مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد(14) العدد(1)–(2014)
ISSN-1813-1646

تأثير المستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون في مستوى الكلوتاثايون وفعالية الكبد والتغيرات الخلوية والنسجية للأرانب المحلية المعاملة بالكحول وبيروكسيد الهيدروجين.

قصي نوري ردام المحمدي زيد محمد مبارك المهداوي صالح محمد رحيم العبيدي
جامعة تكريت – العراق

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير المستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون في قدرته على الوقاية من الاجهاد التأكسدي المستحدث بواسطة بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 2% والكحول 20% المستهلك في ماء الشرب بجرعة مزدوجة ولمدة 60 يوما في ذكور واناث الأرانب المحلية وبأعمار مختلفة مسنة وحديثة ولمعرفة الدور الوقائي العصبي في الحماية ضد الشيخوخة ودور المستخلص في تقليل المواد المضادة للأكسدة والمحافظة على التوازن بين كمية المواد المؤكسدة ومضادات الأكسدة الخلوية . يعد قياس الكلوتاثايون Glutathione(GSH)والبيروكسي نتريت Peroxinitrite(Pn) والمالوندالديهايد Malonaldehyde(MDA) مؤشرا لمدى حصول الإجهاد التأكسدي وكذلك من خلال فعالية الانزيمات الكبدية Amino Spartate Transferase(AST) ,Amino Alanin Transferase (ALT) . اذ أظهرت المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين حدوث انخفاضا معنويا $P<0.05$ في تركيز الكلوتاثايون وكذلك ارتفاع عالي المعنوية في تركيز المالوندالديهايد وجذر البيروكسي نتريت وفي تركيز الانزيمات ALTوAST في مصل الدم لحيوانات التجربة اضافة الى حدوث تغييرات نسجية ملحوظة في الكبد اذ اظهرت نتائج الفحص المجهري للخلايا الكبدية حدوث حالات تنكس Degeneration وتنخر Necrosis وتحلل للانوية وخلل للتركيب الشعاعي للخلايا الكبدية وحدوث بعض حالات النزف الدموي بسبب الضرر في الاوردة المركزية مما يدل على قابلية بيروكسيد الهيدروجين في احداث الإجهاد التأكسدي والضرر الخلوي . كذلك اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان المعاملة بالمستخلص المائي لحشيشة الليمون ادى الى ارتفاع في تركيز الكلوتاثايون وكذلك ادى الى انخفاض في تركيز جذر البيروكسي نتريت والمالوندالديهايد والإنزيمات ALTوAST اضافة الى حدوث تحسن في حالة الخلايا الكبدية .

الكلمات الدالة:
حشيشه الليمون ، المستخلصات المائية والكحولية

للمراسلة:
قصي نوري ردام
جامعة تكريت – العراق

الاستلام :
14-5-2013
القبول:
20-6-2013

Effect of Cymbopogon citratus water extract in level of glutathione , liver activity ,the cellular and tissues changes in local rabbits treated with hydrogen peroxide and Alcohol.

QUSSAY NOORI RADDAM,ZAID MUHAMMAD MOBARK and SALEH MUHAMMAD RAHEEM.
COLLEGE OF EDUCATION-TIKRIT UNIV-IRAQ

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of Cymbopogon citrates extract to determined its ability in preventing oxidative stress of Hydrogen peroxide 2% and Al Cohol 20% consumed in drinking water by daily couple dose for 60 days in local rabbit with deferent protective effect against aging.Hydrogen peroxide 2% and Alcohol 20% treated showed significant decrease in Glutathione(GSH) and high significant increase in Malonaldehyde MDA and Peroxinitrite (Pn), also the levels of serum AST and ALT were significantly increase . these changes indicate to the ability of H2O2 2% and Alcohol 20% in the induction of oxidative stress in local rabbits. As well as the appearance pathological changes in liver tissue with the treatment with H2O2 and Al cohol. Histological examination showed Lipid changes of degeneration, Necrosis, Karyolysis and Vaceulation in the cytoplasm of hepatic cells. The treatment with water extract of Cymbopogon citrates showing significant increase in GSH and significant decrease in MDA, AST and ALT also showing improving of liver tissue and decrease in liver fat .

KeyWords:
Water extract , rabbits
Correspondence:
QUSSAY NOORI RADDAM
Tikrit University, Iraq
Received:
14-5-2013
Accepted:
20-6-2013

البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول

المقدمة

يعرف الإجهاد التأكسدي بأنه الحالة المصاحبة للزيادة في الضرر الخلوي الناتج بسبب الجذور الحرة وخاصة الأصناف الأوكسجينية الفعالة Reactive Oxygen Species(ROS) وان الخلايا الحية الهوائية جميعها تتعرض بصورة طبيعية الى مستويات مختلفة من الاجهاد التأكسدي . تعد الجذور الحرة واحدا من اهم العوامل المسؤولة من حدوث المئات من الحالات المرضية التي تتراوح بين الالتهابات البسيطة واضطرابات الانسجة الخلوية الى حالات التسرطن وأمراض الجهاز المناعي (Sikka وأخرون, 1995). نبات حشيشه الليمون ينتمي هذا النبات الى العائلة النجيلية Paeceae (Gramineae) وهو نبات عطري عشبي كثيف الاوراق التي تشبه السيوف خضراء تلتف على بعضها (Sikka وأخرون, 1995) يتواجد هذا النبات في المناطق الاستوائية وفي جميع انحاء اسيا وشمال افريقيا وفي وسط امريكيا وجنوبها ويكثر في الاراضي الرملية والسهول الخصبة ويمكن زراعته في الحدائق البيوت(المحمدي ,2009) . يعد هذا النبات من المصادر الغنية بالمواد المضادة للأكسدة Antioxidant والالتهابات من خلال قدرتها على ازالة الجذور الحرة Free Radical وتحسينها لدفاعات الجسم من خلال تثبيط تحرر تلك الجذور وتكوينها . يشار الى هذا النبات بأنه مضاد للإصابات الفطرية Antifungal وقاتل الحشرات Insecticidal ومضاد للبكتريا Antibacterial ومخفض للسكر ومادة معقمه Antiseptic وذو فعالية مضادة للسرطان Anti Carcinogenic كذلك يستخدم نقيع اوراقة شراباً طبيا مماثلا للشاي في اليابان والبرازيل اضافة الى دوره كمادة لحفظ الاغذية(Oloyede, 2009)اضافة الى استخدامه في صناعة الصابون ومعالجة المشاكل الجلدية مثل حب الشباب ومضاد للإسهال ومضاد للملاريا (Cheel وأخرون, 2005) يحتوي هذا النبات العديد من المواد الفعالة التي تختلف في تركيبها الكيمياوي مثل الزيوت وأهمها Citral والفينولات Phenoles والفلافونيدات Flavonoides اضافة الى كحولات والديهايدات وحوامض طيارة ومركبات عطرية اضافة الى كيتونات واوكسيدات واسترات (Koffi وآخرون ,2009) . هدفت هذه الدراسة الى معرفة قابلية المستخلص المائي لهذا النبات في الحماية من الاجهاد التأكسدي والتأثيرات الخلوية الضارة للجذور الحرة المستحدثه بتأثير بيروكسيد الهيدروجين H2O2 2% والكحول 20% .

المواد وطرائق البحث

تم الحصول على نبات حشيشه الليمون الطازج *Cymbopogon Citratus* من حدائق كلية العلوم – جامعه بغداد , ثم تم تنظيف الاجزاء النباتية المأخوذة (الاوراق والسيقان) من الاتربة والعوالق والأوساخ وجففت بعد غسلها بصورة جيدة في فرن ذو مروحة هوائية وبدرجة حرارة 25 درجة مئوية وحفظت الاجزاء النباتية بعد التجفيف في مغلفات ورقية معتمه محكمة الاغلاق في ظروف خالية من الرطوبة وبعيدة عن الضوء لحين استخدامها في عمليةالاستخلاص , تم تحضير المستخلص المائي لحشيشه الليمون اعتمادا على طريقة Lemhader وآخرون. (2004) اذ تم طحن الاوراق والسيقان الجافة ثم وزن 10 غم من المسحوق النباتي ووضع في 250 ml من الماء المقطر وسخن المزيج حتى الغليان لمدة عشر دقائق ثم ترك ليبرد بعدها رشح باستخدام ورق الترشيح الاعتيادي لإزالة المواد العالقة ثم وضع المحلول في المبخر الدوار Rotary Evaporator تحت ضغط واطئ ودرجة حرارة 40 C^o لغرض التخلص من كمية الماء والحصول على المسحوق النباتي .

