمدة 15 يوم، إلى إرتفاع الأنواع الأكسجينية النشطة الناتجة عن أيض الإيثانول، هذه الأنواع الأكسجينية الحرة تمتلك القدرة على بناء روابط مع القواعد الأزوتية، مسببة هدمها. كما يُرجع ارتفاع حمض اليوريك إلى زيادة تركيبه و نقص طرحه، مثل ما جاء في دراسة قام بيها Vanthiel وآخرون (1977).

حيث تم تطبيق المستخلص البيتانولي النباتي بتركيزين مختلفين (100مغ/كغ و 200مغ/كغ)، فسجلنا قدرة هذا الأخير على تعديل مستوي حمض اليوريك، هذا راجع إلى الدور المضاد للأكسدة الذي تتمتع به النباتة لاحتوائها على عديدات الفينول، التي تعتبر المجموعة الأكبر والأوسع نشاط و انتشار المعروفة بتنشيط الجذور الحرة، بالتالي تنشيط عملية الأكسدة، مثل ما جاء في دراسة قام بيها Rafeian-kopaei (2013).

كما وجدنا أنّ هناك اختلال في التوازن الشاردي في مصل الجرذان. أي حدوث اضطراب خاصة بالنسبة لشوارد الـ  $K^+$  حيث لاحظنا ارتفاع قيمته في المصل (57.48 %). من المعروف أن ثبات التوازن الشاردي في الوسط الداخلي مهم جدا بالنسبة للوظائف الحيوية خصوصا على مستوى الكلى. قد يتسبب الـ EtOH في اضطرابه على جانبي الغشاء وكل هذا من الممكن أن يؤكد فرضية استهداف الـ

EtOH للغشاء الخلوي الكلوي والإضرار بوظائفه وكل هذا يؤدي إلى عواقب وخيمة على المستوى الجزيئي. كما بينت نتائجنا الدور الوقائي للنبتة وذلك ظهر من خلال قدرتها على التخفيض في الاضطراب الشاردي، هذا راجع إلى المركبات التي تحتويها النباتة من عديدات الفينول والفلافونويدات وخصائصها المشابهة لمضادات الأكسدة (Cecchin & De Marchi, 1996).

من بين أهم وأخطر الجذور الحرة الناتجة عن عملية أيض الإيثانول، الجذر الحر للأكسجين ( $O^{\cdot-}$ )، جذور الهيدروكسيل ( $OH^{\cdot}$ ) و بيروكسيد الهيدروجين ( $H_2O_2$ )، التي تستهدف بدورها الغشاء الفوسفوليبيدي للخلايا محدثة تلف مؤكسد وتحريض الأكسدة الفوقية للأحماض الدهنية، هذا راجع لغنى الغشاء بالدهون. نظرا لإحتواء غشاء الخلايا الكلوية على نسبة كبيرة من الأحماض الدهنية غير المشبعة وتمتع الإيثانول بخاصية الذوبان في الدهون (Mattio & Gerolami, 1991)، كل هذا يُسهل ارتباط الإيثانول بشدة مع الأغشية الخلوية (الطبقة الفوسفوليبيدية الثنائية)، محدثا تغيرات في الهيكل التركيبي والوظيفي في غشاء الخلايا الكلوية. زيادة على ذلك يُسبب الإيثانول انخفاض ميوعة الأغشية وزيادة نفاذيتها.

يعد الـ MDA المركب النهائي الناتج عن عملية الأكسدة الفوقية للبيدات وهو أهم مؤشر دال عليها. هذا موافق لدراسات قام بها You وآخرون (2010).

مستويات الـ MDA المرتفعة (25.50%) التي ظهرت في الدراسة التي قمنا بها والمتمثلة في المعاملة بجرعة 3 غ/كغ من الإيثانول لمدة 15 يوم، قد تعكس التلف الناتج عن الأكسدة الفوقية للبيدات المحدثة بواسطة الإيثانول. إلى جانب هذا لاحظ Scott وآخرون (2007)، في دراسته زيادة كبيرة في مستويات الـ MDA في الكبد والكلى بعد إعطاء جرعات مختلفة من الإيثانول في الجرذان المعاملة بهذا الأخير مقارنة بالمجموعة الشاهدة السليمة، كما اقترح كل من Husain وآخرون (2001) الذي عمل على دراسة تأثير تناول المزمّن للإيثانول بجرعة 2 غ/كغ (20% نقاوة) و النيكوتين 0.1 ملغ/كغ على الجهاز المضاد للأكسدة في أنسجة مختلفة في الجرذان الذكور بعد معاملتها لمدة 6,5 أسبوع، Lina و

أخرون (2012)، أن الإجهاد التأكسدي وما يترتب عن ذلك من أكسدة فوقية للدهون، قد تتشارك في توليد الجذور الأوكسيجينية الحرة والتي تتفاعل مع الأغشية الدهنية، مما يؤدي إلى تشكيل الـ MDA والتسبب في تلف الكبد والكلية.

كما أظهرت النتائج الخاصة بتجربتنا الهادفة إلى دراسة الدور الوقائي الذي يقوم به المستخلص النباتي ضد سمية الإيثانول (بجرعة 3 غ/كغ)، قدرة المستخلص البيتانولي ذو الجرعة (100 ملغ/كغ و 200 ملغ/كغ لمدة 15 يوم) خفض قيم الـ MDA النسيجية. هذا راجع إلى قدرة الفلافونويدات على تثبيط سلسلة التفاعلات في مرحلة البدء بواسطة اقتناصها لجذر الهيدروكسيل (Puppo, 1992)، حيث تعمل على إنهاء تفاعل السلسلة الجذرية بمنح ذرة هيدروجين لجذر الـ peroxy فيتكون بذلك جذر فلافونويدي. يستمر هذا الأخير في التفاعل مع الجذور الحرة حتى نهاية سلسلة الانتشار و ذلك لقدرتها على التداخل مع الطبقة الفوسفوليبيدية المزدوجة للغشاء الخلوي كما جاء في دراسات Saja و أخرون (1995).

