

التأثيرات الوقائية المحتملة لمستخلص أوراق الزيتون على السمية الكبدية-الكلىة المستحثة بنيتريت الصوديوم في ذكور الأرانب

The Potential Protective Effects of Olive Leaves Extract on Sodium Nitrite Induced Hepato-renal Toxicity in Male Rabbits

محمد عمر الباشا²
قسم علم الحيوان، كلية العلوم العجيلات
جامعة الزاوية، ليبيا
m.albasha@zu.edu.ly

عزب السيد عزب^{1*}
قسم وظائف الأعضاء، كلية الطب البشري
جامعة صبراتة، ليبيا
azabelsayed@sabu.edu.ly

فاطمة أبو بكر السائح³
قسم علم الحيوان، كلية العلوم العجيلات
جامعة الزاوية، ليبيا
f.alsaih@zu.edu.ly

الصوديوم+ المستخلص المائي لأوراق الزيتون عن تحسن في أنسجة الكبد والكلية. في الختام، ووفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة، فإن المستخلص المائي لأوراق الزيتون بجرعة 2.21 مل/كجم من وزن الجسم/يوم له تأثير وقائي ضد السمية الكبدية-الكلىة التي يسببها نيتريت الصوديوم في ذكور الأرانب.

الكلمات المفتاحية: المستخلص المائي للأوراق الزيتون، نيتريت الصوديوم، وظائف الكبد والكلية، أنسجة الكبد والكلية، ذكور الأرانب.

Abstract

The present study aimed to investigate the potential protective effects of the aqueous extract of olive leaf against hepato-renal toxicity induced by sodium nitrite in male rabbits by studying some physiological, biochemical, and histological changes. 24 adult male rabbits were used in this study and divided into 4 groups (6 rabbits for each), and treated daily for 8 weeks as follows: the first group served as a control, the 2nd group received orally the aqueous extract of the olive leaf at a dose of 2.21 ml/kg/BW by gavage tube, the 3rd group received a feed containing sodium nitrite at a concentration of 0.4%, the 4th group received orally the aqueous extract of the olive leaf at a dose of 2.21 ml/kg/BW by gavage tube and received a feed containing sodium nitrite at a concentration of 0.4%. At the end of the experiment, blood was drawn from the rabbit's ear vein in all groups for assessment of serum biochemical parameters, and specimens from the liver and kidney of rabbits were collected for histological examination. The results obtained from this study showed a significant increase ($P<0.001$) in the serum activities of liver enzymes (ALT, AST, ALP, and GGT), and concentrations of urea, creatinine, uric acid, sodium, and potassium ions, while there was a significant decrease ($P<0.001$) in serum concentrations of total protein and albumin, and there was no significant difference ($P>0.05$) in serum the concentration of globulin and the ratio of albumin/globulin in the group treated with sodium nitrite only when compared with the control group. The group treated with sodium nitrite+the aqueous extract of olive leaf recorded a significant decrease ($P<0.01$) in the serum activities of liver enzymes (ALT, AST, ALP, and GGT), and concentrations of urea, uric acid, and sodium, and potassium ions, and creatinine at ($P<0.05$), while it showed a significant increase ($P<0.01$) in the serum concentrations of total protein and albumin, and there was no significant difference ($P>0.05$) in serum the concentration of globulin and the ratio of

المخلص

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم التأثيرات الوقائية المحتملة للمستخلص المائي لأوراق الزيتون ضد السمية الكبدية-الكلىة المستحثة بنيتريت الصوديوم في ذكور الأرانب وذلك من خلال دراسة بعض المعايير الفسيولوجية والكيموحيوية والتغيرات النسيجية. استخدم في هذه الدراسة 24 من ذكور الأرانب البالغة، وقسمت إلى 4 مجموعات (6 أرانب لكل منها)، وتمت معاملة يومية لمدة 8 أسابيع وعلى النحو التالي: المجموعة الأولى: بقيت كمجموعة ضابطة، المجموعة الثانية: أعطيت المستخلص المائي لأوراق الزيتون عن طريق الفم بجرعة 2.21 مل/كجم من وزن الجسم بواسطة أنبوب التجريع، المجموعة الثالثة: أعطيت غذاء يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4%، المجموعة الرابعة: أعطيت المستخلص المائي لأوراق الزيتون عن طريق الفم بجرعة 2.21 مل/كجم من وزن الجسم بواسطة أنبوب التجريع ثم أعطيت غذاء يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4%.

في نهاية التجربة سحب الدم من وريد أنز الأرانب في كل المجموعات لتقييم المعايير الكيموحيوية في مصل الدم. وجمعت عينات من كبد وكلية الأرانب للفحص النسيجي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة ارتفاعاً معنوياً ($P<0.001$) في نشاطات إنزيمات الكبد (ALT, AST, ALP, وGGT)، وتركيزات اليوريا، الكرياتينين، حمض البوليك، وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل الدم، بينما حدث انخفاض معنوي ($P<0.001$) في تركيزات البروتين الكلي والألبومين في مصل الدم. ولم يكن هناك أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الجلوبيولين ونسبة الألبومين/الجلوبيولين في مصل المجموعة المعاملة بنيتريت الصوديوم فقط عندما قورنت بالمجموعة الضابطة.

سجلت المجموعة المعاملة بنيتريت الصوديوم+ المستخلص المائي لأوراق الزيتون انخفاضاً معنوياً ($P<0.01$) في نشاطات إنزيمات الكبد (ALT, AST, ALP, وGGT)، وتركيزات اليوريا، حمض البوليك، وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم، وعند ($P<0.05$) في تركيز الكرياتينين في مصل الدم، بينما أظهرت ارتفاعاً معنوياً ($P<0.01$) في تركيزات البروتين الكلي والألبومين في مصل الدم، ولم يكن هناك أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الجلوبيولين ونسبة الألبومين/الجلوبيولين في مصل دم هذه المجموعة عندما قورنت بمجموعة نيتريت الصوديوم فقط.

كشفت القطاعات النسيجية في كبد المجموعة المعاملة بنيتريت الصوديوم أن الخلايا الكبدية أظهرت تورماً غائماً واحتواء سيتوبلازمها على فجوات دهنية وأومائية. أيضاً حدوث اتساع واحتقان في الوريد المركزي والوريد البابي، زيادة سمك بطانة الوريد المركزي وجدر الوريد البابي والقنوات الصفراوية والشريان الكبدي، وضيق في الجيبينات الدموية واحتوائها على كريات دم حمراء، بالإضافة إلى وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء وتليف في المنطقة البابية. بينما كشفت القطاعات النسيجية في كلى المجموعة المعاملة بنيتريت الصوديوم عن انكماش في الكبيبات الكلىة واتساع في محافظ بومان، وحدث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات مليجي، وزيادة سمك جدرها، وجود رواسب بروتينية في تجاويف الأنابيب الكلىة، وحدث نزف دموي وتوسع وارتشاح خلايا الدم البيضاء بين الأنابيب البولية، وكذلك وجود نخر وتكون فجوات في سيتوبلازم الخلايا المبطنة للأنابيب البولية وأيضاً وجود Edema في بعض الأماكن بالقشرة الكلىة. بينما كشفت نتائج الفحص النسيجي للمجموعة المعالجة بنيتريت

يسبب نيتريت الصوديوم السرطان، والسمية الكبدية، والسمية الكلوية، وتلف الأنسجة، والالتهاب، والضعف الوظيفي عند التعرض لجرعات عالية (Sherif & Al-Gayyar, 2013; Al-Gayyar *et al.*, 2016; Uslu *et al.*, 2019).

إن نعم الله تعالى على خلقه كثيرة لا تعد ولا تحصى، ومن هذه النعم وجود نباتات طبية، والتي تعد غذاء ومصدر طبي لمختلف الأمراض؛ لاحتوائها على أجزاء نباتية مكونة من مواد كيميائية ذات فائدة وأهمية كبيرة من الناحية الفسيولوجية للإنسان والحيوان (Surh, 2003). وقد توجهت معظم الدراسات الحديثة لدراسة النباتات الطبية؛ وذلك من أجل إيجاد دور لمثبطات الأكسدة في هذه النباتات للوقاية من الضرر التأكسدي الناتج من تفاعلات الجذور الحرة في عدد من الحالات المرضية، وبالتالي حماية الوظيفة الحيوية للخلية (Morales *et al.*, 2006).

ونظرًا لامتلاك الوطن العربي ثروة طبيعية من الأعشاب الطبية والعطرية، لذا فهي تستخدم في الوصفات الشعبية (علي، 2021)؛ لعلاج العديد من الأمراض والسرطانات في العالم والتي تنتج من عدة أسباب أهمها التعرض للمواد الكيميائية ومنها المضادات الغذائية Food additives ومن ضمنها المواد الحافظة والمنكهات (De & De, 2019)، مما أدى إلى الاهتمام بزراعتها وإنتاجها واستخراج المواد الفعالة منها؛ لاستخدامها في إنتاج الأدوية بدلًا من المواد الكيميائية ذات التأثيرات الجانبية الضارة (علي، 2021)، والتي قد تظهر تأثيراتها بصورة تراكمية بمرور الوقت (Al-awad & Jaccob, 2020). في الوقت الحاضر أشارت دراسة إلى وجود أكثر من 5000 نوع من النباتات الطبية والتي استخدمت لأغراض علاجية أو كمادة خام لإنتاج الأدوية، من خلال دورها الفعال كمضادات الأكسدة (Adebayo *et al.*, 2010).

ومن بين هذه النباتات الطبية شجرة الزيتون *Olea europaea L.* التي تنتمي إلى العائلة الزيتونية *Oleaceae* والتي تتبع الجنس (Al-Olea) (Enazi *et al.*, 2015). وتعد شجرة الزيتون من النباتات الزيتية دائمة الخضرة، والتي أقسم الله بها في القرآن الكريم بقوله تعالى ﴿وَالزَّيْتُونَ وَالزَّيْتُونَ (1) وَطُورِ سِينِينَ (2)﴾ (الخفاجي، 2014). وموطنها حوض البحر الأبيض المتوسط وآسيا وأجزاء من أفريقيا (Abdel-Hamid *et al.*, 2011). وقد استخدمت أوراق الزيتون على نطاق واسع في العلاجات التقليدية في بلدان أوروبا والبحر الأبيض المتوسط (Mehanna *et al.*, 2016)، مثل اليونان، إسبانيا، إيطاليا، فرنسا، تركيا، المغرب وتونس؛ لعلاج الجروح، الحمى، مرض السكر، النقرس، تصلب الشرايين وارتفاع ضغط الدم منذ العصور القديمة (Al-Sowayan & Mousa, 2014; Al-Attar & Shawush, 2015).

تتميز أوراق شجرة الزيتون بخصائصها المضادة للأكسدة والخافضة لضغط الدم وسكر الدم والتأثيرات الواقية للقلب والأوعية الدموية والكلية والكبد، وبنشاطها المضاد للميكروبات وخصائصها المضادة للالتهابات. تحتوي أوراق الزيتون على سيكورويد مثل الأولوروبين والليجوسستروسايد وثنائي ميثيل أولوروبين والأوليسايد والفلافونويدات بما في ذلك الأبيجينين والكامفيرول واللوتولين بالإضافة إلى المركبات الفينولية مثل حمض الكافيك والتايرسول والهيدروكسي تايروسول (Abed, 2017). أظهرت الدراسات التجريبية قدرة أوراق الزيتون لعلاج وتخفيف حدة الأمراض المختلفة، والتغيرات الوظيفية والكيموحيوية والنسجية المرضية (Omagari *et al.*, 2010; Grawish *et al.*, 2011; Zari & Al-Attar, 2011; Wainstein *et al.*, 2012; Al-Attar & Abu Zeid, 2013; Al-Attar & Shawush, 2014, 2015; Kumral *et al.*, 2015; Al-Attar *et al.*, 2016, 2017; Al-Attar & Alsalmi, 2019b).

2. أهداف الدراسة Objectives of the study

شجرة الزيتون هي واحدة من النباتات الطبية التي لها أثر كبير في علم الصيدلة والأدوية لسنوات عديدة. وتعتبر أوراق الزيتون مادة خام رخيصة متوفرة في الفصول المختلفة في ليبيا، ويمكن استخدامها كمصدر مفيد للمركبات الفينولية عالية القيمة المضافة. وعلى ضوء ما تقدم ونظرًا للاستخدام الواسع للفلافونويدات في معالجة الكثير من الأمراض فقد استهدفت الدراسة الحالية لمعرفة تأثيرات المستخلص المائي لأوراق الزيتون على السمية الكبدية الكلوية المستحثة بنيتريت الصوديوم. ولذلك، كان الهدف من هذه الدراسة التعرف على التأثيرات الضارة الوظيفية والنسجية لنيتريت الصوديوم على الكبد والكلية في ذكور الأرانب، وتقييم التأثيرات الوقائية المحتملة للمستخلص المائي لأوراق الزيتون ضد التغيرات الوظيفية

albumin/globulin, in this group when compared with that of sodium nitrite only. Histological sections of the liver of the sodium nitrite treated group revealed that hepatocytes appeared a cloudy swelling, and their cytoplasm contained fatty and/or hydropic vacuoles. Also, dilatation and congestion in the central vein and portal vein, thickening of the lining of the central vein, the walls of the portal vein, bile ducts, and hepatic artery, and narrowing in the blood sinusoids with the presence of red blood cells, in addition, the presence of leukocytic infiltration and fibrosis in the portal area. While histological sections of the kidney of the sodium nitrite treated group revealed shrinkage of the renal glomeruli and dilatation in Bowman's capsules, congestion, and hemorrhage in the blood vessels near the Malpighian corpuscles, and an increase in the thickness of its wall. Presence of protein casts in the lumen of renal tubules, hemorrhage, dilatation and leukocytic infiltration between the urinary tubules, as well as the presence of necrosis and vacuolation in the cytoplasm of the cells lining the urinary tubules, as well as the presence of edema in some places in the renal cortex. While histological examination findings of sodium nitrite + an aqueous olive leaf extract-treated group revealed an improvement in liver and kidney tissues. In conclusion, according to the results obtained from this study that the aqueous extract of the olive leaf at a dose of 2.21 ml/kg/BW/day has a protective effect against hepato-renal toxicity induced by sodium nitrite in male rabbits.

