دراسة تأثير المستخلص الميثانولي المائي لنبات البردقوش *Origanum vulgare* ضد التغيرات النسجية المستحثة ببيروكسيد الهيدروجين في الجرذان البيض

علي حمود السعدي   صابرين نوري دكمان
جامعة بابل / كلية العلوم   جامعة القادسية / كلية العلوم
Profali_alsaadi@yahoo.com

الخلاصة

أستخدم المستخلص الميثانولي المائي لنبات البردقوش لدراسة فعاليته ضد التغيرات المرضية النسجية المستحثة بوساطة بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في كبد وكلية الجرذان البيض. تم استخدام ٢٤ حيوان مابين ذكور واناث . قسمت الحيوانات إلى ٤ مجاميع بواقع ٦ حيوانات لكل مجموعة (مجموعة السيطرة ، مجموعة الحيوانات المجرعة ببيروكسيد الهيدروجين بتركيز ١,٥%، مجموعة الحيوانات المجرعة بالمستخلص النباتي بجرعة ٥٠٠ ملغم/كغم ومجموعة التداخل مابين بيروكسيد الهيدروجين ومستخلص البردقوش) حيث استمر التجريع الفموي لمدة شهر واحد لكل مجموعة. شرحت الحيوانات بعد انتهاء مدة التجريع وتم عمل المقاطع النسجية للكبد والكلى لحيوانات كل مجموعة . بينت نتائج الدراسة ان المعاملة بالبيروكسيد سببت تغيرات نسجية في الكبد والكلية ادت الى تنخر انسجة الكبد وتحلل دموي في الوريد المركزي وحدوث أضرار في الكبيبات الدموية وانتشار سائل وذمي في الكلية وعند التداخل مع المستخلص لم تظهر التغيرات النسجية الانفة الذكر. لم يسبب المستخلص أي تغيرات نسجية مرضية بالتركيز المستخدم بالدراسة الحالية.

الكلمات الدالة: نبات البردقوش، بيروكسيد الهيدروجين ، الجذور الحرة، مضادات الاكسدة.

Abstract

The water-methanol extract of the Marjoram plant was used to study its effectiveness against histopathological changes induced by hydrogen peroxide H_2O_2 in the liver and kidney of white rats . 24 animals between males and females were used . They were divided into 4 groups , 6 animals per group (control group , a group of animals dosed with peroxide hydrogen concentration of 1.5% , a group of animals dosed with 500 mg / kg of marjoram extract and forth groupe dosed between hydrogen peroxide and extract marjoram) , where oral dosage continued for a period of one month for each group. The animals dissected after the expiration of the dosage was the work of histological sections of the liver and kidneys of animals of each group . The results of the study showed that the peroxide treatment caused changes in the tissue of liver and kidney led to necrosis of the liver tissue and analyzed in a central vein blood and damage blood vessels in the glomeruli and the proliferation edematous in college and when interfering with the extract did not appear histologic changes mentioned above. The extract did not cause any histopathological changes in tissues of concentration used
in the present study.

Key wards: Marjoram plant, hydrogen peroxide, free radicals, antioxidants

المقدمة

ازداد في الاونة الاخيرة اهتمام الباحثين بدور الجذور الحرة Free Radicals في الاليات الجزيئية لاحداث العديد من الامراض، لكونها تتولد بشكل طبيعي في جسم الانسان ويزداد تشكلها بفعل عوامل عدة داخلية وخارجية (Barry,*et al.*, 1992) . وبموازاة ذلك يتركز الاهتمام على دراسة مضادات الاكسدة Antioxidants لكونها النظام الذي يحمي المكونات الخلوية من اضرار الجذور الحرة (Barry, *et al.*,1996). ان جذور الاوكسجين الحرة (ROS) Reactive oxygen species هي عبارة عن جزيئات أوكسجين انتزع منها الكترون مفرد اثناء التفاعلات الكيمياوية واصبحت حاوية في مدارها الخارجي الكترونا مفردا مكونة بذلك جذور الاوكسجين الحرة (Block *et al.*, 2002). تمتاز جذور الاوكسجين الحرة بالتهيج Excitable وعدم الاستقرار Unstable وتكون ذات طاقة عالية وشديدة الالفة