كما وجدنا في الدراسة التي أجريناها أن معاملة مجموعة من الجرذان بجرعة تُقدر بـ 3 غ/كغ من الإيثانول لمدة 15 يوم أدت إلى ارتفاع عملية الأكسدة الفوقية الليبيدية وزيادة إنتاج وانتشار الجذور الحرة مسببةً هاته الأخيرة تعطيل أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة الإنزيمية بما في ذلك الـ CAT، SOD، GST، GP<sub>x</sub> (45.01%، 59.13%، 42.10%، 62.94% على التوالي). حيث اتفقت نتائجنا جيداً مع الدراسات التي قام بها كل من Balasubramaniyan وأخرون (2003)، Scott وأخرون (2007)، Liu وأخرون (2010). هذا الأخير اقترح أن تثبيط هذه المواد المضادة للأكسدة قد ينجم عن تراكم الـ O<sub>2</sub><sup>·-</sup> والـ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> أو عن المركبات الناتجة عن تفككه. يؤمن الـ SOD الحماية من الأضرار الناتجة عن الجذور الحرة بتحويل الـ O<sub>2</sub><sup>·-</sup> إلى H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ومنع تشكل الـ OH<sup>·</sup> (Zhang et al., 2008). حسب Liu وأخرون (2010) فإن انخفاض النشاط الإنزيمي لكل من الـ Cat، الـ SOD، الـ GST والـ Gp<sub>x</sub> في كل من الكبد والكلية نتيجة تناول الإيثانول لمدة 15 يوم قد يكون بسبب إنتاج الجذور الحرة الناتجة عن أيض الـ EtOH.

الاضطرابات على مستوى النظام الدفاعي الخاص بالأكسدة، يمكن أن تُفسر بتراكم كل من الـ  $H_2O_2$  والـ  $O_2$  أو الزيادة الإنتاجية للجذور الحرة عامة المحدثة نتيجة سمية الإيثانول ومنتجات أيضه (Balasubramaniyan et al., 2003 ; Liu et al., 2010).

زيادة على ذلك فإن Saravanan وآخرون (2006) الذين عملوا على دراسة السمية الكلوية الناتجة عن الإيثانول بعد معاملة الجردان الذكور بجرعة 5 غ/كغ لمدة 60 يوم و Scott وآخرون (2007) أشاروا إلى أنّ انخفاض نشاط الانزيمات المضادة للأكسدة من الممكن أن يعود إلى التناول المزمن للإيثانول أو عن الأنواع التفاعلية للأكسجين (ROS).

في تجربتنا هذه أظهر المستخلص البيتانولي للنبذة (ب) دورا وقائيا ضد السمية الكلوية المحدثة بواسطة الإيثانول، حيث نمت المعاملة بتركيزين مختلفين، مجموعة عوملت بتركيز 100 ملغ/كغ وأخرى عوملت بتركيز 200 ملغ/كغ ضد انخفاض نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة المتمثلة في الـ CAT، الـ SOD، الـ GST و الـ  $GP_x$  وذلك عن طريق تثبيط انتشار وتشكيل الجذور الحرة أو بمساعدة مضادات الأكسدة على استعادة نشاطها، هذا ما يُفسر احتواء النبذة على عديدات الفينول والفلافونويدات بكمية كبيرة مما يشير إلى أن المستخلص البيتانولي للنبذة (ب) له تأثير وقائي ضد السمية الناجمة عن الإيثانول.

حيث يفسر تراجع قيم الـ MDA و تحفيز النظام الجلوتاثيوني الذي يعكسه ارتفاع قيم كل من الـ CAT و الـ SOD و الـ GST و الـ  $GP_x$  يوحى بأن المستخلص قد تمكن من أسر الجذور الحرة والأنواع الأكسجينية النشطة التي تستنفذ هذه الأنظمة، أو تمكن من مخلبة معدنية لعدم السماح بتفاعلها مع الجذور و ابطال توليد أحر الجذور  $\cdot OH$ ، مما ينبئ بأن هذا المستخلص قد حافظ على البنية والوظيفة الكلوية.

ومن الممكن القول أن دور هذا المستخلص في التخلص أو التخفيف من سمية هذه المادة السامة يعتمد على دراسة العديد من العوامل والبحث فيها وعدم الإعتماد الكلي على القياسات الخارج عضوية للنشاط المضاد للأكسدة فقط بل يجب الأخذ بعين الاعتبار التحول البيولوجي لهذه المركبات داخل

العضوية واختلاف المسارات الخاضعة لها وبالتالي استغلال هذه الخواص من أجل التحكم في الجرعات  
الفعالة في التخلص من سمية الإيثانول وغيرها من المركبات السامة.

الخلاصة

## الخلاصة

دراسة المؤشرات المرتبطة بالسمية الكلوية، هي دراسة واسعة ومتعددة العوامل. توجد العديد من العوامل التي تساهم في تقدم هذه الأمراض والتي تمثل السبب الرئيسي القصور الكلوي في مراحله الاخيرة في العالم.

النباتات الطبية هي مصدر غالبية مضادات الأكسدة الطبيعية ولا تزال قيد الاستغلال في المجال الطبي. علماً أنّ مضادات الأكسدة تمنع بشكل كبير عدة أمراض بما في ذلك الفشل الكلوي، وجهت الدراسات نحو تطوير عقاقير جديدة تعتمد على مضادات الأكسدة ذات المصدر الطبيعي والإعتماد عليها في المجال الطبي.