1. المقدمة Introduction

المضادات الغذائية هي مواد تضاف إلى الغذاء وتستخدم لأغراض مختلفة، مثل الحفظ والتلوين وتعزيز الغذاء (Al-Shinnawy, 2009). الجزء الأكبر من المضادات الغذائية المستخدم في الغذاء هو المواد الحافظة. تبطئ المواد الحافظة الغذائية نمو الكائنات الحية الدقيقة كونها المسببة للأمراض في البشر كالفطريات والبكتيريا. حيث تتكون المواد الحافظة الغذائية من مضادات الميكروبات التي تثبط نمو البكتيريا أو الفطريات ومضادات الأكسدة التي تثبط أكسدة المركبات المكونة للغذاء. فالاستخدام الواسع للمواد الحافظة الغذائية يسبب مشاكل خطيرة للصحة (Rasgele & Kaymak, 2013). ويعد النيتريت من المواد الحافظة الرئيسية والذي يستخدم بشكل أملاح أو أحماض حرة (Helal *et al.*, 2008). تضاف أملاح النيتريت إلى اللحوم والدواجن والأسماك بتركيز منخفضة كوسيلة للحفاظ منذ عدة سنوات (Sherif & Al-Gayyar, 2013).

أصبح حفظ اللحوم بالنيتريت أو النترات أمرًا مهمًا للبشرية في التحكم في تلف اللحوم وفي إنتاج منتجات لحوم آمنة ومستساغة مع خصائص حفظ جيدة حتى في درجة الحرارة المحيطة. لنيتريت الصوديوم (50 جزء في المليون) دور في منتجات اللحوم من خلال تثبيط اللون الوردي للحوم وتعزيز نكهة منتجات اللحوم أيضًا، وله تأثير على كلوستريديوم بوتولينوم *Clostridium botulinum* عن طريق تثبيط إنتاج السموم (Saad *et al.*, 2013). ومن المحتمل جدًا أن يؤدي استهلاك مثل هذه الأطعمة المحفوظة بتركيز عالٍ من النيتريت من قبل البشر إلى تعرضهم لأضرار شديدة (Adewale *et al.*, 2019). قد يتفاعل نيتريت الصوديوم كمادة مضافة للغذاء مع أمينات الأطعمة الموجودة في المعدة وتنتج النيتروز أمين Nitrosamine أو أعداد كبيرة من الجذور الحرة. ومن المعروف أن هذه الجذور الحرة تسبب الإجهاد التأكسدي، والتي يمكن أن تكون ضارة لمختلف الأعضاء بما في ذلك الكبد والكلية (Aboulgasem *et al.*, 2015).

كما أن نيتريت الصوديوم يتفاعل مع الهيموجلوبين في الدم لتكوين الميثيموجلوبينيميا Methaemoglobinaemia، لذلك يؤثر في عملية تكوين الدم. أي أنه يقلل الهيموجلوبين القادر على نقل الأكسجين (El-Nabarawy *et al.*, 2020)، يمكن تحويل نيتريت الصوديوم إلى أكسيد النيتريك الذي يسبب ارتخاء العضلات الملساء للأوعية الدموية وبالتالي يؤثر على الكبيبات والأنابيب الكلوية مسببًا توسع الأوعية ومن ثم نقص الأكسجة الخلوية والتليف متبوعًا بالموت (Al-Hiti *et al.*, 2018; Arnold *et al.*, 2020).

الزيتون بجرعة 2.21 مل/كجم من وزن الجسم ثم أعطيت علف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% لمدة 8 أسابيع.

3.4.3 جمع عينات الدم والأنسجة Collection of the blood and tissues samples

بعد مرور 24 ساعة من عملية التجريع الأخيرة، تم سحب الدم من وريد الأذن الحافي Marginal ear vein. حفظ الدم في أنابيب لا تحتوي على مادة مانعة للتخثر لمدة 30 دقيقة بعدها وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة، وبسرعة (3000 دورة/الدقيقة) لغرض الحصول على مصل الدم ولإجراء التحاليل الكيموحيوية، وبعدها تم ذبح الأرانب وتشريحها وتم استئصال الكبد والكلية بعد إزالة الأنسجة الدهنية والرابطة المحيطة بها، وأخذت عينات من كل منهما ثم وضعت في علب بلاستيكية تحتوي على فورمالين بتركيز 10% وحفظت بدرجة حرارة الغرفة لحين إجراء القطاعات النسيجية.

3.4.3.1 تقدير المعايير الكيموحيوية في مصل الدم Estimation of serum biochemical parameters

تم قياس نشاطات إنزيمات ALT وAST في مصل الدم وفقاً لطريقة (Bergmeyer & Horder, 1980)، وتم قياس نشاط إنزيم ALP وفقاً لطريقة (Kind et al., 1980)، أما إنزيم GTT فتم قياسه طبقاً لـ (Szas, 1976).

3.4.3.2 تقدير تركيزات البروتينات (Glob, Alb, TP)، ونسبة A/G في مصل الدم

تم تقدير تركيز البروتين الكلي باستخدام طريقة بايورييت Biuret method (Weichselbaum, 1946)، أما تركيز الألبومين فتم تقديره باستخدام طريقة بروموكريسول الأخضر (Doumas & Watson, 1971; Webster, 1974)، وتم حساب تركيز الجلوبيولين بالاعتماد على المعادلة التي ذكرها (Tietz, 1999) كما يلي:

$Globulin\ Conc. = Total\ protein\ Conc. - Albumin\ Conc.$
ونسبة الألبومين/الجلوبيولين فقد تم حسابها طبقاً للمعادلة التالية:
 $A/G = Albumin / Globulin \times 100$

3.4.3.3 تقدير تركيزات (اليوريا، الكرياتينين، حمض البوليك) في مصل الدم

تم قياس تركيز اليوريا في مصل الدم باستخدام الطريقة الإنزيمية (Enzymatic method (Fawcett & Scott, 1960)، أما تركيز الكرياتينين في مصل الدم فقد تم قياسه باستخدام الطريقة اللونية Colorimetric method وذلك من دون ترسب البروتين وفقاً لـ (Bartels et al., 1972). وتم قياس تركيز حمض البوليك في مصل الدم باستخدام الطريقة الإنزيمية Enzymatic method وفقاً لـ (Fossatti et al., 1980).

4.1.3.4.3 تقدير تركيزات الإلكتروليتات (K^+ , Na^+) في مصل الدم

تم تقدير تركيز أيونات الصوديوم والبوتاسيوم في المصل باستخدام الطريقة اللونية Colorimetric method وفقاً لـ (Maruna & Trinder, 1958).

2.3.4.3 الدراسات النسيجية Histological Studies

بعد جمع عينات الدم حسب الطريقة المذكورة سابقاً، وبعد ذبح الأرانب وتشريحها تم أخذ عينات من الكبد والكلية وضعت في محلول التثبيت (فورمالين 10%) إلى حين البدء في المعالجة النسيجية. بعد الانتهاء من عملية التثبيت يتم أخذ قطع صغيرة من كل عضو لإجراء المعالجة عليها وتحضير قطاعات نسيجية منها حسب التالي:

تغسل العينات النسيجية بالماء الجاري عدة مرات لإزالة أية بقايا للتثبيت. ثم تعرض الأنسجة لتدرج كحولي صاعد (70%، 80%، 90%، 95%، 100%) وتتراوح المدة ما بين نصف ساعة إلى ساعة لكل خطوة أما إجراء خطوة الكحول المطلق يكون مرتين؛ للتأكد من الإزالة الكلية للماء. تنقل الأنسجة إلى الزايلين حيث تروق عينات الأنسجة قبل قطعها مرتين، مدة كل منها حوالي 15-30 دقيقة؛ لإزالة آثار الكحول والسماح بالتشرب مع شمع البرافين. ثم يوضع النسيج في وعاء يحتوي خليطاً من الزايلين وشمع البرافين المنصهر بنسبة 1:1 لكي يتاح للشمع تخلل النسيج، بامتزاجه مع الزايلين الموجود بين الخلايا، ثم ينقل النسيج إلى شمع البرافين المطلق المنصهر داخل الفرن عند درجة حرارة (50-55 م°) ثلاث مرات تتراوح مدة كل منها ما بين ساعة ونصف الساعة، حيث يملأ الشمع جميع فراغات

والنسيجية لنيتريت الصوديوم المسبب للسمية الكبدية-الكولية في ذكور الأرانب.

3. المواد وطرق العمل Materials and Methods

1.3 الحيوانات المستخدمة في الدراسة

تضمنت هذه الدراسة استخدام 24 ذكراً من الأرانب البالغة بأعمار تتراوح ما بين (7-5 أشهر) وتتراوح أوزانها ما بين (1500-2000 جم). وقد تم الحصول على الأرانب من الأسواق المحلية في المنطقة الغربية، ليبيا. تم إيواءها في البيت الحيواني التابع للمركز الليبي للبحوث الطبية، الزاوية، ليبيا وزعت الأرانب بصورة عشوائية، ووضعت في أقفاص معدنية فردية نظيفة ومعقمة أعدت لهذا الغرض. مزودة بمعالف ومشرب خاصة لتوفير العلف والماء بشكل حر Ad libitum، فرشت أرضية الحجر تحت الأقفاص بنشارة خشب نظيفة وكانت تُجرى عملية تنظيف وغسل الأقفاص يومياً. وقد تُركت الأرانب لمدة عشرة أيام لغرض التأقلم على ظروف التجربة؛ ولضمان خلوها من أي أمراض. إذ خضعت جميع الحيوانات إلى ظروف مختبرية متشابهة من ناحية التهوية والإضاءة (12 ساعة إضاءة- 12 ساعة ظلام) ودرجة الحرارة (18-22 م°) وتحت درجة رطوبة عادية (60-70%) وقدم لها العلف الذي تم جلبه من مصنع النورس، الزاوية، ليبيا والمكون من (ذرة، شعير، نخالة، صويا 48%، بريمكس أرانب 4%)، وتم فحص الأرانب للتأكد من سلامتها وخلوها من الأمراض.

2.3 الثبات المستعمل في الدراسة

استخدمت في هذه الدراسة الأوراق الخضراء لنبات الزيتون، التي تم جمعها من أشجار الزيتون من مزرعة في مدينة العجيلات، ليبيا في الفترة ما بين 2020/11/12 ف إلى 2021/1/12 ف.

3.3 المواد الكيميائية Chemical Materials

تم الحصول على مادة نيتريت الصوديوم $NaNO_2$ من شركة Carlo Erba Reagents الفرنسية. استخدم التركيز 0.4% وذلك بخلطه مع العلف (Ibrahim et al., 2009). والمواد الكيميائية الأخرى المستخدمة هي: الكحول، الزايلين، الفورمالين، الماء المقطر، شمع البرافين، صبغة الهيماتوكسيلين والأويسين.

4.3 طرق العمل Working Methods

1.4.3 تحضير المستخلص المائي لأوراق الزيتون

Preparation of the aqueous extract of olive leaves

حُضِر المستخلص المائي لأوراق نبات الزيتون *Olea europaea L.* حسب طريقة (Zari & Al-Attar, 2011)، حيث أُخذت 10 جرامات من أوراق الزيتون الخضراء وغُسلت بالماء المقطر عدة مرات؛ لإزالة الأتربة والغبار العالق بها، ثم وضعت بين ورقتي ترشيع لامتصاص ماء الغسيل وبعد ذلك وضعت في الخلاط الكهربائي مع إضافة لتر واحد من الماء المقطر لها، ثم خلطت لمدة 15 دقيقة. تم ترشيع المستخلص بعدة طبقات من الشاش الطبي لكي نضمن إزالة الأجزاء غير المسحوقة بشكل جيد، وكذلك ترشيحه بورق ترشيع وذلك للتخلص من الألياف النباتية لكي نضمن الحصول على مستخلص خام، ووضع الراشح في قنينة معقمة لحين استخدامه. تم إعداد هذا المستخلص بشكل يومي طول مدة التجربة. أعطى المستخلص عن طريق الفم بواسطة محقنة طبية سعة (10 مل) مزودة بأداة تجريع على هيئة أنبوبة معدنية رفيعة ومعقوفة الشكل.

تم إعطاء الجرعة بناءً على وزن الأرنب 2.21 مل/كجم من وزن الجسم، حيث يتم وزن الأرانب بشكل يومي.

2.4.3 تصميم التجربة Experimental Design

استخدم في هذه التجربة 24 أرنباً ووزعت إلى أربعة مجموعات وأعداد متساوية بواقع 6 ذكور لكل مجموعة وكما يلي:

- المجموعة الأولى (المجموعة الضابطة): عوملت أرانب هذه المجموعة بماء شرب عادي وعلف عادي لمدة 8 أسابيع.
- المجموعة الثانية (مجموعة مستخلص أوراق الزيتون): أعطيت حيوانات هذه المجموعة ماء شرب عادي وعلف عادي وجرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بجرعة 2.21 مل/كجم من وزن الجسم بالتجريع عن طريق الفم لمدة 8 أسابيع.
- المجموعة الثالثة (مجموعة نيتريت الصوديوم): تم معاملة حيوانات هذه المجموعة بماء شرب عادي وعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% لمدة 8 أسابيع.
- المجموعة الرابعة (مجموعة مستخلص أوراق الزيتون + نيتريت الصوديوم): جرعت أرانب هذه المجموعة بالمستخلص المائي لأوراق

analysis of variance, وتم التعبير عن النتائج بالمتوسط \pm الانحراف المعياري، وتمت مقارنة الفروقات بين متوسطات القيم والانحراف المعياري باستخدام اختبار دنكان المتعدد *Duncan's multiple range test*. ويعتبر مستوى الاحتمالية ($P < 0.05$, $P < 0.01$) في كل الاختبارات الاحصائية معنوياً.

