مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (14) العدد (2) – (2014)
ISSN-1813-1646

الدور الوقائي لشراب الشاي الاخضر في التقليل من التأثيرات الجانبية لعقار Doxorubicin على بعض المتغيرات الكيموحيوية ونسيج الكبد في ذكور الارانب المحلية

موفق مطلك زيدان العيساوي* زيد محمد مبارك المهداوي* صالح محمد رحيم العبيدي**
*جامعة تكريت / كليـة العـلوم ** جامعة تكريت / كليـة التربية

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة اختبار الدور الوقائي للشاي الاخضر في اختزال التأثيرات الجانبية التي أحدثها العقار المضاد للسرطان Doxorubicin على بعض المتغيرات الكيموحيوية والنسجية في ذكور الارانب البالغة ، قسمت الارانب , قسمت الارانب إلى أربعة مجاميع ، المجموعة الأولى غذيت على عليقه طبيعية ولم يتم معاملتها بأي مادة ، المجموعة الثانية غذيت الحيوانات على نفس العليقه الطبيعية وتم حقنها بمقدار (10 ملغم /كغم) من العقار المذكور بواقع خمسة جرع اسبوعيا ، إما المجموعة الثالثة فشملت مجموعة حيوانات غذيت على نفس العليقه وحقنت (15 ملغم /كغم) من العقار بواقع خمسة جرع اسبوعيا ، أما المجموعة الرابعة فقد شملت عدد من الحيوانات غذيت على عليقه طبيعية وحقنت بمقدار (15 ملغم /كغم) من العقار وتم معاملتها بالشاي الاخضر 20 مل/كغم يوميا واستمرت التجربة لمدة شهر .

أظهرت النتائج الحالية أنَّ المعاملة بالدكسوروبسين قد أدى إلى ارتفاعآ معنوياً في تركيز MDA في مصل دم الحيوانات عند مستوى معنوية ($P\leq0.01$) وعند المعاملة بالشاي الاخضر أظهرت النتائج دورا واضحا للشاي الاخضر انخفاضآ معنوياً في تركيز MDA ($P\leq0.01$) في اختزال التأثير الجانبي لعقار DOX المسبب للجذور الحرة في المجموعة الرابعة من خلال عمله كمضاد للأكسدة antioxidant من خلال اختزال المالون ثنائي الالدهايد (MDA)**Malondialdehyde** كما أظهرت النتائج انخفاضا معنويا ($P\leq0.01$) في تركيز الكلوتاثيون GSH في مصل دم مجموعة الحيوانات المعرضة للإجهاد الناتج عن جرع من عقار الـ Dox 10و15 ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة بالسيطرة وعند معاملة المجموعة الرابعة بالشاي الاخضر لوحظ زيادة تركيز الكلوتاثيون **Glutathione** عند مستوى معنوية ($P \leq 0.01$) كما أظهرت النتائج تأثيرا واضحا للشاي الاخضر في اختزال التأثير الجانبي للعقار في فعالية انزيم(ALP)serum alkaline phosphatase حيث سجلت النتائج انخفاضا معنويا ($P\leq0.01$) بالنسبة للمجموعة الرابعة ، أما بالنسبة لفعاليه أنزيم (AST) **Aspartate Aminotransferase** و فعالية إنزيم (ALT) **Alanin Aminotransferase** كذلك أظهرت النتائج في المجاميع المعاملة بالدوكسوروبسين ارتفاعا معنويا عند مستوى معنوية ($P\leq0.01$) في تركيز الانزيم وعند المعاملة بالشاي الاخضر أظهرت النتائج تأثيرا واضحا في اختزال التأثير الجانبي للعقار عند مستوى معنوية ($P\leq0.01$) بالنسبة للمجموعة الرابعة كما بينت المقاطع النسجية تحسناً واضحا للكبد عند المعاملة بشراب الشاي الاخضر ، مما يثبت إن الشاي الاخضر له دورا وقائيا ضد التأثيرات الجانبية المتسببة من عقار الـ DOX وبنفس الوقت يعد مادة مضادة للأكسدة .

الكلمات المفتاحية : الشاي الاخضر ، الدوكسوروبسين ، الجذور الحرة ، مضادات الاكسدة

للمراسلة : موفق مطلك العزاوي كلية العلوم ، جامعة تكريت ، العراق

The protective role of green tea beverage in decrease the side effects of Doxorubicin drug in some biochemical and liver tissue in Male domestic rabbits

Mowafaq M.Z . Al-Iesawi* **Zaid M.M. AL- mahdawe*** **Saleh M.R.****
*Science College/ Tikrit University - ** Education College/ Tikrit University

ABSTRACT

The study included the test of protective role of green tea in reduce the side effects which happened by using Doxorubicin anticancer drug on some Biochemical and histological changes in rabbits male adults . The rabbits distributed to four groups , 1 st group fed with normal diet only , 2 nd group fed with diet and injected (10 mg / kg) of Dox . (one dose weekly) , 3 rd group fed

Key words : Green tea , Doxorubicin ,Free radicals ,Antioxidants

Corresponding: M.M.Z. Al-Iesawi

Sci. College- Tikrit Uni.- Iraq.
E-mail:
Moofman7@yahoo.com

diet and (15 mg / kg) of Dox (one dose weekly) and 4 th group fed diet and treated with (15 mg / kg) weekly and fed with 20 ml / kg of green tea beverage daily , this experience continued for one month .

The results revealed that treated with Dox caused high significant increase ($p \leq 0.01$) in malondialdehyde (MDA) in animal sera the feeding green tea beverage caused high significant ($p \leq 0.01$) in (MDA) by reduse the side effect of Dox Who caused free radicals in 4th group as antioxidant decrease the concentration of MDA . Also the results showled significant decreases ($p \leq 0.01$) in Glutathione (GSH) in serum of animal exposure a oxidation stress caused by Dox (10 and 15 mg / kg of B.W) campared with control . the treatment of 4 th group animal with the green tea beverage showled high significant increase ($p \leq 0.01$) of glutathione concentration . Also the results revealed strong effect of the green tea beverage in redusing the activity of Alkaline phosphates (ALP) .

The results shouled high significant ($p \leq 0.01$) increase in activity of Aspartate amino transferase (AST) and Alanin amino transferase (ALT) when the group treated with Dox . while the treated of the green tea beverage with the (4 th groups) the results shouled high significant ($p \leq 0.01$) in reduse the effect of Dox .

The histological sections revealed clearly improvement in liver tissue (which treated with the green tea beverage) . This indicate that the green tea have aprotective role to decrease the side effects caused by use Dox . and in the same time this consedere as Antioxidant Material .

