مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 18 العدد 2 سنة 2013

احسان ريسان / خليل جدوع

تاثير المستخلص المائي البارد لنبات عرق السوس *Glycerrhiza glabra* في بعض المعايير الكيموحيوية والمناعية في ذكور الجرذان البيض المعاملة بعقار السايكلوفوسفوأمايد

إحسان ريسان إبراهيم خليل جدوع الفتـــلاوي

قسم علوم الحياة/ كلية التربية /جامعة القادسية

الخلاصة:-

أجريت هذه الدراسة لمعرفة الدور المصحح لمستخلص عرق السوس في تقليل التأثيرات السلبية لعقار السايكلوفوسفواميد في بعض الجوانب الكيموحيوية والمناعية في ذكور الجرذان البيض . حيث تمت دراسة تأثير المستخلص لمرحلة ما بعد المعاملة بالعقار. حيث قسمت (15)من ذكور الجرذان البيض الى ثلاثة مجاميع جرعت المجموعة الأولى(السيطرة) الماء المقطر وأعطيت المجموعة الثانية العقار وبجرعة واحدة مقدارها (50ملغم/كغم) من وزن الجسم داخل البريتون ولمة 14 يوما بينما أعطيت المجموعة الثالثة العقار بجرعة واحدة أيضا وبنفس المقدار(50ملغم/كغم)وبعد(24) ساعة عوملت الحيوانات بالمستخلص المائي البارد لعرق السوس فمويا وبجرعة (400 ملغم /كغم) يوميا و لمدة 14 يوما. وفي نهاية مدة التجربة تم سحب نماذج الدم عن طريق ثقب القلب **Heart puncture** ومن ثم إجراء الاختبارات المطلوبة والتي شملت تقدير المعايير الكيموحيوية والتي شملت انزيمات الكبد (**GOT**و **GPT** و **ALP**)والكلوكوز والكرياتينين واليوريا اما المعايير المناعية فقد شملت حساب العدد الكلي لكريات الدم البيضد ومعامل البلعمة (**phagocytic index**) .وقد أظهرت نتائج االمجموعة المعاملة بالعقار حصول ارتفاع معنوي(**$p<0.05$**) في مستوى انزيمات الكبد(**GOT, GPT, ALP**)والكرياتين يقابلهاحدوث انخفاض في مستوى الكلوكوز واليوريا وأعداد خلايا الدم البيض ومعامل البلعمة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة . .أما نتائج تداخل المستخلص مع العقار فقد أظهرت النتائج حدوث انخفاضا معنويا(**$p<0.05$**) في مستوى إنزيمات الكبد(**GOT** و**GPT** و**ALP**) والكرياتينين وفي نفس الوقت حصل ارتفاع معنوي(**$p<0.05$**) في مستوى الكلوكوز واليوريا وأعداد كريات الدم البيضاء ومعامل البلعمة بالمقارنة مع مجموعة العقار وهذا يقودنا إلى أن نستنتج من الدراسة الحالية بأن للمستخلص المائي البارد لعرق السوس قدرة في تقليل بعض التأثيرات السلبية لعقار السايكلوفوسفواميد المستخدم لعلاج الأمراض السرطانية .

المقدمة:-

أولا: عقار السايكلوفوسفواميد

إن المعالجة الكيميائية باستخدام عقار **Cyclophosphoamide** (**CP**) تعد من أوسع العلاجات المستعملة على نطاق واسع في العالم في معالجة العديد من الامراض السرطانية مثل**lymphoma** و **leukemia** و **neuroblastoma**و **Myloma** و **adenocarcinoma** و**retinoblastoma** و **breast carcinoma** **1]** **[**وذلك لقدرته على تدمير الخلايا السرطانيه والقضاء عليها **[2]** وباعتباره من العلاجات الجهازية **treatments Systemic** وذلك لانتقال العلاج الى اعضاء وأنسجة الجسم كافه وبذلك يستطيع القضاء على الخلايا السرطانية أينما وجدت **[** 3 **]**. لكن الدراسات والتجارب العلمية كشفت بان المعالجة بعقار **CP** تسبب حدوث الكثير من التأثيرات الجانبية السلبية والمؤثرة على حياة المرضى المعالجين به اذ يصنف العقار ضمن العوامل المؤلكلة **Alkylting agents** حسب تصنيف الأدوية المضادة للسرطان **[4]** حيث ان العقار يتداخل مع عمليات استنساخ الأحماض النووية وترجمتها وبذلك يؤثر على عمليات الانقسام الخلوي مسببا إلحاق الضرر بالحامض النووي **DNA** **[5]**ويستخدم عقار **CP** أيضا في علاج أمراض غير سرطانية كأمراض المناعة الذاتية مثل التهاب المفاصل الرثوي **Rheumatoid arthritic** والذئب ألاحمراري **Lupus erythrometosis** **[6]** والتهاب الأوعية الدموية **Vasculitis**ومرض الخزب المتصلب **Scleroderma** ومرض هود جكن **Hodkin disease** ومرض الاورام الحبيبية المناعية وكذلك يستخدم كعلاج وقائي مع علاجات كيماوية أخرى بعد عمليات استئصال الأورام السرطانية **[7]** وقد ذكر**[8]** ان معاملة الحيوانات المختبريه بعقار (**CP**) يؤدي الى تطور السرطانات الحميدة في مناطق مختلفة من الجسم خاصة الثدي والرئة والمثانه ويحث على حصول التشوهات الكروموسومية والطفرات الوراثية في الخلايا الجسمية والجنسية وارتفاع تكون النوى الصغيرة (**Micronucleus**) وعلى الرغم من نجاح عقار **CP** في علاج كثير من الحالات السرطانية الا انه يسبب الكثير من الأعراض الجانبية وقد يسبب حدوث أورام ثانوية في مواقع ما في الجسم **[9]**ويعد الاكرولين وخردل

الفوسفورامايد الذين هما (نواتج ايض عقار(**CP**) داخل الكبد بواسطة نظام الاكسدة المتعدد الوظائف **Cytochrome (p 450** من المركبات الفعالة والمؤثر على الخلايا ويتم هذا بعد تايضه في الكبد مباشرة حيث يعزى لهذين المادتين جميع التأثيرات السمية على الأنسجة والأعضاء فقد وجد ان مادة الاكرولين هي المسبب لحالة نزف المثانه وهو تاثير شائع الحدوث للعقار **[7]** وكذلك لوحظ حدوث ضرر للخلايا الظهارية في الرئه وانتفاخ البطانه الداخلية وخلل تنسج الحويصلات الرئوية **[10]** وعندما اجري الفحص لخزعة من الكبد ثبت حدوث التنخر للخلايا الكبدية وارتشاح الخلايا الدموية البيض وتليف للاوعية الدموية بالاضافه الى حدوث تغيرات نسيجية ودهنية في الكبد **[11]** وقد اكدت الكثير من الدراسات على ان العقار يسبب إحداث تشوهات خلقيه في أجنة الحيوانات المختبرية **[12]**. وفي دراسة للباحث **13]** [وجد ان معاملة الجرذان الذكور بجرع قليلة من العقار يتسبب بقتل النطف دون التأثير على صحة الحيوان.ويعتقد الباحث ان العقار يظهر تأثيرات معينه على نواة الخلايا المولدة للنطف.. وفي دراسة **[14]** ان العقار يسبب حدوث تشوهات هيكلية للأجنة متمثله بنقص الأطراف او شق الحنك او تغيرات في هيكل الدماغ اضافة الى حالة نشوء فقر الدم نتيجة لنقص كريات الدم الحمراء وكذلك خطر سهولة النزف وفقد القدرة على وقف الجروح النازفة وحمايتها من الأحياء المجهريه بسبب انخفاض مناعة الجسم للمريض **[15]** نتيجة للنقص الحاصل في مستوى الخلايا المناعية (الخلايا الدموية البيضاء) .