لغرض تحديد الجرعة الأكثر تأثيراً للمستخلص المائي لنبات حشيشة الليمون المستخدم في هذه الدراسة فقد تم تقسيم الحيوانات السليمة عشوائياً الى5 مجاميع ضمت كل مجموعه 5 حيوانات ورتبت كالأتي :-

1. المجموعه الاولى عدت مجموعة السيطرة تم تجريعها الماء المقطر فقط.
2. المجموعه الثانية اعطيت المستخلص المائي لحشيشة الليمون بجرعة 50 ملغم /كغم من وزن الجسم.
3. المجموعه الثالثة اعطيت المستخلص المائي لحشيشة الليمون بجرعة 100 ملغم /كغم من وزن الجسم.
4. المجموعة الرابعة اعطيت المستخلص المائي لحشيشة الليمون بجرعة 150 ملغم /كغم من وزن الجسم.
5. المجموعة الخامسة اعطيت المستخلص المائي لحشيشة الليمون بجرعة 200 ملغم /كغم من وزن الجسم.

استخدمت في هذه الدراسة ذكور و إناث الأرانب المحلية Lepus Cunicula Domestica وبأعمار مختلفة تتراوح بين ثمانية أشهر إلى أربع سنوات وبأوزان تتراوح مابين 900--3000 غم والتي تم الحصول عليها من حقول تربية خاصة في منطقة الرضوانية – بغداد ومنطقة بعقوبة – ديالى . وضعت الحيوانات في أقفاص خشبية مغلفة ومحاطة بمشبك معدني وبأبعاد 60 cm x 60 x 60 ذات أرضية مفروشة بنشارة الخشب , وتم تنظيف الأقفاص وتبديل النشارة بصورة دورية كل يومين ، وقد خضعت حيوانات التجربة للظروف المختبرية من مدة ضوء 12 ساعة و 12 ساعة ظلام ودرجة حرارة بحدود 25 درجة مئوية ، واستخدم لتغذية حيوانات التجربة العليقة المكونه من (25% حنطة , و 34% ذرة صفراء , و 20% فول الصويا , و 10% بروتين

حيواني , و 1% حليب مجفف , وأضيف إلى العليقة 50 غرام من المضادات الحيوية لمنع نمو الفطريات والبكتريا وكذلك أضيفت كميات من المواد الحافظة (الجنابي , 2008) . وأعطيت الغذاء والماء بشكل مستمر طيلة مدة التربية والمعاملة والتي استمرت لمدة 90 يوماً من2011/10/15 ولغاية 2012/1/15.

قسمت حيوانات التجربة المتكونة من ذكور وإناث الأرانب المحلية المسنة وحديثة العمر بصورة عشوائية إلى مجاميع

تضم كل مجموعة خمس حيوانات واخذ بعين الاعتبار التقارب العمري والوزن والجنس لحيوانات كل مجموعة , وكان تقسيم المجاميع التجريبية كالأتي :

المجموعة الأولى ضمت 5 ذكور كبيرة العمر

المجموعة الثانية ضمت 5 ذكور حديثة العمر

المجموعة الثالثة ضمت 5 إناث كبيرة العمر

المجموعة الرابعة ضمت 5 إناث حديثة العمر

المجموعة الأولى :- ضمت المجاميع التجريبية الأربعة وجرعت بالكحول 20% .

المجموعة الثانية :- ضمت المجاميع التجريبية الأربعة وجرعت بيروكسيد الهيدروجين H2O2 2%..

المجموعة الثالثة :- ضمت المجاميع التجريبية الأربعة وجرعت بمستخلص حشيشه الليمون 150mg / kg (150 ملغم / كغم)

المجموعة الرابعة :- ضمت المجاميع التجريبية الأربعة وجرعت بحشيشه الليمون + H2O2.

المجموعة الخامسة :- ضمت المجاميع التجريبية الأربعة وعدة مجاميع سيطرة اعطيت الماء المقطر. تم التجريع فمويا عن طريق التغذية الأنبوبية لكل حيوان ولمدة 60 يوماً.

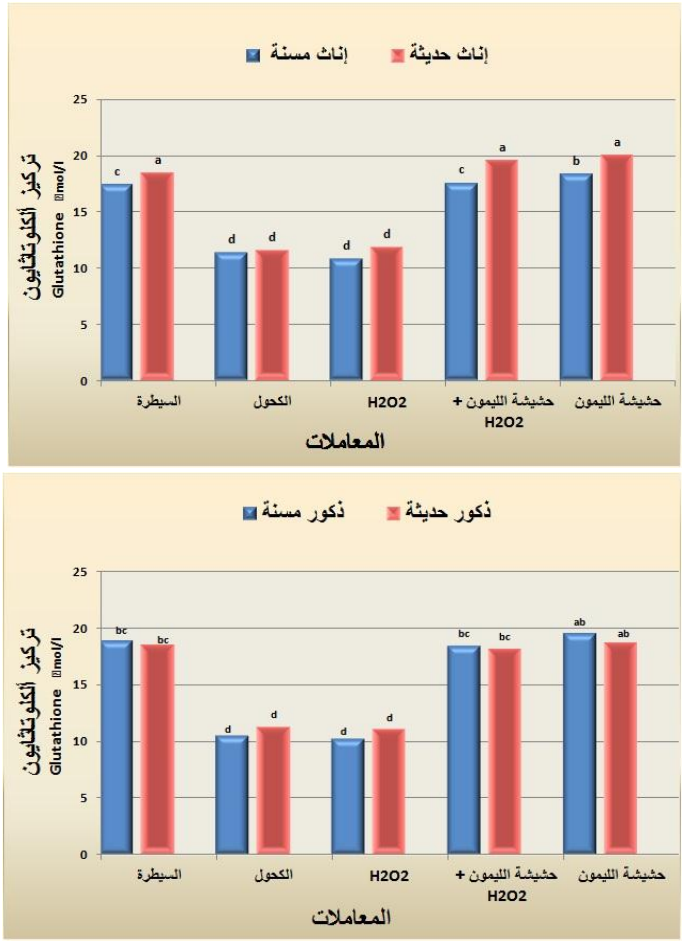
بعد انتهاء مدة المعاملة صومت حيوانات التجربة ثم خدرت بواسطة الكلوروفورم ثم سحبت عينات الدم من القلب بصورة مباشرة بواسطة الطعنه القلبية Cardic Puncture اذ سحبت 10 – 15 مل من الدم وتم الحصول على مصل الدم لاجراء الفحوصات الكيميوحيوية المختلفة :-

1. تم تقدير الكلوتاثايون في مصل الدم اعتمادا على طريقة الباحث(Tietz, 1999) .
2. تم تقدير مستوى جذر البيروكسي نتريت في مصل الدم بالاعتماد على طريقة الباحث (El-Missiry وآخرون, 2007).
3. تم تقدير المالوندالديهايد MDA في مصل الدم حسب الطريقة المتبعة من قبل Vanuffelenوآخرون (1998).
4. قياس فعالية الانزيم AST , ALT تم قياس تركيز الانزيمين في في مصل الدم حسب الطريقة اللونية المتبعة باستخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة BiolABO الفرنسية حسب طريقة(Tietz ,1999).

وبعد اتمام عملية سحب الدمواستئصال النماذج النسجية المطلوبة (الكبد) لدراسة التغيرات النسجية وملاحظة تراكم أي صبغة او مواد اخرى ضمن النسيج . حيث غسلت النماذج مباشرة بعد الاستئصال بالماء المقطر ثم تم تثبيتها بالفورمالين 10% Buffer Formaldehyde 10% لمدة تتراوح 24 ساعة في الثلاجة وبعد التثبيت غسلت النماذج بالماء الجاري لمدة ساعة ومن ثم وضعت في محلول كحولي 70% لحين عمل المقاطع النسجية . تم تحليل النتائج احصائيا عن طريق استخدام البرنامج الاحصائي Minitab باستخدام اختبار T-Test للعينات غير المتناظرة Unpaired وتحليل التباين الأحادي One – Way – Anova عند مستوى معنوية P<0.01. (Gabrile , 2010).