المقدمة

يستخدم عقار Doxorubicin بشكل واسع في المعالجة الكيميائية للسرطان وهو ينتمي الى فئة المضادات الحيوية الانثراسيكلين ضدية الاورام anthracyclin antibiotics ضمن العلاج الكيمياوي (2010,Sayed-Ahmed). يستخدم هذا العقار في معالجة انواع مختلفة من السرطان منها الاورام اللمفاوية ورم النخاع التعدد Multiple myeloma وسرطان الرئة ، الثدي ،المبايض ، بطانة الرحم ، الكبد ، المرئ وقشرة الكظر(Booster و Hortobagyi،1992) (Vandalen وآخرون ،2001) يعمل الـ Dox بإعاقة نمو الخلية السرطانية من خلال الاندماج في الحامض النووي مؤديا الى تثبيط تحولات حامض RNA الذي يتحكم في تصنيع البروتينات النووية ،مما يؤدي الى موت الخلايا السرطانية ، كذلك يثبط بناء RNA,DNA من خلال الدخول بين القواعد المزدوجة للشريطين ويمنع عملية التضاعف للحوامض النووية (Armstrog و Morton ،2004) التاثير الجانبي للعقار يعمل على تغير نفوذية الأغشية للسوائل والايونات او من جراء الضرر التأكسدي الذي يسببه (Anke و Leszek ،2006) من خلال تكوين الجذور الحرة المهاجمة Free radical attack المتكونة من أيض العقار (الذي يحتوي على aquinine) وايض هذه المادة يؤدي الى تمرير الكترون واحد مختزل ليكون بدوره جذور حره مثل السوبر اوكسيد والهيدروكسيد أو بيروكسيد الهيدروجين التي تسبب تلفاً للحامض النووي وسمية للخلايا(Derek وآخرون،2001) كذلك تعمل الجذور الحرة الناتجة عن العقار سمية للقلب وزيادة كمية الكالسيوم واحداث خللا وظيفيا للمانيوكوندريا واختلال تنظيم الحديد Dysregulation of iron haemostasis (Baguely ،2001) وبالرغم من الاستخدام الواسع لهذا العقار في المعالجة الكيميائية فأنه يؤدي الى نوعين من الاداء وهو علاج ضد الاورام السرطانية ومن جانب اخر له تأثير سمي لأعضاء الجسم وأغلب الدلائل تشير الى ان سمية الخلايا ناتج عن الجذور الحرة الناتجة من السلسلة التنفسية في المايتوكوندريا ويعد الشاي الأخضر من النباتات الطبية المهمة من خلال تأثيراته الحيوية ضد الكثير من الأمراض ، حيث تم اكتشاف استعمال الشاي الأخضر والذي بدأ في الإمبراطورية الصينية منذ أكثر من 74 قرنا مضت وقد كانت بالصدفة ، جرى بعد ذلك تطوير وتحسين استعماله في الجانب الصحي لصالح الإنسان ، وقد ركز الكثير من الناس على الشاي الأخضر لغرض العناية الصحية وتخفيف الألم وتحسين الهضم وتخفيف الإجهاد وتقوية مناعتهم الجسمية وربما في إطالة أعمارهم (Cho وآخرون،2007) الاسم العلمي للشاي الأخضر (*Camellia Sinensis*) (Khalaf وآخرون ،2008 ; Sharma و Mohanrao , 2009) ، تحتوي أوراق الشاي الأخضر على مركبات كيميائية فعّالة إضافة إلى وجود الزيوت العطرية والتي تقدر بحوالي 500 نوع والتي تساهم بالنكهة والطعم وتختلف تبعا للمنطقة التي يزرع فيها، (PDR،1998) إضافة إلى وجود البروتينات والكاربوهيدرات (Harold و Graham ،1992) وقواعد الزانثين Xanthine bases ، والمعادن، والعناصر النزرة ، الـ Tannins ، والأحماض الأمينية (الثيانين) والذي يعد من الأحماض الأمينية الرئيسية الموجودة في الشاي الأخضر (Zhang وآخرون ،2006) ، يمتلك الشاي الأخضر مركبات ذات فعالية عالية مضادة للأكسدة وذلك من خلال احتواءه على الفينولات المتعددة Polyphenolic وخاصة الفلافونويدات Flavonoids

وتدعى الكاتشينات catechins والتي تعد من مضادات الأكسدة القوية Powerful antioxidants وتشكل حوالي 30 – 40% من الوزن الجاف للشاي الأخضر (Chan ،2006 ; Balentine وآخرون ، 1997) في حين تشكل 3-10% من الوزن الجاف للشاي الأسود (Tyler،1988) لذا أصبحت المكونات الفعالة في الشاي الأخضر مركز الاهتمام العلمي لها في العقود القليلة الماضية وهذا يرجع إلى الانخفاض الملحوظ في الأمراض مثل السرطان وأمراض القلب والأوعية الدموية لدى الشعوب المستهلكة للشاي الأخضر (Imai و Nakachi ،1995) وذلك من خلال احتواء الشاي الاخضر على المكونات المضادة للأكسدة مثل الكاتشينات التي لها القدرة على قنص أصناف الأوكسجين الفعالة (Yang ،2001 ; Yang وآخرون ،1999) أصبح الشاي الأخضر معروف بأنه مضاد للتأكسد ومضاد للطفرات Antimutagenic حيث يثبط العوامل المطفرة Mutagens والسرطان وله منافع في معالجة الأمراض القلبية الوعائية ، السكري ، المشاكل الجلدية والسمنة وصحة الفم (Ryu وآخرون ، 2006; Ahmad و Muktar ،2001) كذلك يعد مضاد للسمنة والشيخوخة المبكرة early aging ، ويقي الجسم من تأثير الأشعة فوق البنفسجية (Chan ،2006 ; Jung و Ellis ،2001) ، الدكسوروبسين (Dox)عقار مضاد للسرطان يستخدم بنطاق واسع في المعالجة الكيميائية لانواع عديدة من السرطانات لكن سميته تحد من استخدامه الطبي فيسبب اضطراب في الايض الاساسي من خلال اظهار تأثيره السمي خصوصاً للكبد وانسجة القلب في الحيوانات ومن المعروف ان الـ Dox يعد من اكثر الانثراسايكلينات السمية فيسبب فقدان في الوزن فلهذا السبب فأن الاجهاد التأكسدي عد هو من الاحداث الكبيرة المسؤول عنها سمية هذه الادوية .بالرغم من ان ايض الدكسوروبسين يحدث في الكبد فان السمية تكون نادرة بسبب السعة العالية لمضادات الاكسدة المتمثلة بانتاجه للكلوتاثيون الذي يحمي الكبد من اذى الجذور الحرة (Meredith و Reed ،1983)، لكن الجرع التراكمية من عقار الدكسوروبسين تؤدي الى انتاج الجذور الحرة من خلال احتواءه على جزيئة quinine وهذه بدورها تدخل دورة اكسدة واختزال لتختزل الى جذر semiquinone free radical وهذا الايض يحدث بجود جزيئة الاوكسجين والتفاعل يؤدي الى اعادة تكوين quinone وانتاج السوبر اوكسايد O°_{2} الذي بدوره يدخل بسلسلة من التفاعلات التي تؤدي بالنهاية الى اذى للخلايا ، لذلك فان وجود الدكسوروبسين يعد مادة سامة حول الوريد البابي الكبدي اضافة لسمية الاوكسجين المأخوذ والذي يدخل في ايض العقار ، لذلك يعد قياس تركيز فعالية كل من ALT و AST و ALP في المصل يعد مؤشرا لتلف الخلايا الكبدية وانخفاض وظائف الكبد ، لان مكان هذه الانزيمات هو خلايا الوريد البوابي الكبدي(Henderson وآخرون ،1983) ، وهدف الدراسة الحالية هو تقدير ومعرفة دور الشاي الاخضر في مواجهه وتقليل عدد من التأثيرات الجانبية لعقار الدكسوروبسين كمضاد للاكسدة .

المواد وطرائق العمل :

حيوانات التجربة : Experimental Animals

اجريت الدراسة الحالية على (20) ذكر بالغ من الأرانب التي تم شراءها من الأسواق المحلية ، ناضجة جنسياً تراوحت اوزانها من (1300–1500غم) وأعمارها من (7 –9) أشهر. وضعت هذه الحيوانات في أقفاص أعدت لغرض الدراسة وقد روعي جانب العناية بنظافة الاقفاص وتعقيمها بين حين واخر مع تبديل نشارة الخشب كل اسبوع . وغذيت الارانب بالعليقة (35% حنطة 34% ذرة صفراء ،20% فول الصويا ، 10% بروتين حيواني ، 1% حليب مجفف يضاف اليها 50 غراما مواد حافظة وفيتامينات وتحت ظروف مسيطر عليها من تهوية ودرجة حرارة (2±25) ودورة ضوئية طبيعية National Research Council (1994). ، واعطيت الحيوانات الماء والعليقة بشكل مستمر طيلة فترة التجربة لمدة شهر.

تصميم التجربة : Experimental design

قسمت الحيوانات عشوائيا الى اربعة مجاميع كل مجموعة خمسة حيوانات وباوزان متقاربة كما هو مبين في ادناه :

المجموعة الاولى : مجموعة السيطرة اعطيت هذه المجموعة العليقة وماء الشرب الاعتيادي طيلة فترة التجربة وعدة سيطرة سليمة

المجموعة الثانية تم حقنها عقار الدكسوروبسين تحت الغشاء البريتوني 10 غرام /كغم (2 ملغم /كغم اسبوعيا لمده خمسة اسابيع).