ثانيا - نبات عرق السوس : ***Glycyrrhiza glabra***

السوس نبات عشبي بري معمر، يتراوح ارتفاعه بين **50-125** سم وتحمل فروعه أزهاراً بنفسجية **(Violet)** في الصنف المحلي،وأرجوانية مائلة إلى الزرقة **(purplish-blue)** في الصنف الروسي والأسباني وهو ذو سويقات قصيرة والكأس مركب والبلات غدية والتويج غير ملتحم والقمة منقارية الشكل والثمار قدمية الشكل طولها**1.5-2.5** سم وعرضها **4-6** سم أما البذور فهي كلوية الشكل **reniform seed (1998 ,.*et al* Gruenwald**.يتكون المجموع الجذري من جذور طويلة ورايزومات **(Rhizomes)** أو مدادات **(Stolons)** رفيعة، ويتفرع الجذر الرئيس تحت التربة إلى عدة فروع تخترق التربة إلى عمق اكثر من **1** متر وتتفرع من الجذر الرئيس المدادات وهي سيقان أفقية يصل طولها إلى **180** سم قرب سطح التربة **[16]** . ويتواجد هذا النبات طبيعياً في العراق في مناطق صلاح الدين وشقلاوة وكركوك وبين عقرة والموصل وسنجار وبعقوبة والحلة والعمارة وبين البصرة وأبي الخصيب ويصنف نبات عرق السوس ضمن العائلة البقولية ***Leguminasea*** (كليسيرايزا كلابرا باليدا ***Glycyrrhiza glabra pallida*)** **[17]** . ويزهر النبات في العراق في شهري أيار وحزيران **[18]** يحتوي نبات عرق السوس على مادة الكليسيريزين **(glycyrrhizin)**) ويحفز هذا المركب وناتج ايضه حامض الكليسراتيك انتاج الاغشية المخاطية في القناة الهضمية ويزيد من معدل جريان الدم فيها ويحتوي نبات عرق ال**[19]**سوس على البروتينات والاحماض الامينية واهمها الاسبارجنين والسكريات و منها الكلوكوز والفركتوز والمالتوز ، ويحتوي على **Sterols** وصبغات الصفراء **[20]** ويحتوي نبات عرق السوس على العديد من المكونات الكيميائية ذات التأثيرات البايلوجية المهمة والتي تعتبر مادة الكلسيريزين وحامض الكليسراتيك من اكثرها اهمية بالاضافة الى احتواؤه على المركبات الفلافونية (**Isoliquiritin liquiritin** و **glabrin** و **chalcones [21]** وعلى الكومارينات وهي ايضاً من المركبات الفينولية ومنها: **glycerin** و **Liqoumarin** و **umbelliferone** و**Asparagine herniarin** و **dihydrostigmastero[22]**ومواد راتنجية **Resins** ، وسكر العنب والـ **Mannitol** وحوالي **20%** من النشا) **[** 18 **]**ويحتوي ايضا على الزيوت الطيارة **(Volatile oils)** .ويحتوي نبات عرق السوس على الفيتامينات **B1** و **B2** و **B3** و **B6** و **C** و **E** ، **Biotin** ، **Folic acid pantathenic acid [.23]**كذلك احتواؤه على العناصر المعدنية مثل ، الألمنيوم والكالسيوم والكوبالت والحديد والزنك والقصدير والمغنسيوم والفسفور والسليكون**[24]**.ويحتوي ايضا على مركبات كيمياوية قد صنفت الى.مركبات الـ **Sterols** ومنها **Beta-sitosterol** و **Stigmasteroa** و **Diehydrostigmasterol [25])**

<u>الاستخدامات الطبية لنبات عرق السوس</u>

يوصف عرق السوس أو مستخلصاته في علاج حالات مرضية عديدة، اذ تجمع الدراسات على عد مادة **Carbenoxolone** المشتقة من مادة **Glycyrrhetinic acid**، علاجاً فعالاً لمعالجة القرحة سواء كانت معدية أم معوية**[26]**وأوضح **[27]** ان لمركب **Glycyrrhetinic acid (GA)** المشتق من مستخلص نبات السوس **G. glabra** دوراً فعالاً في تثبيط نمو الخلايا الورمية للقولون عند دراسته في الوسط الخارجي **(in vitro)**. كذلك يستخدم نبات عرق السوس ايضا كمشجع للهضم ومحفزاً للشهية . كما اثبت السوس فاعليه في مقاومة الإصابات البكتيرية **Anti-microbial [28]** و الإصابات الطفيلية مثل **Trichomonas spp ,** وطفيلي الملاريا **[29]**والاصابات الفايروسية **Anti- viral** منها على سبيل المثال: التهاب الكبد المزمن نمط **Chronic hepatitis B Virus (HBV)**،.ووجد ان المستخلص المائي لنبات السوس **G. radix** أهميه في حماية الفئران من الإصابة بفايروس الأنفلونزا **A [30]** كما اظهر السوس ايضاً فعلاً مضاداً للفطريات **Anti-fungal** حيث وجد إن لمركب **GR** المشتق من مستخلص **Licorice root** أهمية في حماية الفئران من الإصابة بفطر **Candida albicans [31]**وقد وجد إن لمركب **GR** المشتق من مستخلص نبات **G. radix** أهمية في معالجة المرضى المصابين بسرطان الكبد الخلوي

Hepatocellular carcinoma (HCC) والتليف الكبدي **Liver Cirrhosis** الذي يترافق مع التهاب الكبد الفايروسي نمط **C [32]** و كما اثبت **[33]** ان لمستخلص النبات فعالية مضادة للطفرة**antimutagenesis** عند استخدامه مع مستخلصات نباتية مختلفة اذ قلل من نسبة الاختلالات الكروموسومية في خلايا نقي العظم للفئران و الجرذان المعاملة بمطفرات فيزيائية مثل الأشعة السينية او الناتجة عن التقدم بالعمر او مواد كيميائية مثل **n-methylnitrosureale** و **NaF** و **Sodium florid** كما ان لمستخلص نبات عرق السوس قابلية على حماية **DNA** البلازميدي من خطر التكسر بالإشعاع هذا ولوحظ انه يحمي الأغشية المايكروسومية من التلف بسبب أشعة كاما **[34]** كذلك يعمل على تنظيم مستوى السكر في الدم وفي علاج بعض امراض الحساسية كالربو **[35]**وفي دراسة أجراها الباحث **[36]** أشاروا فيها إلى ان الكليسيريزين يمتلك فعالية أستر وجينية كما أن لنبات عرق السوس القدرة على تحفيز خلايا الجسم المناعية واطلاق الانترفيرون لذلك يستخدم في معالجة الالتهابات البكتيرية والفايروسية والفطرية **[37]** ومن التأثيرات الغير مرغوب فيها لمستخلص عرق السوس هو ان التناول المفرط له يؤدي إلى حصول آثار جانبية خطيرة منها ارتفاع عالٍ بالألدوستيرون وضغط الدم .