النتائج والمناقشة

ادت المعاملة بيروكسيد الهيدروجين 2% والكحول 20% الى احداث انخفاضا معنويا P<0.05 في تركيز GSH لمجاميع حيوانات التجربة عند المقارنة مع مجاميع السيطرة غير المعاملة في حين ادت المعاملة بالمستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون عند مستوى معنوية P<0.05 الى ارتفاع في مستوى الكلوتاثايون

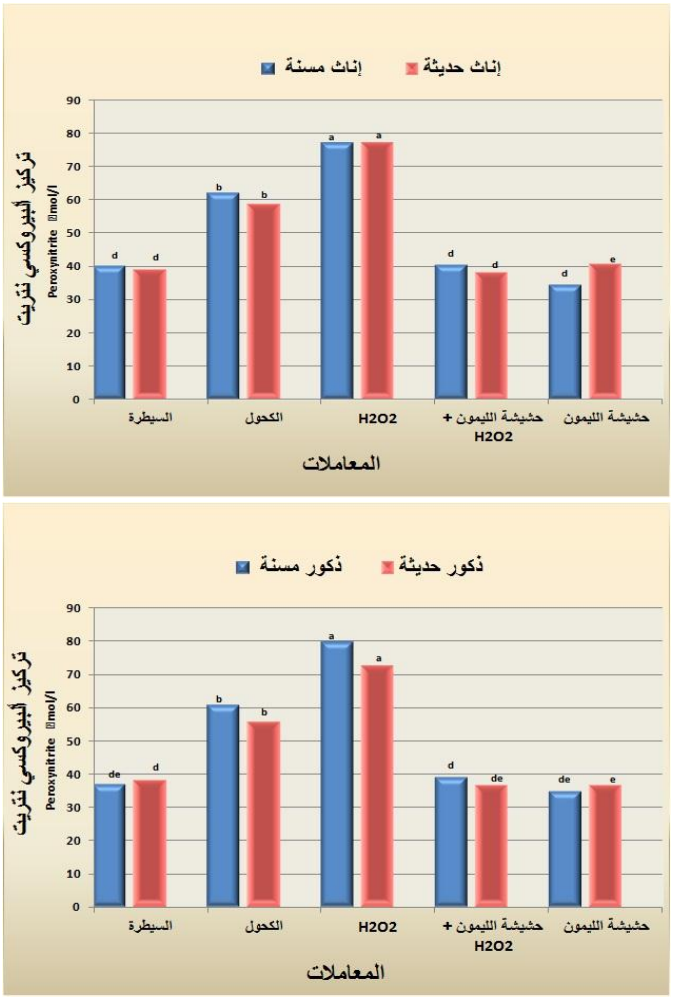


الشكل (1) تركيز Glutathione في مجاميع الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة بالمستخلصات (الكحول , H2O2 , , حشيشه الليمون + H2O2 , حشيشه الليمون)

يفسر الانخفاض الحاصل في مستوى الكلوتاثايون في المجاميع المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والكحول الى زيادة معدل استهلاك الكلوتاثايون الذي يعد واحدا من اهم المواد المضادة للأكسدة غير الانزيمية والفعالة في ازالة الجذور الحرة اذا يتحول الكلوتاثايون من الشكل الفعال ثنائي الكبريت GSSH تعد مجموعه الكبريت عاملا مختزلا واهبا للإلكترون وذلك بسبب ضعف الاصرة ولسهولة كسرها بين الكبريت والهيدروجين (S-H) . (Krishnamoorthy وآخرون, 2007). أو قد يعود سبب الانخفاض الى انخفاض كمية مادة NADPH Nicoten Amid – di – Nucleotid – Phosphate التي تعد انزيم مساعد مختزل ومادة اساسية في بناء الكلوتاثايون او كمادة محفزة لعمل الانزيم Glutathione Redudase الذي يعمل على اعادة الشكل الفعال للكلوتاثايون. (Fisher , 2003). كذلك قد يفسر الانخفاض في تركيز الكلوتاثايون بفعل الكحول الى فعالية الانزيم Glutathione ∝- Transferace في ازالة واستهلاك الكلوتاثايون (Lucesoli وآخرون , 1999). كذلك تؤدي الزيادة في تعاطي الكحول الى ازدياد تولد الجذور الحرة بفعل فعالية الانزيم GST -∝ في عمليات ايض الكحول (Padmini and Sundari , 2008). كذلك اشارت الدراسة الحالية الى عدم وجود اختلافات معنوية في تركيز الكلوتاثايون لمجاميع حيوانات التجربة الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة بالمستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون وبيروكسيد الهيدروجين مع مجاميع السيطرة السليمة و قد يعود السبب الى احتواء المستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون العديد من المركبات عالية الفعالية المضادة للأكسدة مثل مركب السترال Citral و Citronellol و Geraniol و Pipertone و Mathyleugenal والتي هي عبارة عن زيوت طيارة لها فعالية مضادة للاكسدة تدخل في بناء العديد من المواد الكيميائية مثل فيتامين A كذلك العديد من المركبات الفينولية المتعددة (Devi وآخرون , 2012)يفسر الارتفاع المعنوي الحاصل في تركيز الكلوتاثايون في مصل دم حيوانات التجربة الذكور والإناث المسنة

والحديثة العمر المعاملة بالمستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون مقارنه مع مجموعه السيطرة الى دور المركبات المتنوعه الموجودة ضمن تركيبة المستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون مثل فيتامين A , E , C وزيت Citral و Myrcene و Geranoil و Citronellol و Citronellal . (2011,Hindumathy) اضافة الى وجود العديد من مركبات الستروبد والكاروتينات والزانتوفيلات ذات الفعالية المضادة للأكسدة والمعززة لفعالية انزيمات الاكسدة والاختزال في الخلايا مما يعزز من انتاج الكلوتاثايون (Mataواخرون,2007).

ادت المعاملة بيروكسيد الهيدروجين 2% والكحول 20% الى احداث ارتفاعاً عالي المعنوية P<0.01 في تركيز البيروكسي نتريت pn لمجاميع حيوانات التجربة عند المقارنة مع مجاميع السيطرة غير المعاملة في حين ادت المعاملة بالمستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون عند مستوى معنوية P<0.05 الى انخفاضاً في مستوى البيروكسي نتريت pn.

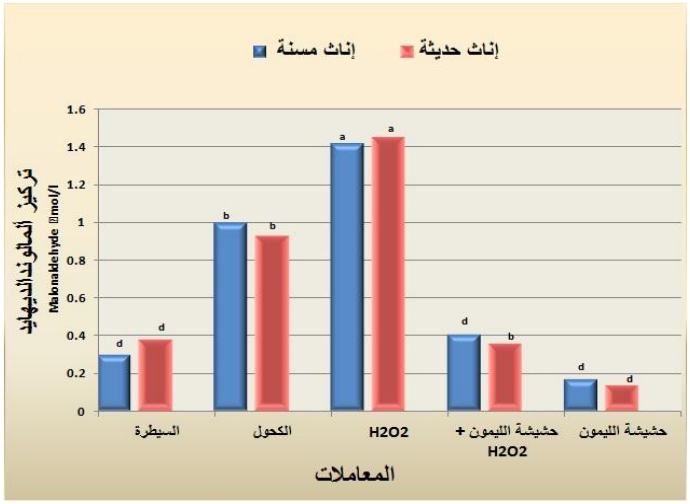


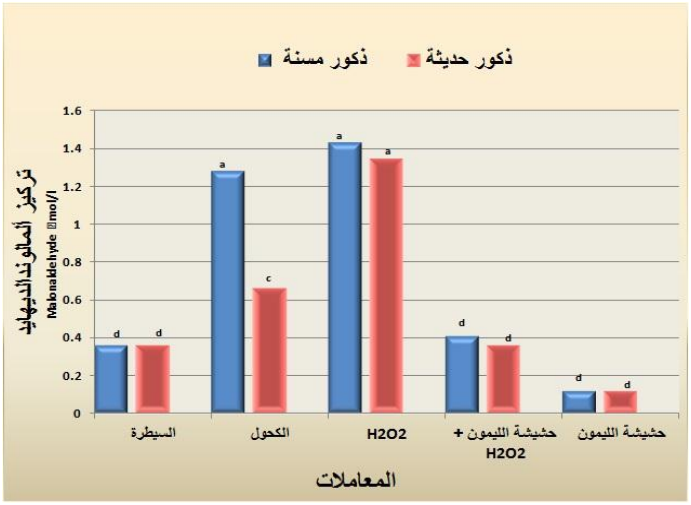
الشكل (2) تركيزالبيروكسي نتريت Pn في مجاميع الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة بالمستخلصات (الكحول , H2O2 , حشيشه الليمون + H2O2, حشيشه الليمون)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاعاً عالي المعنوية في تركيز البيروكسي نتريتPn في مصل الدم لحيوانات التجربة الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة بالكحول 20% وبيروكسيد الهيدروجين مقارنه مع مجاميع السيطرة اذ يفسر الارتفاع الحاصل في تركيز البيروكسي نتريت Pn من خلال التأثيرات السلبية التي يمتلكها الكحول عند زيادة تركيزة وتفاعلة مع الجزيئات الخلوية وزيادة عمليات الأكسدة المنتجة للجذور الحرة المتنوعه اذ تزداد عمليات بيروكسدة الدهون وكذلك يزيد تعاطي الكحول من افراز هرمونات الاجهاد مثل Corticosterone كذلك يؤثر في كمية السوائل الخلوية وكميات الماء المتاح للخلية