للتفاعل مع الجزيئات الحيوية في الجسم (Matkovics,2003). و بسبب التولد المستمر للجذور الحرة في الجسم، فقد تولدت انظمة مضادة لها تعمل على كسحها او ازالة نواتجها الضارة في الجسم تسمى بأنظمة مضادات الاكسدة Antioxidant defense systems ، وهي المواد التي تعمل على منع توليد الجذور الحرة وعمليات الاكسدة في الجسم او الابطاء منها ، لذا فانها تشكل خطا دفاعيا ضد النشاط التخريبي للجذور الحرة من حيث توليدها اوسلسلة تفاعلاتها (Bartosikova *et al.*, 2003) و (Parakash *et al.*, 2004)، لمضادات الاكسدة القدرة على وهب الكترون وتحويل الجذور الحرة الى مركبات مستقرة غير قادرة على التفاعل مع الجزيئات الحيوية في الجسم وبذلك تعمل على ازالة النشاط الضار للجذور الحرة (Shih *et al.*, 2002). ويمكن الحصول على مضادات الاكسدة من مصادرها الطبيعية من النباتات والاعشاب والفواكه والخضروات وهناك انواع خاصة من النبات لها فعالية مضادة للاكسدة وفي اجزاء معينة من النبتة، ومن هذه النباتات الطبية هو نبات البردقوش Oregano ويعرف علميا باسم *Origanum vulgare* . والبردقوش نبات عشبي معمر ينمو في سواحل البحر الأبيض المتوسط وشبه الجزيرة العربية وجاوه والهند والصين، ويزرع في أوروبا وأمريكا. يستعمل هذا النبات في العادة مضاداً بكتيرياً Antibacterial (Ariana *et al.*,2002) ، ويمكن إن يستخدم هذا النبات مادة مضادة للالتهابات (Blomhorff ,2004) و(Choi *et al.*,2003) وقد أشار Akgul و Ayar (١٩٩٣) إلى إمكانية استخدام نبات البردقوش مادة مضادة للتشنجات والفطريات ومادة مقشعه.

إن المواد الفعالة لنبات البردقوش عادة ما يكون عملها بشكل تآزري ومن الأهداف الأساسية التي تعمل عليها هذه المواد هي أملاح الجسم حيث من الممكن أن تعمل هذه المواد الفعالة مدرراً فضلاً عن دورها المقوي للمعدة ، وقد لوحظ أن لهذه المواد القدرة على تحسين وظائف الهضم والجهاز الهضمي من خلال زيادة إفراز الإنزيمات الهاضمة وتحسين وظائف الكبد ، وان لنبات البردقوش القدرة على تعزيز عمل الجهاز المناعي (Fotea *et al.*, 2008). بالاضافة الى احتوائه على مركبات فعالة مضادة للأكسدة (Vekiari *et al.*,. 1993) ونتيجة لزيادة الاهتمام بالجهد التأكسدي لكونه اصبح من الاسباب المهمة لحدوث الامراض والمسؤول عن العديد من الاضطرابات في الجسم ، تم اختيار هذا النبات في دراستنا الحالية. هدفت الدراسة إلى دراسة فعالية نبات البردقوش ضد الجهد التأكسدي المستحث في الحيوانات المختبرية ببيروكسيد الهيدروجين وذلك من خلال:

١. دراسة التغيرات النسجية المتسببة عن البيروكسيد ودور المستخلص في التقليل من تلك التأثيرات.

٢. دراسة التأثيرات النسجية للمستخلص النباتي.

طرق العمل

١. تحضير المستخلص النباتي Plant extraction preparation

تم تحضير المستخلص الميثانولي المائي لنبات البردقوش بحسب طريقة (sato واخرون (١٩٩٠) مع بعض التحوير كما يلي:

تم طحن الاوراق الجافة لنبات البردقوش و اخذ وزن معين منها وخلطت مع المذيب الذي يتكون من (٢٠% ميثانول مطلق: ٨٠% ماء مقطر)، جونس الخليط في خلاط كهربائي لمدة نصف ساعة ورشح المحلول الناتج بأستخدام قطعة قماش و وضع الراشح في فرن كهربائي بدرجة ٥٠ م لمدة ٢٤ ساعة للحصول على المستخلص الجاف، و حفظ في قنينة معتمة بدرجة ٤ م لحين الاستخدام.

٢. تحضير محلول بيروكسيد الهيدروجين بتركيز ١,٥%: حضر المحلول بأخذ ٥ مل بيروكسيد الهيدروجين ذو تركيز ٣٠ % واكمل الحجم الى ١٠٠ مل من الماء المقطر.

٣. صبغة الهيماتوكسيلين هاريس Haematoxylin – Harris stain

حضرت هذه الصبغة باذابة ١ غم من مسحوق صبغة الهيماتوكسيلين في ٥ مل من الكحول المطلق واضيف ٢٠ غم من مادة شب الامونيا المذابة في ٢٠٠ مل من الماء المقطر المغلي، ثم غلي المزيجان لمدة دقيقة واحدة، بعدها رفع من النار واضيف للمزيج اوكسيد الزئبقيك، بعدها برد، واضيف حامض الخليك الثلجي (Humason, 1997).

٤. تحضير المقاطع النسجية

حضرت المقاطع النسيجية إعتماداً على الطريقة الموصى بها من قبل Humason (1997) اذ تم ازالة المثبت عن طريق غسل العينات بكحول أثيلي بتركيز ٧٠% حتى زوال اللون الأصفر ثم أجريت الخطوات الاتية:

١. الانكاز **Dehydration**

مررت العينات بتراكيز تصاعدية من الكحول الأثيلي ٧٠% ، ٨٠%، ٩٠% ١٠٠% ولمدة ساعتين لكل تركيز لغرض سحب الماء الموجود داخل النسيج.