4. النتائج Results

1.4 الدراسة الكيموحيوية Biochemical Study

اشتملت الدراسة الحالية على قياس بعض المعايير الكيموحيوية المتمثلة بوظائف الكبد والكلية في ذكور الأرانب البالغة التي تمت معاملتها حيث شملت إنزيمات الكبد (ALT, AST, ALP, GGT) وتركيزات البروتين الكلي، الألبومين، الجلوبيولين ونسبة الألبومين/الجلوبيولين، والمعايير المتعلقة ببعض وظائف الكلية وتشمل اليوريا، الكرياتينين، حمض البوليك وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم وكما يلي:

1.1.4 التغيرات في نشاط بعض إنزيمات الكبد لذكور الأرانب البالغة

1.1.1.4 نشاط إنزيم الالانين الناقل لمجموعة الأمين ALT في مصم الدم
تُظهر النتائج كما في الجدول (1) والشكل (1) ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.001$) في نشاط إنزيم ALT (U/L) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز (0.4%) (3.09 ± 91.33) عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة الطبيعية (2.24 ± 49.17). في حين تُظهر مجموعة ذكور الأرانب التي جُرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون (2.21 مل/كجم من وزن الجسم) وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم انخفاضاً معنوياً ($P < 0.01$) في نشاط إنزيم ALT (2.02 ± 69.17) عند مقارنتها بمجموعة نيتريت الصوديوم (3.09 ± 91.33). بينما لا يوجد فرق معنوي ($P > 0.05$) في نشاط إنزيم ALT في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (2.01 ± 51.67) مقارنة بالمجموعة الضابطة (2.24 ± 49.17).

جدول 1: تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على نشاط الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين، الفوسفاتيز القاعدي وجاما جلوتاميل ترانسفيريز وتركيز البروتينات في مصم دم ذكور الأرانب البالغة.

المجموعات	الضابطة	مستخلص أوراق الزيتون	نيتريت الصوديوم	نيتريت الصوديوم + مستخلص أوراق الزيتون
المتغيرات	المتوسط \pm الخطأ القياسي			
نشاط إنزيم الالانين الناقل لمجموعة الأمين (ALT, U/L)	2.24 \pm 49.17	2.01 \pm 51.67	3.09 \pm 91.33**	2.02 \pm 69.17***
نشاط إنزيم الاسبارتيت الناقل لمجموعة الأمين (AST, U/L)	1.36 \pm 30.33	4.21 \pm 28.83	6.51 \pm 63.17**	3.6 \pm 32.5##
إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP, U/L)	2.28 \pm 70.5	4.8 \pm 79.17	4.48 \pm 131.5**	2.75 \pm 101.5***
إنزيم جاما جلوتاميل ترانسفيريز (GGT, U/L)	0.45 \pm 11.00	0.7 \pm 11.83	1.72 \pm 26.67**	0.56 \pm 14.67##
تركيز البروتين الكلي (g/dl)	0.14 \pm 6.67	0.08 \pm 6.55*	0.08 \pm 5.77**	0.08 \pm 6.43##
تركيز الألبومين (g/dl)	0.22 \pm 4.22	0.06 \pm 4.23	0.11 \pm 3.60**	0.09 \pm 4.22##
تركيز الجلوبيولين (g/dl)	0.16 \pm 2.45	0.10 \pm 2.32	0.13 \pm 2.17	0.16 \pm 2.22
نسبة الألبومين/الجلوبيولين	0.16 \pm 1.77	0.12 \pm 1.89	0.16 \pm 1.71	0.17 \pm 1.96

* : تغير معنوي ($P < 0.05$) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، ** : تغير معنوي ($P < 0.001$) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، ## : تغير معنوي ($P < 0.01$) بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم.

الصوديوم (2.75 ± 101.5) عند مقارنتها بمجموعة نيتريت الصوديوم (4.48 ± 131.5). ولم يلاحظ وجود فرق معنوي ($P > 0.05$) في نشاط إنزيم ALP في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (4.8 ± 79.17) بالمقارنة بالمجموعة الضابطة (2.28 ± 70.5).

1.1.4.4 نشاط إنزيم جاما جلوتاميل ترانسفيريز GGT في مصم الدم

نلاحظ من النتائج الموجودة في الجدول (1) والشكل (4) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.001$) في نشاط إنزيم GGT (U/L) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (1.72 ± 26.67) عند مقارنتها بالمجموعة الضابطة (0.45 ± 11.00). وكذلك توضح النتائج حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في نشاط إنزيم GGT في المجموعة التي جُرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.56 ± 14.67) عند مقارنتها مع مجموعة نيتريت الصوديوم (1.72 ± 26.67)، ولم يكن هناك أي فرق معنوي ($P > 0.05$) في نشاط إنزيم GGT في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (0.7 ± 11.83) عندما قورنت مع المجموعة الضابطة (0.45 ± 11.00).

1.1.4.5 تركيز البروتين الكلي TP في مصم الدم

الخلايا وفجواتها. يطرر النسيج في شمع البرافين ويتم ذلك بصب الشمع المنصهر في قالب مناسب، ثم ينقل النسيج إلى الشمع باستعمال ملقط غير حاد، ويترك قالب الشمع والنسيج حتى يبرد. يتم تقليم القوالب الشمعية بإزالة الشمع الزائد من حول النسيج باستعمال شفرة حادة. ويثبت القالب على حامل مناسب ثم يوضع في جهاز التقطيع ويضبط بسلك 5 ميكرون. بعد الحصول على العدد المناسب من المقاطع المفردة أو المتسلسلة، توضع المقاطع في حمام مائي بدرجة حرارة ($40-45^\circ\text{C}$)، وبعدها توضع على شرائح زجاجية ويتم تجفيفها في الفرن قبل عملية الصبغ (الحاج، 2015).

3.3.4.3 صبغ المقاطع النسيجية Staining of histological sections

توضع الشرائح المحملة بالمقاطع النسيجية في الزايلين مرتين متتاليتين مدة كل مرة دقيقتان، وتوضع في كحول مطلق، ثم تدرج كحولي هابط 95%، 70%، 50%، ومدة كل خطوة دقيقتان. ثم توضع في صبغة هيماتوكسيلين لمدة 15 دقيقة. ثم تغسل الشرائح بماء الصنبور الجاري لإزالة الصبغة الزائدة. توضع الشرائح في صبغة الأيوسين لمدة 3 دقائق. ثم توضع في الماء لمدة 3 دقائق، إيثانول 95% دقيقة واحدة، إيثانول 95% دقيقة واحدة، الإيثانول المطلق مرتين كل مرة دقيقة واحدة. تروق المقاطع بالزايلين مرتين متتاليتين مدة كل مرة 3 دقائق. تغطي المقاطع بالوسط المناسب ويغطى زجاجي مناسب، ثم تترك لتجف لكي يتم فحصها بعد ذلك تحت المجهر (الطردة وآخرون، 2000).

3.3.4.3 فحص وتصوير المقاطع النسيجية

فحصت الشرائح النسيجية باستخدام مجهر ضوئي من نوع (XSZ-107BN Microscope) زود بكاميرا عالية الدقة (Sony Cyber-shot) لتصوير المقاطع.

4.4.3 التحليل الإحصائي Statistical analysis

تم إجراء التحليل الإحصائي للبيانات باستخدام برنامج الرزم الاحصائية للعلوم الاجتماعية (SPSS) من خلال تحليل التباين الأحادي (One way

1.1.4.2.1.4 نشاط إنزيم الاسبارتيت الناقل لمجموعة الأمين AST في مصم الدم
تُبين النتائج في الجدول (1) والشكل (2) حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.001$) في نشاط إنزيم AST (U/L) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (6.51 ± 63.17) عند مقارنتها بالمجموعة الضابطة (1.36 ± 30.33). وأظهرت ذكور الأرانب التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون والمتغذية على علف يحتوي على نيتريت الصوديوم انخفاضاً معنوياً ($P < 0.01$) في نشاط إنزيم AST (3.6 ± 32.5) عند مقارنتها بمجموعة نيتريت الصوديوم (6.51 ± 63.17). في حين لا يوجد أي فرق معنوي ($P > 0.05$) في نشاط إنزيم AST في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (4.21 ± 28.83) مقارنة مع المجموعة الضابطة (1.36 ± 30.33).

1.1.4.3.1.4 نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP في مصم الدم

يبين التحليل الإحصائي للنتائج بالجدول (1) وبالشكل (3) حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.001$) في نشاط إنزيم ALP (U/L) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (4.48 ± 131.5) عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة (2.28 ± 70.5). في حين تظهر النتائج انخفاضاً معنوياً ($P < 0.01$) في نشاط إنزيم ALP في المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون والمغذاة بعلف يحتوي على نيتريت

من الجدول (1) والشكل (7) نلاحظ عدم وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الجلوبيولين (g/dl) بالمجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.13 ± 2.17) بالمقارنة بالمجموعة الضابطة (0.16 ± 2.45). في حين لم يظهر أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الجلوبيولين في المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وتغذت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.16 ± 2.22) وذلك بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم (0.13 ± 2.17). ولم يكن هناك أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الجلوبيولين في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (0.10 ± 2.32) عندما قورنت مع المجموعة الضابطة (0.16 ± 2.45).

8.1.1.4 نسبة الألبومين/الجلوبيولين (A/G) في مصم الدم

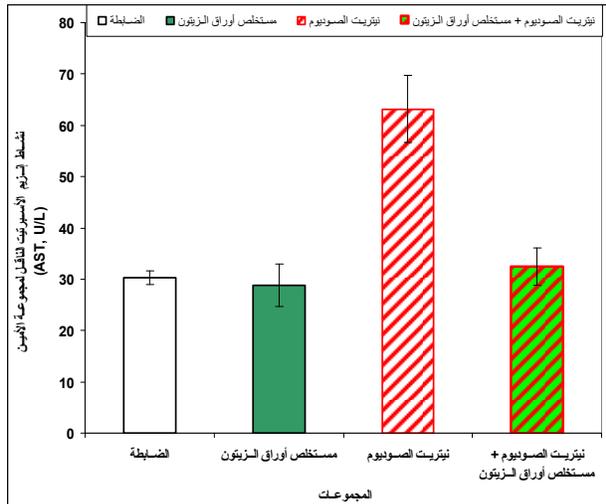
يلاحظ من خلال الجدول (1) والشكل (8) أنه لا يوجد فرق معنوي ($P>0.05$) في نسبة الألبومين/الجلوبيولين في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.16 ± 1.71) عند المقارنة مع المجموعة الضابطة (0.16 ± 1.77). في حين تُظهر النتائج عدم وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في نسبة الألبومين/الجلوبيولين في المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون والمغذاة بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.17 ± 1.96) عند مقارنتها مع مجموعة نيتريت الصوديوم (0.16 ± 1.71). بينما لم يلاحظ وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في نسبة الألبومين/الجلوبيولين في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (0.12 ± 1.89) مقارنة مع المجموعة الضابطة (0.16 ± 1.77).

يظهر في الجدول (1) والشكل (5) انخفاضًا معنويًا ($P<0.001$) في تركيز البروتين الكلي (g/dl) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.08 ± 5.77) عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة (0.14 ± 6.67). في حين تُظهر النتائج ارتفاعًا معنويًا ($P<0.01$) في تركيز البروتين الكلي في المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.08 ± 6.43) عند المقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم (0.08 ± 5.77). بينما تُظهر مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط انخفاضًا معنويًا ($P<0.05$) في تركيز البروتين الكلي (0.08 ± 6.55) مقارنة بالمجموعة الضابطة (0.14 ± 6.67).

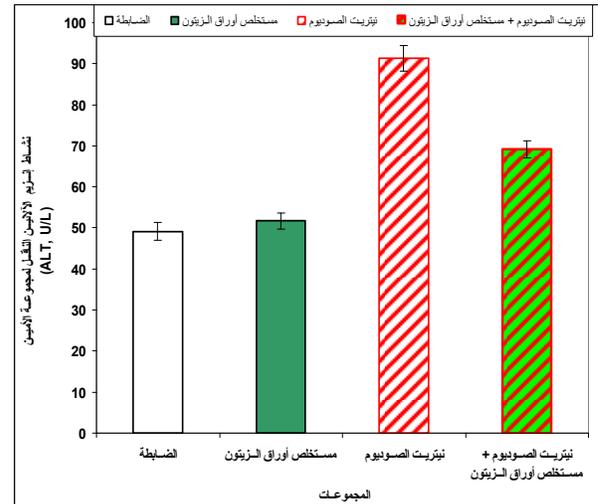
6.1.1.4 تركيز الألبومين Alb في مصم الدم

يلاحظ من الجدول (1) والشكل (4) حدوث انخفاض معنوي ($P<0.001$) في تركيز الألبومين (g/dl) في المجموعة التي غذيت على علف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.11 ± 3.60) عند المقارنة مع المجموعة الضابطة (0.22 ± 4.22). بينما يُودي تجريب الأرانب بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وتغذيتها بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.09 ± 4.22) إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في تركيز الألبومين عند المقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم (0.11 ± 3.60). بينما لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الألبومين في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (0.06 ± 4.23) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (0.22 ± 4.22).