المواد وطرائق العمل :

طريقة تحضير المستخلص المائي البارد لجذور نبات عرق السوس

استخلص النبات وفقا لما ذكر على طريقة الباحث **[8]** حيث وزن 50 غم من مسحوق جذور السوس ووضع في دورق سعة (500 مل) واضيف اليه (250 مل) من الماء المقطر وترك مدة 24 ساعة في درجة حرارة 4°م مع المزج المستمر، وفي اليوم التالي رشح المنقوع باستعمال الشاش الطبي المعقم اولاً ومن ثم استعمل ورق الترشيح (**Whattman No-1-**)للحصول على راشح عالي النقاوة بعدها اكمل الحجم الناتج الى (250 مل) باستعمال الماء المقطر المعقم،ثم وضع المستخلص في الحاضنة او المبخر الدوار بدرجة 40 م حتى يتم الحصول على المسحوق الجاف الذي يجمع ويوزن ويحفظ في الثلاجة لحين الأستعمال.

طريقة تحضير الصبغات والمحاليل الكيمياوية :

تحضير الخميرة المقتولة اللازمة لاختبار عملية البلعمة :

حضرت الخميرة لغرض دراسة عملية البلعمة حسب طريقة**[38]**وعلى النحو آلاتي:

1. استعملت خميرة الخبز الجافة **Saccharomyces crevisiae** حيث علق (10 غم) من الخميرة في (150 مل) من المحلول الفسيولوجي المعقم .
2. وضع العالق في حمام مائي يغلي مدة ساعة.
3. بعد تبريد العالق رشح عبر شاش ثنائي الطبقة معقم.
4. عدت خلايا العالق باستعمال شريحة عد الخلايا وضبط التركيز عند 10^9 خلية/ مل بعد صبغها بصبغة التريبان الزرقاء للتاكد من قتلها.
5. قسم العالق على انابيب صغيرة سعة (5 مل) ثم حفظت في المجمدة (-20م°) وعند الاستعمال اذيب العالق في حمام مائي (37م°) وغسل مرتين قبل الاستعمال باستخدام المحلول الفسيولوجي المعقم

محلول صبغة ليشمان

تم تحضير هذه الصبغة حسب طريقة **[39]**

صبغة التربيان الزرقاء **Trypan blue**:

حضرت الصبغة باذابة (2 غم) من مادة **Trypan blue** في (100 مل) من محلول دارئ الفوسفات الفسيولوجي ووضعت في زجاجة معقمة ومعتمة وحفظ في الثلاجة بدرجة (4م°).

محلول تخفيف كريات الدم البيض **White blood cell diluting solution**:

حضر المحلول وفق طريقة **[40]**

تحضير محلول السايكلوفوسفوامايد **CyclophosphoAmide solution**

حضر هذا المحلول وذلك باذابة (1)غم من مسحوق عقار (**CP**) والموجود ضمن القارورة الحاويه على مسحوق العقار(الماني المنشأ) في (**10**) مل من الماء المقطر المعقم. وحفظ بالثلاجة بدرجة (**4**)مْ ويعتبر هذا المحلول هو المحلول الأصل ومنه تؤخذ التراكيز المطلوبة .وقد اختيرت الجرعة(**50**)ملغم/كغم من وزن الجسم .وهي الجرعة العلاجية الموصى إعطائها لأغلب مرضى السرطان طبقا" لما ذكره**[41]**

الحيوانات المختبرية

استخدمت في الدراسة الحالية ذكور الجرذان البيض **WHITE Male Albino-rats** والتي تراوحت مدى أعمارها من(12-10) اسبوع وذات معدل وزن (225±25) غم. والتي تم الحصول عليها من معهد أبحاث الاجنه والعقم- بغداد ووضعت الحيوانات في غرفه ذات ظروف مناسبه من درجة حرارة (28-20)م . ونسبة(12) ساعة اضاءة و (12) ساعة

ظلام . ومع وجود مفرغة هواء ومكيف هواء ومحرار طبي . تم وضع الحيوانات في اقفاص بلاستيكيه معقمه بعد فرشها بنشارة الخشب وغطيت بمشبك حديد يسمح بتناول الماء والعليقه بكل سهوله :

تصميم التجربة

وزعت (15) من ذكور الجرذان البيض عشوائيا الى (3) مجاميع وكانت كآلاتي :
* مجموعه السيطره :
حقنت حيوانات هذه ألمجموعه بالماء المقطر تحت البريتون ولمرة واحده وبمقدار 1مل وبعد (24) ساعة جرعت الحيوانات بالماء المقطر ولفترة (14) يوم .
المجموعة المعاملة الاولى
حقنت حيوانات هذه ألمجموعه بعقار الـ**CP** وبجرعة مقدارها (50) ملغم /كغم من وزن الجسم داخل البريتون ثم تركت الحيوانات لمدة (14) يوما .
المجموعة المعاملة الثانية
حقنت حيوانات هذه ألمجموعة بعقار الـ**CP** وبجرعة مقدارها (50) ملغم /كغم من وزن الجسم داخل البريتون وبعد (24) ساعة جرعت الحيوانات بالمستخلص المائي البارد لعرق السوس وبالجرعة (400) ملغ/ كغم من وزن الجسم يوميا ولمده (14) يوما ايضا .وفي نهاية مده كل تجربة يتم سحب نماذج الدم من القلب وإجراء الاختبارات المطلوبة

الاختبارات الكيموحيوية **:**
تقدير مستوى إنزيمي (**G.P.T**) و**(GOT)**
اعتمدت طريقة**[42]** لتقدير فعالية الإنزيمات الناقلة للامين واستخدمت عدة التحاليل الـ**(kit)** المجهز من شركة(**spinoreact**) الاسبانية.
تقدير مستوى انزيم (**GPT**) في مصل الدم:
تم العمل بالطريقة اللونية (**colorimetric method**) حيث تم قياس الامتصاصية على الطول الموجي (**505nm**) بجهاز الطيف الضوئي.واستخدمت الصيغة الاتيه لحساب مستوى الإنزيم:-

GPT (**u/L**) = قراءة النموذج – قراءة السيطرة × **133**
قراءة القياسي – قراءة الكفء

تقدير مستوى انزيم **GOT** في مصل الدم :

تم تقدير مستوى هذا الإنزيم في مصل الدم بالطريقة اللونية (**colourimetric method**) حيث تم استخدام جهاز المطياف الضوئي لقياس الامتصاصية وعلى الطول الموجي (**505**) نانومتر. واستخدمت الصيغة آلاتية لحساب مستوى الانزيم:-

GOT(وحدة دوليه/ لتر) = قراءة النموذج – قراءة السيطرة ×**67**
قراءة القياسي – قراءة البلانك

تقديرمستوى انزيم الفوسفاتيز القاعدي**ALP** في مصل الدم
تم تقدير مستوى انزيم (**ALP**) في مصل الدم بالطريقة اللونية باستخدام جهاز الطيف الضوئي (**spectrophotometer**) واستخدمت محاليل العدة الخاصة بتقدير مستوى انزيم (**ALP**) حيث قيست الامتصاصية على الطول الموجي (**510 nm**) ومن ثم تم حساب مستوى الانزيم وفق الصيغة الاتيه:-

$$\textbf{ALP(u/l)} = \frac{\textbf{(A. serum sample) – (A . serum blank)}}{\textbf{(A . standerd)}} \times \textbf{stand con (142 u/l)}$$

تقدير مستوى الكلوكوز في مصل الدم
تم تقدير مستوى السكر بالدم باستخدام عدة التحليل (**kit**) نوع (**spinreat**) وهي طريقه انزيميه وحسب طريقة **43]** [حيث يتم قياس الامتصاصية على الطول الموجي (**505 nm**) ويحسب تركيز الكلوكوز باستخدام الصيغة الاتيه:-

$$\textbf{Glucos conc.} = \frac{\textbf{A (sample)}}{} \times \textbf{stand.conc} \quad \textbf{(100mg/dl)}$$