في الجزء الأول من هذه الدراسة، أظهرت نتائج دراستنا *In vitro* احتواء النباتين (أ) و (ب) على المركبات الفينولية والفلافونويدات الكلية و كذا قدرتها على اقتناص جذر الـ DPPH، لكن كانت بكمية ضعيفة في النبتة (أ) مقارنة بالنبتة (ب) التي كانت فيها بكمية كبيرة وقد تم تأكيد هذه النتائج باختبارات أخرى هي فوسفات الموليبيدات و الـ FRAP. وبالتالي غنى هاتين النباتين بمضادات الأكسدة لكن بكميات متفاوتة و أيضاً قدرتها على اقتناص الجذور الحرة.

من جهة أخرى النتائج المتحصل عليها من خلال دراستنا *In vivo*، أظهرت بشكل واضح أنّ معاملة الحيوانات بالإيثانول نتج عن سمية كلوية، تظهر من خلال زيادة في مستويات مؤشرات السمية الكلوية في مصل الدم المتمثلة في الكرياتينين، اليوريا و حمض اليوريك، بينما لم يحدث أي تغير في مستوى الألبومين و تركيز شاردتي الصوديوم و الكلور. كما سجلنا انخفاض في نشاط النظام المضاد للأكسدة الإنزيمي (CAT, SOD, GST, GP<sub>x</sub>)، وزيادة في الأكسدة الفوقية الأحماض الدهنية الغير مشبعة في السيتوزول والمجنس الكلوي.



في المقابل بين المستخلص البيتانولي للنبته (ب) ، تراجع إرتفاع مؤشرات الوظيفة الكلوية في الدم و استعادة النظام المضاد للأكسدة لنشاطه في عينة المجنس و السيتوزول، بالنسبة للجرذان التي تم معاملتها بجرعتين مختلفتين من النبته (100 مغ/ كلغ و 200 مغ/ كلغ).

يظهر تأثير هذه النبته الطبيه بوضوح من خلال نتائجا إلا أن هذه النتائج تفتح مجال واسع للبحث عن الجزيئات الفعالة في هذه النبته الطبيه وآلية عملها ضد السمية الكلوية. من جهة أخرى، في حين أن مخاطر استهلاك الكحول معروفة جيدا إلا أن الآليات الجزيئية الخلوية الدقيقة لإصابة الأنسجة الكلوية المرتبطة باستخدام الكحول المزمن معقدة للغاية ومتعددة العوامل هذا ما يفتح آفاق واسعة و يطرح إشكاليات عديدة، تستوجب القيام بدراسات جديدة للعمل على معرفة الآلية الدقيقة للسمية الكلوية الناتجة عن التناول المزمن للإيثانول.

المراجع

## المراجع

### A

**Ader, J. L., Carré, F., Dinh-Xuan, A. T., Duclos, M., Kubis, N., Mercier, J., Mion, F., Préfaut, C., & Roman, S. (2006).** Physiologie. 2<sup>ème</sup> édition. Edition *Masson*. Issy-les-Moulineaux.

**Albano, E., French, S., Ingelmann-sundber, G., M. (1999).** Hydroxyethyl radicals in ethanol hepatotoxicity. *Frontiers in Bioscience*, **4** : 533-540.

**Amet, Y., Plee-Gautier, E., Berthou, F., Adas, F., & French, S. W. (2000).** Adaptation to chronic ethanol administration emphasized by fatty acid hydroxylation in rat liver and kidney microsomes *Eur J Nutr*; **39** (6): 270-6. 84-92.

**Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004).** Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, **84**, 551 – 562.

**Annabelle, G. (2006).** Etude des effets et des mécanisme cardioprotecteur de l'éthanol chez le rat P20 .Université Joseph-fourier –Grenoble I.

**Anonymous. (1989).** Consensus statement on the health significance of nephrotoxicity (Editorial). *Toxicol Lett*, 46: 1-11.

**ASBNQ, (2007).** Alcool et Santé-Bibliothèque nationale de Quebec. Les effets de la consommation abusive d'alcool, 2007. 978-2-923548-18-0.

**Atessahin, A., Yilmaz, S., Karahan, I., Ceribasi, A. O., & Karaoglu, A. (2005).** Effets du lycopène contre la néphrotoxicité induite par le cisplatineet le stress oxydatif chez les rats. *Toxicologie* 212(2-3):116–123.

### B

**Balasubramaniyan, V., Sailaja, J. K., & Nalini, N. (2003).** Role of leptin onalcohol-induced oxidative stress in swiss mice. *Pharmacol Res* 47:211–216.

**Ballesterosa, M. L., Wunderlin, D. A., & Bistoni, M. A. (2009).** Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 199–205.

**Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014).** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de béchar en algérie. *Phytothérapie*, 12, 364 – 371.

**Berr, C., Clavel-chapelon, F., et al. (2001).** Expertise collective . Alcool, effets sur la santé .Enzymes du métabolisme de l'éthanol .Editions *INSERM*, september 2001 ,p360.

**Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, 79 – 82.

**Bommas, Teubner, & Voss. (2008).** Cours d'anatomie. Traduction de l'édition *allemande par Antoine Dhem*. Editions *DE Boeck*. Paris, P287.

**BOSRON, W. F. & Li, T. K. (1986).** Genetic polymorphism of human liver alcohol and aldehyde dehydrogenases, and their relationship to alcohol metabolism and alcoholism. *Hepatology*, 6 : 502-510.