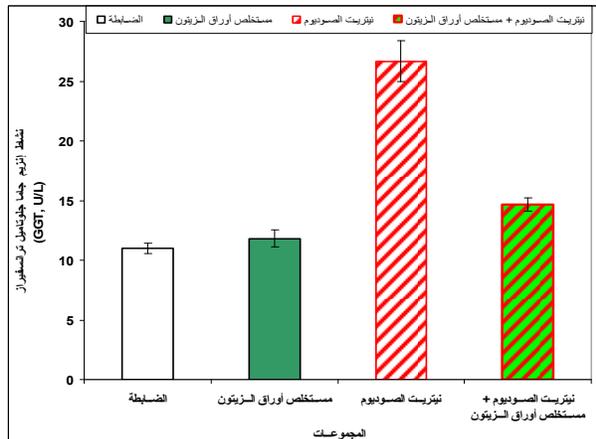
7.1.1.4 تركيز الجلوبيولين Glob في مصم الدم



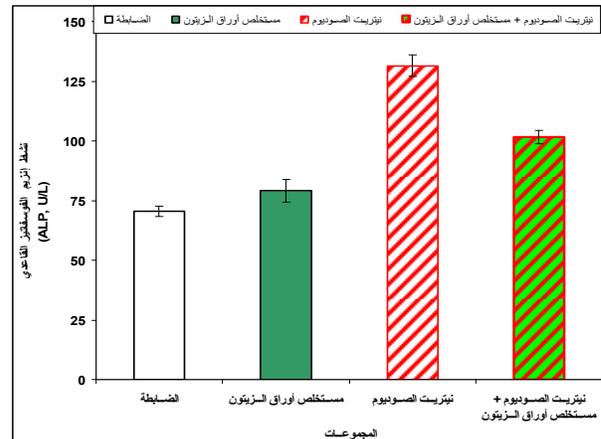
شكل (2): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم الأستاتاز الناقل لمجموعة الأمين في مصم دم ذكور الأرانب البالغة.



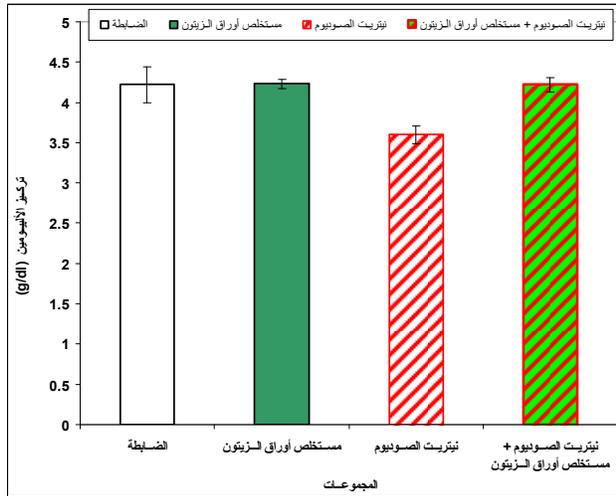
شكل (1): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم الألانين الناقل لمجموعة الأمين في مصم دم ذكور الأرانب البالغة.



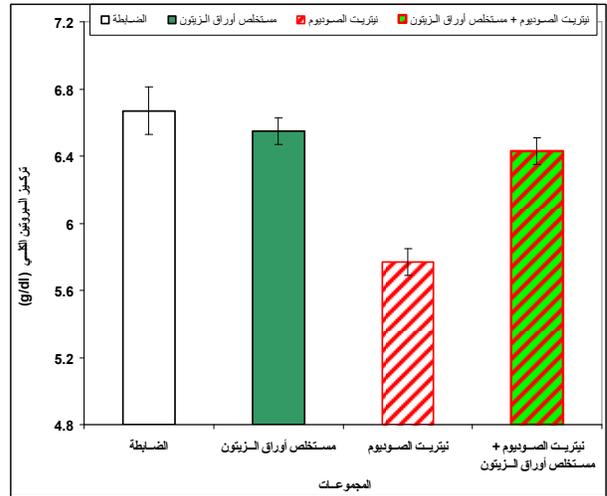
شكل (4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم جاما جلوتاميل ترانسفيراز في مصم دم ذكور الأرانب البالغة.



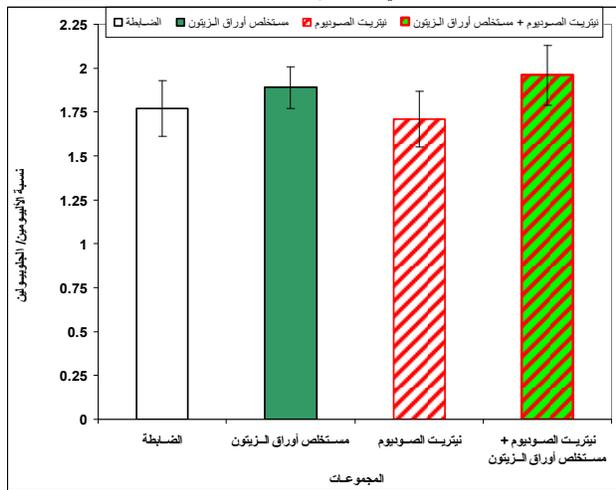
شكل (3): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصم دم ذكور الأرانب البالغة.



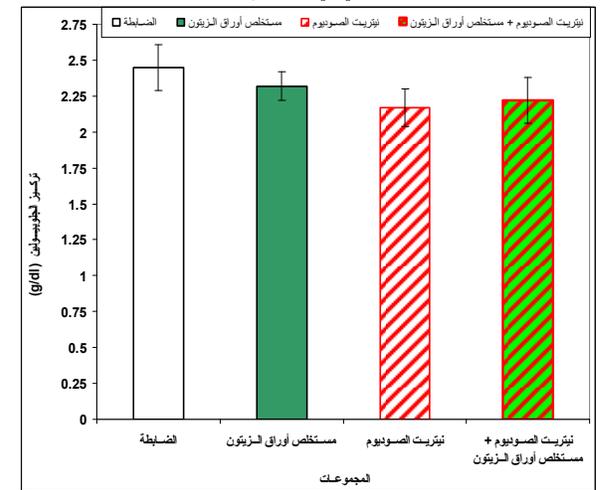
شكل (6): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على تركيز الألبومين في مصل دم ذكور الأرناب البالغة



شكل (5): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على تركيز اليوريا في مصل دم ذكور الأرناب البالغة.



شكل (8): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على نسبة الألبومين/الجلوبولين في مصل دم ذكور الأرناب البالغة.



شكل (7): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على تركيز الجلوبيولين في مصل دم ذكور الأرناب البالغة.

تجريها بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وتم تغذيتها بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.31 ± 46.17) انخفاضاً معنوياً ($P < 0.01$) في تركيز اليوريا بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم (2.33 ± 53.33). لم تُظهر مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط أي فرق معنوي ($P > 0.05$) في تركيز اليوريا (0.92 ± 42.67) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (1.11 ± 40.83).

2.1.4. التغيرات في تراكيز بعض وظائف الكلى لذكور الأرناب البالغة

1.2.1.4 تركيز اليوريا في مصل الدم في الجدول (2) والشكل (9) تُظهر النتائج ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.001$) في تركيز اليوريا (mg/dl) في المجموعة المغذاة بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز (0.4%) (2.33 ± 53.33) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة السليمة (1.11 ± 40.83). في حين تُظهر المجموعة التي تم

جدول (2): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على تركيز اليوريا، الكرياتينين، حمض البوليك، أيونات الصوديوم والبيوتاسيوم في مصل دم ذكور الأرناب البالغة.

المجموعات	الضابطة	مستخلص أوراق الزيتون	نيتريت الصوديوم	نيتريت الصوديوم + مستخلص أوراق الزيتون	المتغيرات
تركيز اليوريا (mg/dl)	1.11 ± 40.83	0.92 ± 42.67	$2.33 \pm 53.33^{**}$	$0.31 \pm 46.17^{***}$	(mg/dl)
تركيز الكرياتينين (mg/dl)	0.05 ± 0.73	0.06 ± 0.8	$0.16 \pm 1.17^{**}$	$0.07 \pm 0.82^{#}$	(mg/dl)
تركيز حمض البوليك (mg/dl)	0.04 ± 2.1	0.04 ± 2.1	$0.20 \pm 3.38^{**}$	$0.07 \pm 2.28^{##}$	(mg/dl)
تركيز أيونات الصوديوم (mmol/l)	0.42 ± 140.33	0.48 ± 141.17	$0.31 \pm 144.83^{**}$	$0.42 \pm 141.96^{##}$	(mmol/l)
تركيز أيونات البوتاسيوم (mmol/l)	0.11 ± 3.35	0.13 ± 3.48	$0.07 \pm 4.33^{**}$	$0.07 \pm 3.68^{##}$	(mmol/l)

* : تغير معنوي ($P < 0.05$) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، ** : تغير معنوي ($P < 0.01$) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، # : تغير معنوي ($P < 0.05$) بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم، ## : تغير معنوي ($P < 0.01$) بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم.

تُبين النتائج في الجدول (2) والشكل (12) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في تركيز أيونات الصوديوم (mmol/l) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.31 ± 144.83) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (0.42 ± 140.33). بينما تُظهر المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.42 ± 141.96) انخفاضاً معنوياً ($P<0.01$) في تركيز أيونات الصوديوم عند مقارنتها مع مجموعة نيتريت الصوديوم (0.31 ± 144.83). لم تُظهر مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز أيونات الصوديوم (0.48 ± 141.17) عند مقارنتها بالمجموعة الضابطة (0.42 ± 140.33).

5.2.1.4 تركيز أيونات البوتاسيوم K^+ في مصل الدم

تُظهر النتائج الموضحة في الجدول (2) والشكل (13) ارتفاعاً معنوياً ($P<0.001$) في تركيز أيونات البوتاسيوم (mmol/l) في المجموعة التي تم تغذيتها بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.07 ± 4.33) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة السليمة (0.11 ± 3.35). في حين تُظهر المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.07 ± 3.68) انخفاضاً معنوياً ($P<0.01$) بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم (0.07 ± 4.33). أما مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط فلم تُظهر أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز أيونات البوتاسيوم (0.13 ± 3.48) مقارنة مع المجموعة الضابطة (0.11 ± 3.35).

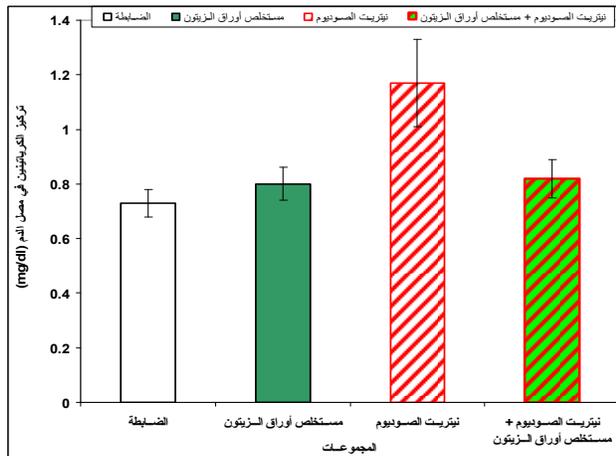
2.2.1.4 تركيز الكرياتينين في مصل الدم

تُشير النتائج الموجودة في الجدول (2) والشكل (10) إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في تركيز الكرياتينين (mg/dl) في المجموعة التي تغذت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.16 ± 1.17) بالمقارنة بالمجموعة الضابطة (0.05 ± 0.73). في حين تُظهر المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وغذت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.07 ± 0.82) انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في تركيز الكرياتينين بالمقارنة مع المجموعة المعاملة بنيتريت الصوديوم (0.16 ± 1.17). أما مجموعة المستخلص المائي لأوراق فقط فلم تُظهر أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الكرياتينين (0.06 ± 0.8) مقارنة مع المجموعة الضابطة (0.05 ± 0.73).

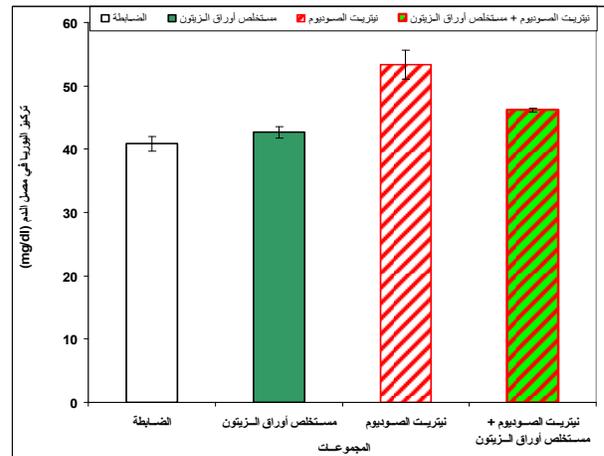
3.2.1.4 تركيز حمض البوليك في مصل الدم

يُشير الجدول (2) والشكل (11) إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في تركيز حمض البوليك (mg/dl) في المجموعة التي تغذت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.20 ± 3.38) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (0.04 ± 2.1). بينما تُظهر المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.07 ± 2.28) انخفاضاً معنوياً ($P<0.01$) في تركيز حمض البوليك بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم (0.20 ± 3.38). في حين لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز حمض البوليك في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (0.04 ± 2.1) عندما تم مقارنتها مع المجموعة الضابطة (0.04 ± 2.1).