المجموعة الثالثة : تم حقنها عقار الدكسوروبسين تحت الغشاء البريتوني 15 غرام /كغم (3 ملغم /كغم اسبوعيا لمده خمسة اسابيع).

المجموعة الرابعة : تم اعطائهاشراب الشاي الاخضر فمويا 20 مل/كغم يوميا الى نهاية التجربة مع جرعة العقار المضاد للسرطان الدوكسوروبسين 15 غرام /كغم (3 ملغم /كغم اسبوعيا لمده خمسة اسابيع) .

جمع عينات الدم

1- صومت الحيوانات لمدة 24 ساعة قبل سحب الدم بطريقة طعنة القلب Heart Puncture بأستخدام محاقن نبيذة معقمة سعة (5 مل)
2- حفظت العينات الباقية من الدم في انابيب معقمة بسعة (10مل) . ثم نبذت الانابيب مركزياً بسرعة (3000دورة / دقيقة) مدة (15دقيقة) لفصل المصل Serum وحفظ في المجمدة بدرجة (- 20م°) لحين اجراء الاختبارات المطلوبة .

التحليلات الكيموحيوية للدم:-

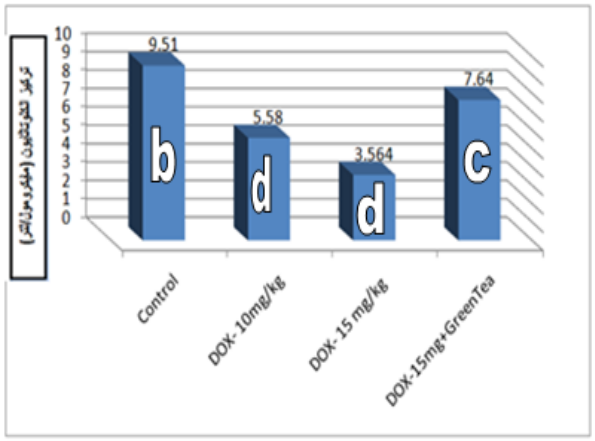
باستعمال عدة فحص جاهزة Kit

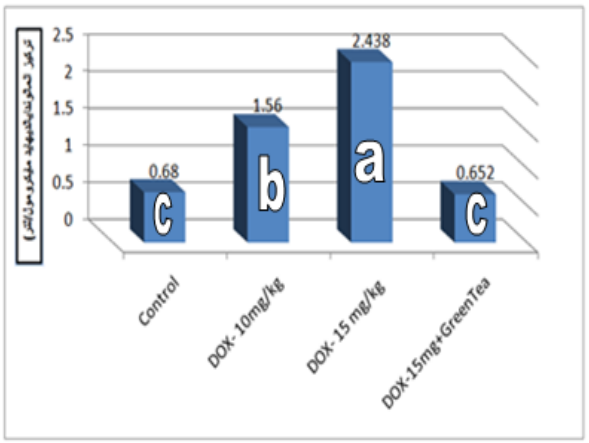
تم تقدير فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline Phosphatase (ALP) في مصل الدم ، أعتماداً على الطريقة اللونية الموضحة في عدة التحليل الجاهزة kit من شركة BioMerieux الفرنسية الصنع (Belfield و Goldberg ، 1971) . كذلك تم تقدير فعالية انزيم ناقل امين الالنين Alanin Aminotransferase ALT حيث تم استخدام الطريقة الإنزيمية باستخدام عدة التحليل الجاهزة (Kit) من شركة Biolabo الفرنسية ، حيث يعمل إنزيم ALT على المادة الأساس حامض الألنين وحامض ألفا كيتوكلوتاريك وتحويل الحامض الاميني الألنين إلى البايروفيت مباشرة والذي يتحول بسهولة إلى مركب مشتق من الهايدرازين ذو لون قهوائي محمر Reddish-Brown وذلك بإضافة الكاشف (2،4 ثنائي نترو فنيل هيدرازين) والذي تقاس شدة لونه عند طول موجي 505 نانوميتر(Tietz،1999) وقدر فعالية انزيم ناقل امين الاسبارتيت (AST) Aspartate Aminotransferase تضمنت الطريقة استخدام عدة التحليل الجاهزة (Kit) من شركة Biolabo الفرنسية و تعتمد الطريقة على قدرة الإنزيم بالعمل على المادة الأساس حامض الاسبارتيك وحامض ألفا كيتوكلوتريت وتحويل الحامض الاميني الاسبارتيك إلى حامض ألفا كيتوني (البايروفيك) الذي يمكن تحويله إلى مركب مشتق ذي لون قهوائي محمر Reddish Brown بإضافة الكاشف (2،4 ثنائي نترو فنيل هيدرازين) ثم قيست شدة اللون التي تتناسب طردياً مع فعالية الإنزيم AST في مصل الدم كما ورد في (Tietz، 1999). وتم تقدير تركيز المالونداياالديهايدMalondialdehyde (MDA) في مصل الدم عن طريقة تفاعل حامض الثايوباربيتيورك (TBA) (Thiobarbituric acid) المحورة المتبعة من قبل الباحثين (Guidet و Shah ، 1989) لتقدير تركيز المالونداياالديهايد(MDA) الذي يمثل احد النواتج النهائية لعملية بيروكسيدة الدهن ، إذ يعتمد القياس على التفاعل بين بيروكسيدات الدهن وخاصة المالونداياالديهايد مع TBA في وسط يعتمد على الدالة الحامضية الـ pH . وقدر تركيز **الكلوتاثايونGlutathione** في مصل الدم باستخدام طريقة كاشف Ellman (Al-Zamely وآخرون ،2001) حضرت المقاطع النسجية اعتماداً على الطريقة الاعتيادية المذكورة في(الحاج ،1998) لغرض اجراء الدراسة النسجية .

التحليل الاحصائي

تم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام برنامج (SAS، 2001) ووفق تحليل التباين باتجاه واحدOne- way analysis of variance واختبرت المتوسطات الحسابية للمعاملات باستخدام اختبار دانكن متعدد الحدود Duncun multiple range (Duncan,1955) .

النتائج :

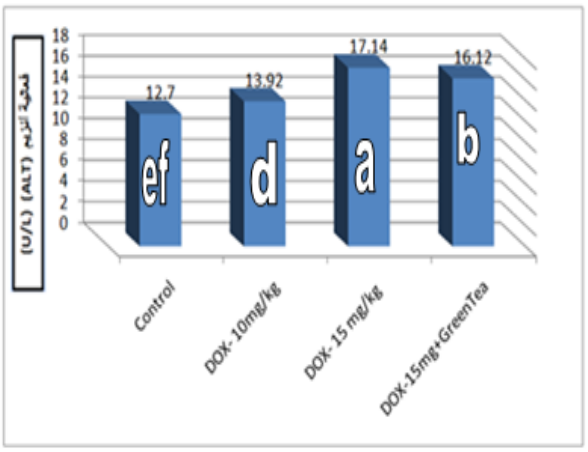




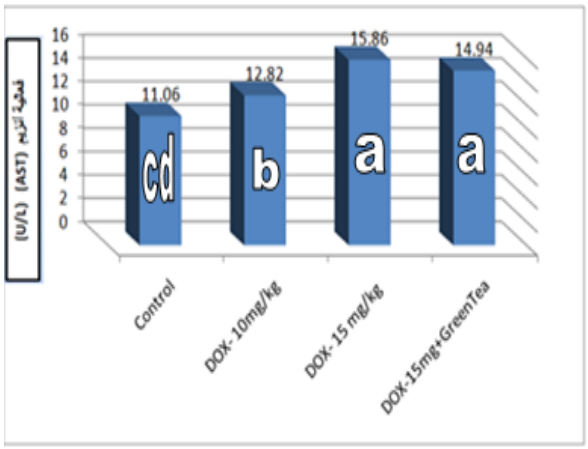
-الحروف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.01$).