A (standard

تقدير مستوى اليوريا في مصل الدم **serum urea**

تم تقدير مستوى **urea** في مصل الدم باستخدام عدة القياس (**kit**)الجاهز من نوع (**spinoreat**). حيث تم قياس الامتصاصية على الطول الموجي (**580 nm**) ومن ثم استخدم القانون التالي:-

Urea concentration = A (sample) x standard conc (40)
mg/dl A (standerd)

A = الامتصاصية

تقدير مستوى الكرياتنين في مصل الدم **SERUM CREATININE**

تم قياس تركيز الكرياتنين في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة(**spinoreact**)حيث تم قياس شدة الامتصاصيه بأستخدام جهاز المطياف الضوئي وعلى الطول الموجي(510-490) نانومتر وتم حساب مستوى الكرياتنين في مصل الدم باستخدام الصيغة الآتية:-

Creatinin concentration (mg/dl) = A(sample) /
(standared) x standared conc

عدَّ خلايا الدم البيضاء **White blood cells count (WBC)**

اتبعت طريقة **[38]** لعد خلايا الدم البيض وباستعمال شريحة عد الخلايا **Haemocytometer** اذ تسحب كمية من الدم باستعمال الماصة الخاصة بحساب خلايا الدم البيض الى حد العلامة المؤشر عليها (0.5) ويكمل الحجم الى حد العلامة 11 بسحب كمية من محلول تخفيف كريات الدم البيض بعدها تمزج الماصة عن طريق الرج باليد مدة ثلاث دقائق وعند حساب الخلايا تهمل القطرات الثلاث الاولى وتوضع القطرة الرابعة على حافة محتويات شريحة عد الخلايا . تترك الشريحة مدة دقيقتين كي تستقر الخلايا ثم تعد الخلايا باستعمال العدسة ذات القوة التكبيرية (40 **x**) في اربع مربعات كبيرة (كل مربع يحوي 16 مربعاً صغيراً) واعتمدت في ذلك طريقة **[**44 **]**حيث يطبق القانون الآتي:

عدد الخلايا الدموية البيض ملم/^{3}دم= عدد الخلايا المحسوبة في اربعة مربعات كبيرة × تصحيح الحجم× تصحيح التخفيف.

= عدد الخلايا المحسوبة في اربعة مربعات كبيرة **(N)** 4/20 × 10× **N**= 50 ×

البلعمة **Phagocytosis**

اجري هذا الاختبارخارج الجسم الحي(**invitro**) وفق طريقة (**Metcalf et al., 1986**) بالاعتماد على الفعالية البلعمية للخلايا متعددة اشكال القوى(**polymorphic nuclear cells** (**pmn**) والخلايا وحيدة انوى(**monocytes**) في الدم المحيطي.بعد مدة(نصف ساعة) من سحب الدم اذ يتم مزج (**0.2**) مل من الدم الحاوي على مانع التخثر و(**0.1**) مل من محلول معلق الخميرة في انبوبة اختبار معقمه. توضع الانبوبة في حمام مائي (**37**) لمدة (**30**) دقيقه بعدها يتم عمل مسحات دمويه. تترك لفترة لكي تجف ثم يتم صبغها بصبغة ليشمان لمدة (**2-3**) دقيقه ثم يتم التخلص من الصبغه الزائده بغسلها بمحلول الفوسفات الفسلجي. ومن ثم تجفف ويتم فحصها بالعدسة الزيتية (**100x**) ويحسب معامل البلعمه من خلال حساب خلايا **Neutrophils** وخلايا **Monocytes** الملتهمة للخميرة ومن خلال حساب(100) خلية ملتهمة وغير ملتهمة وبصورة عشوائية يتم حساب النسبة المئوية للخلايا الملتهمة حسب الصيغة التالية:

معامل البلعمة% = عدد الخلايا الملتهمة للخميرة ×100
العدد الكلي
(الملتهمة وغير الملتهمة)

النتـائج :

.أظهرت النتائج الموضحة في الجدولين (1 ،2) وعلى التوالي ارتفاعاً معنوياً ($p < 0.05$)في مستوى إنزيمات الكبد (**GOT , GPT , ALP**) والكرياتينين وحصول انخفاضا معنويا($p < 0.05$) في مستوى الكلوكوز واليوريا وأعداد خلايا الدم البيض ومعامل البلعمة في ألمجموعة المعاملة بعقارالـ**CP** مقارنة مع مجموعة السيطرة . بينما اظهرت النتائج حدوث انخفاضا معنوي ($p < 0.05$) في مستوى إنزيمات الكبد (**GOT , GPT , ALP**) والكرياتينين يرافقهاحدوث تحسن معنويا($p < 0.05$) في مستوى الكلوكوز واليوريا وأعداد كريات الدم البيضاء ومعامل البلعمة في ألمجموعة المعاملة(بالمستخلص بعد العقار) مقارنة مع مجموعة العقار.

جدول (1) نتائج الاختبارات البايوكيمياوية للمجاميع (السيطرة والعقار ومجموعة (العقار مع المستخلص)

المجموعة	كلوكوز Mg/ml	GPT u/l	GOT u/l	ALP u/l	كريا تينين Mg/ml	يوريا Mg/ml
السيطرة	99 ∓ 6.05 **A**	25.3 ∓ 2.9 **C**	38.7 ∓ 2.2 **C**	2.16 ∓ 77 **C**	1.77 ∓ 0.17 **C**	28 ∓ 3.3 **A**
عقار**CP**	63 ∓ 3.6 **C**	46.8 ∓ 3.01 **A**	79.6 ∓ 1.95 **A**	126.6 ∓ 1.3 **A**	2.40 ∓ 0.18 **A**	18.5 ∓ 2.08 **CB**
CP+السوس	80.5 ∓ 1.29 **B**	41 ∓ 2.1 **B**	65 ∓ 1.75 **B**	1.5**110.** ∓ 1 **B**	0.38**1.90** ∓ **B**	1.292 ∓ 2 **B**

الأرقام تمثل المعدلات ∓ الخطأ القياسي --- الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية **($p< 0.05$)**

جدول (2) نتائج عد خلايا الدم البيض ومعامل البلعمة للمجاميع (السيطرة والعقار ومجموعة العقار مع المستخلص)

المجموعة	سيطرة	**CP**	**CP** +السوس
WBC (10×10^3) ملم / مكعب	**0**. 2 77.4 ∓ **A**	0 . 3.2 ∓ 36 **C**	0 .31 4.4 ∓ **B**
معامل البلعمة(%)	2.3 ∓ **38.5** **A**	2.1 ∓ 14.8 **C**	2.6 ∓ **22.6** **B**

الأرقام تمثل المعدلات ∓ الخطأ القياسي --- الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية **($p< 0.05$)**

المناقشة :

تسبب المعالجة بعقار (**CP**) ضرراً في مختلف الانسجة والاعضاء وأول هذه الأعضاء هو عضو الكبد فقد ذكر الباحثان[11] ان عقار**CP** يسبب أضرارا نسيجية متمثلة بتنخر نسيج الكبد وإحداثه خللاً في وظيفته مسبباً حصول ارتفاع معنوي في مستوى أنزيماته (**GOT , GPT , ALP**)في الدم وفي المجال نفسه اوضح **[45]** بان عقار **CP** يسبب حدوث زيادة في نفاذية الخلايا الكبدية ومن ثم تسرب انزيماته لى خارج الخلايا وانتقالها الى مجرى الدم وبالتالي زيادة تراكيزها وقد ذكر **[46]** بان عقار **CP** يسبب حدوث حالة الاجهاد التاكسدي في الخلايا الكبدية وبالتالي إلحاق الاذى في الاغشية الخلوية لهذه الخلايا مسبباً فقدان خاصية التوازن الاوزموزي وبالتالي تحرر الانزيمات الكبدية الى مجرى الدم مؤديا ذلك الى ارتفاع مستواها في الدم وقد ذكر **[47]** بان عقار **CP** يؤدي الى نقص في وزن الكبد للحيوانات المعاملة كذلك حدوث ارتفاع في المؤشرات الانزيمية الموجودة في المايكروسوم الكبدي مثل مايكروسوم **P450**