٢. الترويق **Clearing**

تم الترويق بوضع العينات في محلول الزايلين لمدة ساعتين لجعل العينات أكثر شفافية.

٣. الارتشاح **Infiltration**

بعد الإنتهاء من الترويق نقلت العينات الى قناني حاوية على شمع البارافين Paraffin wax ذي درجة انصهار ٥٥ م لمدة ١٥ دقيقة في فرن كهربائي درجة حرارته ٥٩ – ٦٠ م، بعدها نقلت الى قناني اخرى حاوية ايضا على شمع البارافين المنصهر داخل الفرن لمدة ساعة.

٤. الطمر **Embedding**

تم طمر العينات بنوع الشمع المستعمل في عملية الارتشاح نفسها . إذ سكب الشمع المنصهر في قالب خاص، ثم نقلت العينات الى القالب لغرض تقطيعها الى مقاطع نسيجية رقيقة. وثبتت العينات بوساطة ابرة ساخنة بعد ذلك برد القالب بسرعة بوساطة الماء البارد .

٥. التقطيع **Sectioning**

تم تثبيت القالب في جهاز التقطيع، وتم تحضير شرائح زجاجية نظيفة وضعت عليها مادة لاصقة mayers albumin، وقد حملت أشرطة المقاطع على هذه الشرائح بعد أن وضعت في حمام مائي بدرجة حرارة ٥٦ م لغرض فرش النسيج ولمدة دقيقتين، بعد ذلك تركت الشرائح لتجف على صفيحة ساخنة بدرجة حرارة ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة .

٦. التصبيغ **Staining**

وضعت الشرائح الزجاجية في محلول التولوين toluene لمدة نصف ساعة لإزالة شمع البارافين من العينات، وقد مررت الشرائح في سلسلة تنازلية من الكحول الأثيلي وبتراكيز ١٠٠% ، ٩٠% ، ٨٠% لمدة ١٠ دقائق، بعدها مررت في الماء المقطر لمدة ٥ دقائق ثم وضعت في محلول صبغة الهيماتوكسلين لمدة ٥- ١٠ دقائق بعد ذلك غطست بالماء المقطر أربع مرات ومن ثم بالكحول الحامضي مرتين بعدها غسلت بماء

الحنفية الجاري ولمدة ٥ دقائق ووضعت في صبغة الايوسين لمدة ١٥- ٣٠ ثانية ثم غطست بماء الحنفية ٥- ٧ مرات، مررت الشرائح بعد ذلك بسلسلة تصاعدية من الكحول الأثيلي وبتراكيز ٧٠%، ٨٠% ، ٩٠%، ١٠٠% ثم وضعت في محلول الزايلين لغرض الترويق.

٧. التحميل **Mounting**

تم استخدام وسط التحميل بلسم كندا Canada – balsam ثم وضعت الشرائح الزجاجية على صفيحة ساخنة بدرجة حرارة ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة لغرض التجفيف.

تصميم التجارب Experimental Design

حيوانات التجارب: استخدمت في هذه الدراسة ذكور واناث الجرذان البيضاء البالغة، (White Albino rats, *Rattus rattus*) ، تراوحت اعمارها من ٨ –١٢ اسبوع ومعدل وزنها ٣٠٠ غم وتم الحصول عليها من البيت الحيواني التابع لقسم علوم الحياة / كلية العلوم/ جامعة بابل وجرع المحلول والمستخلص عن طريق الفم.

مصدر البردقوش :تم الحصول على اوراق النبات من العشابين وصنف النبات في معشب قسم علوم الحياة / كلية العلوم/ جامعة بابل.

آلية العمل :قسمت الحيوانات الى ٤ مجاميع (٦ حيوانات لكل مجموعة) :

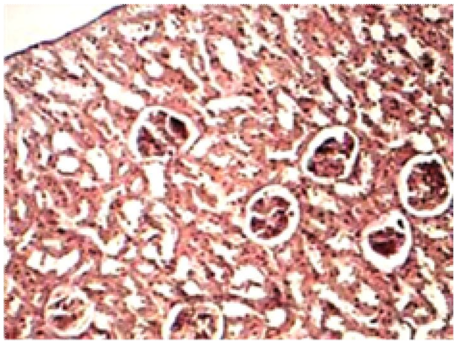
١. المجموعة الاولى جرعت الماء المقطر واعتبرت سيطرة سالبة.
٢. المجموعة الثانية جرعت بيروكسيد الهيدروجين بتركيز ١,٥% لمدة شهر واحد وبجرعة واحدة يومياً واعتبرت سيطرة موجبة اولى .
٣. المجموعة الثالثة جرعت مستخلص نبات البردقوش بجرعة ٥٠٠ملغم / كغم لمدة شهر واحد وبجرعة واحدة يوميا واعتبرت سيطرة موجبة ثانية.
٤. المجموعه الرابعة جرعت المستخلص وبيروكسيد الهيدروجين لمدة شهر واحد.