(Sierksma وآخرون ,2004) . يؤدي الكحول بتفاعلاته للاكسدة الى التحول الى مركب سام خلوي Acetaldehyde الذي يتأكسد بفعل الانزيم Acetaldehyde Dehydrogenase الى الاسيت Acetate ذو الفعالية العالية في انتاج الجذور الحرة (Gonence وآخرون , 2005).وكذلك يفسر الارتفاع المعنوي الى الدور الذي يلعبه بيروكسيد الهيدروجين في انتاج الجذور الحرة حيث يتكون جذر البيروكسي نتريت (ONOO) نتيجة لتفاعل جذر الاوكسجين مع أوكسيد النتريك Nitric Oxide ويعد هذا التفاعل السبب الرئيسي في انتاج الاصناف الاوكسجينية الفعالة RNS (Virage وآخرون , 2002) نعتقد ان سبب الارتفاع في جذر البيروكسي نتريت ONOO يسبب حالة الاجهاد التأكسدي الناتج من زيادة انتاج الجذور الحرة التي تكون نشطة في البحث عن الكترون مفرد للإرتباط معه مما يؤدي الى إرتباط جذر الاوكسجين المفرد O_2^- مع اوكسيد النتريك مكونا جذر ONOO. (Szatrowski و 1991,Nathan) اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود اختلافات معنوية في جذر البيروكسي نتريت ONOO في مجاميع حيوانات التجربة الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة بالمستخلص المائي لحشيشه الليمون وبيروكسيد الهيدروجين . نعتقد ان تفسير ذلك يعود الى امتلاك المستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون لمجموعه من المركبات الفعالة في قدرتها على ازالة الضرر الخلوي وكسح الجذور الحرة المتولدة بفعل بيروكسيد الهيدروجين مثل فيتامين E و A و K و D وتانينات Tannins والفلافونيدات Flavonoids و Phlobotannins و Carduiac Glycoside . (Ozcan وآخرون , 2009) .

ادت المعاملة بيروكسيد الهيدروجين 2% والكحول 20% الى احداث ارتفاعاً عالي المعنوية $P<0.01$ في تركيز MDA لمجاميع حيوانات التجربة عند المقارنة مع مجاميع السيطرة غير المعاملة في حين ادت المعاملة بالمستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون عند مستوى معنوية $P<0.05$ الى انخفاضاً معنوياً في مستوى MDA .

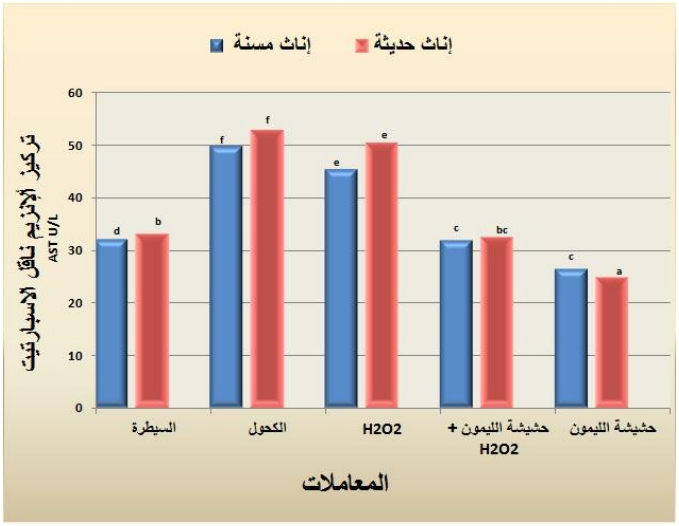


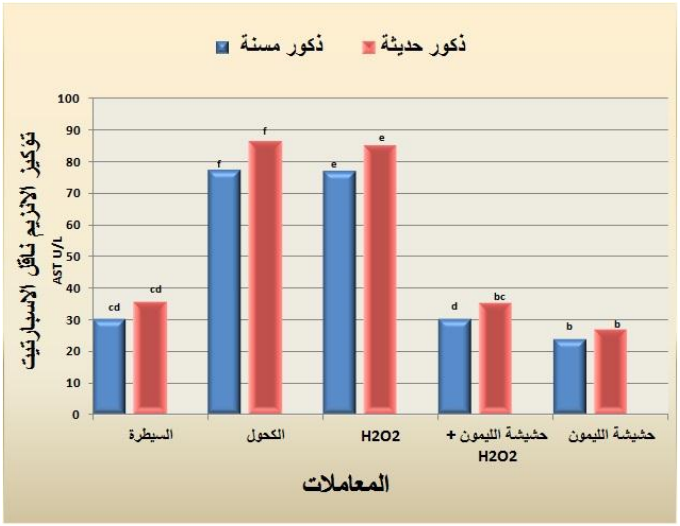


الشكل (3) تركيز MDA في مجاميع الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة بالمستخلصات (الكحول , H2O2 , , حشيشه الليمون + H2O2 , حشيشه الليمون)

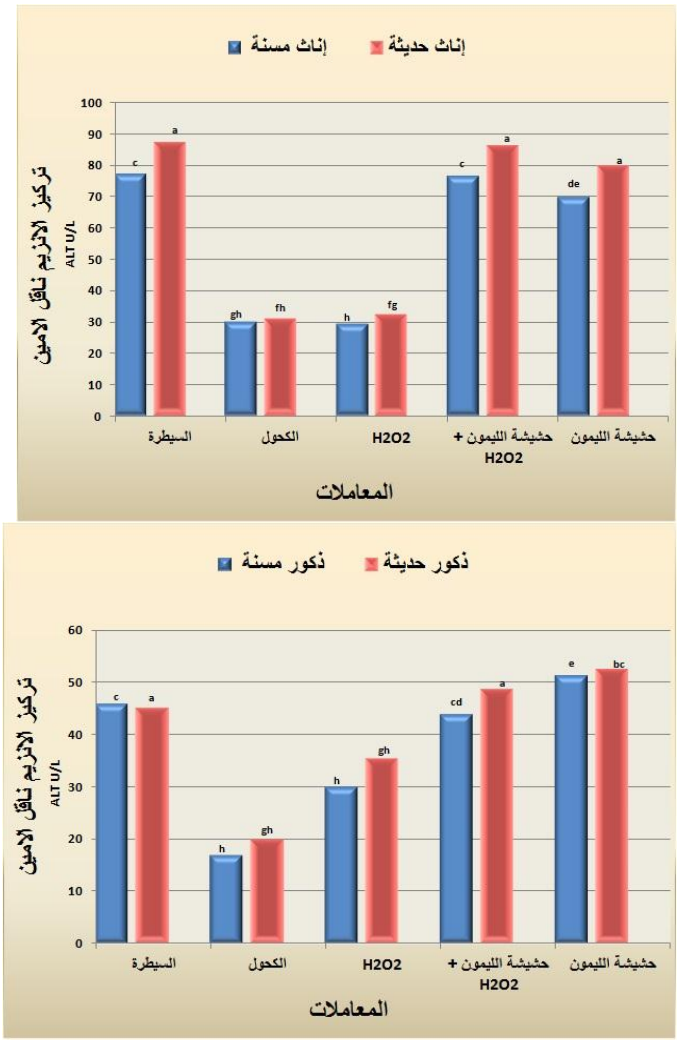
وقد فسرنا هذا الارتفاع الى دور الكحول20% و بيروكسيد الهيدروجين 2% في احداث الضرر الخلوي وزيادة عمليات بيروكسدة الدهون والتأثير في الاغشية الخلوية وجعلها اكثر صلابه واضعافة للمواد المضادة للأكسدة ضمن الخلايا كذلك يمتلك الكحول وبيروكسيد الهيدروجين تأثيرا ساما للخلايا الكبدية والبنكرياسية حيث يكون المالوندالديهايد MAD واحدا من اهم المواد الخطرة الناتجة من عملية بيركسدة الدهون (Alhazza, 2007). كذلك قد يفسر سبب الارتفاع الى ان حدوث حالة الاجهاد التأكسدي بفعل الكحول تؤثر على خلايا β البنكرياسية وافرازها للانسولين وبالتالي انخفاض تركيز الانسولين في الدم الذي عمل على تحفيز وزيادة نشاط الانزيم Falty Acyl CoA . Oxidase الذي يحفز عملية β.Oxidation للاحماض الدهنية وزياة تكوين H2O2 وفي النهاية زيادة معدلات بيروكسدة الدهون وانتاج المالوندالديهايد MAD . (Atalay وEl-Aksonene 2000).وقد فسرنا هذا الارتفاع بسبب فعالية الكحول و بيروكسد الهيدروجين كعوامل مؤكسدة قوية في زيادة انتاج الجذور الحرة التي تعمل على مهاجمه المكونات الخلوية والتي من اهمها الحوامض الدهنية المكونه للاغشية الخلوية مكونة المالوندالديهايد MAD من خلال عملية بيروكسدة الدهون (Mohsenوآخرون , 2006) , . اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود اختلافات معنوية لتركيز المالوندالديهايدMAD في مجاميع حيوانات التجربة الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة بالمستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون وبيروكسيد الهيدروجين ومستخلص حشيشة الليمون فقط مقارنه مع مجاميع السيطرة السليمة . ونعتقد ان السبب يعود الى الدور المكافئ بين التأثيرات الضارة لبيروكسيد الهيدروجين في تثبيط مضادات الأكسدة الخلوية وفعالية الانزيمات المضادة للأكسدة وزياده عمليات بيروكسدة الدهون وبين المواد والمركبات الفعالة كمضادات للأكسدة ضمن تركيب المستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون Montonen (,2005). اتفقت دراستنا الحالية مع ما توصل اليه Sausa وآخرون , (2010) , في اثبات فعالية مركب Citral وفيتامين A ضمن مستخلص حشيشه الليمون كمواد مضادة للأكسدة كذلك فعالية المركبات الدهنية مثل Neral و Geranail و Citronellol كمواد تخفض من عمليات بيروكسدة الدهون وتخفيض انتاج MAD . ونعتقد ان سبب الانخفاض المعنوي لتركيز MAD يعود الى وجود من المركبات الفعالة كمواد كاسحه للجذور الحرة ومثبطة لعملية بيروكسدة الدهون مثل Myrcene و Citral و Citronellol و Citronellel اضافه الى فيتامين C , E , A والعديد من المركبات الستيرويدية والكاروتينات والزانثوفيلات والتي تعمل على تعزيز فعل ونشاط الانزيمات المضادة للأكسدة (2011, Hindumathy) .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حدوث ارتفاع عالي المعنوية $p<0.01$ لتركز الانزيم ناقل امين الاسبارتيت وناقل امين الألنين ALT و AST في مصل الدم لحيوانات التجربة الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة بالكحول 20% مقارنة مع مجاميع السيطرة السليمة . وكذلك أظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاعا معنويا لتركيز الانزيمات الناقلة للأمين AST و ALT في مصل الدم لحيوانات التجربة الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين .





الشكل (4) تركيز AST في مجاميع الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعالة بالمستخلصات (الكحول , H2O2 , حشيشه الليمون + H2O2, حشيشه الليمون)



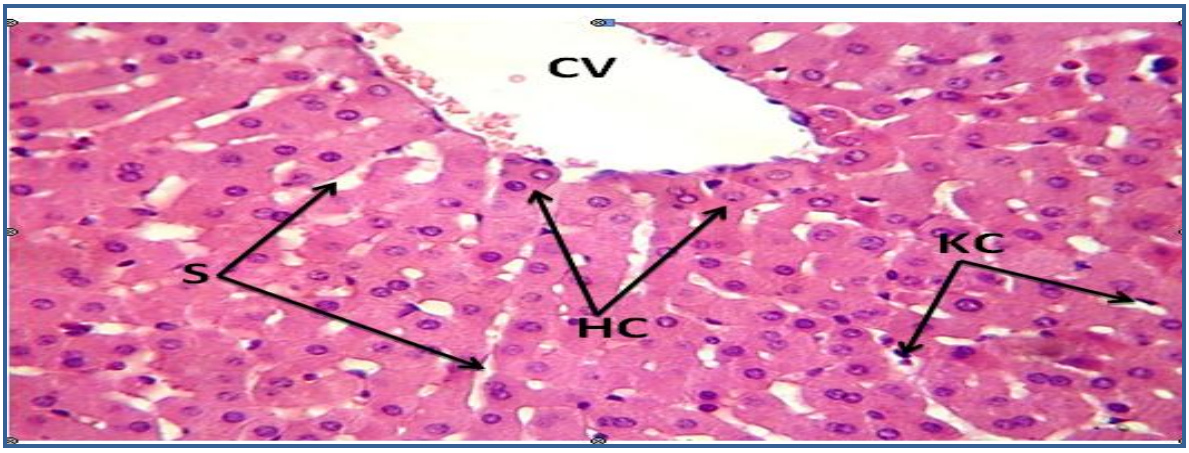
الشكل (5) تركيز ALT في مجاميع الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعالة بالمستخلصات (الكحول , H2O2 , حشيشه الليمون + H2O2, حشيشه الليمون)

وقد يعزى هذا الارتفاع المعنوي الى تحطم الاغلفة الخلوية للخلايا الكبدية نتيجة الإجهاد التأكسدي الناتج عن معدل ازدياد عمليات بيروكسدة الدهون ومستوى تولد الجذور الحرة بفعل الكحول مما يؤدي الى تسرب هذه الانزيمات ال مصل الدم (Jagota و Reddy 2007,) وقد يعود السبب الى ارتفاع في تركيز بروتين Ferritin في مصل الدم بسبب تنكز او تشمع الخلايا الكبدية بفعل الكحول وهناك ترابط بين تركيز بروتين Ferittin وتركيز انزيم AST وكذلك قد يؤدي الكحول الى زيادة انتاج هذه المواد البروتينة وتحررها الى مجرى الدم كما قد يعود السبب الى ضعف عمليات ازالة وتحليل هذه المواد من الدم وبالتالي ازدياد تركيزها (Worwood وآخرون ,1982) , . وقد يعود السبب الى ان الكحول يؤدي الى نقص في الأوكسجين المتاح للخلايا Hypoxia ومنها الخلايا الكبدية وبالتالي احداث ضرر خلوي مؤديا الى ارتفاع تركيز الانزيماتALT وAST في مصل الدم(Punitha و Rajasekaran,2011). او قد يعود السبب الى فعالية الكحول في تثبيط عملية انتاج Glutathione الذي يكون مسؤولا عن بناء وفعالية العديد من المواد والانزيمات المضادة للأكسدة (Beddowes وآخرون , 2003) . وقد يعود سبب الارتفاع في مستوى الانزيمات الى فعالية بيروكسيد الهيدروجين في احداث الضرر الخلوي للخلايا الكبدية من خلال فعاليته في العمليات الأيضية للدهون والبروتينات الخلوية وعمليات بيروكسدة الدهون مما يؤدي الى زيادة انتاج الجذور الحرة وفعلها التخريبي للخلايا (Malik وآخرون , 2013) . او قد يعود السبب الى ان التلف الحاصل للخلايا الكبدية سوف يؤدي الى ارتفاع معنوي في تراكيز

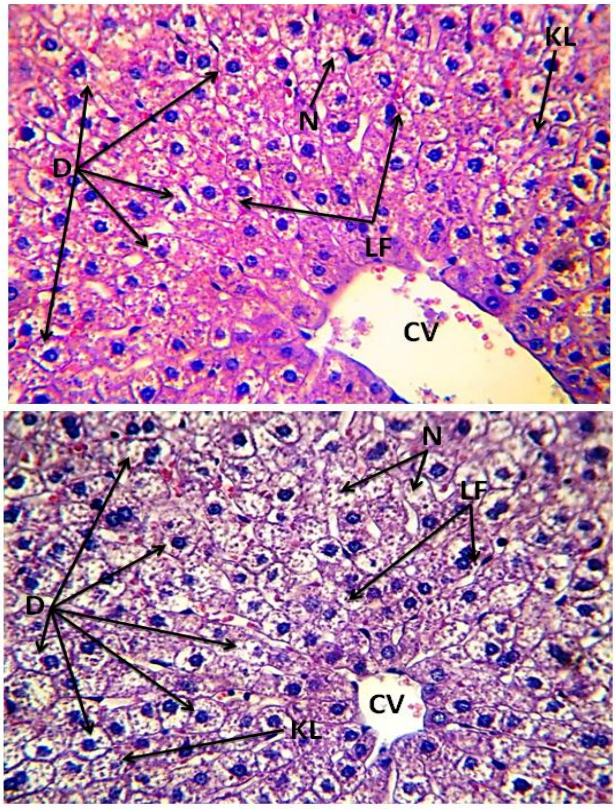
الانزيمات من خلال حدوث الخلل في اغشية العضيات الخلوية Microsomal Membrane وزيادة السائلية للأغشية وكذلك الزيادة في انتاج الجذور الحرة وكذلك التغيرات التركيبية الحاصلة في الخلايا الكبدية او قد يعود التأثير في تثبيط فعالية وانتاج الكلوتاثايون والعديد من الانزيمات المهمة في عمليات كسح الجذور الحرة والتخلص من الضرر الخلوي (Zhang وآخرون , 2008) . أظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود اختلافات معنوية في تركيز الانزيمات ناقلة الأمين والاسبارتيت ALT و AST في مصل الدم لحيوانات التجربة الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والمستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون مقارنة مع مجاميع السيطرة السليمة . نعتقد ان السبب في ذلك امتلاك المستخلص المائي لحشيشه الليمون على العديد من المركبات ذات الفعالية العالية في كسح الجذور الحرة المتولدة بفعل بيروكسيد الهيدروجين مثل مركب Piperine و Quercein التي تعزز الاليات الدفاعية المضادة للأكسدة ضمن الخلايا وكذلك Alkaliods والفلافونيدات والكاربوهيدرات والعديد من المركبات الستيرويدية والكلايكوسيدات والفينولات التي تمتاز بقدرتها العالية كمواد كاسحة للجذور الحرة ومعززة لفعل الإنزيمات الخلوية ومقللة لتفاعلات لأكسدة الجزيئات الحيوية الدهون والبروتينات والاحماض النووية من خلال قدرتها على تثبيط فقدان الألكترون من الجزيئات كي لاتتحول الى جذور حرة (Kumar وآخرون , 2004), .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حدوث انخفاض معنوي في تركيز الانزيمات ناقلة الأمين AST و ALT في مصل الدم لحيوانات التجربة الذكور والإناث المسنة والحديثة العمر المعاملة بالمستخلص المائي لنبات حشيشه الليمون مقارنة مع مجاميع السيطرة السليمة . وقد يفسر السبب في ذلك الى العديد من المركبات الفعالة ضمن المستخلص المائي لحشيشه الليمون مثل Citral و Murecene او الى العديد من المركبات الفينولية والكاروتينات ذات القدرة العالية على كسح الجذور الحرة والمحافظة على التركيب للجزيئات الحيوية وبالأخص الداخله في تركيب الاغشية الخلوية (Rabbani وآخرون ,2006) . اوقد يعود السبب لفعالية السترال في تعزيز نشاط الانزيم Glutathione – S – Transferase (GST) (Nakamura واخرون , 2006), او قد يعود السبب الى فعالية المركب Geranail الذي يعزز من نشاط GSH الفعال في دورة المضاد لإكتساح الجذور الحرة (Metha وآخرون , 2012) .