وسايتوكروم **B5** .وقد ذكر الباحث **[48]** ان عقار **CP** يسبب حدوث خللاً وظيفياً في الكبد معللاً ذلك هو ان نظام السايتوكروم **P450** يلعب دوراً في حدوث التنخر الخلوي لنسيج الكبد والكلية معا والذي ينتج عنه حدوث التنكس الخلوي وخلل في الاغشية الخلوية الذي يؤدي الى خلل في تحرر الانزيمات وزيادة مستواها في الدم وقد توافقت نتائج دراستنا الحالية مع ماتوصلت اليه البحوث السابقة في حصول ارتفاع معنوي في مستوى انزيمات الكبد والتي تعطينا مؤشراً على مقدار الضرر الذي يلحقه العقار لهذا العضو المهم اما نتيجة تداخل المستخلص مع العقار فقد اظهرت النتائج انخفاضا واضحا في مستوى انزيمات الكبد فقد عد الباحث**[49]** مستخلص عرق السوس مثبطاً مباشراً **(Desmutagen)** بالدرجة الاولى ومثبطاً حيوياً **Bioantimutagen** بالدرجة الثانية . ربما لاحتواء المستخلص على **Flavonoids** و**Flavones Iso** و **Umbelliferone** و **Coumarins** ويمكن أن تعزى آلية التثبيط الى وجود مركبات الـ **Flavonoids** التي لها القدرة على تثبيط التنشيط الايضي من خلال التحوير في الانزيمات السايتوكرومية**(Cytochrome -P 450)** . هذا فضلاً عن امتلاكها صفة كسح الجذور الحرة الفعالة والمتولدة من تايض المواد المطفرة ويمتلك مستخلص عرق السوس في حالة اعطائه لذكور الجرد مع الغذاء الطبيعي قدرة على حث الانسجة المريضة على زيادة مستويات انزيمي الـ **Glutathione – S- transferase** والـ **Catalase** الى حد **50%** وهذه بدورها تلعب دوراً مهماً في حماية الخلايا من التطفر من خلال كبح الجذور الحرة للاوكسجين الفعال **[50]** كما يمكن أن تعود القدرة التثبيطية لمستخلص عرق السوس الى احتوائه على الـ **Isoflavones** والـ **Umbelliferone [51]** .وقد يكون لمركبات الـ **Flavonoids** دور فعال في حماية الخلايا الكبدية من التأثير السام للمواد المطفرة مثل **Carbon tetrachloride** حيث أن لمستخلص جذور نبات عرق السوس دوراً فعالاً في ازالة السمية وسحب الجذور الحرة المتولدة نتيجة المواد الكيميائية المطفرة **[52]** .وتعد الـ **Flavonoids** من المركبات الفعالة المضادة للتسمم الجيني **Antigenotoxic** وذات الفعل الكيميائي الوقائي **Chemopreventive** وآلية عملها كمثبطات قد يعود الى استحثاثها لعمل الانزيمين **Glutathione Reductase(GR)** و **Glutathione –S- Transferase (GST)** وهما انزيمان يوجدان في سايتوبلازم مختلف انواع الانسجة ويعدان عاملاً دفاعياً خلوياً مهماً ضد المركبات السامة والمطفرة والمسرطنة عن طريق تكوين اتحادات مع المركبات الغريبة خلال العمليات الايضية ولقد ادى استخدام النبات مع نباتات أخرى إلى حصول ارتفاعا واضحا في مستوى السكر بالدم بالمقارنة مع المجموعة المعاملة بالعقار وفي ذلك فقد ذكر الباحث **[53]** ان العقار يسبب انخفاض في مستوى السكر بالدم حيث اعزى لك الى الضرر الذي يلحقه العقار بالكبد والجهاز الهضمي مسببا خللا في امتصاصية الخلايا المواد الكاربوهيدراتية عن طريق الامعاء كذلك فقدان الكبد لوظيفته التنظيمية مثبطاًبذلك عملية بناء الكلوكوز هذا بالاضافة الى الضرر الذي يلحقه العقار بالخلايا المصنعة لهرمون الانسولين مسببا بذلك زيادة تحررة الى مجرى الدم مؤديا ذلك الى هبوط في مستوى السكر بالدم. وضمن المعايير الكيموحيوية والتي تعطينا مؤشرا لمعرفة مدى تأثر وظيفة الكليتين بالعقار فقد اظهرت النتائج جدول(1) حدوث ارتفاع في مستوى الكرياتينين بالدم في مجموعة العقار مقارنة بمجموعة السيطرة وهذا يعكس الحاله الوظيفية للكليتين ويدل على ضعف قدرتها في ترشيح النواتج الايضية ومنها الكرياتينين أن حالة ارتفاع الكرياتينين فقد جاءت متوافقة مع ما توصلت اليه دراسة الباحثان**[54]** ; **[55]** حول التأثيرات الجانبية لعقار البنتوستام على وظيفة الكليتين حيث ان الضرر الذي تلحقه متأيضات العقار بالكليتين قد ادى الى حدوث الارتفاع في مستوى الكرياتينين بالدم اما الانخفاض الذي حصل في مستوى اليوريا فقد يرجع ذلك لاكثر من سبب فقد يكون للتغيرات النسيجية الحاصلة لعضوا الكبد والتي جعلته يفقد السيطرة على وظائفه الرئيسية بالاضافة الى التغيرات الايضية التي يحدثها العقار خاصة على مستوى الانزيمات التي يسيطر على تنظيمها عضو الكبد ومنهاانزيم الارجينيز وانزيم اليوريز الذين يكونا مسؤولين عن عملية تكون مادة اليوريا وقد يكون سبب الانخفاض هونتيجة للضرر الذي يحدثه العقار بالنبيبات البولية فيؤدي هذا الى عدم قدرتهاعلى اعادة امتصاص مادة اليوريا وهذا ما ادى الى حدوث الانخفاض في مستواها في الدم مقارنة بمجموعة السيطرة . اماعند اجراء التداخل بين المستخلصات و العقار فقد اظهرت النتائج انخفاضا في مستوى الكرياتينن مقارنة بمجموعة العقار وهذا يرجع الى االدور الوقائي والعلاجي الفعال للمركبات الفلافونويدية التي يمتلكهامستخلص عرق السوس**[56]** وعملها كمضادات فعالة ضد اضرار الاجهاد التأكسدي التي يحدثها العقار واحتواء هذه المستخلص على العديد من العناصر والفيتامينات والمركبات النباتية ذات الاهمية الحيوية كالفلافونات والزيوت الطيارة والقلويدات والكومارينات والتي تعمل بعض منها بمثابة عوامل غالقة تمنع وصول العوامل السمية للنسيج الهدف **[57]** اوعملها كمضادات للعوامل المطفرة **[58]** أوفاعليتها كمضادات للعوامل المؤكسدة وقد انعكست الادوار المناعية والمنشطة والوقائية التي قام بها المستخلص النباتي في التقليل من تأثيرات العقار وحدوث التحسن في المؤشرات الوظيفية للاعضاء المتضرره لذلك ظهر التحسن واضحا في تلك الموشرات مقارنة بمجموعة العقار . لقد كان لاستخدام مستخلص عرق السوس وبالجرعة400ملغم/كغم تاثيراً مثبطاً لاعراض العقار حيث كان لهذا المستخلص دوراً في منع الضرر الذي تلحقه متأيضات هذا العقار بالخلايا المولدة للعناصر الدموية لنقي العظم فقد توافقت نتائج دراستنا مع ماتوصل اليه الباحثين فقد ذكر الباحث **[59]** ان لمستخلص عرق السوس خاصية التثبيط المباشر **Desmutaginic** حيث يعمل على منع الضرر الذي يلحقه العقار في المادة الوراثية وهذا ماتوصل اليه **[60]** من ان مستخلص جذور عرق السوس قد زاد من معدل انقسام الخلايا المولدة للعناصر الدموية معللاً ذلك ان للمستخلص القابلية في زيادة البروتينات النووية وكذلك تحفيز انزيم