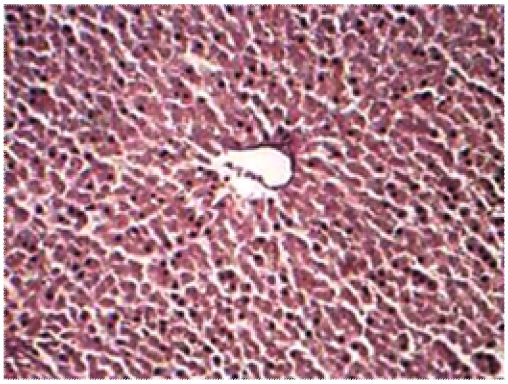
وتم تشريح الحيوانات المعاملة بعد انتهاء مدة التجريع وتم عمل المقاطع النسجية من الكبد والكلى.

النتائج:

١. مجموعة السيطرة السالبة Negative control group

اظهرت نتائج المقاطع النسجية لكبد الحيوانات التابعة لهذه المجموعة مظهرا طبيعيا للخلايا الكبدية والمتكونة من وريد مركزي محاط بالخلايا الكبدية ، وكذلك المظهر الطبيعي لكلية حيوانات هذه المجموعة والذي يظهر وجود الكبيبة الدموية والنبيبات الكلوية بشكل طبيعي. كما في الشكل (١).



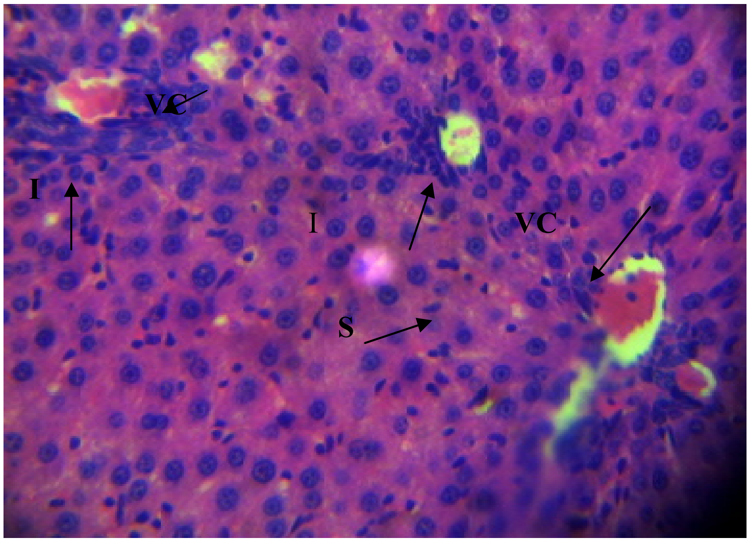


B   A

شكل (١) مقطع مستعرض لأنسجة الكلية والكبد لحيوانات السيطرة السالبة. (X١٠٠ صبغة ايوسين _ هيماتوكسيلين) A–الكلية. B– الكبد

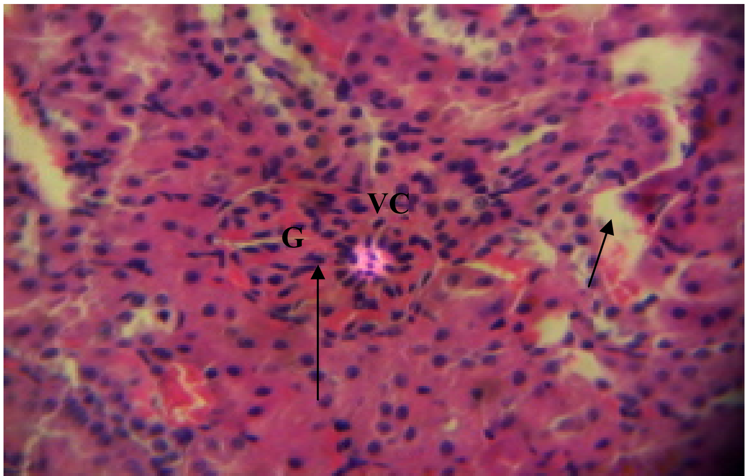
٢. مجموعة السيطرة الموجبة (الحيوانات المعاملة بمحلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز ١,٥%)

اظهرت الدراسة النسجية المرضية حدوث تغييرات نسجية واضحة عند المعاملة بمحلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في كبد وكلية الجرذان المعاملة بتركيز 1.5% ولمدد زمنية مختلفة ، اذ سببت الجرعة ظهور احتقان وعائي دموي Vascular Congestion وتوسع الجيبانيات الدموية Sinusoid dilatation في كبد الحيوانات المعاملة وظهور تفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية Vaculation بالاضافة الى ارتشاح الخلايا الالتهابية Inflamatory cells infiltration .