**Boubchir, M. A. (2002).** Abrégé de néphrologie. Edition *ELAMEL*. Tizi-ouzou, P21-23.

**Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature & Technologie*, (9), 14 – 19.

**Brown, D. J. (1985).** The pharmacokinetics of alcohol excretion in human perspiration. *Exptl. Clin. Pharmacol.* , 7: 539-544.

## C

**Cecchin, E., & De Marchi, S. (1996).** Alcohol misuse and renal damage university of Udine Medical School, Udine, Italy. *Addiction Biology* 1, 7–17.

Cederbaum, A. I., Lu, Y., & Wu, D. (2009). Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury. *Archives of Toxicology*.;83:519–548.

**Christèle, M. (2008).** Les 5 fonctions vitales (anatomo-physiopathologie). Edition *Lammare*, P186 -191.

**Chung, Y. C., Chang C. T., Chao, W. W., Lin, C. F., & Chou, S. T. (2002).** Antioxidative

activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, **50**, 2454 – 2458.

**Collins, T. D., Eisenga, B. H., Bhandari, S. D., & McMartin, K. E. (1992).** Effects of ethanol on tissue folate incorporation and recovery from folate deficiency in rats. *Alcohol Clin Exp Res*; **16**(4): 757-63.

**Crabb, D. W., & Sidhu, R. (1993).** Effects of ethanol on urinary acidification and on gluconeogenesis by isolated renal tubules metabolism; **42**(10): 1249-54.

**Crabb, D. W. (1995).** Ethanol oxidizing enzymes: roles in alcohol metabolism and alcoholic liverdisease. *Prog Liver Dis*, **13** : 151-172 .INSERM 2001.

## D

**Das, S. K., & Vasudevan, D. M. (2008).** Alcohol induced effects on kidney. Department of Biochemistry, Amrita Institute of Medical Sciences, Elamakkara P.O., Cochin 682026, Kerala **23** (1) 4-9.

**Das, S. K., Varadhan, S., Dhanya, L., Sukhes, M., & Vasudevan, D. M. (2000).** Effect of chronic ethanol exposure on renal function tests and oxidative stress in kidney. Department of Biochemistry, Amrita Institute of Medical Sciences, Elamakkara P.O. Cochin 682 026, India. **23** (4) 341-344.

**Das, S. K., & Vasudevan, D. M. (2008).** Alcohol induced effects on kidney. Department of Biochemistry, Amrita Institute of Medical Sciences, Elamakkara P.O., Cochin 682026, Kerala. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*.

**Del zoppo, G. (2003).** Etude cinétique de l'éthanol inhale et rôle du polymorphisme de l'acétaldéhyde désydrégénase de type 2 (ALDH2) dans la toxicité des vapeurs d'éthanol chez le rat P.

**Dorra, A. (2013-2014).** Toxicologie de l'alcool éthylique, diaporama de la faculté de pharmacie de monastir. Monastir: s.n., DCEP1. In these.les enjeux de la consommation d'alcool au cours de la grossesse 2015.

# E

**Eckstrom, G., & Ingelman-sndber, G., M. (1989).** Rat liver microsomal NADPH-supported oxidase activity and lipid peroxidation dependent on ethanol-inducible cytochrome P450 (P450 IIE1). *Biochem Pharmacol*, **38** : 1313-1319.

**Ehrig, T., Bosron, W. F., & Li, T. K. (1990).** Alcohol and aldehyde dehydrogenase. *Alcohol*, **25**: 105-116.

**Elgavish, A., & Elgavish, G. A. (1985).** In vitro ethanol effects on the transport properties of isolated renal brush-border membrane vesicles. *J Membr Biol* **88**(2): 123-30.

**Epstein, M. (1997).**Alcohols impact on kidney function. *Alcohol Health Res World*, **21**(1).

# F

**Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1986).** Place des plantes medicinales dans la therapeutique. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Sant*, **64** (2): 159- 175.

**Fong, K. L., Mccay, P. B., Poyer, J. L., Keele, B. B., & Misra, H. (1973).** Evidence that peroxydation of lysosomal membranes is initiated by hydroxyl free radicals produced during flavin enzyme activity. *J BiolChem*; **249**:7792-7.

**Fraga, C. G. (2007).** Plant polyphenols: How to translate their *in vitro* antioxidant actions to *in vivo* conditions. *IUBMB Life*, **59** (4-5), 308 – 315.

**Frederic, H., Martini, Ph. D., Michael, J., Timmons, M. S., Robert, B., Tallitsch, Ph. D., William, C., Ober, M. D., Claire, W., Garrison, R. N., Welch, K. M. D., Ralph, T., & Hutchings. (2009).** *Humananatomy. Seventh Edition*, P696.

# G

**Girre, C., Hisparde, E., & Tuszynski, T. (1995).** Toxicité de l'éthanol; *Encycl. Méd. Chir., Toxicologie-Pathologie professionnelle*, 16-047-A-20, 1-8 in Mbira Cédric ,La consommation d'alcool chez les étudiants : enquête au pres des etudiants de la Fmpos. Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine p36. universite des sciences, des techniques et des technologies de bamako .Mali 2014.

**Goull, P., & Guerbet, M. (2016).** Ethanol pharmacocinetique, metabolisme et methodes analytique 06 mars 2016.

**Gomez. H. (2014).** Comment devient-on alcoolique?. Guide de l'accompagnement des personnes en difficultés avec l'alcool. s.l. : Edition *Dunod*,. P 6-24.

## H

**Hamid, A., & Kaur, J. (2006).** Chronic alcoholism alters the transport characteristics of folate in rat renal brush border membrane. *Alcohol*; 38(1): 59-66.