(شكل 1) تأثير المعاملة بشراب الشاي الاخضر 20 مل /كغم في تركيز المالون ثنائي الالدهايد في مصل دم ذكور الارانب المعرضة لعقار الدوكسوروبسين 15 ملغم/كغم

(شكل 2) تأثير المعاملة بشراب الشاي الاخضر 20 مل /كغم في تركيز المالون ثنائي الالدهايد في مصل دم ذكور الارانب المعرضة لعقار الدوكسوروبسين 15 ملغم/كغم

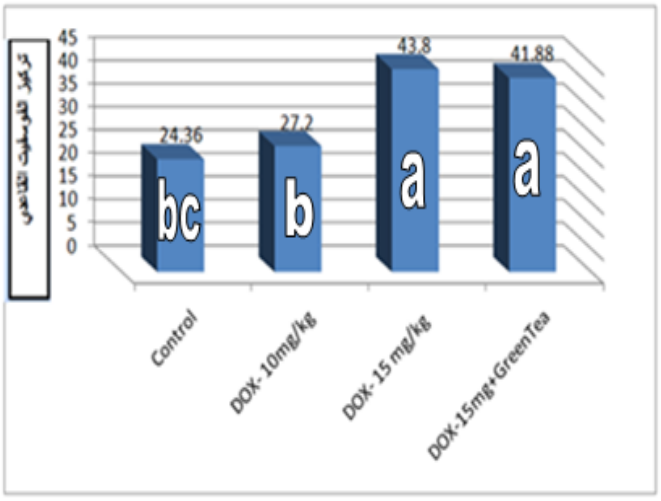


(شكل 3) تأثير المعاملة بشراب الشاي الاخضر 20 مل /كغم في فعالية أنزيم ناقل أمين الألنين في مصل دم ذكور الارانب المعرضة لعقار الدوكسوروبسين 15 ملغم/كغم



(شكل 4) تأثير المعاملة بشراب الشاي الاخضر 20 مل /كغم فعالية أنزيم ناقل أمين الأسبارتيت في مصل دم ذكور الارانب المعرضة لعقار الدوكسوروبسين 15 ملغم/كغم

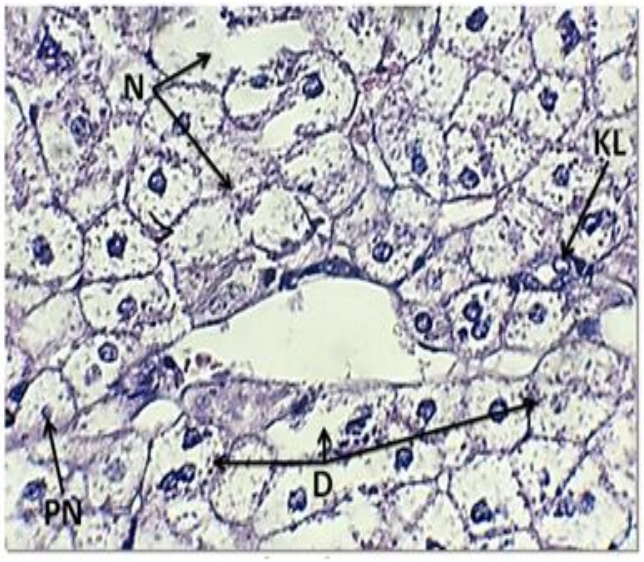
–الحروف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.01$).



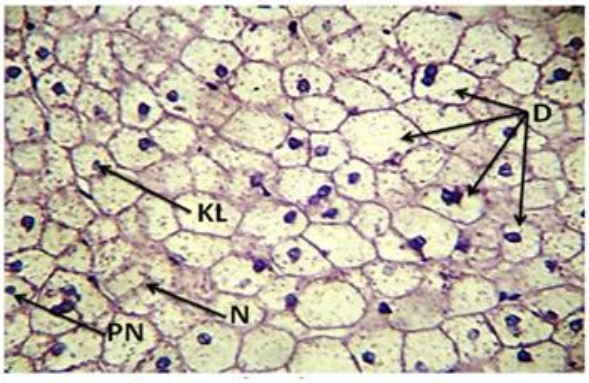
–الحروف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.01$).

(شكل 5) تأثير المعاملة بشراب الشاي الاخضر 20 مل /كغم في فعالية انزيم الفوسفتيز القاعدي في مصل دم ذكور الارانب المعرضة لعقار الدوكسوروبسين 15 ملغم/كغم

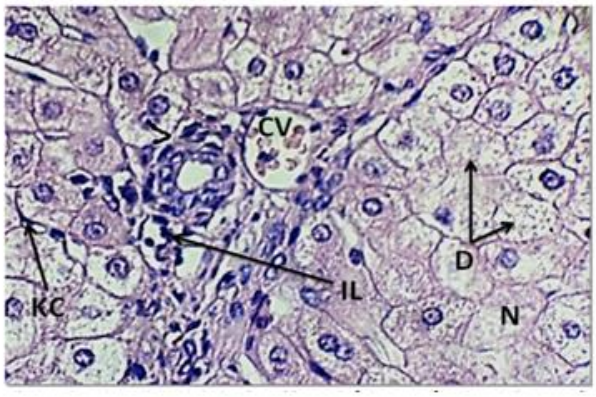
صورة (1) مقطع مستعرض لكبد مجموعة السيطرة يوضح الشكل الطبيعي للورید المركزي (CV) والخلايا الكبدية (HC) والجيبانيات (S) وخلايا كفر (KC) H&E 400X.



صورة (3) مقطع مستعرض لكبد مجموعة DOX 15mg يوضح تنكس(D) وتنخر (N) الخلايا الكبدية وتحلل الانوية (KL) وتكثف قسم منها (PN) H&E 400X.



صورة (2) مقطع مستعرض لكبد مجموعة DOX 10mg يوضح تنكس(D) وتنخر (N) الخلايا الكبدية وتحلل الانوية (KL) وتكثف قسم منها (PN) H&E 400X.



صورة (4) مقطع مستعرض لكبد مجموعة DOX ومعالجة بالشاي الاخضر يوضح الشكل الطبيعي للورید المركزي (CV) وانتظام الخلايا الكبدية مع وجود تنكس (D) وتنخر (N) بعض الخلايا الكبدية وارتشاح الخلايا اللمفية (IL) ويوضح الشكل الطبيعي لخلايا كفر (KC) H&E 400X.

CV :Centralvein **HC** :Hepatocytes **S**:Sinusoids **KC**: Kupffer cells **D**:Degeneration
N: Necrosis **KL**: Karyolysis **PN**: Pyknotic nuclei **IL**:Infiltration Lymphocytes

المناقشة :

تاثير الدكسوروبسين على بيروكسدة الدهن MDA وتركيز الكلوتاثايون :

بينت نتائج الدراسة الحالية حدوث ارتفاع معنوي في تركيز المالونداياالديهايد MDA في مجموعة الحيوانات العرضة لجرع من عقار الدكسوروبيسين (الشكل 1) مقارنة بمجموعة السيطرة. وهذه تفسر من خلال تكون الجذور الحرة الناتجة عن سمية الدوكسروبسين (Minotti ،1999) مثل جذور الهيدروكسيل ($OH^{\bullet}$) hydroxyl radicle وارتفاع تركيز MDA يعكس مدى تحلل الاحماض الدهنية