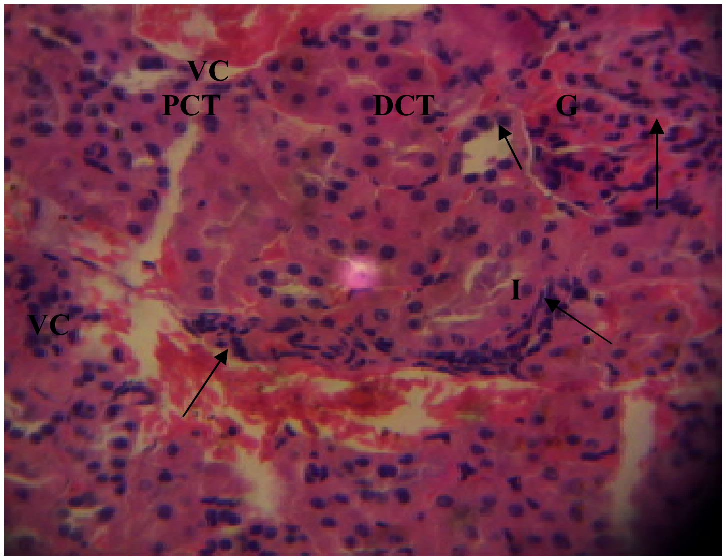


شكل (٢) مقطع مستعرض لكبد الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين يوضح ظهور توسع الجيبانيات الدموية (S) وظهور الخلايا الالتهابية (I) واحتقان دموي (VC) (X١٠٠ صبغة ايوسين – هيماتوكسيلين)

اما المقاطع النسجية في كلية الحيوانات المعاملة ببروكسيد الهيدروجين فقد اظهرت ارتشاح خلايا التهابية و وجود احتقان دموي في الكبيبة الدموية وبين النبيبات النبيب الملتوي البعيد والنبيب الملتوي القريب.



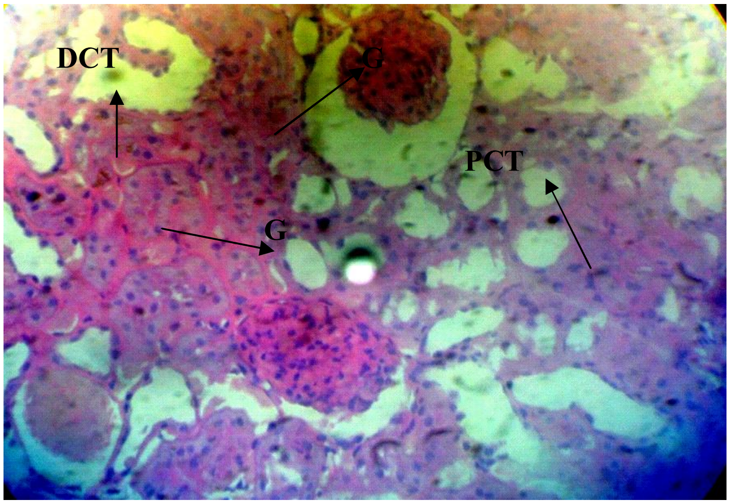
شكل (٣) مقطع مستعرض لكلية الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين يوضح الكبيبة الدموية G وظهور الاحتقان الدموي VC(400X صبغة ايوسين – هيماتوكسلين)



شكل (٤) مقطع مستعرض لكلية الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين يوضح ظهور الاحتقان الدموي VC بين النبيبات الكلوية وداخل الكبيبة G وارتشاح الخلايا الالتهابية I(400X صبغة ايوسين – هيماتوكسلين)

٣.مجموعة الحيوانات المعاملة بمستخلص نبات البردقوش

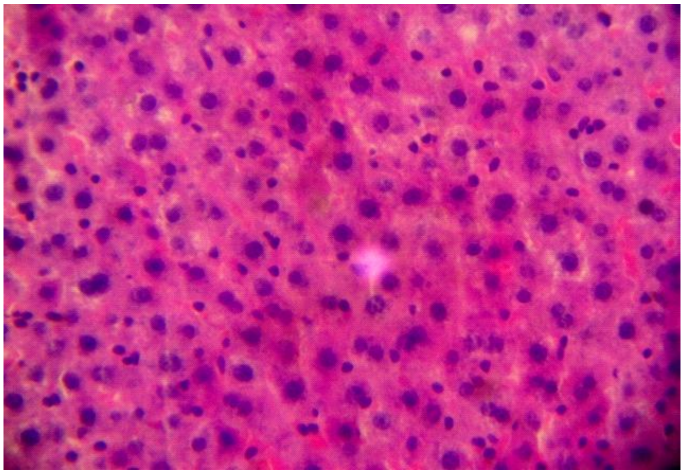
اظهرت نتائج المقاطع النسجية لكبد وكلية حيوانات هذه المجموعة انتشار الخلايا الطبيعية في كل من الكبد والكلية .