اوضحت نتائج الدراسة الحاليه تأثير اعطاء الكحول 20% بجرعة مزدوجة ولمدة 60 يوم على النسج الكبدية لمجاميع حيوانات التجربة مقارنة مع مجاميع السيطرة في الصوره (1) حيث ادى تعاطي الكحول الى احداث تأثيرات واضحة في اكباد الحيوانات المسنه والحديثة العمر تمثلت بوجود حالات تنكس Degeneration وتنخر Necrosis في الخلايا الكبدية وبشكل كبير كذلك وجود حالات تحلل اللانوية Karyolysis كما في الصورة (2)(3).

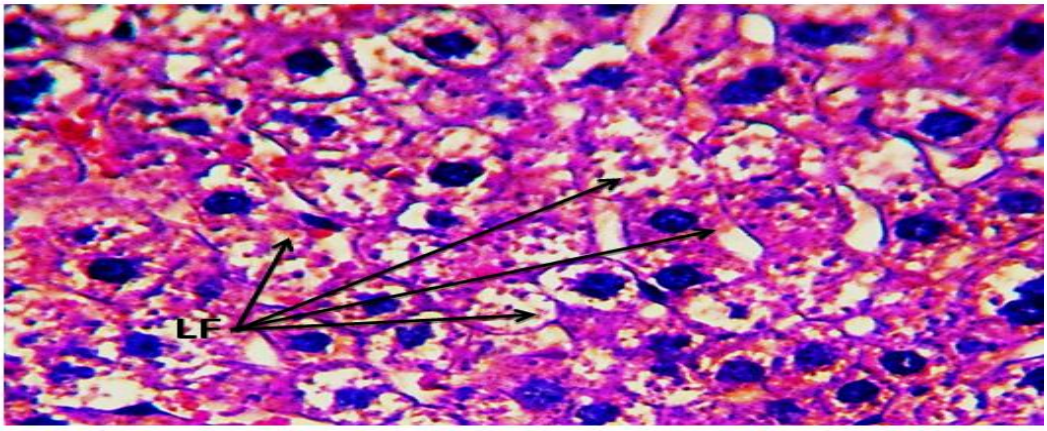


صورة (1) مقطع مستعرض لكبد مجموعة السيطرة يوضح الشكل الطبيعي للوريد المركزي (CV)وانتظام الخلايا الكبدية(HC) والجيبانيات(S)مع ملاحظة خلايا كفر (KL).H&E 400X



صورة (2) مقطع مستعرض لكبد المجاميع حديثة العمر المجرعه بالكحول صورة (3)مقطع مستعرض لكبد المجاميع المسنه المجرعه بالكحول

كما يلاحظ في اغلب الخلايا الكبدية وجود ترسبات لحبيبات ذات لون اصفر والتي هي حبيبات الليبوفيوسين Lipofuscin ولكن ماتجدر اليه الاشاره ان كمية الحبيبات المترسبه في اكباد الحيوانات المسنه كانت اكثر مما عليه في اكباد الحيوانات الحديثة العمر كما توضحه الصوره(4).

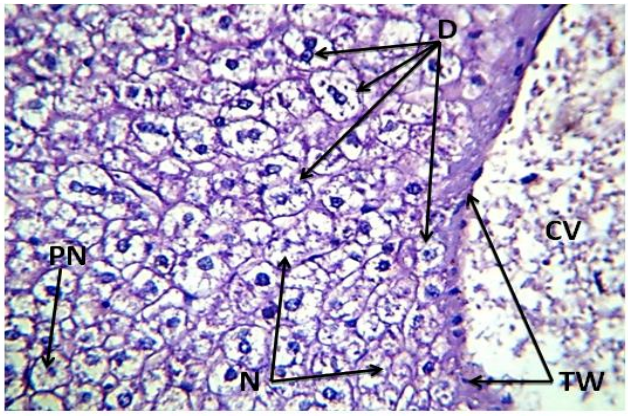


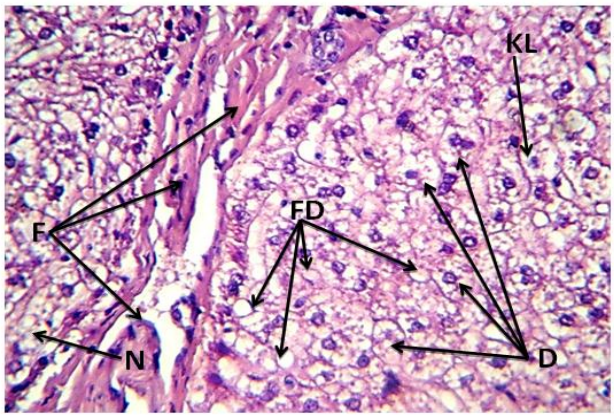
صورة (4) صوره مكبره توضح ترسب حبيبات الليبوفيوسين في كبد المجاميع المسنة المجرعه بالكحول

جائت نتائج الدراسة متوافقه مع ما توصلت اليه دراسة (Mukhopadhyay وآخرون , 2012) . التي اشارت الى ان عمليات ايض الكحول تؤدي الى انتاج مادة ال Acetaldehyde بفعل انزيم Alcohol dehydrogenase اذ يلعب هذا الاسيتلديهايد دوراً رئيسياً كماده سامه وذات تأثيرات ضاره على التركيب الخلوي وقد يعود السبب الى تأثير الكحول في نفاذية الاغشية الخلوية والتهاب الخلايا الكبدية واحداث حالات الاجهاد التأكسدي الناتج بفعل تولد اعداد كبيره من الاصناف الاوكسجينية الفعاله التي

تؤثر في تركيب الخلايا الكبدية فتتسبب في تلك التغيرات(Aziz وآخرون , 2003) , او قد يعود السبب الى حدوث اضطرابات ايضية للدهون الخلوية وزياده في عمليات بيروكسدة الدهون والاحماض الدهنية غير المشبعه في اغشية الخلايا او قد يعمل على تكسير البروتينات واعادة تجميعها مما يتسبب في فقدان الفعالية لانزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز GSH-PX الذي يعد واحداً من اهم الانزيمات المضادة للاكسده والذي يعمل على حماية الخلايا من الاذى ألتأكسدي (Chein وآخرون , 2004) .

اظهرت نتائج الدراسه الحالية تأثير المعامله ببيروكسيد الهيدروجين H2O2 2% بجرعه مزدوجه ولمدة 60 يوماً على النسج الكبدية لمجاميع حيوانات التجربه الذكور والإناث المسنه والحديثة العمر مقارنة مع اكباد مجاميع السيطره السليمه الموضحه في الصوره(1).اذ لوحظ وجود تغيرات تنكسية Degenerative changesكبيره في اكباد الحيوانات المسنه لاغلب الخلايا الكبدية مع فقدان للترتيب الشعاعي فضلا عن حالات التنخر Necrosis مع وجود حالات تحلل الانوية Karyolysis وترسب للقطيرات الدهنية في بعض المناطق وبالتالي ادت الى حدوث حالات التليف الكبدي Fibrosis في اجزاء من الكبد كما مبين في الصورة (5).