غير المشبعة في الاغشية الخلوية خلال تفاعلات الجذور الحرة لتوليد هيدروبيروكسيدات الدهون التي تتحلل الى مركبات اصغر مثل الالكانات والالكينات والالديهايدات مثل المالوندايلدهايد والذي يعد ناتجا ثانويا لعملية بيروكسدة الدهن والذي يعكس حالات زيادة توليد الجذور الحرة (Losada و Alio ، 1997) وهذه الجذور ناتجة عن الانزيمات Xanthine oxidase , NADPH وبالتالي تؤدي هذه الجذور الى عملية تكوين بيروكسيدات الدهون وانتاج MDA (Reddy وآخرون ، 2007) ان تكوين جذور الاوكسجين الفائق سويتاً مع جذر اوكسيد النتريك NO° ربما تكون Peroxynitrite المحفز بوساطة الـ Dox والذي يؤدي الى تلف الانسجة ويقود الى زيادة في مستويات MDA وهذا يتوافق مع Injac وآخرون ،2009) ولم تتفق مع Kalender وآخرون ،2005) وبينت النتائج حدوث انخفاض معنوي في تركيز الكلوتاثايون في مجموعة العقار مقارنة بمجموعة السيطرة (شكل 2) وهذه النتيجة تتفق مع نتيجة El-Awady وآخرون،2010) وقد يعزى سبب الانخفاض في تركيز الكلوتاثايون الناتج بسبب ان العقار يؤدي إلى زيادة الإجهاد التأكسدي وانخفاض في نسبة GSH–GSSG وكذلك انخفاض فعالية إنزيمي الكاتاليز و سوبراوكساید دسميوتيز وكذلك تأثير هذا العقار على الكبد حيث يسبب ضرر على الخلايا الكبدية مسبباًHepatic damage مما يؤدي إلى زيادة الجذور الحرة وأصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) وانخفاض في تركيز الكلوتاثايون في مصل الدم (Casallo وآخرون ، 2007) ، السوبراوكسيد دسميوتيز هو واحد من اقوى مضادات الاكسدة الانزيمية ذو اليات مضادة للاكسدة كبيرة ضد جذر السوبر اوكسيد والذي يمنع حدوث وتسمم الكبد المستحدث بوساطة الـ Dox (Yagmurca وآخرون ،2007)، وان الكتاليز والكلوتاثيون بيروكسيديز ينظمان الكبح لايون الاوكسجين الفائق O_2 ويحوله الى بيروكسيد الهايدروجين ومن ثم الى ماء ويجهز دفاع ضد اصناف الاوكسجين الفعالة (Sayed-Ahmed وآخرون 2010) وان الاختزال في فعالية تلك الانزيمات ربما يتسبب بوساطة زيادة انتاج الجذور الحرة خلال ايض الـ Dox (Danz وآخرون ،2009). وان التلف على المستوى الخلوي بوساطة المؤكسدات يخفض بوساطة الانزيمات المضادة للاكسدة GR,SOD,GSHP,GSP,CAT (Koc وآخرون 2005)، ويعزى السبب إلى احتواء الشاي الأخضر على العديد من المكونات الفعالة والمهمة مثل الفيتامينات (E, A) والمعادن كذلك وجود الفينولات المتعددة وخصوصا (EGCG) Epigallocatechin-3–gallate والحامض الأميني L-theanine (Sugiyama و Sadzuka ،2003) .

كما اظهرت مجموعة شراب الشاي الأخضر مع الـ Dox انخفاضآ معنويا في تركيز MDA في مصل دم الحيوانات حيث سجلت النتائج (0.134 ± 0.652 مايكرومول/لتر) مقارنة مع المجموعة المعاملة بـ Dox فقط (0.479 ± 2.43 مايكرومول/لتر) (شكل1) كما بينت النتائج ارتفاعا معنويا في تركيز GSH في مصل دم الحيوانات (شكل 2) حيث سجلت النتائج (1.328±7.640 مايكرومول/لتر) ، مقارنة مع المجموعة المعاملة بـ Dox فقط (0.733 ± 3.564 مايكرومول/لتر) ، ويعود السبب إلى دور المركبات الفعالة الموجودة بالشاي الأخضر وخاصة الفينولات المتعددة التي تعد من مضادات الاكسدة القوية في ازالة الجذور الحرة السامة الناتجة عن اعطاء العقار في اعلاه وبالتالي التخفيف عن مضادات الاكسدة داخلية المنشأ وخصوصا الكلوتاثيون وبذلك يرتفع تركيزه بالدم (Khalaf و shakya ،2008) احدى الدراسات عزت السبب إلى دور L – theanine والذي يعد من الأحماض الأمينية الموجودة بالشاي والذي يعمل على تعديل الفعالية الحيوية لعقار الـ Dox (sadzuka وآخرون ،1996 ; sugiyama , Sadzuka ،2003) حيث يعمل الـ L–theanine على تدفق الـ Dox الانتقائي للخلايا السرطانية فقط (sadzuka وآخرون 2001) كذلك دوره الحيوي في تصنيع GSH من خلال تشجيع الكلوتاميت في تصنيع الكلوتاثيون داخل الخلايا وكما هو معلوم فأن GSH يتكون من ثلاثة أحماض أمينية هي الكلوتاميت والسيستين والكلايسين (Valencia وآخرون ، 2002) لذلك فإن الخلايا الطبيعية تأخذ L - theanine الموجود بالشاي الأخضر ويحول أنزيميا إلى الكلوتامين الحامض الأميني الضروري لبناء GSH والذي يؤدي إلى زيادة GSH داخل الخلايا الطبيعية (sadzuka وآخرون ، 1996) لذلك يهيئ الشاي الأخضر كميات كبيرة من GSH ضد الجذور الحرة الناتجة عن سمية عقار Dox وبالتالي حماية الخلايا (Cao وآخرون ،1999) .

وظائف الكبد :

تشير النتائج بان الجرع التراكمية لعقار الدكسوروبسين تؤدي الى زيادة معنوية بمستوى الانزيمات الثلاثة اعلاه وكما بالاشكال (3-5) 4-على التوالي .الزيادة في فعالية هذه الانزيمات في المصل ناتج عن الجرعات التراكمية لعقار الدكسوروبسين والذي يؤدي الى بيروكسدة دهون الاغشية البلازمية وبالتالي ارتشاح الانزيمات وزيادة فعاليتها في المصل , ALT اكثر خصوصية للكبد بينما AST يتموضع اضافة للكبد في القلب ،الدماغ، العضلات الهيكلية ويكون عمل هذا الانزيم اقل تخصصا في حالة اذى الكبد (Rej ،1997) ، كذلك بينت النتائج زيادة مستويات ALP في المصل جراء جرعات الدكسوروبسين وتعزى هذه الزيادة الى تلف خلايا الكبد كذلك انخفاض في وظيفة الكبد (Andreadou ،2007) ويعزى السبب إلى زيادة إنتاج الجذور الحرة الناتجة عن أيض العقار والذي يحدث بالكبد والتي تفوق قدرة مضادات