**Harborne, J. B. (1967).** Comparative biochemistry of flavonoids-V: Luteolin 5- glucoside and its occurrence in the umbelliferae. *Phytochemistry*, **6** (11), 1569 – 1573.

**Hebi, M., & Eddouks, M. (2016).** Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*, **14**, 17 – 22.

<http://corpshumain.ca/Rein.php>. 11/06/2019. 15H58.

<https://docplayer.fr/152679-La-filtration-glomerulaire-et-sa-regulation.html>. 11/06/2019. 15H57.

<https://docplayer.fr/63163264-Dr-bouayed-service-d-anatomie-normale-chu-annee-universitaire.html>. 11/06/2019. 16H.

<https://fr.depositphotos.com/157794392/stock-illustration-human-kidney-diagram.html>. 11/06/2019. 15H56.

<https://slideplayer.fr/slide/10402842/>. 11/06/2019. 15H55.

<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-rein/Anatomie-du-rein>. 11/06/2019. 15H55.

**Husain, K., Scott, B. R., Reddy, S. K., & Somani, S. M. (2001).** Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. *Alcohol* 25(2):89 – 97.

## I

**INRS:** institut national de la recherche et de la santé 2011.

**INSEREM:** Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, 2001.

## J

**Jill, A. (2013).** Richardson DVM.in Small Animal Toxicology (Third Edition). Chapitre 46 P 547.science direct.

**Johansson, I., Ekstrom, G., Scholte, B., Puzycki, D., & Jomvall, H. (1988).** Ingelman-Sunberg M.Ethanol-, fasting- and acetone-inducible cytochromes P450 in rat liver: regulation and characteristics of enzymes belonging to the IIB and IIE gene subfamilies. *Biochemistry*; 27:1925-34.

**Jones, A. W., Hahn, R., & Stalberg, H. P. (1990).** Distribution of ethanol and water between plasma and whole blood; inter and intra individual variations after administration of ethanol by intravenous infusion. *Scand J Clin Lab Invest*, 50: 775-780 in INSERME 2001.

**Jones, A. W., & Jönsson, K. A. (1994).** Food-induced lowering of blood ethanol profiles and increased rate of elimination immediately after a meal. *J. Forensic Sci.*, , 39: 1084-1093.

**Jones, D. P., Mody, V. C., & Carlson, J. L., (2002).** Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses. *Free Rad Biol Med* 33:pp 1290-1300.

**Jornvall, H., Hedlund, J., Bergman, T., Oppermann, U., & Persson, B. (2010).** Superfamilies SDR and MDR: from early ancestry to present forms. Emergence of three lines, a Zn metalloenzyme, and distinct variabilities. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 396, 125\_130.

## K

**Kacimi, M. M. (2008).** Analyse du secteur de l'éthanol selon les principes du développement durable. Université de Sherbrooke mars 2008.

**Kim, R., Rotnitsky, A., Sparrow, D., et al. (1996).** A longitudinal study of low-level lead exposure and impairment of renal function. *The Normative Aging Study. IAMA* 1996 275 : 1177- 1181.



**Kono, H., Rusyn, I., Yin, M., et al. (2000).** NADPH oxidase-derived free radicals are key oxidants in alcohol-induced liver disease. *Journal of Clinical Investigation*.106(7):867–872.

**Koop, D. R., & Coon, M. J. (1986).** Ethanol oxidation and toxicity: role of alcohol-P450 oxygenase. *Alcohol Clin Exp Res*, **10** : 44S-49.

**Kukielka, E., Dicker, E., & Cederbaum, A. I. (1994).** Increased production of reactive oxygen species by rat liver mitochondria after chronic ethanol treatment. *Arch Biochem Biophys* 309:377–386.

## L

**Lacombe, M. (2015).** L'abrégé d'anatomie et de physiologie humaines. 7<sup>ème</sup> édition. Editions *Lamarre. Paris*.

**Lands, W. E. M.(1998).** A review of alcohol clearance in humans. *Alcohol J* ; 15 : 147-160.

**Latchoumycandane, C. A., Laura, E., Nagy, b., Thomas, M., & McIntyre, A. N. (2014).** Chronic ethanol ingestion induces oxidative kidney injury through taurine-inhibitable inflammation.

**Latchoumycandane, C., Nagy, L. E., & McIntyre, T. M., (2015).** Myeloperoxidase formation of PAF receptor ligands induces PAF receptor-dependent kidney injury during ethanol consumption. *Free Radical Biology and Medicine*86:179–190.

**Lieber, C. S. (1999).** Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS): the first 30 years (1968-1998): a review. *Alcohol Clin Exp Res* 06 JUN; **23**:991-1007.

**Lieber, C. S. (1977).** Metabolism of ethanol. In: Lieber CS, editor. *Metabolic aspects of alcoholism*. : University Park Press.P 413.

**Lim, R. T., Gentry, R. T., Ito, D., Yokohama, H., Baraona, E., & Lieber, C. S. (1993).** First-pass metabolism of ethanol is predominantly gastric. *Alcohol Exp. Res.* 17 : 1337- 1344.

**Lina, X., Zhanga, S., Huang, Q., Wei, L., Zhenga, L., Chena, Z., Jiaoa, Y., Huang,J., Fua, S., Littleton, J. M., Lovinger, D., Liljequist, S., Ticku, R., Matsumoto, I., & Barron, S. (2001).** Role of polyamines and NMDA receptors in ethanol dependence and withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res*;25 (5 Suppl ISBRA): 132S-136S.

**Lucas, D., Ferrara, R., Gonzalez, E., BODENEZ, P., Albores, A., et coll. (1999).** Chlorzoxazone, a selective probe for phenotyping CYP2E1 in humans. *Pharmacogenetics*, **9** : 377-388.