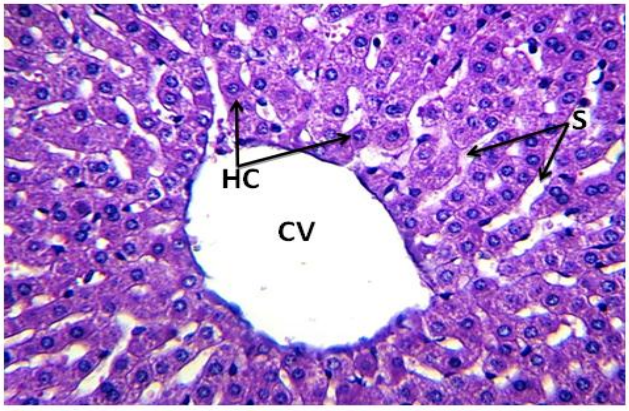


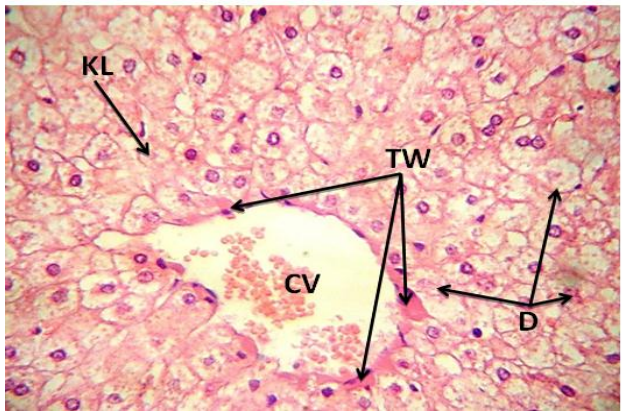
صورة (5) مقطع مستعرض لكبد المجاميع المسنه المجرعه ببيروكسيد الهيدروجين صورة (6) مقطع مستعرض لكبد المجاميع حديثة العمر المجرعه ببيروكسيد الهيدروجين

اما في المجاميع حديثة العمر فقد اظهر الفحص المجهري للمقاطع المستعرضه في الكبد الى وجود حالات تنكس وتنخر للخلايا الكبدية بشكل كبير جدا كما وجدت تغيرات كثيرة على مستوى الانوية فمنها قد تكثف Pyknotic nuclei واصبحت بشكل قرص داكن ومنها ما تحلل بالكامل Karyolysis كما لوحظ في بعض المناطق حدوث حالات تثخن في جدران الوعاء الوريد المركزي Thickening wall كما تبينه الصورة(6).جائت النتائج متوافقه مع(الدوري , 2012) التي اشارت الى تضرر النسيج الكبدي بصورة كبيره عند المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين اذ لوحظ النزف الدموي والتنكس والتنخر وارتشاح الخلايا اللمفاوية والتحلل الخلوي.حيث يعد

بيروكسيد الهيدروجين واحداً من الاسباب الرئيسية لزيادة تولد الجذور الحره السامه التي بأمكانها ان تتفاعل مع الدهون المفسفره لتزيد من عمليات بيروكسدة الدهون Lipid peroxidation التي تحفز سلسه من التفاعلات الحاله للاغشية الخلوية مع نقصان في حيوية المايتوكندريا وتغير التركيب الغشائي لها اضافةً الى تحطم اغشية الجسيمات الحاله Lysosomes وبالتالي الوصول الى مرحلة التنخر (Wendland وآخرون , 2001).وقد تكون هذه التغيرات ناتجة عن حالات الاجهاد التأكسدي بفعل بيروكسيد الهيدروجين مما ادى الى زيادة تركيز المالوندالديهايد MDA في الكبد وارتفاع مستوى الكوليستيرول وهذا يعد مؤشراً

لحدوث عمليات بيروكسدة الدهون واكسدة الدهون الفوسفاتية في الاغشية الخلوية مما يتسبب في تضرر الخلايا لعدم القدرة على مقاومة فعالية الجذور الحره وهذا يؤدي الى اختلال في نفاذية الاغشية الخلوية وتجمع جزيئات الدهون داخل الخلايا(الخفاف, 2005) . كما اشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود تحسن في انتظام الخلايا الكبديه ترتيبها بالشكل الشعاعي في مجاميع الحيوانات المعامله بالمستخلص المائي لحشيشة الليمون وبيروكسيد الهيدروجين الا انه لوحظ وجود تنكسات في بعض الخلايا الكبدية كما وجد في بعض المقاطع تحطم لجدار الاورده المركزية ادى الى احداث نزف دموي Hemorrhage بين الخلايا الكبدية كما لوحظ تضخم في بعض المناطق لخلايا كفر Kupffer cells كما موضح في الصورة (7).





صورة (7) مقطع مستعرض لكبد المجاميع المجرعه حشيشة الليمون وبيروكسيد الهيدروجين صورة (8) مقطع مستعرض لكبد المجاميع المجرعه بحشيشة الليمون

بينما اشارت نتائج المجاميع المعامله بالمستخلص المائي لحشيشة الليمون فقط خلال الفحص المجهري لاكباد حيوانات هذه المجموعه الى الشكل الطبيعي للاوردة المركزية وانتظام الخلايا الكبدية بالشكل الشعاعي وانتظام الجيبانيات بين الخلايا الكبدية اذ كانت الخلايا ذات اشكال واقطار طبيعية كما بينت ذلك الصورة (8).

اشارت نتائج دراستنا الحالية الى الاصلاح الحاصل في النسيج الكبدي المتأثر ببيروكسيد الهيدروجين ورجوعها الى الحاله الطبيعيه بعد المعامله بالمستخلص المائي لنبات حشيشة الليمون لما يحتويه المستخلص من مواد ومكونات فعاله في تثبيط فعل بيروكسيد الهيدروجين وكذلك قدرة تلك المواد المضادة للأكسدة في الاسراع في عمليات الاصلاح الخلوي وتحفيز الخلايا لإفراز عوامل

الجذب الكيميائي للخلايا الالتهابية والتي لوحظ ارتشاحها الى مناطق الالتهاب لغرض ازالة النسيج المتضرر فضلاً عن تحفيز خلايا النسيج السليمة للانقسام لتعويض المتضرر من الخلايا.اضافة الى احتواء على مواد تمنع من تراكم الدهون في نسيج الكبد من خلال تحفيزها لعمليات نقل الدهون من الكبد الى مصل الدم او من خلال تثبيط الكبد من صنع الدهون Lipogensis . او قد يعود السبب الى تحفيز اكسدة الدهون في الأنسجة الجسمية لمنع تراكمها .اومن خلال تثبيط فعالية الانزيمات المنشطه لعمليات تصنيع الدهون .

الدوري ، سرى سمير محمد.(2012). دراسة تاثير المستخلص المائي لنبات اللهانه على مستويات هرمونات الدرقية ،الاجهاد التاكسدي وعدد من المعايير البيولوجية في الارانب. رسالة ماجستير .جامعة تكريت – كلية العلوم – قسم علوم الحياة.

المحمدي , قصي نوري ردام (2009) . دراسة تأثير المستخلص المائي والكحول لنبات حشيشه الليمون *Cymbopogon Citratus* في مستوى السكر وعدد من المتغيرات الكيموحيوية والنسجية في مصل الدم لذكور الجرذان *Sprague Dawley* السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي . رسالة ماجستير كلية التربية – جامعة تكريت – قسم علوم الحياة .

Alhazza , I . M . (2007) . Antioxidant and hypopolipidemic effects of olive oil in normal and diabetic male rats .Saudi Journal of Biological Sciences ; 14(1): 69-74.

Atalay, M. and El-Aksonene, D. (2000) .Diabetes oxidative stress and physical exercise . J. of Sports Science and Med., 1:1-14.

Aziz ,B.N ; Ahmed , A .F. and Chalaby,S.S.(2003).Effect of vitamin E on mice epididyma sperms exposed to hydrogen peroxide –induced oxidative stress . Iraqi . J .Vet .Sci ; 17 : 77-81.

Beddowes, EJ; Faux SP and Chipman JK. (2003). Chloroform carbon tetrachloride and glutathione depletion induced secondary genotoxicity in liver cell via oxidative stress. Toxicology; 178 : 101 – 115.

Cheel , J. Theoduloz J , and Schmeda – Hirschmann G. (2005) , Free Radical Scavengers and Antioxidant from Lemongrass (*Cymbopogon Citratus*) D.C Stop f . J. Agric Foodchem ,Vol 63(7) , : PP 2511 – 2517 .

Chein ,C.T ; Chang ,W.T ;Chen .H.W ; Wang , T.D ; Liou ,S.Y ; Chen , T.J ; Chang , Y.L ; Lee ,Yi . and Hsu ,S.M.(2004).Ascorbate supplement reduce oxidative stress in dyslipidemic patients undergoing aphaeresis arteriosclerosis .Thromb.Vasc.Biol; 24(6):1111-1117.

Devi , R.C ; Sim , S.M ; and Ismail ,R.(2012). Effect of Cymbopogon citratus and citral on vascular smooth muscle of the isolated thoracic rat aorta. Evidence-Based Complementary and Alternative medicine; 10: 1155-1162.

El-Missiry,M. A., Fayed,T. A., El-Sawy,M. R. and El-Sayed,A. A. (2007). Ameliorative effect of melatonin against gamma-irradiation-induced oxidative stress and tissue injury. Ecotoxicology and Environmental Safety; 66: 278–286.