الأكسدة التي ينتجها الكبد وخاصة الكلوتاثيون مؤديا بالتالي سمية للخلايا الكبدية (Paul وآخرون ،2001) ويعود السبب الى السمية الكبدية التي تبدأ من منطقة الوريد البابي الكبدي كون هذه الانزيمات تتموضع في خلايا هذه المنطقة ، وعند تجهيز الكبد بالدم عن طريق الوريد الكبدي يكون الجهد العالي للأوكسجين متوفر في هذه المنطقة والذي يعد عاملا مهما يدخل في دورة الأكسدة والاختزال لعقار الدوكسوروبسين وبالتالي ينتج عنه أصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) (Ronald وآخرون ،1989) ، لذلك فان زيادة تركيز أنزيمي ALT و AST في المصل يعود الى سمية الأدوية ونواتجها الأيضية على نسيج الكبد مما يؤدي إلى تسمم الكبد hepatotoxicitty وتحطم معظم اغشية الخلايا الكبدية جراء تأثير الجذور الحرة وزيادة MDA مما يؤدي إلى تسرب الأنزيمات إلى المصل (Dong وآخرون ، 2003) لذا يعد تقدير فعالية ALT و AST في المصل من أهم الفحوصات الكيموحيوية لمعرفة تنخر الخلايا الكبدية (Friedman وآخرون ، 1996). كذلك أظهرت النتائج ارتفاعا معنويا في تركيز ALP في مصل دم الحيوانات المعرضة لجرع عقار الدكسوروبسين – 15 10 ملغم كجرعة تراكمية كما يلاحظ بالشكل (15.4) حيث كانت النتائج (3.749 ± 27.200 U/L) و(1.353± 43.800 U/L) على التوالي مقارنة مع السيطرة السليمة (2.403± 24.360 U/L) وقد يعزى السبب في هذا الارتفاع إلى دور الجذور الحرة الناتجة عن أيض العقار على معدلات الأيض الطبيعية في الجسم والذي ينتج عنه فرط نشاط الغدة الدرقية مما يؤدي إلى رفع فعالية الأنزيم في الدم لما لهذا الأنزيم من دور بنائي في عمليات الأيض وبناء البروتينات (Murray وآخرون ، 2003) او من خلال السمية الكبدية المحدثة باستعمال عقار الدوكسوروبسين (Cosan وآخرون ، 2008) كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسات سابقة قام بها (Sandler و آخرون ، 2006) لاحظوا ارتفاع تركيز أنزيم ALP لدى المرضى المصابين بالسرطان وخاصة الخاضعين للعلاج الكيميائي للدوكسوروبسين و السايكلوفوسفومايد . كما اتفقت مع (saad ، وآخرون ، 2001) و(Oz و Ilhan ،2006) الذين لاحظوا زيادة تركيز ALP , في الدم ولم تتفق مع نتائج (Cosanet وآخرون ، 2008) من خلال معاملة الفئران بالدوكسوروبسين مقارنة مع السيطرة السليمة، كذلك لوحظ الانخفاض في فعالية انزيم ALP عند المعاملة بشراب الشاي الاخضر حيث سجلت النتائج (2.354± 41.88 U/L) مقارنة مع السيطرة المعاملة بالعقار المضاد للسرطان Dox 15 mg (1.353± 43.800 U/L) ALT عند معاملة مجموعة الـ Dox 15 ملغم مع الشاي حيث سجلت النتائج (0.925 ± 16.120 U/L) مقارنة بالسيطرة المعاملة بالعقار عند الجرعة 15 ملغم (0.984 ± 17.140 U/L) كذلك لوحظ الانخفاض الواضح في فعالية انزيم AST حيث سجلت النتائج (1.333 ± 14.940) مقارنة مع السيطرة المعاملة بالدوكسوروبيسين (1.847 ± 15.860) ويعزى السبب في الانخفاض إلى الدور الواقي للشاي الأخضر الحاوي الفينولات المتعددة ودور الفيتامينات والمعادن الموجودة بالشاي الأخضر مثل فيتامين E ضد الجذور الحرة التي تتراكم على أسطح أغشية الخلايا وحماية الخلايا من التلف وبالتالي عدم خروج الأنزيمات من داخل الخلايا إلى الدورة الدموية (Nhosseins وآخرون ، 2007)

الفحوصات النسجية :

لوحظ من الفحص المجهري للمقاطع النسيجية لمجموعة الحيوانات المعاملة بالعقار المضاد للسرطان DOX بالجرعة 10 و 15 ملغم / كغم وجود حالات تنكس وتنخر الخلايا الكبدية بشكل كبير جدا وكذلك وجود حالات تحلل السايتوبلازم كما أن بعض الأنوية قد تكثفت Pyknotic Nuclei وأصبحت بشكل قرص داكن صغير جدا فضلا عن وجود تحطم اغلب الأوعية الدموية في الكثير من المناطق (صورة 2) إضافة إلى أعلاه لوحظ انخفاض كبير في أعداد خلايا كفر Kupffer cells (صورة 3) مقارنة بالسيطرة السليمة (صورة 1) . بالرغم من استعمال عقار الدوكسوروبسين بشكل واسع ضد الأورام السرطانية لكن تأثيراتـه الجانبية الشديدة على القلـب والكلية والكبد قد حـددت من استعماله (Citil وآخرون ،2008) العوامل السمية للعقار تسبب تلف الكبد جراء الإجهاد التأكسدي الذي ينتج عنه أعداد كبيرة من أصناف الأوكسجين الفعالة التي تؤثر في أنسجة وخلايا الجسم وأهمها الكبد وتسبب تغيرات مرضية وحدوث الالتهابات (Aziz وآخرون ، 2003) ، كذلك ترتبط تأثيراته الجانبية بالـ DNA وعرقلة إصلاحه ، لذلك يعمل العقار على تسريع الموت المبرمج الـذي يؤدي إلـى خلل وظيفـي لمختلف الخلايا وبالتالي سرعة تلفها (Kalender وآخرون ، 2005) وقد أشار (Citil وآخرون ، 2008) إن الجرع التراكمية لعقار الدوكسوروبسين أدت إلى سمية شديدة للخلايا القلبية ، كما أشار(Murray وآخرون ، 2003) إلى زيادة نشاط الكبد الأيضي عند تعرضه للمواد السامة أثناء عملية إزالة السموم Detoxification لغرض موازنة الإجهاد الناتج عن فعل السموم وهذه الزيادة من أجل تحرير مصادر الطاقة مثل الكلوكوز تكون مصحوبة بموت الخلايا وتحللها والتنخر قد يحصل بعد تنكس شديد أو يحصل بصورة مباشرة فالأجزاء الصغيرة يتخلص منها بوساطة الخلايا البلعمية والباقي يصبح سائلا يدخل اللمف والأوردة . كذلك أشار Anderson، 1986) و (Hinton و Girgis ،1993) إلى أن السموم تغير من نفاذية الغشاء الخلوي بسبب تأثيرها على تركيب الأغشية وسيولتها والتي يترتب عليها

زيادة نفوذية المواد أو قلتها ومن ثم تدخل المواد المؤثرة على الحوامض النووية أو تمنع دخول مصادر الطاقة أو خروج النواتج الأيضية التي تكون مصحوبة بجذور حرة بتفاعلها تكون مركبات معقدة تؤثر على الخلايا وتقترن مع جزيئاتها مسببة التنخر وموت الخلية ، كذلك يعمل الدوكسوروبسين على خلل في فعالية أنزيمات الكبد وفعالية CYP 450 الذي عن طريقه يتأكسد العقار إلى متأيضاته الأخرى والتي تكون سامة للخلايا وتزال السمية عن طريق الكلوتاثيون الذي يعد من الوسائل الدفاعية الوقائية التي توجد داخل الخلية وعندما تفوق السمية قدرة مضادات الاكسدة فإنه يرتبط مع الخلايا الكبدية وتسبب تنخرها ، وبما أن عقار الدوكسوروبسين يقلل من مضادات الأكسدة ويقلب حالة التوازن ما بين الأكسدة ومضادات الأكسدة (Karapehlivan وآخرون ،2007) كذلك يعود التنخر إلى توسع الأوردة المركزية الكبدية (الأوعية الدموية) وتغير نفوذيتها جراء التأثير السمي وحدوث التهابات كبدية وهذا التغير يؤثر على وصول الأوكسجين والغذاء إلى خلايا الكبد مما يؤدي إلى حدوث تغير وظائف الخلية اوموتها (Krishan،2004) . يرافق ضرر الخلايا الكبدية الارتفاع الحاصل في تركيز كل من الأنزيمين ALT و AST الناتجة عن المركبات السامة والتي تؤثر في سلامة الخلايا الكبدية والتسرب الخلوي (Avwioro وآخرون ، 2010) وعند معاملة مجموعة (DOX) بشراب الشاي الأخضر أظهرت الفحوصات النسجية لكبد هذه المجموعة تحسن كبير في انتظام الخلايا وترتيبها بالشكل الشعاعي Radial appearance في أغلب المقاطع المحضرة وكذلك الوريد المركزي Central vein بحالة جيدة في أغلب المناطق واتخاذه الشكل الطبيعي كما وجدت خلايا كفر Kupffer cells بشكل طبيعي وأعداد طبيعية إلا أنه لوحظ حالات تنكس لبعض الخلايا الكبدية وارتشاح بسيط للخلايا اللمفية infiltration of lymphocytes صورة (4) وقد يعود السبب إلى الدور الوقائي للشاي الأخضر وذلك باحتواءه على الفينولات المتعددة وخاصة الكاتشينات (Chen وآخرون ،2002) و دورها في اختزال الالتهابات (Katiyar وآخرون ،2001) فقد لوحظ بأن الشاي الأخضر له دور مهم في في حماية الكبد ضد التلف المحدث لخلاياه في الحيوانات مثل امراض hepatic Ischemia-reperfusion Fibrosis (Zhong وآخرون ، 2002) كذلك أشارت دراسات خارج الجسم بأن الفينولات المتعددة الموجودة بالشاي الأخضر قد اختزلت تحطم شريط DNA المحدث من خلال المواد الكيمياوية الموجودة بالسكائر على الخلايا الحشوية (Leanderson وآخرون ، 1997) ، كما لاحظ (Zhen وآخرون ، 2007) الفحوصات النسيجية للكبد بعد اعطاء الكاتجينات احدى مكونات الشاي الاخضر EGCG (Epigallo catechin 3- callate) قد أوقف التليف الكبدي hepatic fibrosis وكذلك الحماية ضد بيروكسدة الدهون من خلال دوره المضاد للأكسدة في كسح أصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) وتعديل وظيفة الخلية ، كما وجد بأن الشاي الأخضر يمتلك دور وقائي بشكل واسع ضد التأثيرات الكيميائية لمختلف الأعضاء المستهدفة في الجسم (Sriram وآخرون ، 2008) .