DNA Polymerase المسؤول عن تضاعف **DNA** في الخلايا الجذعية في نخاع العظم كذلك فاعليته المضادة للاكسدة التي منعت التلف الذي تلحقه الجذور الحره وبالتالي منع حصول عمليه الاكسدة الخلوية للمكونات الدمويه **[61]**و قد أشار الباحث **[62]**الى احتواء مستخلص جذور عرق السوس على العديد من الفيتامينات والعناصر المعدنية مثل فيتامين **C** و **E** وحامض الفوليك كذلك العديد من المركبات الفلافونويدية المضادة للاكسدة شديدة الفعالية والتي تقوم بحماية المكونات الدموية من اضرار عوامل الاجهاد التأكسدي وذلك من خلال ازالته للجذور الحرة وتثبيط اكسدة الدهون لاغشية الخلايا الدموية وقد توافقت نتائج دراستنا ايضا مع نتائج الدراسة المقدمة من قبل الباحث **[63]** والتي اظهر فيها دور مستخلص عرق السوس في زيادة كفاءة الجهاز المناعي من خلال زيادة معدل معامل الانقسام لخلايا نقي العظم مؤديا ذلك الى ارتفاع في قيم **Hb** و**PCV**و**RBCs**و**WBCs**و **Platelates** وهذا مؤشر على امتلاك جذور عرق السوس مركبات فعالة لها القدرة على تحفيز الخلايا الجذعية **Stem Cells** لنقي العظم على الانقسام وكذلك منعها متايضات العقار من الحاق الضرر بتلك الخلايا. . ويمكن ان تعزا هذه الزيادة الى فعالية بعض المركبات التي تدخل في تركيب هذا النبات والتي اثبتت فاعليتها الدوائية **[64]** ومنها **Terpenoids saponins** (**Glycyrrhzin**، **Glycyrrhetinic acid**) والكلاكوسيدات **Glycosids** و **Flavonoids** و **Isoflavonoids** والكومارين **Coumarin** والسكريات المتعددة **Polysaccharides** والزيوت الطيارة **volatile oils** وبعض العناصر والفيتامينات التي ثبت ان لها دوراً في تنشيط الجهاز المناعي **[65]** اذ يبدو واضحاً ان هذه المركبات عززت فعالية الجهاز المناعي في الفأر ولكن تبقى الآلية التي تعمل بها كل مادة تكاد تكون غير معروفة او مختلفة. فقد كانت الزيادة واضحة في اعداد خلايا الدم البيض من خلال افرازها لبعض الوسائط الكيميائية (**Cytokines**) بعد تنشيطها اذ تعمل هذه الوسائط على تعزيز فعالية بقية عناصر الجهاز المناعي مثل زيادة فعالية خلايا البلعمة (**Phagocytes**) وتحفيز خلايا **B** على انتاج الاضداد **[66]** فضلاً عن زيادة اعداد خلايا احادية النواة التي تؤدي دوراً مهما في عملية البلعمة وتقديم المستضد للخلايا التائية **[67]** . كما اشار **[68]**الى ان مركب الـ **GA** يعتبر مهما في عملية الجذب الكيميائي للخلايا العدلة وزيادة فعاليتها وربما يفسر هذا اهمية هذا النبات في معالجة الامراض البكترية. لذلك نجد ان الافراد الذين لديهم نقص في الفعالية البلعمية تزداد فرصة اصابتهم بالامراض البكتيرية **[69]** . ويعزز هذه الفعاليةاحتواء مستخلص النبات مادة **Carbenoxdone** المضادة للالتهابات. مضافاً إلى ذلك فان المركب **GA** يعمل على تحرير **Archidonic acid** المعزز للفعاليات الانفه الذكر، لذلك اقترحت اهميته في معالجة التهاب المفاصل (**Arthritis**) من خلال زيادة فعالية الخلايا البلعمية لالتهام المعقدات المناعية. و يحتوي جذور نبات السوس على مركب الـ **Glycyrrhizin** (**GR**) الذي اقترحت اهميته في الالتهابات البكترية والفايروسية اذ وجد ان هذا المركب يؤدي الى زيادة اعداد الخلايا اللمفاوية التائية و يحفزها ايضاً على انتاج الانترفيرون المناعي (**IFN-γ**) الذي يؤدي دوراً مهماً في تعزيز الاستجابة المناعية وهذا ما تعززه نتائج الدراسة الحالية من خلال الزيادة الواضحة في اعداد الخلايا البيضاءالمناعية ووجد ان السكريات المتعددة المستخلصة من جذور نبات السوس **G. glabra** تؤدي دوراً مهماً ومحفزاً في المناعة من خلال تحفيز الخلايا الجذعية (**stem cells**) لنقي العظم والتوثه في الفار على الانقسام وهذا ما تدعمه الدراسة الحالية فقد ازدادت اعداد الخلايا الدموية البيضاء في المجموعة المعاملة بالمستخلص النباتي مع العقار مقارنة مع مجموعة العقار لوحده . و في هذا المجال فقد وجد ان مستخلص جذور السوس يحد من الاثر السمي والتثبيطي لعقار **Mitomycin C** المستعمل في علاج الامراض السرطانية **[70]** وتشاطره الراي **[59]**.و تشير الدراسات الى امتلاك مستخلص جذور نبات السوس فيتامين **C [71]** الذي يمتلك اهميته في تعزيز فعالية الجهاز المناعي من خلال زيادة اعداد خلايا الدم البيض وقد اظهرت النتائج زيادة واضحة في قدرة الخلايا على التهام خلايا الخميرة المقتوله بالحرارة في المجموعة المعاملة بالمستخلص حيث وجد ان مركب **GR** يعمل على تنشيط خلايا **Macrophages** البلعمية التي تؤدي الى زيادة تحفيز خلايا البلعمة على انتاج كميات اكبر من اوكسيد النتريك (**NO**) للقيام بعملية قتل اكثر كفاءة لتعزيز عملية البلعمة .