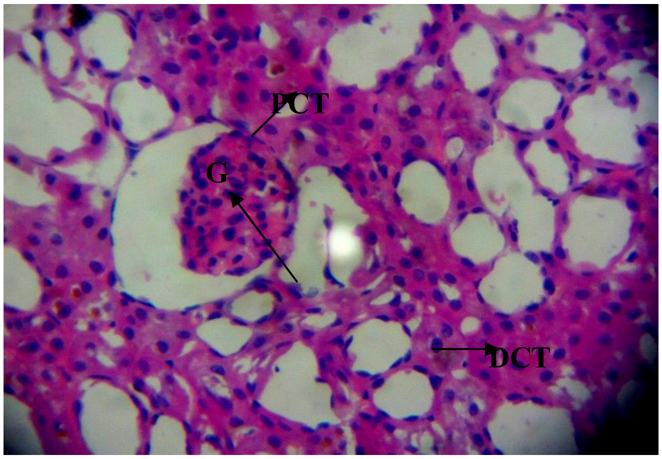
شكل (٥) مقطع مستعرض لكلية الجرذان المعاملة بالمستخلص النباتي يوضح المظهر الطبيعي لكل من الكبيبة الدموية G والنبيب الملتوي القريب PCT والبعيد DCT) 100X صبغة ايوسين – هيماتوكسلين)

٤ .مجموعة الحيوانات المعاملة بمحلول بيروكسيد الهيدروجين والمستخلص النباتي:

اظهرت نتائج المقاطع النسجية لكبد وكلية الحيوانات التابعة لهذه المجموعة مظهرا طبيعيا للخلايا الكبدية وقلة في ارتشاح الخلايا الالتهابية ومظهرا طبيعيا للنبيبات الكلوية والكبيبة الدموية



شكل (٦) مقطع مستعرض لكبد الجرذان مجموعة التداخل بين المستخلص وبيروكسيد الهيدروجين يوضح ظهور الخلايا الكبدية الطبيعية (100X صبغة ايوسين – هيماتوكسلين)



شكل (7) مقطع مستعرض لكلية جرذان مجموعة التداخل بين وبيروكسيد الهيدروجين يوضح ظهور النبيبات الكلوية والكبيبة الدموية (400X صبغة ايوسين – هيماتوكسلين)

المناقشة

اظهرت النتائج حدوث تغييرات نسجية واضحة عند المعاملة بمحلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في كبد وكلية الجرذان المعاملة بتركيز 1.5% ولمدد زمنية مختلفة، اذ سببت الجرعة ظهور احتقان وعائي دموي Vascular Congestion وتوسع الجيبانيات الدموية Sinusoid dilatation في كبد الحيوانات المعاملة وظهور تفجي في سايتوبلازم الخلايا الكبدية Vacillation بالاضافة الى ارتشاح الخلايا الالتهابية Inflammatory cells infiltration، وربما يعزى سبب ذلك الى تغيرات انزيمية وهذا ماأكدته (Alol, 2012) التي اظهرت نتائج دراستها وجود ارتفاع معنوي في فعالية انزيمات الكبد (ALT وAST) ومستوى الصبغة الصفراء للمجموعة المعاملة ب H_2O_2 بتركيز ١% مقارنة بمجموعة السيطرة. وتعزى زيادة انزيمات ALT و AST في المصل بعد تعرض الحيوانات الى H_2O_2 الى تأثيره كعامل مؤكسد وهذا مايؤدي الى انخفاض معدل العمليات الايضية في الخلية مسببة تغيرات مدمرة destructive changes في الكبد (Guengerish *et al*; 1991) .

ان زيادة بيروكسيد الهيدروجين يحفز زيادة الجهد التأكسدي Oxidative stress الذي يعمل على تقليل مستوى الكلوتاثايون بأرتباطه تساهميا مع البروتينات، إذ يؤدي قلة الكلوتاثايون الى زيادة الجذور الحرة للاوكسجين Reaction oxygen species (ROS) والنتروجين في الخلايا الكبدية التي تعاني من تغيرات تنخرية (Barber , 1983) .

اما المقاطع النسجية في كلية الحيوانات المعاملة ببروكسيد الهيدروجين فقد اظهرت ارتشاح خلايا التهابية و وجود احتقان دموي في الكبيبة الدموية وبين النبيبات (النبيب الملتوي البعيد والنبيب الملتوي القريب). ويأخذ (ROS) دورا مهما في امراض فقر الدم الموضعي والذي يحفز حدوث اضرار حادة في الكلية بالاضافة الى تطور التليف في مختلف الحالات المرضية مثل ارتفاع ضغط الدم والسكري وانسداد الحالب وهذا مايقترح ان (ROS) والضغط التأكسدي تأخذ دورا مهما في تحفيز بناء الكولاجين، وتغيرات في الطراز المظهري للخلايا وزيادة انتشارها.(Kim *et al* ; 2009).