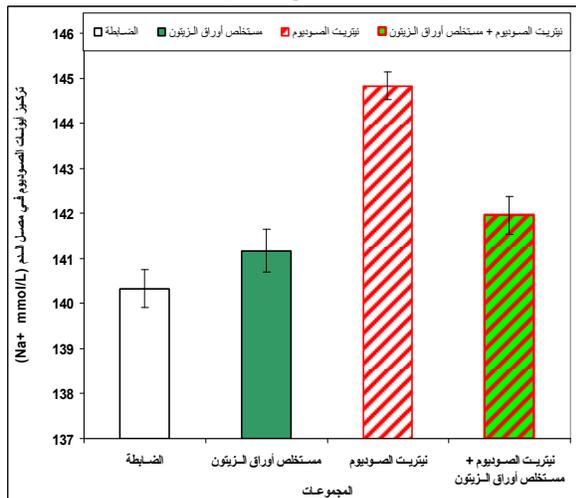
4.2.1.4 تركيز أيونات الصوديوم Na^+ في مصل الدم



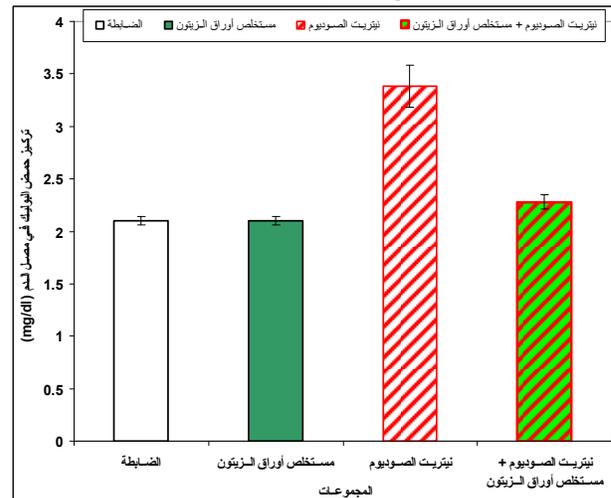
شكل (10): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على تركيز الكرياتينين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.



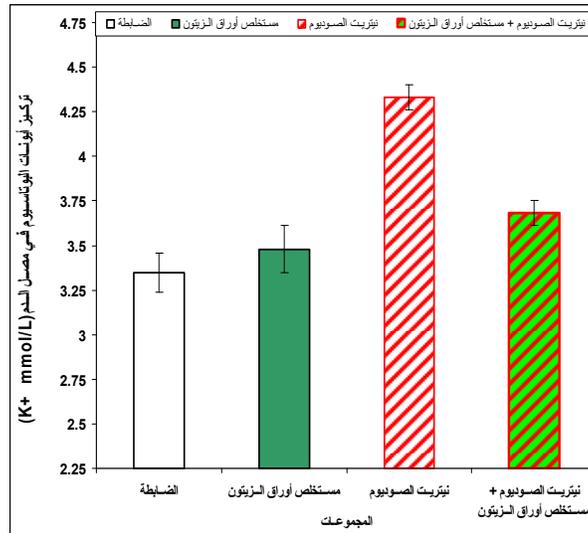
شكل (9): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على تركيز اليوريا في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.



شكل (12): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على تركيز أيونات الصوديوم في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.



شكل (11): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على تركيز حمض البوليك في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.



شكل (13): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معاً على تركيز أيونات البوتاسيوم في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

1.1.2.4 التركيب النسيجي للكبد في المجموعة الضابطة لذكور الأرانب

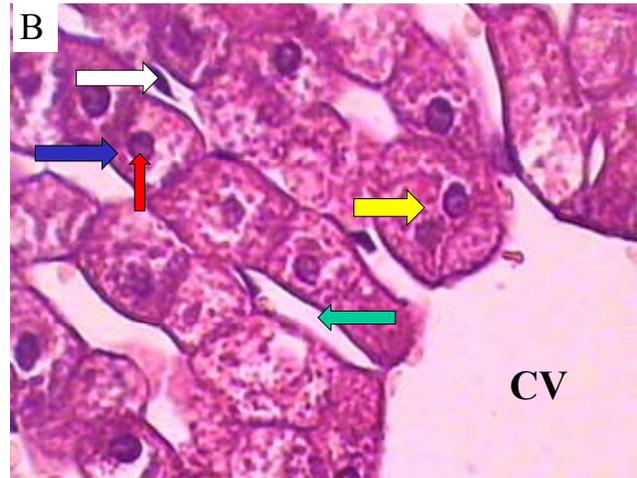
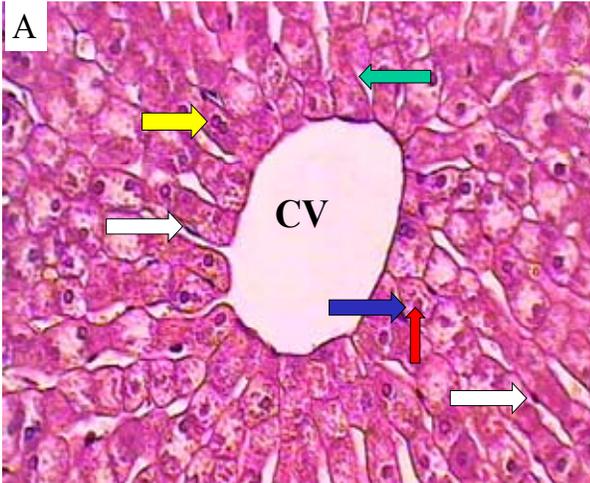
أظهر الفحص المجهرى للقطاعات النسيجية في كبد ذكور الأرانب في المجموعة الضابطة وكما في الشكل (14) تركيبه النسيجي الطبيعي، حيث تبدو الخلايا الكبدية متعددة الأشكال، ومتجانسة السيتوبلازم، ومحتوية على أنوية كبيرة مركزية، وتترتب هذه الخلايا على هيئة أشرطة كبدية بينها جيبيبات دموية تحتوي على خلايا كوبفر (Kupffer cells)، ويوجد وريد مركزي في مركز الفصيص الكبدى مبطن بنسيج طلائي حرشفي بسيط.

2.4 الدراسة النسيجية Histological Study

أظهرت نتائج الفحوصات النسيجية للمجموعة الحيوانية المعاملة بنيتريت الصوديوم حدوث تغيرات نسيجية مرضية واضحة في نسيج الكبد ونسيج الكلى عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة (غير المعاملة).

1.2.4 التغيرات النسيجية في الكبد

يعد الكبد العضو الرئيسي المسؤول عن عمليات التمثيل الغذائي المتعلقة بإزالة السموم من الجسم عن طريق هدم المواد غير المرغوب فيها (Guyton & Hall, 2006).



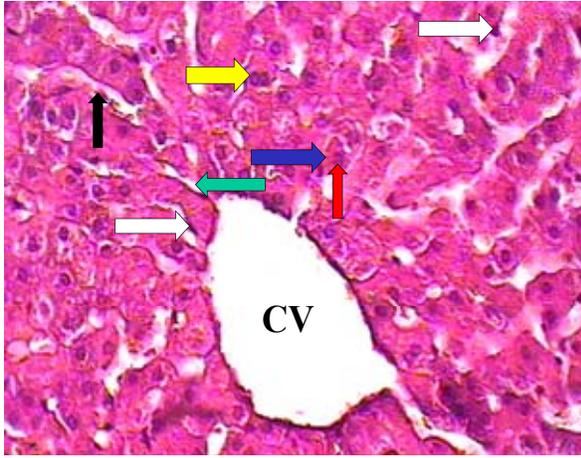
شكل (14): قطاعات نسيجية في كبد المجموعة الضابطة لذكور الأرانب: يظهر فيها وريد مركزي (CV)، خلية كبدية (السهم الأزرق)، نواة خلية كبدية (السهم الأحمر)، خلية كبدية ذات نواتين (السهم الأصفر)، جيبيب دموي (السهم الأخضر)، خلية كوبفر (السهم الأبيض). (H&E، 400X: A، 1000X: B).

3.1.2.4 التغيرات النسيجية في كبد الأرانب المعاملة بنيتريت الصوديوم

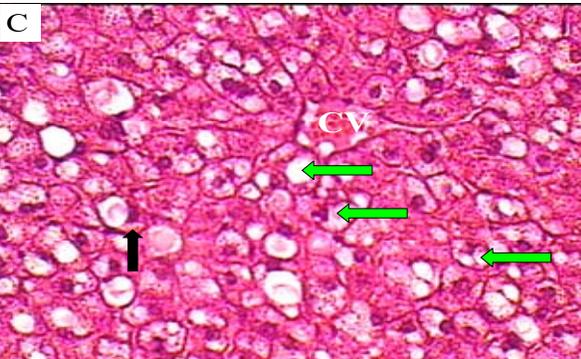
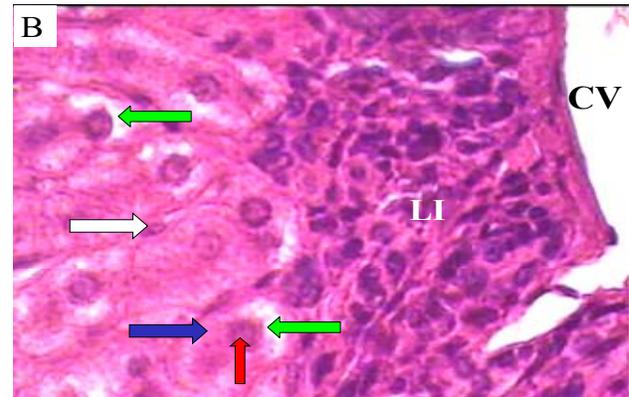
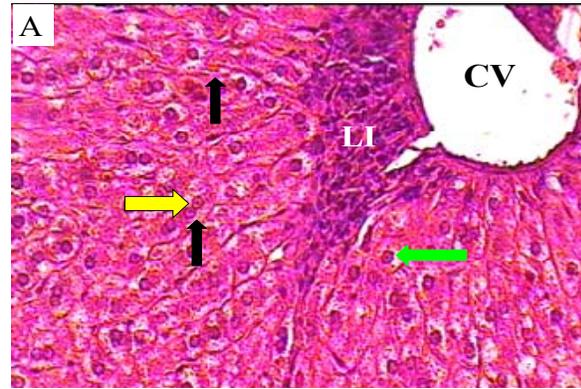
أظهرت القطاعات النسيجية في كبد ذكور الأرانب التي تناولت نيتريت الصوديوم أن الخلايا الكبدية منتفخة، وحدث اتساع واحتقان ودم متجلط في الوريد المركزي وزيادة سمك بطانته لبعض الفصيصات الكبدية. وحدوث ضيق في الجيبيبات الدموية واحتوائها على كريات دم حمراء، وأيضاً نلاحظ أن الخلايا الكبدية منتفخة وبها تورمات غائمة ويحتوي سيتوبلازمها على فجوات مختلفة الأحجام (دهنية أو مائية). بالإضافة إلى وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء في بعض مناطق أنسجة الكبد وخصوصاً بالقرب من الوريد المركزي وفي المنطقة البابية، ونلاحظ أيضاً وجود احتقان ودم متجلط في الوريد البابي وزيادة سمك جداره وزيادة سمك القنبيات الصفراوية، وحدوث تليف في المنطقة البابية، وزيادة سمك الشريان الكبدى كما يبين الشكل (16).

2.1.2.4 التغيرات النسيجية في كبد الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون

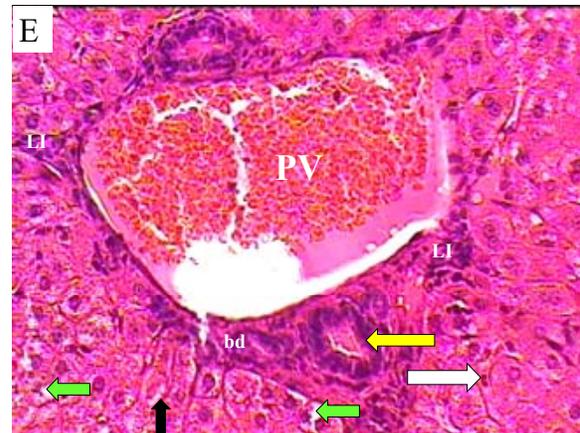
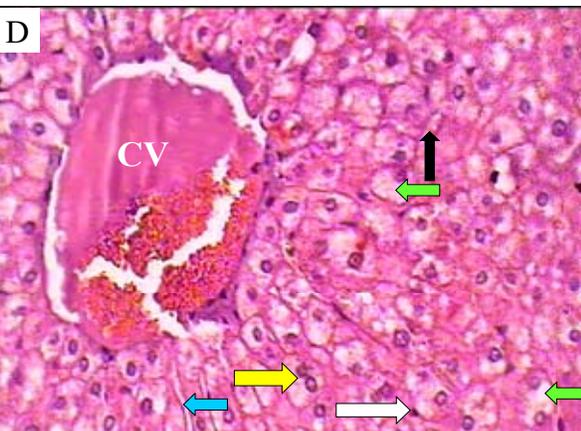
بينت نتائج الفحص المجهرى لنسيج الكبد في ذكور الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون أن الخلايا الكبدية طبيعية ومتجانسة السيتوبلازم، ومحتوية على أنوية كبيرة مركزية، وتترتب هذه الخلايا على هيئة أشرطة كبدية بينها جيبيبات دموية تحتوي على خلايا كوبفر وبعضها يحتوي على القليل من كريات الدم الحمراء، ويوجد وريد مركزي في مركز الفصيص الكبدى مبطن بنسيج طلائي حرشفي بسيط كما في الشكل (15).

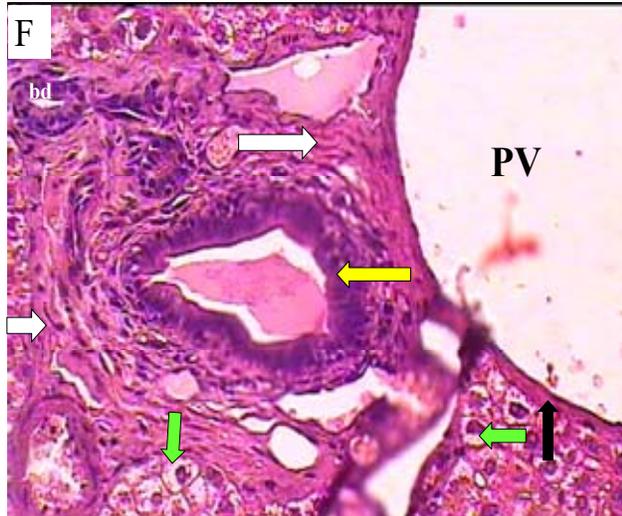


شكل (15): قطاع نسيجي في كبد ذكور الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون. يوضح وريد مركزي (CV), خلية كبدية (السهم الأزرق), نواة خلية كبدية (السهم الأحمر), خلية كبدية ذات نواتين (السهم الأصفر), جيب دموي (السهم الأخضر), خلية كوفيفر (السهم الأبيض), كريات دم حمراء في الجيب الدموي (السهم الأسود). (1000X: B, 400X: A, H&E).