## M

**Maëlys, D. (2015).** les enjeux de la consommation d'alcool au cours de la grossesse. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Le Vendredi 6 novembre 2015.

**Mahajan, M. A., & Acara, M. (1994).** Uptake and phosphorylation of thiamine in rat kidney cortical slices. I. Effect of ethanol. *J Pharmacol Exp Ther*; 268(3): 1311-5.

**MALKA, F. (1986).** "Abrégé d'alcoologie", Édition *Masson Paris*, p 22 à 24.

**Malle, E., Buch, T., & Grone, H. J. (2003).** Myéloperoxydase dans les maladies du rein. *64 (6)*: 1956-1967.aaa

**Marieb, E. N. (2008).** Biologie humaine principes d'anatomie et de physiologie. 8<sup>ème</sup> édition. *Traduction française coordonnée par René Lachaine. Canada Quebec*, P544-545 ,547,552.

**Matteo, A., & Gerolami, A. (1991).** Métabolisme de l'éthanol. *Encycl Méd Chir (Elsevier SAS, Paris), Hépatologie*, 7-005-C-10,: 7p.

**Mbira, C. (2014).** La consommation d'alcool chez les étudiants : enquête au pres des étudiants de la Fmpos. Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine .université des sciences, des techniques et destechnologies de bamako. Mali p 36.

**Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarim J .Sci .Technol*, **26**, 211 – 219.

**Moses, E. F., Liamis, G., Liberopoulos, E., Kostas, C., & Siamopoulos. (2001).** Mechanisms of Hypocalcemia in Alcoholic Patients. Department of Internal Medicine, Medical School, University of Ioannina, Greece. *Nephron* 2001;89:459–460.

**Mumenthaler, M. S., Taylor, J. L., O'Hara, R., & Yesavage, J. A. (1999).** Genderdifferences in moderate drinking effects. *Alcohol Res Health*; **23**: 55 - 64.

## N

**Nanji, A. A. (2003).** Alcoholic liver disease. In: *Hepatology, a text book of liver diseases*. Philadelphia: WB Saunders.

**Nguyen, S. Y., & Bourouina, R. (2008).** *Manuel d'anatomie et de physiologie.* Franse: Edition Lamar. 4<sup>ème</sup> édition. P 290.

**Nagy, L. E. (2004).** Molecular aspects of alcohol metabolism: transcription factors involved in early ethanol- induced liver injury. *AnnuRev Nutr*;24:55–78.

**Nasrallah, D. F. (2014).** Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine. Evaluation de l'état nutritionnel chez les patients ayant une pathologie en rapport avec une consommation alcoolique chronique. Jeudi 23 octobre 2014.

**Nordmann, R. (1978).** *Alcoologie, Tome 1. Dossier clin.* Midy, paris, p 99.

**Nordmann, R. (1994).** Alcohol and antioxidant systems. *Alcohol Alcohol*, **29** : 513-522.

## O

**O.M.S (Organisation Mondiale De La Santé). (1993).** Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoides avec le mucus cervical. In INSERM, 1993, 55-56.

**Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001).** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, **49**, 4619 – 4626.

## P

**Perbert, F. (2003).** *Anatomie physiologie pharmacologie générale.* 6<sup>ème</sup> édition. Edition heures de France. Paris, P289-290.

**Peter, R., Bolker, R., Beaune, P. H., Iwasaki, M., Guengerich, F. P., & Yang, C. S. (1990).** Hydroxylation of chlorzoxazone as a specific probe for human liver cytochrome P450 IIE1. *Chem Res Toxicol*, **3** : 566-573.

**Peter, S., Harris, A., Samantha, R., Roy, A., Coughlan, C. A., David, J., Orlicky, b., Yongliang Liang, C, Colin, T., Shearn, A., James, R., Roede, A., Kristofer, S., & Fritza, N. (2015).** Chronic ethanol consumption induces mitochondrial protein acetylation and oxidative stress in the kidney. *Redox Biology* **6** (2015) 33 – 40.

**Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific

application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem*, **269**, 337 – 341. oxidative stress in the kidney. *Redox Biology* 6 (2015) 33 – 40.

**Prygiel, O. (2012).** Anatomie, physiologie. Les éditions *du Céfal*. Belgique, P164.

**Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowskib. (2010).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, (4), 1– 8.

## R

**Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P., & Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Sciences et techniques du vin. Tome 1. Edition. *Dunod, Paris*, p 671.

**Rice–Evans C.A., Miller N.j., Bolwell P.G., Bramley P.M., Pridhaml J.B. (1995).** The relative antioxidant activity of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, **22**:375-383.

**Roberto, M., Schweitzer, P., Madamba, S. G., Stouffer, D. G., Parsons, L. H., & Siggins, G. R. (2004).** Acute and chronic ethanol alter glutamatergic transmission in rat central amygdala: an in vitro and in vivo analysis. *J Neurosci*; **24**: 1594-160.

**Roberts, B. J., Shoaf, S. E., Jeong, K. S., & Song, B. J. (1994).** Induction of CYP2E1 in liver, kidney, brain and intestine during chronic ethanol administration and withdrawal: Evidence that CYP2E1 possesses a rapid phase half-life of 6 hours or less. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **205** (2): 1064–1071,. PMID: 7802633.

**Ross, D. M., & McMartin, K. E. (1996).** Effect of ethanol on folate binding by isolated rat renal brush border membranes. *Alcohol*; **13**(5): 449-54.

**Rothman, A., Proverbio, T., & Proverbio, F. (1994).** Studies on the effect of ethanol on the Na<sup>+</sup>, and the Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase activities of plasma membranes of rat kidney proximal tubular cells. *Acta Cient Venez*; **45**(4): 281-6.