اما المقاطع النسجية لكبد وكلية الحيوانات المعاملة بمستخلص البردقوش فقد اظهرت انتشار الخلايا الطبيعية في كل من الكبد والكلية وربما يعود السبب الى احتواء البردقوش على مجموعه من المركبات الفعالة (صابونيات، تانينات، فلافونات، تربينات، فينولات، ستيرويدات وراتنجات) وربما يتفق ذلك مع الدراسات السابقة التي اوضحت ان البردقوش يحتوي على مركبات فينولية، فلافونويدات، تانينات، وكلايكوسيدات فينولية، وسيتوسيرول، بالاضافة الى انه غني بفيتامين A و ، كما انه يحتوي ايضا على حامض الايروسوليك وزيوت اساسية وبشكل جزئي يحتوي على الثايمول والكارفاكرول الذين هما من المطهرات والمضادات البكتيرية والفطرية، وان الفعالية المضادة للاكسدة والمضادة للاورام المتواجدة في نبات البردقوش اكتشفت وذلك باحتواءه على مركبات تحفز الخلايا الرئيسية (Hossain *et al* ; 2008) و (Rafsanjani *et al;* 2007).

وقد اظهرت نتائج المقاطع النسجية لكبد وكلية الحيوانات المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ومستخلص البردقوش مظهرا طبيعيا للخلايا الكبدية وقلة في ارتشاح الخلايا الالتهابية ومظهرا طبيعيا للنبيبات الكلوية والكبيبة الدموية، وقد يعزى سبب ذلك الى الفعالية المضادة للاكسدة التي يحويها نبات البردقوش وهذا قد يتفق مع نتائج دراسة (Rashwan , 2011) التي اوضحت زيادة في بروتينات المصل الكلية والكلوبيولين والبروتينات الدهنية عالية الكثافة والكليسريدات الثلاثية في الكبد والكلايكوجين وانزيمات سوبر اوكسيد ديسميوتيز SOD والكلوتاثيون GSH والكلوتاثيون بيروكسيديز. كما لاحظت (Rashwan , 2011) اعراض

انخفاض في الاحماض الامينية (الانين واسبراتيت) المتوافرة في المصل ونسبة الالبومين الى الكلوبيولين (A/G) والكليسرول والدهون الكلية والمالونلديهايد.

قد تعود هذه الفعالية المضادة للاكسدة الى المحتوى العالي للبردقوش على المركبات الفينولية حيث ان مضادات الاكسدة الطبيعية يمكنها حماية جسم الانسان من الجذور الحرة ومنع تطور العديد من الامراض المزمنة بالاضافة الى زرنخة الدهون وتاكسدها في الاطعمة (Hossain *et al* ; 2008).

وقد اوضحت دراسات ان المستخلص المائي للنبات يحتوي على هذه المركبات المختلفة الغنية بالاحماض الفينولية والفلافونويدات وله قابلية قوية كمضاد للاكسدة وان المواد الحاوية على مركبات فينولية وفلافونويدية تمتلك خواص علاجية مثل الفعالية المضادة للاكسدة ومضادات اورام، ومضادات التهابية، ومضادات سرطانية، وقد وصفت بشكل واسع في النباتات لكونها جزءا مهما من حمية الانسان (Triantaphyllou *et al* ., 2001).

كما اشارت دراسات اخرى الى ان اعطاء المستخلص المائي والكحولي والزيوت الطيارة لنبات البردقوش يسبب انخفاضا معنويا للمعايير المرتفعة نتيجة المعاملة بخلات الرصاص وهذه المعايير هي AST و ALT و ALP واليوريا والكرياتنين ويسبب تحسنا ملحوظا لانسجة الكبد والكلى مقارنة مع المجموعة المعاملة بخلات الرصاص (El-Ashmawy *et al*; 2005) و (Meizoso *et al*;2006). كما سبب انخفاض المستويات المرتفعة من البيليروبين وحامض اليوريك والكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية (Aristatile *et al* ; 2009) .

المصادر:

Alol, L. H. (2012) . The protective role of crude poly phenolic compounds extracted from black olive fruit *(Oleaveuropae)* on liver functions in males rats treated with hydrogen peroxide. Proceeding of the Eleventh Veterinary Scientific Conference, 164- 171.

Akgul , Ayar, A, A.; (1993) .Yerli baharatlarin antioksidan etkileri Turkish .Journal of Agriculture and Forestry., *17*:1061-1068..