شكل (16): قطاعات نسيجية في كبد المجموعة التي تناولت نيتريت الصوديوم. تظهر الصورة A: اتساع الوريد المركزي (CV), وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء بالقرب من الوريد المركزي (LI), فجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية (السهم الأخضر), وكريات دم حمراء في الجيبينات الدموية (السهم الأسود), ووجود خلايا كبدية ثنائية الأنوية (السهم الأصفر). B: وجود وريد مركزي (CV), وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء بالقرب من الوريد المركزي (LI), خلية كبدية (السهم الأزرق), نواة خلية كبدية (السهم الأحمر), وجود فجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية (السهم الأخضر), خلية كوفيفر (السهم الأبيض). C: وجود وريد مركزي محتقن بالدم (CV), وجود ارتشاح دهني وفجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية (السهم الأخضر), وجود كريات دم حمراء في الجيب الدموي (السهم الأسود). (400X; H&E).





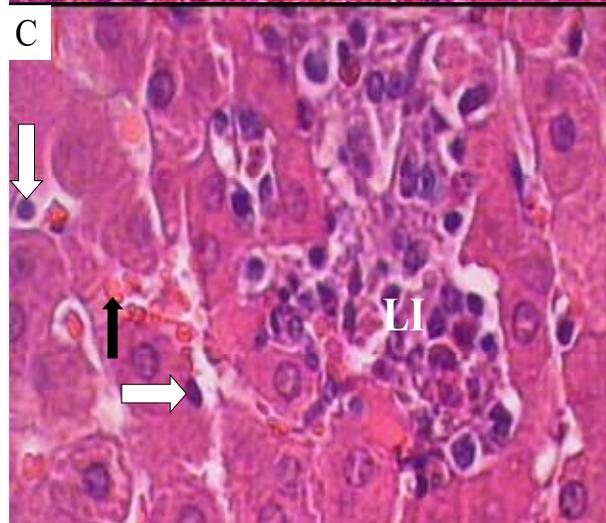
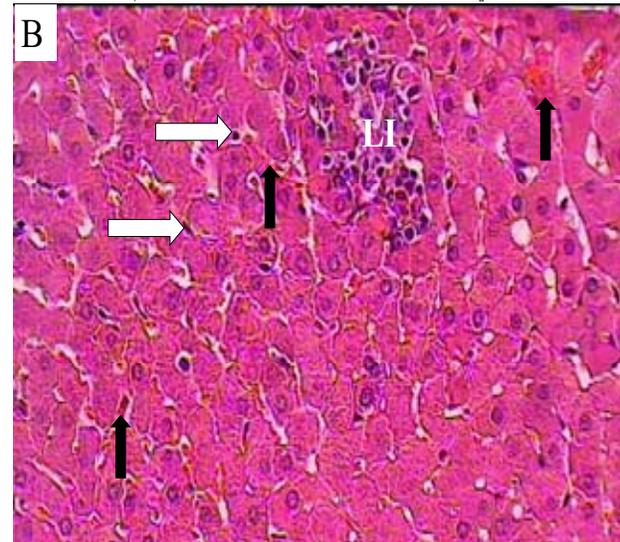
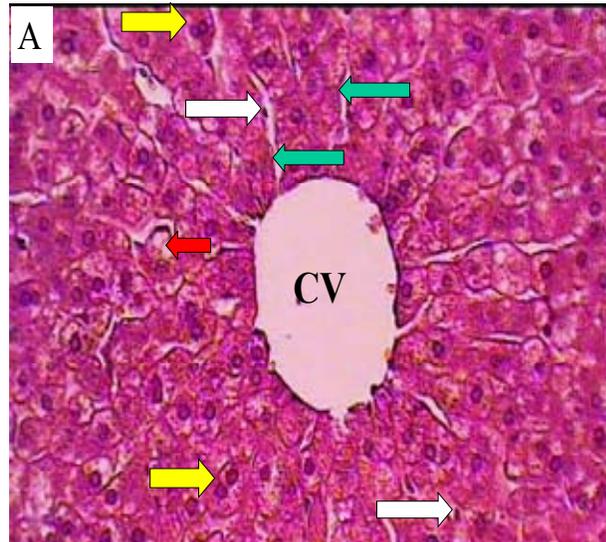
استعادت الخلايا الكبدية شكلها الطبيعي وانتظامها على هيئة أشربة كبدية، وقل قطر الوريد المركزي، مع استمرار ارتشاح قليل بخلايا الدم البيضاء، واستعادت الجيبينات الدموية شكلها وحجمها الطبيعي ووجود كريات دم حمراء في بعضها. شكل (17).

شكل (16): قطاعات نسيجية في كبد المجموعة التي تناولت نيتريت الصوديوم. D: وريد مركزي متسع محتقن بالدم ويحتوي على دم متجلط (CV)، فجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية (السهم الأخضر)، وكريات دم حمراء في الجيبينات الدموية (السهم الأسود)، ووجود خلايا كبدية ثنائية الأنوية (السهم الأصفر)، جيب دموي (السهم الأزرق)، خلية كوبفر (السهم الأبيض) E: حدوث ارتشاح واحتقان في الوريد البابي الكبدي (PV)، وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء (LI)، وكريات دم حمراء في الجيبينات الدموية (السهم الأسود)، وزيادة في سمك القنابات الصفراوية (BD)، وزيادة سمك جدار الشريان الكبدى (السهم الأصفر)، وفجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية (السهم الأخضر)، خلية كوبفر (السهم الأبيض) F: حدوث اتساع في الوريد البابي الكبدى (PV)، وزيادة سمك جداره (السهم الأسود)، حدوث تليف في المنطقة البابية (السهم الأبيض)، وزيادة في سمك القنابات الصفراوية (BD)، وزيادة سمك جدار الشريان الكبدى (السهم الأصفر)، وجود ارتشاح دهني وفجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية (السهم الأخضر) (1000X; H&E).

4.1.2.4 التغيرات النسيجية في كبد الارانب المعاملة بالمستخلص المائي

لاوراق الزيتون مع نيتريت الصوديوم

أشارت نتائج الفحص المجهرى لنسيج كبد الأرانب التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون ثم تناولت نيتريت الصوديوم إلى حدوث تحسن واضح في التركيب النسيجي للكبد بالمقارنة بمجموعة نيتريت الصوديوم فقط، حيث



شكل (17): قطاعات نسيجية في كبد المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وتناولت نيتريت الصوديوم. تبين استعادة الخلايا الكبدية شكلها وانتظامها على هيئة أشربة كبدية بينها جيبينات دموية (السهم الأخضر)، تحتوي على خلايا كوبفر نشطة (السهم الأبيض)، وقل قطر الوريد المركزي (CV)، مع استمرار ارتشاح قليل بخلايا الدم البيضاء (LI)، ووجود كريات دم حمراء في الجيبينات الدموية (السهم الأسود)، ووجود خلايا كبدية ثنائية الأنوية (السهم الأصفر). (1000X: C & 400X: B&A; H&E).

3.2.2.4 التغيرات النسيجية في كلى ذكور الأرانب المعاملة بنيتريت الصوديوم

بينت القطاعات النسيجية لقترة الكلية في ذكور الأرانب التي تناولت نيتريت الصوديوم فقط حدوث انكماش في الكبيبات الكلوية واتساع في محافظ بومان. وحدث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبيجي، وزيادة سمك جدر الأوعية الدموية في بعض المناطق. ووجود ترسبات في تجاويف الأنبيبات الكلوية، وقد قل سمك جدرها مما يدل على فقد أسطح خلاياها للخمليات الدقيقة، بالإضافة لوجود نزف دموي ووجود توسع وارتشاح بخلايا الدم البيضاء بين الأنبيبات البولية، ووجود Edema في بعض الأماكن في منطقة القشرة، ووجود فجوات في سيتوبلازم الخلايا المبطنة للأنبيبات البولية وحدث نخر خلوي لها كما هو مبين في الشكل (20).

4.2.2.4 التغيرات النسيجية في كلى الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون مع نيتريت الصوديوم

أشارت نتائج الفحص المجهرى لنسيج الكلية في طبقة القشرة للأرانب التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون ثم تناولت نيتريت الصوديوم إلى أن كريات ملبيجي والأنبيبات الكلوية أصبحت منتظمة واستعدت شكلها الطبيعي، والأنبيبات جدارها سميك، ووجود Edema في بعض الأماكن في منطقة القشرة، ووجود احتقان في بعض الأوعية الدموية وكريات دم حمراء بين الأنبيبات البولية (شكل، 21).

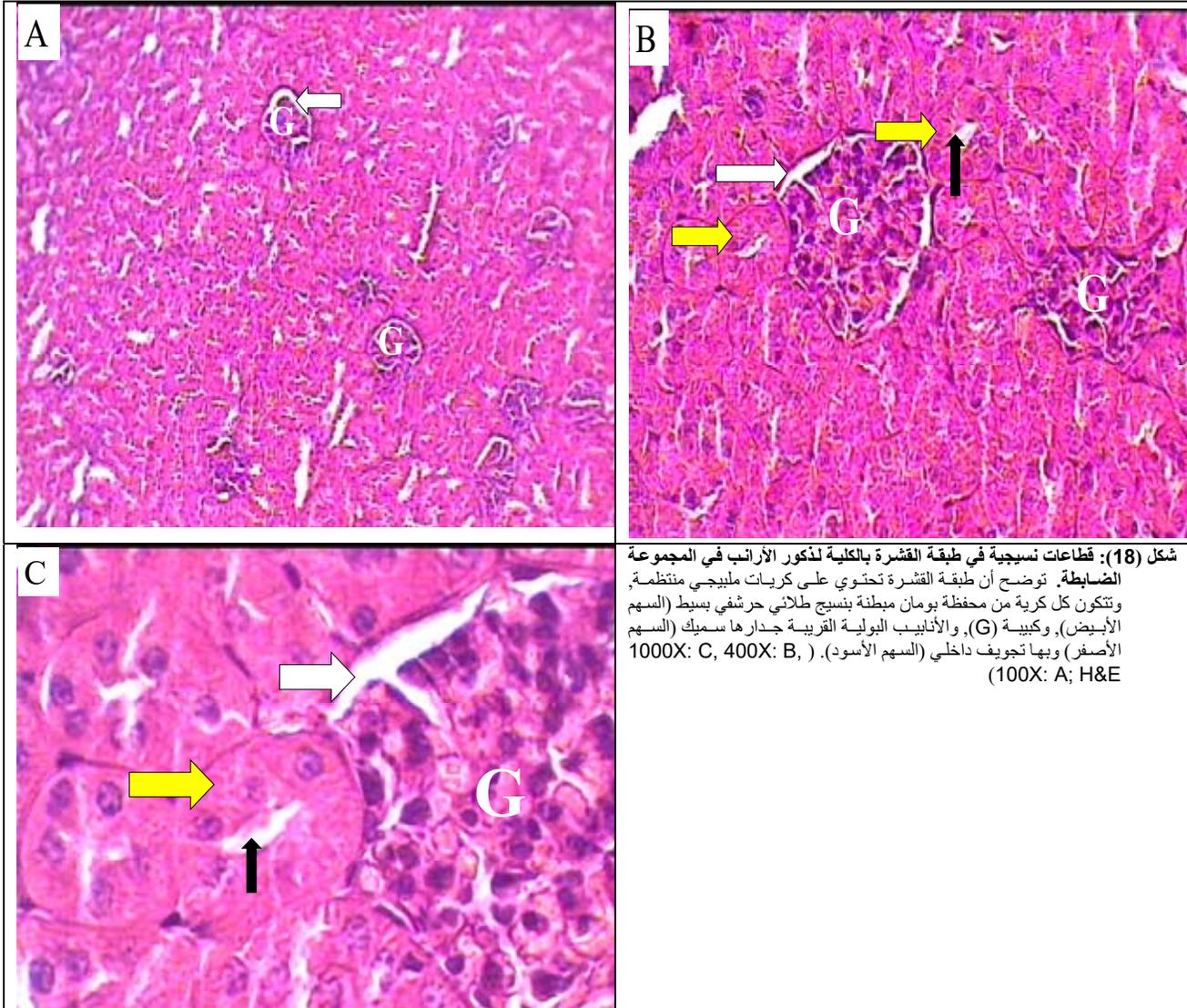
2.2.4 التغيرات النسيجية في الكلى

تعتبر الكلى حساسة للتأثيرات الضارة للمواد الكيميائية، حيث تقوم بترشيح وتركيز مواد كيميائية مختلفة.