المصادر :

[59] الخياط ، بشرى محمد امين.، (1999). دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفير لبعض النباتات الطبية العراقية. اطروحة دكتوراه. كلية التربية (ابن الهيثم)/ جامعة بغداد. ص 154

[14] الجوالي ،نجلاء خزعل فتحي عمر،(2005).تأثير استخدام جرع مختلفة وبفترات حمل مختلفة لعقار**Cyclophosphamide** على إحداث التشوهات في أجنة الفئران المهقاء **Mus musculus**.رسالة ماجستير ،كلية العلوم / فرع الحيوان /جامعة الموصل

[63] العبيدي، ندى مسلم علي ، (**2002**) بعض التاثيرات المناعية لجذور نبات السوس **Glycyrrhiza glabra** في الفئران البيض **Mus musculus** ، كلية التربية/ابن الهيثم، جامعة بغداد، رسالة ماجستير

[**60**] الطريحي ، منى نجاح حسن، **(2010)** تثبيط الفعالية التطفيرية لعقار السايكلوفوسفوامايد باستخدام مستخلص عرق السوس كلية العلوم/ جامعة بابل/ رسالة ماجستير

[**17**] مجيد ، سامي هاشم ومحمود ، مهند جميل. (1988) . النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي . مجلس البحث العلمي . الطبعة الاولى.

[70] Aburada, M.; Takeda, S.; Ito, E.; Nakamura, M. and Hosoya, E. (1983). Protective effects of juzentaihoto, dried decoctum of 10 chinese herbs mixture, upon the adverse effects of mitomycin C in mice. J. Pharmacobiodyn, 6: 1000- 1004

[33] Alekperov, U. K. (2002) . Plant antimutagens and their mixture ininhibition of genotoxic effect of xenobiotics and aging processes.Institute of Genetics , 2, 8-11

[54] Alkhawajah, A.; Larbi, E. B.; Jain S.; al-Gindan, Y. and Abahussain, A. (1992). Subacute toxicity of pentavalent antimony compounds in rats. *Hum Exp Toxicol*., 11: 283-288.

[2] Anderson ,(2002).Alkalyiting agents. Adapted from Medicinal-Chemistry / topics /Anti-cancer/ alkylating – agents. Can. Res

[32]Arase, Y.; lkeda, K.; Murashima, N.; chayama, K.; Tsubota, A.; Kida, I.; Suzuki, Y.; Saiton, S. ; Kobayashi, M. and kumada, H. (1997). The long efficacy of glycyrrhizin in chronic hepatitic C patients. *American Cancer Society*, 79: 1494-1498

[39] Bancroft J.D. and Stevens A. (1982). Theory and Practice of histological technigues.2nd edition. Churchill Livingstone. XIV+647pp. Am.Fam.Physician.,54(3): 986-992

[65] Beresford, T. (1999). Glycyrrhiza glabra and treatment of respiratory disorders. Interne

[23] Blach, J. F. and A. Phyllis. (1997). preseripition for Nutritional Healing. 2nd edn. Avery publishing Group, N. Y., U.S.A. p. 73 (cited by Langer, 1998).

[45] Bonnefoi, M.; asim, M.; Sauvagnac, P.; Burgat, V. and Braun, J. P. (1989) Liver enzyme changes in a Guinea-pig model of facial eczema (Sporidesmiotoxicosis). Enzyme, 42: 39-46

[1] Bristol- Myers, S. Com. (2003) . Cytoxan Package insert. Bristol-Myers Squibb Company. Princeton, Natio. J .

.

[43] Burtis, C. and Ashwood E.(1999):Clinical Enzymology: In tietz testbook of clinical chemistery (Burtis C. and Ashwood E. editers) 3rd ed. WB Saunders company, London. Vol(2):PPs477-480

[6] Chabner, B.A. ; Ryand P. D.P. ; Garcis, C. and Calaresi, P.(2001)Antineoplastic Agents (cited by) Goodman and Gilmans The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed. J.G. Harnan aLtd. U.K. pp: 612.

[18] Chakravarty, H.L. (1976). Plant Wealth of Iraq, A Dictionary of Economic Plant. Vol. 1. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Iraq. pp: 259-261

[27]Chung, J.G.; Chang, H. L. ; Lin, W.C.; Wang, H. H. Yeh, C.C.; Flung, C. F ,2000.). inhibition of N- acetyltransferase activity and DNA –2- Aminofluorene Adducts by glycyrrhizic acid in human colon tumour cells. Food and Chemical Toxicolog, 38: 163-172.

[61] Davis , D. C. (2007). Nutritional interaction credentialing ofMolecular targets for cancer prevention . Nutritional screen Res.208 ,73-92

[5] Davidson, N.; Khanna, S.; Kirwan, P. and Naftalin, N. (1990). Long term Survival after chemotherapy with cisplatinum Adriamycin and cyclophosphamide for carcinoma of the ovary:Clin. Oncol. Radiol.2:pp.206- 209

[64]Evans, W.C. (Editor). (1999). Trease and Evan's Pharmacognosy, 14th Ed. W.B.Saunders Company sphamide. Can. J. Physiol., pharmacal. 65: 467-471.

[15] Ford, M.; Delaney, k.; Ling, L.; Erickson, T. (2001). "Clinical Toxicology" W.B. Saunders Company. 6

[70] Frankel,S.;Reitman,S.& Sonnenwirth,A.C.(1970).Gradwohl´s Clinical laboratory method and diagnosis.7 th .ed. vol.2 Saint Louis .C.V.Mosby Company PP.1561-1564 .

[41] Goldberg, M.T. and Jaseply, P.D. (1987). Studies on the mechanism of action of dially sulfide effects of cyclopho Libmirde, eds NewYork, NY: McGraw Hill.

[9]Gorman, N. (1995). "Chemotherapy"in white, R. (ed.), Manual of small animal oncology.KCO company. Gluceestershire .pp.127-1600

[24] Grieve, M. (1995). Liquoria. Botanical.com, pp. 9.

[16]Gruenwald, J.; Brandler, T. and Jaenicke, C. (Editors). (1998). PDR for Herbal Medicines. 1st Ed. Medical Economics Company, U.S.A pp. 1244.

[40] Haen, P.J. (1995). Principles of Hematology. Edited by L. H. Young. W. B. Publishers, London

[19]Guslandi., M.(1985). Ulcer-healing drugs and endogenous prostaglandins. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol. 23: 395-402.

[4]Hasiet, C.; Chilvers,E.;Hunter,J.and Boon,N.(1999)."Davidson's Principle and Practice of Medicine. Sydney,18th ed. :pp.1057-1061

[62]Haraguchi, H.; H. Ishikawa; K. Misutani, Y. Tamura and T. Kinoshita. (1998). Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in Glycyrrhiza inflata. Bioorg. Med. Chem. 6: 339-347.

[29] Kharazmi, C.A, concy , B. and Randoni B.B (1997). The antimalarian activity of glycyrrhizic acid. American J. of Medicin 86: 238-242.

[37]Langer, R. E. (1998). Herb of the Month: Licorice (Glycyrrhiza glabra). Snow bound herbals http://www . Sbherbals com. PP.2.

[47]Laslett,T. (1995).Xenobiotical. 25(10):1031-9 .

[46] Liu, J. ; Shen, H.M. and Namong, C.(2000). *Salvia miltiorrhiza* inhibits cell growth and induces apoptosis in human hepatoma Hep-G2 cells. Cancer Letters, 153:85-93

[3]Lopez-Lazaro, M. ; Galvor, M. ; Martin-Lordero, C. and Ayuso, M.J. (2001). Cytotoxicity of flavonoids on cancer cell lines : Structure-activity relationship study . Curr. Med. Chem., 1:82-11

[8]Matsumoto, T.; Tanaka, M.; Yamada, H and Cyong, J. C. (1996). Effect of licorice root on carrageenan-induced decrease in immune complexes clearance in mice. Journal of Ethnopharmacology, 53: 1- 4

[13] McEvoy, G. (2002). American hospital formulary service drug information. Bethesda, MD: American Society of Health – System Pharmacists, Inc. 960

[38]Metcalf, J. A.; Gallin, J. I.; Nanseef, P. w. M. and Root, R. K. (Editors)(1986). Laboratory Manual of Neutrophil Function. Raven Press, New York. pp: 84- 90.