Ariana A, R . Ebadi and G. Tahmasebi .(2002). Laboratory evaluation of some plant essences to control Varroa destructor (Acari: Varroidae). Experimental &Applied Acarology. Amsterdam: Vol. *27*, 4; 319.

Aristatile, B; Al-Numair ,K. S; Veeramani, C.; Pugalendi, K .V. (2009) . Effect of carvacrol on hepatic marker enzymes and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. Fundam Clin Pharmacol;23:757–765.

Barber, D.J., S. fairhurst and A.A . Horton.(1983).Effect of old age on paracetamol-induced lipid peroxidation in rat liver .Toxicol.Lett.,15(4);283-287.

Bartosikova, L., Necas, J., Kubinova, R., Iliek, J., saplachate, J., Florian, T., Frydruch, M., Frana, P., Frana, L. and Dzurova, J. (2003a). Atioxidative effect of Morine in Ischemia reperfusion of Kidney in the laboratory rate. *Acta Vet. Br. 72 : 87-94* .

Barry Halli Well. (1996). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. Acad. Press.

Barry Halli Well, John M.C, J. Lab. Chim. Med.(1992). Free radical, antioxidants, and Human disease Vol 119, N6.

Block, C., Dietrich, M., Norkus, E., Morrow, J.D., and Poker L. (2002). Factors associated with oxidative stress in human populations. *Am J. of Epidemiol.* 156 (3): 274-278.

Blomhroff, R. N.A, P. Florou-Paneri, E. Christaki, D.J. Fletouris and A.B. Spais. (2002). Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on ironinduced lipid oxidation of breast thigh and abdominal fat tissues. British Poultry Science 43: 223-230.

Choi W.S, B.S. Park, S.K. Ku and S.E. Lee .(2002). Repellent activities of essential oils and monoterpenes against Culex pipiens pallens. J. Am. Mosq. Control Assoc. Dec:18(4):348-51.

El-Ashmawy, I.M.; El-Nahas, A.F.; Salama, O.M.(2005). Protective effect of volatile oil, alcoholic and aqueous extracts of Origanum majorana on lead acetate toxicity in mice. Basic Clin. Pharnmacol. Toxicol;97:238-243.

Fotea L., E. Costachescu , G. Hoha and D. Leonte.(2008). The effect of oregano essential oil (origanum vulgaris) on broiler performance . Lucrari Stiintifice –vol .53: 491-494.

Guengerich , F.R.; Kim, D.H.; and Iwasaki , M. (1991) . Role of human cytochrome P-45011 E1 in the oxidation of many low molecular weights.Suspects.Chem. Res. Toxicol., 4:168- 179.

Hossain, M.B., N.P. Brunton, C. Barry-Ryan, A.B. Martin-Diana and M. Wilkinson, (2008). Antioxidant activity of spice extract and phenolics in comparison to synthetic antioxidants . Rasayan J. Chem ., 1: 751-756.

Humason, G. (1997). Humason animal tissue techniques. 5th ed. London.

Kim, J.; Park, J.W.; Park ,K.M. (2009). Increased superoxide formation induced by irradiation preconditioning triggers kidney resistance to ischemia-reperfusion injury in mice. Am J Physiol Renal Physiol 296: F1202–F1211.

Prakash, S. and Joshi, YK. (2004). Assessment of micronutrient antioxidants. Total antioxidant capacity and lipid peroxidation level in liver cirrhosis. Asia. Pac. J. Clin. Nutr.. 13: S110.

Rafsanjani,F., M. Shahrani, Z. Ardakani and M.Ardakani, (2007). Marjoram increases basal gastric acid and pepsin scrections in rat . phytother . Res., 21 (11):1063-8.

Rashwan , N. M. (2011). Effect of marjoram and choline mixture consumption against liver injury in experimental rats.world journal of dairy & food sciences 6 (*1*) : 98 – 104 .

Rodrıguez-Meizoso, I., Marin, F. R., Herrero, M., Senorans, F. J., Reglero, G., Cifuentes, A. and Ibanez, E.(2006). Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41: 1560–1565.

Sato, T. ; Onse, Y. ; Nagase, H. and Kito, H. (1990). Mechanism of antimutagenicity of aquatic plant extracts against (benzo (a) yrene) in the Samonella assay .J. Mut. Res . 241,283-290 .

Shih, C., Wu, Y. and Lin, W. (2002). Antihyperglycaemic and antioxidant properties of anoectochilus formosanus in diabetic rats. *J. Clin and Experimental Pharmacol and Physiol. 29 : 684-688.*

Triantaphyllou, K., Blekas, G., & Boskou, D. (2001). Antioxidative properties of water extracts from herbs of the species of Lamiaceae. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 52, 313–317

Vekiari, S.A.; V. Orcopoulo ; C. Tzia and C. D. Thomopoulos, (1993). Oregano flavonoids as lipid antioxidants. JAOCS. 70(5):483-487.