المصادر ك

الحاج ، حميد احمد (1998) . التحضيرات المجهرية الضوئية (التقانات الاحيائية) ، الطبعة الاولى ، قسم العلوم الحياتية – الجامعة الاردنية ، مركز الكتب الاردني ، عمان ، الاردن ، ص 121–140، 149– 148، 221– 232 .

Ahmad N and Mukhtar H.(2001). Cutaneous photochemo Protection by green tea:a brief review.*skin pharmacol Appl.Skin Physiol*;*14(2):* 69-76.

Al-Zamely.; Mizil, Y. O. and Al-Nimer, M. S.(2001) : "Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidants status in the serum of patients with acute myocardial infraction national. J. of Chemistry" ., (4) : 625-637.

Anderson, J.(1986). Muirs text book of pathology , 12th ed.University of Glasgow by Edward Arnold(Publishers) .bed for square.London.

Andreadou I, Sigala F, Iliodromitis EK, PapaefthimiouM, Sigalas C, Aligiannis N,. (2007) Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. J Mol Cell Cardiol; 42:549-58.

Anke Kruger,Leszek Wojnowski.(2006) Cardiotoxicity of Anthracyclines an Unsolved Problem.Dtsch Arzteblj.;103 (37):A 2393-7.

Armstrog and Morton,(2004).lexicamp drug handbook [12th edition] ;pp.83- 95.

Avwioro ,G.; Lyiola ,S.and Aghoghovwia ,B. (2010) .Histological and biochemical markers of the liver of wistar rats on subchronic oral administration of green tea .North .Am. j.Med.Sci.,2:376-380.

Aziz , B.N. ;Ahmed , A.F.; 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 .

Baguely, B. C. (2001). A brief history of cancer chemotherapy In: Anticancer drug development,.Elsever Inc. Academic Press, London, UK.36; p. 1-11.

Balentine, D. A.; Wiseman, S. A. and Bouwens, L. C. (1997). The chemistry of tea flavonoids. Crit. Rev. food Science Nutr., 693-704.

Belfield , A. and Goldberg , D.M. (1971) Revised assay for serum phenyl phosphatase activity using 4-amino–antpyrine . Enzyme . 12 : 561-573.

Booster DJ, Hortobagyi GN (1992). Treatment of locally advanced breast cancer. Semin Oncol 19: 278-285.

Cao, Y.; Kennedy, R.; Klimberg, V.S. (1999) Glutamine protects cardiomyopathy monitored by morphological changes. Cancer Treat Rep, 1978, 62, 865–872.

Casallo,B.S., Valero,M.A., Sanchez,F.M., de Matias,S.L.,Blanco,G.J.J. and Martin,B.M.J. (2007). Methimazole and Propylthiouracil induced acute toxic hepatitis.Gastroenterol Hepatol.30(5): 268-70.

Chan , C.C.(2006). Effects of Chinese green tea on weight, and hormonal and biochemical profiles in obese patients with polycystic ovary syndrome.Soc.Gyncol.Invesig 13(1):63-68.

Chen, J., Chen, X., Yang, K., Xia, T. and Xie, H. (2002). Studies on DNA damage and apoptosis in rat brain induced by fluoride. Zhonghua YuFang Yi Xue Za Zhi, 36(4): 222-226.

Cho ,K .,Sukhthankar ,M.,Lee,S.,Yoon,J.and Baek,S(2007). Green tea catechin (-) –epicatechin gallate induces tumour suppressor protein ATF3 Via EGR-l activation .Eur.J. Cancer 43(17):2404-2412.

Citil M, Erdogan HM, Uzlu E, Atakisi E, Gunes V, Tuzcu M, Uzun M, Dogan A(2008) Protective effects of L-carnitine on doxorubicine induced cardiomyopatl ly in rabbits. *Kafkas Univ VetFak Derg,* 14 (2): 229-235,.

Cosan D, Basaran A, Gunes H V, Degirmenci I, Aral E (2008). The effect of doxorubicin on rats that received toxic and carcinogenic benzo (a) pyrene. Folia Histochem Cytobiol; 46 (3): 367-372.

Danz ED, Skramsted J, Henry N, Bennett JA, KellerRS. (2009) Resveratrol prevents doxorubicin cardiotoxicitythrough mitochondrial stabilization and the Sirt1 pathway.Free Radic Biol Med; 46:1589-97.

Derek G .Waller,Andrew G. Renwick, KeithHillier.(2001) Chemotherapy of malignancy .In:Medical pharmacology and therapeutics .1st Ed., Harcourt. Spain.,p535-549.

Dong,G.N.; Wang,X.J.; Tang, L.i. and Xiong, Z. y.(2003)."effect of DTT on endurance,free radical in liver tissues and activity of serum GPT in trained mice".J shaanxi Normal university (Natural science Edition),31: 63-66.

Duncan , D.B. (1955). Multiple range and F-test . Biomertic ; 11:42 .

El-Awady ES, Moustafa YM, Abo-ElmattyDM, Radwan A. (2010) Cisplatin-induced cardiotoxicity :Mechanisms and cardioprotective strategies. Eur JPharmacol.

Friedman LS, Martin P, Muñoz SJ.(1996) Liver function tests and the objective evaluation of the patient with liver disease. In: Hepatology: a textbook of liver disease. Zakim D, Boyer TD, et al.3rd Ed., Philadelphia: Saunders.USA. , p791-833.

Guidet,B. and shah,S. V. (1989). Am J. Physiol; 257(26):440. cited by Muslih,R. K., Al-imer,M. S and Al-Zamely,O. Y. (2002) . The level of Malondialdehyde after activation with H2O2 and CuSO4 and inhibition by deferoxamine and Molsidomine in the serum of patient with acute Myocardial infarction. National journal of chemistry; 5: 139-148.

Harold, N., and Graham, P. D. (1992). Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. J. of prevent. Med. and hygiene, 21 (3): 334-350.

Henderson BE, Preston-Martin S, Edmondson HA,. (1983) Hepatocellular carcinoma and oral contraceptives. *Br J Cancer*;4:437-440.

Hinton, H and Girgis , F. (1993) .Liver ultrastructure alteration accompanying chronic toxicity in rat Bull. Environ.Toxicol.A87:81-89.

Imai, K. and Nakachi, K. (1995). Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases. B. M. J., 310: 693-696 .

Injac R, Perse M, Cerne M, Potocnik N, Radic N,Govedarica B,. (2009) Protective effects of fullerenolC60(OH)24 against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats with colorectal cancer.Biomaterials; 30:1184-96.

Jung, Y.D. and Ellis, L.M. (2001)." Inhibition of tumor invasion and angiogenesis by epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea". Int. J. Exp. Path., 82, 309-316.

Kalender Y, Yel M, Kalender S.(2005) Doxorubicin hepatotoxicityand hepatic free radical metabolism in rats. Theeffects of vitamin E and catechin. Toxicology;209:39-45.

Karapehlivan M, Uzlu E, Atakisi O, Erdogan HM, Uzun M,Citil M: (2007) Doksorubisin uygulanan tavsanlarda plazma sialik asit, malondialclehit ve redükte glutatyon clüzeylerine L-karnitinin etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg,* 13 (2): 155-160.