**Rothman, A., Proverbio, T., Fernandez, E., & Proverbio, F. (1992).** Effect of ethanol on the Na<sup>+</sup>- and the Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase activities of basolateral plasma membranes of kidney proximal tubular cells. *Biochem Pharmacol*; **43**(9): 2034-6.

**Rueff, B. (1995).** Les malades de l'alcool. Éd. John Libbey Eurotext, p 202 ISBN 9782742000982.

# S

**Salaspuro, M.(1999).** Epidemiological aspects of alcoholic liver disease, ethanol metabolism, and pathogenesis of alcoholic liver injury. In: Oxford text book of clinical hepatology. Oxford University Press; nn.

**Satyajit, D. (2007).** Chemistry for Pharmacy Students, John Wiley & Sons Ltd, England.

**Scott, R., Reddy, K. S., Husain, K., Schlorff, E. C., Rybak, L. P., & Somani, S. M.(2007).** Dose response of ethanol on antioxidant defense system of liver, lung, and kidney in rat. *Pathophysiology* 7(1):25–32.

**Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., & Cillard, J. (2001).** Alcool et stress oxydatif. Laboratoire de biologie cellulaire et végétale, faculté de pharmacie, 2, avenue Pr. Léon Bernard, 35043 Rennes.

**Setshedi, M., & Wands, J. R. (2010).** de la Monte SM. Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxid Med Cell Longev*;3(3):178–85.

**Silvain, C., & Chagneau –Derrode, C. (2006).** métabolisme de l'éthanol. **EMC.** 7-005-C-10.

**Sinaceur, J., Ribiere, C., Sabourault, D., & Nordman, R., (1985).** Superoxide formation in liver mitochondria during ethanol intoxication: possible role in alcohol hepatotoxicity. In: Poli G, Cheesman KH, Dianzani MU, Slater TF (eds) Free radical in liver injury. IRL Press, Oxford, pp. 175–177.

**Sökmen, B. B., Aydın, S., & Kınaloğlu, K. (2012).** Antioxidant and antibacterial properties of lichen species *Diploschistes scruposus* (Schreb.) Norman. *IUFS Journal of Biology*, 71 (1), 43–51.

**Sorel, O. (2004).** La consommation d'alcool chez les étudiants: enquête au pres des étudiants de l'université de Nanpes, p19.

**Stewart, S. H., Finn, P. R., & Pihl, R. O. (1995).** A dose-response study of the effects of alcohol on the perceptions of pain and discomfort due to electric shock in men at high familial genetic risk for alcoholism. *Psychopharmacol.*, 119 : 261–267.

**Suresh, M. V., Sreera, N., Kumar, C. V., Lal, J. J., & Indira, M. (1999).** Impact of massive ascorbic acid supplementation on alcohol induced oxidative stress in Guinea pigs. *Toxicol Lett* 104(3):221–229.

## T

**Tan, Y., Li, X., Prabhu, S. D., et al. (2012).** Angiotensin II plays a critical role in alcohol-induced cardiac oxidative damage, cell death, remodeling, and cardiomyopathy in a protein kinase C/nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-dependent manner. *Journal of the American College of Cardiology*;59(16):1477–1486.

**Thomas, M., Halsall, J., & Peters, J. J. (1982).** Role of hepatic acetaldehyde dehydrogenase in alcoholism: demonstration of persistent reduction of cytosolic activity in abstaining patients. *Lancet*, 2 : 1057-1059.

## V

**Vachonfrance, G. (1986).** *Alcoologie*; Editions *Masson*, 190 p. in these Olivier Sorel . La consommation d'alcool chez les étudiants : enquête au pres des etudiants de l'université de Nanpes 16/11/2004 p19.

**Vasiliou, V., & Pappa, A. (2000).** Polymorphisms of human aldehyde dehydrogenases consequences for drug metabolism and disease. *Pharmacology*, 61: 192-198.

**Vasiliou, V., Bairoch, A., Tipton, K. F., & Nebert, D. W. (1999).** Eukaryotic aldehyde dehydrogenase (ALDH) genes: human polymorphisms and recommended nomenclature based on divergent evolution and chromosomal mapping. *Pharmacogenetics*, 9: 421-434.

## W

**Wang, X. M., Dayanithi, G., Lemos, G. R., Nordmann, J. J., Treistman, S. N. (1991).** Calcium currents and peptide release from neurohypophysial terminals are inhibited by ethanol. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*.259. (2): 705-11. PMID 1941619.

**Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W., & Chen, F. (2006).** A systematic survey of Antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem*, **97**, 705 – 711.

**World Health Organization Global Status Report on Alcohol and Health. (2014).**

World Health Organization, *Geneva* (2014).

## Y

**You, Y., Yoo, S., Yoon, H. G., Park, J., Lee, Y. H., Kim, S., Oh, K. T., Lee, J., Cho, H. Y., & Jun, W. (2010).** In vitro and in vivo hepatoprotective effects of the aqueous extract from *Taraxacum officinale* (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress. *Food Chem Toxicol* **48**:1632–1637.

## Z

**Zawada, E. T., Johnson, M., & Sica, D. (1985).** Ethanol-induced water diuresis is not prostaglandin dependent. *Nephron* **40**(2): 149-5.

**Zeittoun, J. D., Chrysostalis, A., & Lefevre, J. (2011).** Hépatologie Gastro-Entérologie Chirurgie Digestive, Éd. Vernazobres Grego, p 708., ISBN 9782818309391.

**Zerilli, A., Lucas, D., Amet, Y., et al. (1995).** Cytochrome P-450 2E1 in rat liver, kidney and lung microsomes after chronic administration of ethanol either orally or by inhalation. *Alcohol and Alcoholism*; **30** (3): 357–365.