[12]Micromedex, T. (2002). Drug Information for the Health Professional. 22nd ed. (1) Pharmacoepial, Inc. 1102.

[7] Michael ,C.(2004) Chemotherapy of cancer .American College of Rhematology . 2th ed.NewYourk.pp.127.

[21]Mistcher, L. A. (1980). Antimicrobial agents from higher plants antimicrobial isoflavanoids and related substonces from *Glycyrrhiza glabra* L. Var. Typica. J. Nat. prod. 43: 259-269.

[28] Mowrey, D. (1986). The scientific Validation of Herbal Medicine.
(Cited by) Beresford, T. (1999). Glycyrrhiza glabra and Treatment of Respiratory . Disorders.

[71]Murray, N. D. (1996). *Encyclopedia of Nutritional Supplements*. Internet. www.immune CNS. Htm

[49]Newall, C.A.; Anderson, L.A. and Phillipson, J.D. (Editors)(1996). Herbal Medicines The Pharmaceutical Press, London, pp:183- 186.

[58] Owen, RW.; Giacosa, A.; Hull, WE.; Haubner, R.; Spiegelhalder, B. and Barstch, H. (2000). Theantioxidant/ anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. Eu. J. Cancer. 36 (10):1235-47.

Paul,D.;Michael C.P.(2001).Hepatotoxicity of chemotherapy ;6(2):162-17616 .
[11

[35] Perry, L. M. and M. Judith (1980). Medicinal Plants of East and Southest Asia. The MIT prers pp. 217.

[34] Pompei, R.,flore ,O.,marccialis, M.A.,Pani,A.and lobbo, B.(1980).Glycyrrhizic acid inhibits the activity of estrogen metabolism. Nature .

[26] Reynolds, J. E. F. and A. B. prasad (Eds). (1982). In : Martindale: The Extra pharmacopeia 28th edn., The pharmaceutical press, London. PP. 691-692.

[69] Roitt, I. ; Brostoff, J. and Male, D. (Editors)(1998). Immunology. 5th edition, Mosby Ltd., UK. pp: 288-343

[66] Roitt, I.M. and Rabson, A. (2000). Really Essential Medical Immunology. Blackwell Science, London. pp: 186.214

[67] Rosenberg, H.F. and Gallin, J.I. (1999). Inflammation, In: *Fundamental Immunology*. Edited by W. E. Paul. Lipincott, Raeni press. pp: 1060 [53] Saber, A., and Dehlawi, G. (1998). Cyclophosphamide induced histopathological alteration in the illeum of the saudi Toad Bufo TIBAMICUS. Bio, Department. Umm AL- Qura university, Makkah, Saudia Arabia

[55] Saldanha, A. C.; Romero, G. A.; Guerra, C.; Merchan-Hamann, E. and Macedo, V. O. (2000). Comparative study between sodium stibogluconate BP 88 and meglumine antimoniate in cutaneous leishmaniasis treatment. II. Biochemical and cardiac toxicity. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 33: 383-388. (Abstract).

[51] Schimmer, O. and H. Eschelbach. (1997). Esculetin in Alchemilla speciosa: Identification and antimutagenic properties. Pharmazi 52(6): 476-478.

[34] Shetty, T. K. ; Satav J.G. and Nair, C. K. (2002). Protection of DNA and microsomal membrane in vitro by Glycyrrihza glabra L against gamma irradiation. Phytother. Res. 16, 576-578.

[68 **] Snow, J. M. (1996). *Glycyrrhiza glabra L.* (Legumincae). Protocol Journal of Botanical Medicine1: 9-14**

.[44] Sood, R. Edition. (1985). Haematology for Students and Practitioners. Jaypee Brothers, India, pp: 243- 320

Trease, G. E. and Evans, W. C. (Editors)(1983). Pharmacognosy, Xll Edition. Bailliere Tindall, London. pp. 812.

[22]Tawata, M.; Yoda, Y.; Aida, K.; Shindo, H.; Sasaki, H.; Chin, M. and Onaya, T. (1990). Anti-platelet aqction of GU-7, A3- argleoumarin derivative, purified from Glycyrrhiza radix. Planta Med. 56, 259- 263.

[25]Tyler, V.E. ; Brady, L. R. and Rabbers, J.E. (Editor)(1988). Pharmacognosy, lX Edition. Lea and Fabiger, Philadelphia pp: 519.

.

[30] Utsunomiya, T.; Kobayashi, M.; Pollard, R.B. and Suzuki, F. (1997). Glycyrrhizin, an active component of licorice roots reduces morbidity and mortality of mice infected with lethal doses of influenza virus. Antimicrobial Agents and chemotherapy, 41: 551- 556.

[31] Utsunomiya, T.; Kobayashi, M. I to, M.; Pollard, R. B. and Suzuki F. (2000). Glycyrrhizin improves the resistance of MAIDS Mice to opportunistic infection of Candida albicans through the modulation of MAIDS-associated type 2 T- cell Responses. Clinical immunology, 95: 145- 155.

[15] Venkatesan, N. and Chandrakasan, G. (1995). Mollecular cell biochemistry. 142 (1) 79 – 87.

[48]Vermeulene, N.P.E.; Bessems, J.G.N. and Van de Straal, R. (1992). Molecular aspects of paracetamol-induced hepatotoxicity and its mechanism-based prevention. Drug Metab. Rev., 24: 367-407.

[52]Wang GS, Han ZW. (1993). The protective action of Glycyrrhiza flavonoids against carbon tetrachloride hepato toxicity in mice. Yao Hsueh Hsueh pao 28: 572-576.

[56] Wang ,Z.Y. and Nixon ,D.W. (2001) : Licorice and cancer. Nutr Cancer; 39 : 1-11

[50] Webb, T.E.; P.C. Stromberg; H. Abou-Issa; R.W. Curley and t. Moeschbetger. (1992). Effect of dietary soybean and Licorice on male F344 rat: an integrated. Nutr. and Cancer. 18(3): 215-230.

Effect of aqueous extract of *Glycerrhiza glabra* in biochemical and immunological parameters in white Male rats treated with Cyclophosphamide

Ihsan Resan Ibrahim **Khalil Jadou AL-phetlawi**

Department of Biology / Faculty of Education / University of AlQadisiya

Abstract

This study was conducted to determine the role of extract of *Glycerrhiza glabra* to reduce the negative side effects of cyclophosphamide in some biochemical and immunological parameters. To study the effect of extract after treatment, fifteen of White male rats divided into three equal groups first group was injected with distilled water , the second group was injected IP with cyclophosphamide with single dose (50 mg / kg) for 14 days weather the third group was also given the cyclophosphamide with single dose (50 mg / kg) for 14 days then treated animals were given extract at dose (400 mg / kg) for 14 days. Samples of blood were collected for calculate WBCs and phagocytosis , and serum isolated for measurment of the the enzymes GPT, GOT, ALP, glucose, urea and creatinine , the results showed a significant increase $p<0.05$ in enzymes GPT, GOT, ALP, and creatinine while the results appear decrease in the WBCs ,phagocytic index, glucose and urea level in treated group with drug compared with the control group While the group treated with extract after drug caused significant decrease $p<0.05$ in enzymes GPT, GOT, ALP, and creatinine .and caused significantly increase in the WBCs ,phagocytic index,glucose and urea level . so that give us conculsion the ability of aqueous extract of *Glycerrhiza glabra* to reduce the effects of drug cyclophsphamide