Katiyar,S.K.,Afaq,F.;Azizuddin,K. and Mukhtar,H.(2001). Inhibition of UV Binduced oxidative stress mediated phosphrylation of mitogen activated protein kinase signaling pathways in cultured human epidermal keratinocytes by green tea polyphenol (-)- epigallocatechin 3 gallate . Taxicol. Appl. Pharmacol.,176:110 117.

Khalaf, N. A.; Shakya, A. K.; Al- Othman, A.; El- Agbar, Z. & Farah, H. (2008). Antioxidant activity of some common plantes. Turk. J. Biol., 32: 51-55.

Koc A, Duru M, Ciralik H, Akcan R, Sogut S.Protective (2005) Agent, erdosteine, against cisplatin-inducedhepatic oxidant injury in rats. Mol Cell Biochem;278:79-84.

Krishna , V . (2004). Text book of pathology. 1st ed. Orient Longg man private Limited. India. PP: 538.

Leanderson P, Faresjo AO, Tagesson C (1997). Green tea polyphenols inhibit oxidant induced DNA strand breakage in cultured lung cells. Free Radic. Biol. Med. 23: 235–42.

Losada, M. and Alio, l. (1997) : " Malondialdehyde serum concentration in type I diabetic with and without retinopathy". Doc-Ophalmol., 93(3) : 223-229.

Meredith MJ, Reed DJ.(1983) Depletion in vitro of mitochondrial glutathione in rat hepatocytes and enhancement of lipid peroxidation by Adriamycin and 1,3 chloroethyl-nitrosurea(BCNU).J5cAwi *Pharmacol*;J2:1383-1388.

Minotti, G., Cairo, G. & Monti, E. (1999). Role of iron in anthracycline cardiotoxicity: new tunes for an old song? FASEB J. Vol. 13, No. 2, (Feb), pp. 199-212, ISSN 0892-6638

Murray, R.k. ;Grunner , D.K. ;Mayes, D.A. and Rodwell , V.W.(2003) . Harpers illustrated biochemisty . 26th ed Appeton and Lange . USA . PP : 223 – 352 .

National Research Council.(1994) Nutrient Requirements of Poultry. 9th ed. National Academy Press, Washington.

Nhosseins, Jazan, S.h,; Shababi, Abb, Al.;Pak, J. and Biol, S.c.i. (2007). Antibacterial and effects of water soluble green tea extracts on multi- antibiotic resistance isolates of Pseudomonas aeroginosa.; May 1, 10(9). 1544-1566.

Oz E, Ilhan M N.(2006) Effects of melatonin in reducing the toxic effects of doxorubicin . Mol. Cell. Biochem; 286: 11-15.

Paul D. Kinga, Michael C. Perryb(2001). Hepatotoxicity of Chemotherapy. *The* 0ncologisf;6162-176.

PDR for Herbal Medicine (1998). (1st ed). Medical economic company Monvale,Newjersy, pp: 701.

Reddy P. Nagi , Reddy P. Sudhakar and Rao M. Rajeswara, (2007). Studies on the effect of doxorubicin on MDA, NO2, NO3,Se-GSH peroxidase and SOD levels in albino rat tissues, African Journal of Biotechnology ; 6 ;20; 2303-2309,

Rej R.(1997) Aspartate aminotransferase activity and isoenzyme proportions in human liver tissues. *Clin Chem*\97S;24: \ 979.

Ronald G. Thurman, Patricia E. Ganey, Steven A. Belinsky(1989).Perfused liver as a Tool to Study Hepatotoxicity in Periportal and Pericentral Regions of the Liver Lobule. In: In vitro toxicology: model systems and methods. Charlene A. McQueen. 1st Ed., Telford Press. New Jersey,USA., p 73-93.

Ryu, O.H.; Lee, J.; Lee, K.W.(2006)." Effects of green tea consumption on inflammation, insulin resistance and pulse wave velocity in type 2 diabetes patients". Diabetes Res Clin Pract.;71(3):356-8.

Saad S Y, Najjar T A, Al-Rikabi A C. (2001) The preventive role of deferoxamine against acute doxorubicininduced cardiac, renal and hepatic toxicity in rats.Pharmacol. Res; 43 (3): 211-218.

Sadzuka, Y. ; Sugiyama T.; Miyagishima; A. Nozawa, Y. Hirota, S. (1996) The effects of theanine, as a novel biochemical modulator, on the antitumor activity of adriamycin, Cancer Lett. 105: 203–209.

Sadzuka, Y. ; Sugiyama, T.; Suzuki, T; Sonobe, T. (2001) Enhancement of the activity of doxorubicin by inhibition of glutamate transporter, Toxicol. Lett. 123 :159–167.

Sandler , A. ;Gray , R. ;Perry , M.C. ;Brahmer ,J. ;Schiller ,J.H. ;Dowlati ,A. ;Lilenbaum , R. ;Johnson , D.H. (2006) .Paclitazxel-carboplatin alone or With bevacizumab for non-small-cell lung cancer.N Engl J med ; 355(24):2542-50.

Sayed-Ahmed MM, Aleisa AM, Al-Rejaie SS,Al-Yahya AA, Al-Shabanah OA, Hafez MM, . (2010). Thymoquinone attenuates diethylnitrosamine induction of hepatic carcinogenesis through antioxidantsignaling. Oxid Med Cell Longev; 3:254-61.

Sayed-Ahmed MM, Al-Shabanah OA, Hafez MM, Aleisa AM, Al- Rejaie SS.(2010). Inhibition of gene expression of heart fatty acid binding protein and organic cation/ carnitine transporter in doxorubicin cardiomyopathic rat model. Eur J Pharmacol; 640:143-9.

Sharma V. and Mohanrao L. A(2009) thought on the Biological ctivities of black tea.Critical Review in food science and nutrition.49,(5),.

Sriram N, Kalayarasan S, Sudhandiran G (2008). Enhancement of antioxidant defense system by epigallocatechin-3-gallate during bleomycin induced experimental pulmonary fibrosis. Biol. Pharm. Bull. 31(7): 1306-1311.

Sugiyama T., Sadzuka Y., (2003) Theanine and glutamate transporter inhibitors enhance the antitumor efficacy of chemotherapeutic agents, Biochim. Biophys. Acta 1653 47–59.

Tietz,N. W. (1999). Textbook of clinical chemistry. 3rded. C.A.Burtis, E.R.Ashwood,W.B.Saunders. Pp: 819-861,1245-1250.

Tyler, V.E. Brady, L.R. and Robbers, J.E. (1988) Pharmacognosy,9th edition. Lea and Febiger, Philadelphia, PA 1988:247-248.

Vandalen E ,Key T J and Bank E,(2001). Pathology and epidimology of breast cancer .Lancet Onco:pp.20-33.

Yagmurca M, Bas O, Mollaoglu H, Sahin O, Nacar A,Karaman O.(2007) Protective effects of erdosteine ondoxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. Arch MedRes; 38:380-5

Yang, C. S., Prabhu, S. and Landau, J. (2001). Prvention of carcinogenesis by tea polyphenols. Drug metab Rev. 33 (3 – 4): 237 – 53.

Yang, C. S.; Kim, S.; Yang, G. Y.; Lee, M. J.; Liao, J.; Chung, J. Y. and Ho, C. (1999). Inhibition of carcinogenesis by tea: Bioavailability of tea polyphenols and mechanisms of actions. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 9: 213–217.

Zhang, Q.; Kelly, A. P.; Wang, L.; French, S. W.; Tang, X.; Duong, H. S.; Messadi, D. V. and Le, A. D. (2006). Green tea extract and (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibit mast cell-stimulated type I collagen expression in fibroblasts. J. Invest. Dermatol., 6: 7-13.

Zhen M, Wang O, Huang X, Cao L, Chen X, Sun K, Liu Y, Li W, Zhang L (2007). Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits oxidative damage and preventive effects on carbon tetrachloride induced hepatic fibrosis. J. Nutr. Bioch.18: 795–805.

Zhong Z, Froh M, Connor HD, Li X, Conzelmann LO, Ronald PM, John JL, Ronald GT (2002). Prevention of hepatic ischemia reperfusion injury by green tea extract. Am. J. Physiol. Gastro. 283: G957–G964.Zhonghaa Non Ke Xue 2007:13:1507- 10.