**Zhang, H., Wang, J. Z., Li, R., Bai, J., Ye, Y. B., & Ren, F. Z. (2008).** Attenuated effects of peptides derived from porcine plasma albumin on in vitro lipid peroxidation in the liver homogenate of mice. *Food Chem* **111**(2):364–369.

**Zoltan, V., Varga, M. D. Ph. D., Csaba, M. M. D., Paloczi, J. Ph. D., & Pacher, P. M. D. Ph. D. (2017).** Alcohol Misuse and Kidney Injury: Epidemiological Evidence and Potential Mechanisms. **38**(2): 283-288 in alcohol research.

<p>تاريخ المناقشة 04 سبتمبر 2019</p>	<p>العاب خديجة بداوي شيماء قوت ريمة</p>
<p><b>دراسة السمية الكلوية للإيثانول: الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي (n- butanolique) لنبات طبي جزائري</b></p>	
<p>NATURE DE MASTER : Sciences Biologiques OPTION : Toxicologie</p>	<p>علوم البيولوجيا علم التسمم</p>
<p><b>الملخص</b></p> <p>الهدف من دراستنا هو تقييم نشاط مضادات الأوكسدة والدور الوقائي الكلوي للمستخلص البيتانولي لنبات طبي جزائري، ضد السمية المستحدثة بواسطة الإيثانول في ذكور الجرذان من نوع Albinos Wistar. في بداية هذه الدراسة تم الإعتماد على نبتتين طبييتين موجودتين في منطقة بوسعادة هما (أ) و (ب)، وهذا بغرض إظهار و تقييم التأثير المضاد للأوكسدة للمستخلص البيتانولي الخاص بكل نبتة وذلك عن طريق الدراسة المخبرية <i>In vitro</i> والتي أظهرت غنى النبتتين بالمركبات الفينولية، حيث كان معدل هذه الأخيرة مرتفعا بشكل ملحوظ في النبتة (ب) (<math>208,55 \pm 5,249</math> mg EAG/1 g EXS) مقارنة بالنبتة (أ) (<math>4,38</math> mg EAG/1 g EXS) <math>\pm 69,35</math>)، كما سمحت المزيد من التحاليل التي قمنا بها بتسليط الضوء على القدرة المضادة للأوكسدة و المضادة للجزور الحرة للمستخلص البيتانولي للنبتتين باستخدام الطرق التالية: الـ DPPH، موليبديات الفوسفات و FRAP. وبالتالي سمحت نتائج هذه الدراسة بالتأكد من أنّ المستخلص البيتانولي للنبتة (ب) له خصائص مضادة للأوكسدة جيدة جداً مقارنة بالمستخلص البيتانولي للنبتة (أ). من جهة أخرى، واستنادا على نتائج تجربتنا <i>in vitro</i>، هدّفنا أيضا لإثبات الدور الوقائي للنبتة (ب) على السمية الكلوية المحدثّة بواسطة جرعة تقدر بـ 3 غ/كغ من الإيثانول بعد معاملة جرذان ذكور من نوع Albinos Wistar من خلال الدراسة <i>in vivo</i>. حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بوضوح أن المعاملة اليومية بالإيثانول لمدة 15 يوم تسببت في إحداث سمية كلوية تميزت بزيادة كبيرة في مؤشرات الوظائف الكلوية بالدم (الكرياتين، اليوريا و حمض اليوريك و كذا إرتفاع تركيز شوارد <math>K^+</math>). كما لاحظنا من خلال النتائج التي تحصلنا عليها خلا في القدرة على إزالة السموم الذي يظهر من خلال إرتفاع مستوى الـ MDA وانخفاض في قدرة نظام الدفاع المضاد للأوكسدة الإنزيمي على مستوى كلى الجرذان المعاملة بالإيثانول مقارنة بمجموعة الجرذان الشاهدة السليمة. إعطاء المستخلص البيتانولي بتركيزين مختلفين 100 ملغ/كغ و 200 ملغ/كغ بالتزامن مع الإيثانول لمدة 15 يوم. أظهر تحسين و تعديل مستويات مؤشرات الوظائف الكلوية بالدم وانخفاض مستوى الـ MDA في الجنس الكلوي، كما ساعد المستخلص البيتانولي على استعادة انزيمات النظام المضاد للأوكسدة CAT، SOD، GST و GPx لنشاطها في سيتوزول الكلية. في الأخير، تشير هذه الدراسة إلى أن المستخلص البيتانولي للنبتة (ب) له تأثير مفيد على السمية الكلوية التي يسببها الإيثانول والإجهاد التأكسدي عن طريق تنشيط الإنزيمات المضادة للأوكسدة و تقليل الأوكسدة الفوقية للدهون على مستوى الكلى.</p>	
<p><b>الكلمات المفتاحية: الإيثانول، السمية الكلوية، النباتات الطبية، الإجهاد التأكسدي، الجزور الحرة.</b></p>	
<p>مخبر الأبحاث: - هندسة الأحياء الدقيقة وتطبيقاتها.</p>	
<p><b>أعضاء اللجنة:</b></p> <p>رئيسة: زعمة جميلة مشرف: بوالجاج رضوان ممتحنة: دالي شاولس سهيلة ممتحنة: لطرش عائشة</p> <p>أستاذة: جامعة الإخوة منتوري قسنطينة1 أستاذ مساعد " أ ": جامعة الإخوة منتوري قسنطينة1 أستاذة محاضرة " ب ": جامعة صالح بونيدر قسنطينة 3 أستاذة محاضرة " ب ": جامعة صالح بونيدر قسنطينة 3</p>	