Fisher,C. J. (2003). Organoselenium compounds as glutathione peroxi-dase mimics. B-180 Medical Laboratories Free Radical and Radiation Biology Program, University of Iowa. 77: 222.

Gabriel . J .(2010) . Development of soil Microbiology Methods : form Respirometry Molecular approaches . Journal Ind Microbiol Biotechnol , Volume 37 , Issue 12 , PP : 1289 – 1297 .

Gonence ,S ; Uysal ,N ;Acikgoz ,O ;Kayathekin ,B.M; Sonmez ,A; Kiray ,M; Aksu ,I ;Gulecer ,B; Topcu ,A; and Semen, I.(2005). Effects of Melatonin on oxidative stress and spatial memory impairment induced by acute ethanol treatment in rats.Physiol.Rese.J ;54: 341-348

Hindumathy, C.K.(2011). In vitro study of antibacterial activity of cymbopogon citartus. World academy of scienc, Engineering technology 50: 189 – 193.

Jagota ,A and Reddy, M.Y.(2007).The effect of Curcumin on ethanol induced changes in superachiasmatic nucleus (SCN)and Pineal.Cell.Mol.Neurobiol ;27:997-1006

Koffi , Koba ; Sanda Komla , Guyon Gatherine , Raynaad Christine , Chaumont . Jean – pierre , and Nicol , Laurence . (2009) , *In Vitro* Cytotoxic Activity ov *Cymbopogon Citratus* 1 . and *Cymbopogon Nardus* L. Essential Oils From Togo. Bangladesh .J. Pharmacol . Vol 4 , : PP 29 – 34 .

Krishnamoorthy,P., Vaithinathan,S., Vimal,A. and Bhuvaneswari, A. (2007). Effect of Terminalia

المصادر

الجنابي , قاسم عزيز رزوقي(2008) دراسة تأثير المستخلص المائي لبذور العنب في الإجهاد ألتأكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين في ذكور الجرذان " . رسالة ماجستير – كلية التربية – جامعة تكريت

الخفاف , أسرار اسماعيل ياسين يوسف .(2005).قابلية الاجهاد التأكسدي في احداث آفات التصلب العصيدي التجريبي في اناث الجرذان البيضاء مع استخدام بعض مضادات الاكسدة. إطروحة دكتوراه . جامعة الموصل .

enzyme induction .Biochemical Biophysical Research Community ; 302 : 593 – 600.

Oloyeda , O . I . (2009) . Chemical Profile and Antimicrobial Activity of *Cymbopogon Citratus* Leaves . Journal of Natural Products , Vol 2 , : PP 98 – 103 .

Ozcan , M.M ; Ozcan . LE ; and Herkan , E.E . (2009) . Antioxidant activity , Phenolic Content and Peroxide value of Essential Oil and Extract of Some Medical and Aromatic Plants used as Condiments and Herbal Teas in Turkey . Journal Med.Fd ; 12(1) : 198 – 202 .

Padmini ,E .and Sundari , B.(2008) . Erytherocyte glutathione depletion impairs resistance to haemolysis in women consuming alcohol. Clinical Biochemistry Nutriation ; 42: 14- 20

Punitha, S. C and Rajasekaran, M.(2011). Anti oxidant mediataed defence role of wedelia calendulacea herbal extract against CCl_4 induced toxic hepatitis. J Applied pharamaceutical science; 1(9): 111 – 115 .

Rabbani, S.I ; Kshama D, Salma K and Noor Z.(2006).Citral,A component of lemongrass oil inhibits the clastogenic effect of Nickel chloride in mouse Micronucleus test system.Pakistan .J.Pharm.Sci ;19(2):108-113

Sausa,S.M; Pamela S.S and Lyrerson F.V.(2010). Cytogenotoxicity of *Cymbopogon citratus* (DC.)Stapf (lemongrass) aqueous extract in vegetal test system.Annals of the Barzilian Academy of Scineces ;82(2):305-311.

Sierksma, A; Hamina, P; Noriyuki O, Shinji K, Tohru F, Robert J.H, Diederick E.G, Cornelis K, and Henk F.J.H.(2004). Effects of moderate alcohol consumption on Adiponectin; Tumor Necrosis factor – α – and insulin sensitivity. Diabetic care; 27: 184 – 189

Sikka , Suresh .C ; Mohandevan .R , and WYANE .j.G.H . (1995) . Role of Oxidative Stress and Antioxidant in Male Infertility . Journal . of . Andrology . Vol 16 (6) , PP : 464 – 468 .

Szatrowski , Ted .P ; and Nathan , Carl .F . (1991) . Production of Larg amounts of Hydrogen peroxide By Human Tumor Cells . Cancer Research ; 51 : 794 : 798 ;

Tietz,N. (1999). Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rded. W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA. Pp: 266-273.

Vanuffelen,B., VanDerzec,J, and Dekoster,B.(1998). Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidants status in the Serum of patients with acute myocardial infraction national. Biochem. J; 330.719. Cited by Al-Zamely et al (2001).

Virage , L.F ; Szabo , F , Bakondi , P ; Bai , P ; Gergely , J ; Hunyadi ; and Szabo C. (2012) . Nitric Oxide Peroxinitrite - Peroxide – Poly (ADP – Ribose) Polymerase Pathway in the chebula fruit extract on lipid peroxidation and antioxidative system of testis of albino rats. African J. of Biot; 6: 1888-1891.

Kumar, G; Sharmila B.G, Vanitha P.P, sundararajana M & Rajasekara P.M.(2004). Hepatoprotective activity of trianthema protulacastran L. against paracetamol and thioacitamide intoxication in albinorats. J. Ethno pharmacol; 92(1): 37 – 40.

Lemhader ,A;Zeggwagh .N.A ,Maghrani .M, Jouad.H and Eddouks.M.(2004). Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Driganum vulgare* growing wild in Tafilalet region. J.Ethanopharmacol ; 90 :251 – 256.

Lucesoli, F.; Caligiuri, M.; Roberti, M.; Perazzo, J. and Fraga, C.(1999) Dose-dependent increase of oxidative damage in the testes of rats subjected to acute iron overload. Archives of Biochemistry and Biophysics, 372(1), 37-43

Malik, Tabarak; Devendra K. P and Nitu Dorag. (2013). Ameliorative potential of aqueous root extract of withania somnifera against paracetamol induced liver damage in mice. Pharmacologia; 4(2): 89 – 94.

Mata, A.T; Proenca, C. Ferriera, A.R; Serraheiro, M.I.M; Nogueira, J.M.F ; and Araujo, M.(2007). Anti oxidant and anti acetylcholine sterase activity of five plants used as portugues food species. Food chemistry; 103(3): 778 – 786.

Metha, A; Ginpreet K and Meena C. (2012). Piperine and Quercetin enhances Antioxidant and hepatoprotective effect of curcumine in paracetamol induced oxidative stress. International Journalofpharmacology; 8(2): 101 – 107.

Mohsen A.; Mustafa M.;Nosratollah Z. and Nasser L.(2006). Influence of Chronic Exercies on red cell antioxidant defence plasma malodialdehyde and total antioxidant capacity in hyper cholesterolemic rabbits j. sports scince and medicine.5:682-691.

Montonen,J. (2005). Plant foods in the prevention of type 2 diabetes mellitus with emphasis on dietary fiber and antioxidant vitamins. National Public Health Institute KTL A13, ph.D Thesis, University of Helsinki, Finland . Pp:105.

Mukhopadhyay,P; Bela H , Zsuzsanna Z , Jacek Z , Galin T , Eileen H , Malek K , Vivek P , Isaac E.S , Samir M and Joy J.(2012).Mitochondrial-Targeted antioxidant represent a promising approach for prevention of Cisplatin- induced nephropathy .Free Radical Biology&Medicine ;52:497-506.

Nakamura , Y ; Miyamoto M , Murakami A , Ohigashi H , Osawa T and Uchida K.(2003). A phase IIdetoxification enzyme induce from lemon grass: Identification of citral and involvement of electrophilic reaction in the

Skin . Experimental Dermatology ; 2 : 189 – 202 .

Wendland, B.; Aghdassi, E.; Tam C.; Carrier, J.; Steinhart, A.; Wolman, S.; Baron, D. and Allard, J.(2001).Lipid peroxidation and plasma antioxidant micronutrients in crohndisease. Am. J. Clin. Nutr., 74:259-264.

Worwood, M; Cragg, SJ, Williams, A.M; Wagstaff, M; and Jacobs A. (1982). The clearance of ^{131}I. human plasma ferritin in man. Blood; 60: 827 – 833.

Zhang, L.;Li, L.; Li, Y. and Zhang, Y.(2008).In vitro antioxidant activities of fruits and leaves of pomegranate, Acta Hortic., 765 (Proceedings of the International Symposium on Plants as Food and Medicine), 31.