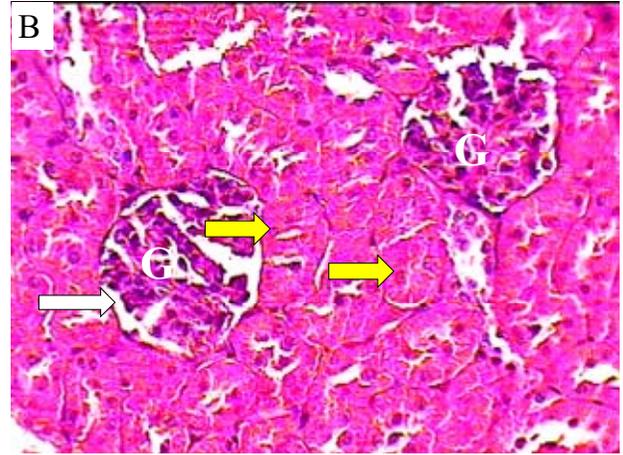
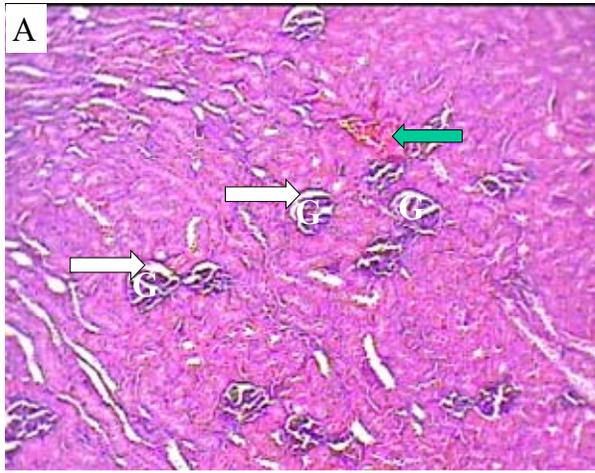
1.2.2.4 التركيب النسيجي للكلى في المجموعة الضابطة لذكور الأرانب
أوضحت القطاعات النسيجية في قشرة الكلية للمجموعة الضابطة أن طبقة القشرة تحتوي على كريات ملبيجي منتظمة الشكل، وتتكون كل كرية من محفظة بومان مبطنة بنسيج طلائي حرشفي بسيط وكبيبة، والأنبيبات البولية القريبة جدارها سميك وفارغة من الداخل أي لا توجد بها أي رواسب شكل (18).

2.2.2.4 التغيرات النسيجية في كلى الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون

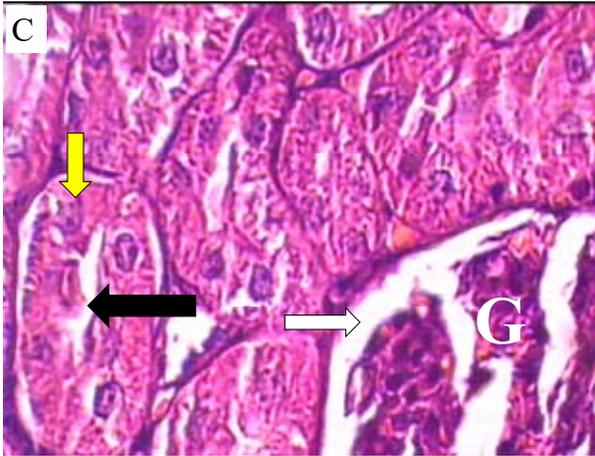
أظهر الفحص النسيجي لكلى ذكور الأرانب التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون أن أنسجة قشرة الكلية تشبه الموجودة في المجموعة الضابطة حيث نلاحظ أن طبقة القشرة تحتوي على كريات ملبيجي منتظمة الشكل، وتتكون كل كرية من محفظة بومان مبطنة بنسيج طلائي حرشفي بسيط وكبيبة، والأنبيبات البولية القريبة جدارها سميك وفارغة من الداخل أي لا توجد بها أي رواسب ويوجد احتقان دموي في بعض المناطق بطبقة القشرة ووجود بعض كريات الدم الحمراء بين الأنبيبات البولية كما في الشكل (19).



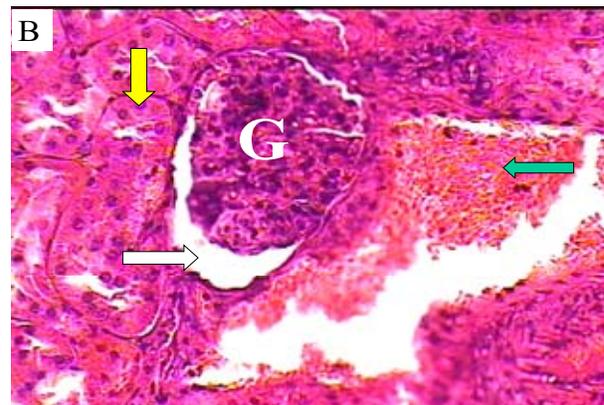
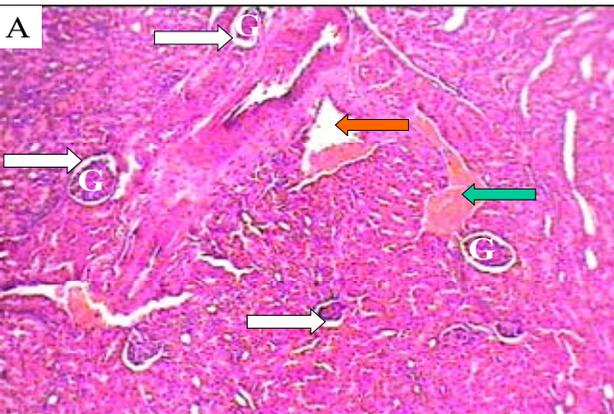
شكل (18): قطاعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية لذكور الأرانب في المجموعة الضابطة. توضح أن طبقة القشرة تحتوي على كريات ملبيجي منتظمة، وتتكون كل كرية من محفظة بومان مبطنة بنسيج طلائي حرشفي بسيط (السهام الأبيض)، وكبيبة (G)، والأنبيبات البولية القريبة جدارها سميك (السهام الأصفر) وبها تجويف داخلي (السهام الأسود). (A: 100X; B: 400X; C: 1000X; H&E)

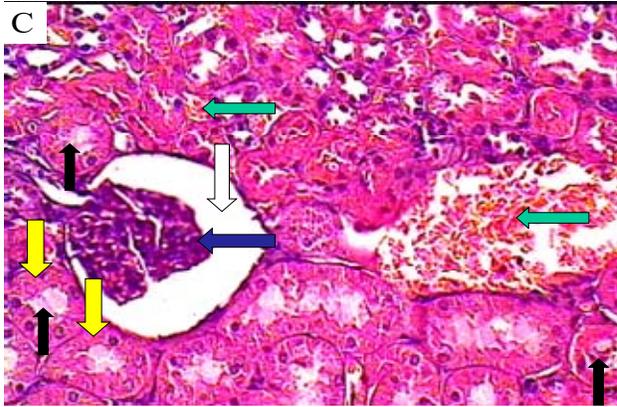


شكل (19): مقاطعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية لذكور الأرانب التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون. تظهر أن طبقة القشرة تحتوي على كريات ملبجي منتظمة، وتتكون كل كرية من محفظة بومان مطبنة بنسيج طلائي حشفي بسيط (السهم الأبيض)، وكبيبة (G)، والأنابيب البولية القريبة جدارها سميكة (السهم الأصفر) وبها تجويف داخلي (السهم الأسود). (1000X: C, 400X: B, 100X: A; H&E).

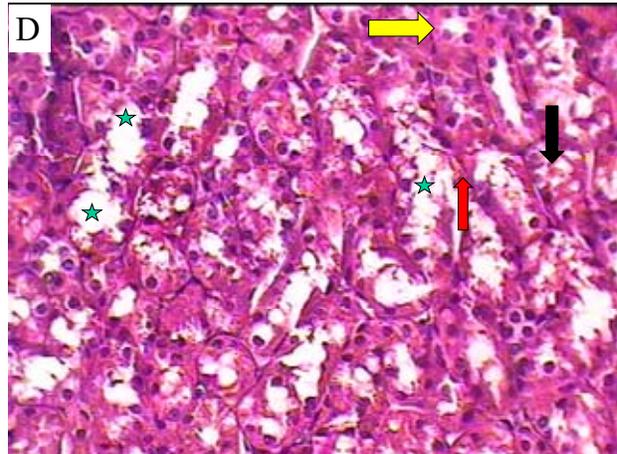


شكل (20): مقاطعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية لذكور الأرانب التي تناولت نيتريت الصوديوم. توضح الصورة A, B: حدوث اتساع في محفظة بومان (السهم الأبيض)، وحدث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبجي (السهم الأخضر)، ووجود Edema (السهم البرتقالي). وقل سمك جدر الأنبيبات الكلوية (السهم الأصفر).

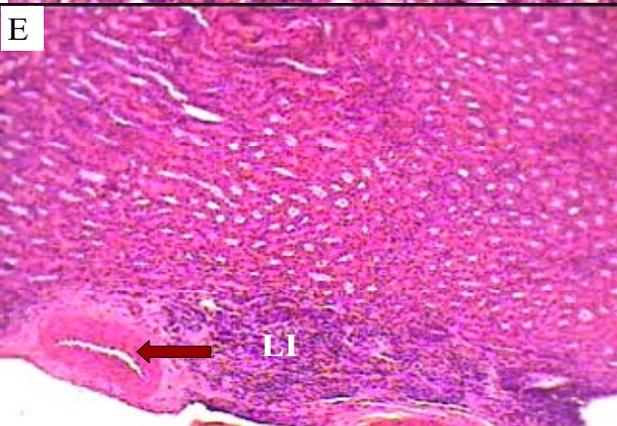




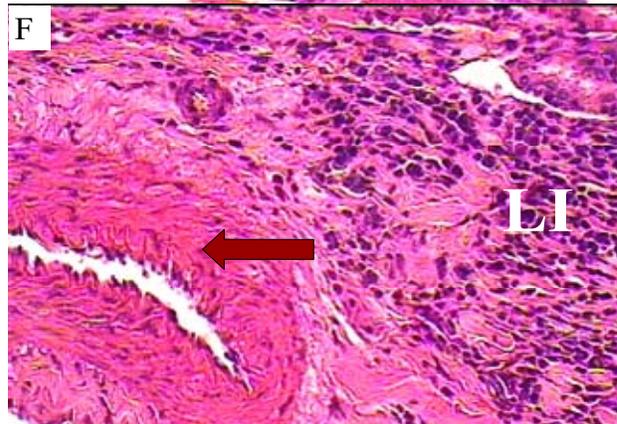
C: تبين وجود انكماش في الكبيبات الكلوية (G) (السهم الأزرق). ووجود ترسبات في تجاويف الأنبيبات الكلوية (السهم الأسود). وقل سمك جدر الأنبيبات الكلوية (السهم الأصفر). حدوث اتساع في محفظة بومان (السهم الأبيض). وحدث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبيجي (السهم الأخضر).

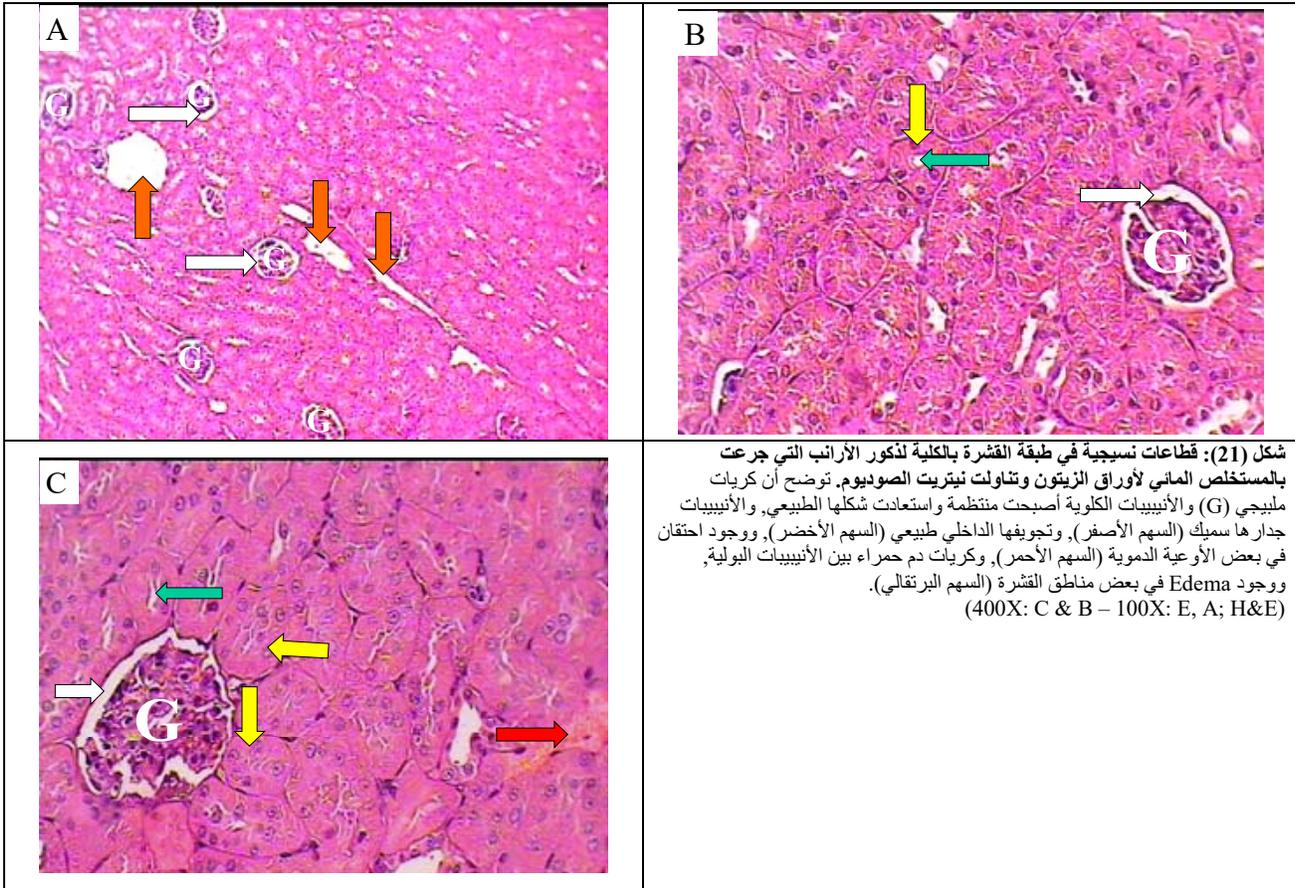


D: تحلل الخلايا المكونة للأنبيبات الكلوية وقل سمك جدارها (النجمة). ونزف دموي بين الأنبيبات البولية (السهم الأحمر). ووجود ترسبات في تجاويف الأنبيبات الكلوية (السهم الأسود). وقل سمك جدر الأنبيبات الكلوية (السهم الأصفر).



E, F: حدوث ارتشاحات بخلايا الدم البيضاء (LI). وزيادة سمك جدر الأوعية الدموية (السهم البني). (400X: F&D, C, B – 100X: E, A; H&E).





الدراسات السابقة التي أشارت إلى حدوث خلل وظيفي في الكبد تسبب بارتفاع معنوي في نشاطات إنزيمات الكبد (ALT, AST, ALP, GGT) في مصلى دم حيوانات التجارب (فزان، جردان، أرناب) التي تم معاملتها بنيتريت الصوديوم بالمقارنة مع المجموعات الضابطة (Usunomena *et al.*, 2011; Abebe *et al.*, 2013; Efurube *et al.*, 2013; Hammoud *et al.*, 2014; Abed-Al-Azeez *et al.*, 2015; Sherif & Al-Gayyar, 2015; Noroozani *et al.*, 2016; Juibar *et al.*, 2017; Akhzari *et al.*, 2019; Adetutu *et al.*, 2020; Radwan *et al.*, 2020a; Wahyuningsih *et al.*, 2020; Eissa *et al.*, 2021).

يعزى الارتفاع في نشاطات إنزيمات الكبد في مصلى الدم إلى عدة أسباب منها التأثير السام لمركبات النيتروزو المتكونة في البيئة الحامضية في المعدة مسببة نخر كبدى حاد (Kalandari & Salehi, 2001; Hassan *et al.*, 2009; Enovwo, 2010; Aboulgasem *et al.*, 2015). أو قد يكون بسبب فقر الدم Methaemoglobinaemia الذي يسبب الإصابة بنقص الأكسجة في الخلايا الكبدية والتي تؤدي بالتالي لتسرب الإنزيمات (Duncan *et al.*, 1994; El-Sabagh *et al.*, 2014; Ahmed, 2016; Aboulgasem *et al.*, 2015). يسبب نيتريت الصوديوم التلف التأكسدي لأغشية الخلايا الكبدية مما يؤدي إلى زيادة نشاط الإنزيمات الكبدية في مصلى الدم (Salama *et al.*, 2013; Abdel-Reheim, 2014; Abed-Al-Azeez *et al.*, 2015; Talas *et al.*, 2013; Aboulgasem *et al.*, 2015). أو إلى تكوين أكثر من 300 مركب N- نيتروزو سام للخلايا نتيجة لاتحاد نيتريت الصوديوم مع الأمينات الثانوية في الغذاء أو الجسم (Tricker & Preussinann, 1991; Kalandari & Salehi, 2001; Ibrahim *et al.*, 2009; Ahmed, 2016).

وقد يعزى أيضاً إلى الضرر الكبدى الهائل الذي يسببه التأثير السام لنيتريت الصوديوم. نتيجة للضرر الخلوي العديد من الإنزيمات مثل ALT وAST تخرج إلى مصلى الدم ومن ثم يشير مستواها إلى نوع ومدى الضرر الناتج عن حالة إصابة خلايا الكبد (Pari & Arumugam, 2008; Helal *et al.*, 2008).

5. المناقشة Discussion

إن تناول الفزان لنيتريت الصوديوم عن طريق الفم يؤدي إلى تلف كبير في الكلى والكبد (Hassan *et al.*, 2009; Sherif & Al-Gayyar, 2017; Uslu *et al.*, 2019). لقد استخدم الزيتون (*Olea europaea L.*) بشكل تقليدي لعدة قرون للوقاية وعلاج العديد من الأمراض (Al-Basher, 2018). فقد استخدمت أوراق الزيتون كعلاج لمختلف الأمراض، وكذلك ارتفاع ضغط الدم والسكري والاضطرابات الالتهابية (Soussi *et al.*, 2018). حيث أظهر Japon (Lujan *et al.*, 2006a; Al-Jubury, 2013) أن أوراق الزيتون تعتبر أكثر أجزاء أشجار الزيتون قوة في كسح الجذور.

1.5 الدراسة الكيموحيوية Biochemical studies

1.1.5 نشاط إنزيمات الكبد (ALT, AST, ALP, GGT)

توجد إنزيمات الكبد عادة في الدورة الدموية بكميات صغيرة بسبب نمو الكبد والإصلاح. كما أن إنزيم الكبد النوعي ALT فقط يرتفع بشكل معنوي في أمراض الكبد الصفراوية، الزيادة في مستوى AST، يمكن أن تحدث باتصال مع أضرار في القلب أو العضلات الهيكلية وكذلك في النسيج الحشوي الكبدى (Sherlock & Dooley, 1993; Hassan & Yousef, 2010). يوجد إنزيم GGT في خلايا الكبد، الخلايا الظهارية الصفراوية، الأنابيب الكلوية، البنكرياس والأمعاء، كما أنه يوجد في غشاء الخلية ويعزى نشاط هذا الإنزيم في الدم بشكل رئيسي إلى الجهاز الصفراوي (Burtis & Bruns, 2014).

تعمل نشاطات الإنزيمات الكبدية كمؤشرات حيوية مهمة سريريًا للكشف عن السمية الكبدية. يعتبر الكبد من أكثر الأعضاء حساسية تجاه المؤكسدات من خلال استخدامه كموقع لإزالة السموم من الأدوية والمواد السامة. وبالتالي رفع مستواها في الدم عن الحد الطبيعي عند حدوث تلف في أغشية الخلايا الكبدية وزيادة خروجها إلى الدم (Mazahreh *et al.*, 2020).

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.001$) في مستوى نشاطات إنزيمات الكبد (ALT, AST, ALP, GGT) في مصلى دم ذكور الأرناب البالغة التي غذيت بلفح يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% بالمقارنة مع المجموعة الضابطة. واتفقت هذه النتائج مع العديد من

الفيونول الحرة والكلية المستخلصة من أوراق الزيتون تنظم مستويات ALT وAST في مصل الدم (Farag et al., 2003; Khalil, 2004). سجلت نتائج الدراسة الحالية انخفاضًا معنويًا ($P < 0.01$) في مستوى نشاطات إنزيمات الكبد (ALT, AST, ALP, GGT) في مصل دم ذكور الأرانب البالغة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بجرعة (2.21 مل/كجم من وزن الجسم) وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% ولمدة 8 أسابيع بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم. وهذه النتائج كانت مماثلة لعدة دراسات سابقة أشارت إلى حدوث انخفاض معنوي في نشاطات الإنزيمات الكبدية (ALT, AST, ALP, GGT) في مصل دم الحيوانات المعاملة بمستخلص أوراق الزيتون مع مواد كيميائية مختلفة (Cisplatin, Paracetamol, Doxorubicin, Streptozotocin, Carbon tetrachloride, Fluoxetine, Methotrexate, Cyclophosphamide, Alloxan, Cadmium, Bisphenol A, High fat diet, Lipopolysaccharide) بالمقارنة بالمجموعات التي تمت معاملتها بالمواد الكيميائية السابق ذكرها والتي أدت إلى ارتفاع في نشاط هذه الإنزيمات (Khalil, 2004; Abd El-Azim, 2014; Sangi et al., 2014; Hamad, 2015; Kumral et al., 2015; Cerig et al., 2016; Sakr et al., 2016; Alruwaili and Hamed, 2017; Mohammed et al., 2017; Al-Basher, 2018; Al-Janabi, 2018; Elgebaly et al., 2018; Mahmoudi et al., 2018; Ustuner et al., 2018; Bijargah et al., 2019; Taha et al., 2020; Aggöl et al., 2020; Assumaidae et al., 2020; Fki et al., 2020; Jemai et al., 2020; Taamalli et al., 2020).

يعزى هذا الانخفاض في إنزيمات الكبد إلى عدة أسباب منها النشاط المضاد للالتهاب للمركبات عديدة الفيونول في المستخلص المائي لأوراق الزيتون، والذي يسمح بتنظيم مستويات الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين (Ghanam et al., 2015; Laaboudi et al., 2016)، وتلعب هذه المركبات دورًا مهمًا في تثبيت الأغشية البلازمية، ومنع تسرب الإنزيمات وإصلاح تلف أنسجة الكبد نتيجة تقليل الجذور الحرة التي تسببها المواد الكيميائية السامة للكبد كرابع كلوريد الكربون، الباراسيتامول والتعرض لأشعة جاما (Briante et al., 2002; Khalil, 2004; Zahkhouk et al., 2017; Alruwaili & Hamed, 2017). أو قد يكون التأثير الواقي للكبد للمستخلص المائي لأوراق الزيتون ناتجًا عن خاصيته المضادة للأكسدة (Peirce, 1999; Khalil, 2004; Hamad, 2015; Cerig et al., 2016; Al-Janabi, 2018). وتحسين معايير الإجهاد الأيضي والتأكسدي الناتجة عن السمنة والسكري في الجرذان (Poudyal et al., 2010; Zahkhouk et al., 2017). وكذلك لوجود الأحماض الفيونولية والفلافونويدات القادرة على إطلاق بروتون الهيدروجين من مجموعة الهيدروكسيل الخاصة بهم، مما يحبس الجذور الحرة ويمنع تلف الكبد (Ettaya et al., 2016; Sakr et al., 2016; Soussi et al., 2016). أو قد يكون بسبب وجود مركبات نشطة بيولوجيًا مثل التربينات الثلاثية (Taamalli et al., 2020).

وأظهر (Jamshed et al., 2014) أن الألوبروبين المستخلص من ورق الزيتون يوفر تأثيرًا واقياً للكبد عن طريق عكس التغيرات التي ينتجها Tamoxifen، وأظهر أيضًا تأثيرًا محتملاً ومفيداً للألوبروبين في تخفيف الإجهاد التأكسدي وتعزيز الدفاعات المضادة للأكسدة في الفئران التجريبية. لقد ثبت أن الألوبروبين ومشـتقاته من هيدروكسي تايروسول هما كاسحان لأنيونات فوق الأكسيد وجذور الهيدروكسيل ومثبطان للجذور المشتقة من حمض الهيدروكلوريك (Lissoni et al., 2005; Jordan, 2006; Jamshed et al., 2014).

تحتوي أوراق الزيتون على التربينات الثلاثية (حمض الأولينولك وحمض الماسلينك)، الفلافونويدات (مثل اللوتولين، الأبيجينين والروتين)، والشالكونات Chalcones مثل أوليفين، أوليفين داي جليكوسايد، التربينات الأحادية Monoterpenes iridode، والتي يعتقد أنها مسؤولة عن التأثيرات الدوائية (Meirinhos et al., 2005; Pereira et al., 2007; Al-Attar & Shawush, 2015). وقد تبين أن مستخلص أوراق الزيتون الكلي كان له نشاط مضاد للأكسدة أعلى من فيتامين C وفيتامين E، بسبب التأزر بين الفلافونويد، والألوبروبوسايدات والفيونولات البديلة (Benavente-Garcia et al., 2000; Al-Attar & Shawush, 2015).

أكد (Taha et al., 2020) الانخفاض الكبير في نشاطات الإنزيمات الكبدية ALT, AST, ALP وGGT في الجرذان المعالجة بمستخلص أوراق

(2017b). بالإضافة إلى ذلك، يمكن أن يعزى الارتفاع المعنوي في الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين في مصل الدم إلى أنه في ظل الظروف المرضية، فإن الخلايا البرنشمية للفصوص الكبدية تفشل في أداء الوظائف الحيوية، والتي عادة ما تؤدي إلى تمثيل غذائي وسطي غير متوازن أو مضطرب. ويمكن تفسير هذه الزيادة أيضًا عن طريق إنتاج الجذور الحرة التي تتفاعل مع الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة لغشاء الخلية مما يؤدي إلى إجهاد تأكسدي يؤدي إلى إضعاف غشاء الميتوكوندريا والغشاء البلازمي مما يؤدي إلى تسرب الإنزيمات (Sujatha & Sisilamma, 2009; Helal et al., 2017b).

يؤدي نيتريت الصوديوم إلى توليد أنواع النيتروجين المتفاعلة (RNS)، وأكسدة الدهون والنضوب المباشر للإنزيمات المضادة للأكسدة (El-Sheikh, 2016; Bala & Gupta, 2016). ويتفاعل مع الأمينات الثانوية لإنتاج النيتروز أمينات، والتي تكون مسرطنة في الطبيعة، ويزيد من مستوى LPO الذي يساهم في تلف خلوي واضح في ظل الإجهاد التأكسدي (Iyyaswamy & Rathinasamy, 2012; Bala & Gupta, 2016).

ويزداد نشاط إنزيم GGT بشكل معنوي في مصل الدم والذي قد ينتج عن السمية الكبدية وتلف الكبد، فكلما زاد تلف الكبد كلما زاد إطلاق إنزيمات الكبد (El-Khayat et al., 2009; Ateya et al., 2016). نظرًا لأن المضافات الغذائية تتسبب في تلف خلايا الكبد والتتسكس الخلوي أو تدمير الكبد بسبب تلف أغشية الخلايا الكبدية، يتم إطلاق أنواع مختلفة من الإنزيمات الموجودة عادة في العصارة الخلوية Cytosol في مجرى الدم (Etim et al., 2016; Ateya et al., 2006; Ateya et al., 2016). يرتفع نشاط إنزيم GGT أيضًا في معظم حالات اضطرابات الكبد وفي كل من سرطان الكبد الابتدائي والثانوي (Onyema et al., 2006; Whitby et al., 1992; Ateya et al., 2016).

إن الزيادة في نشاط ALT وAST في مصل الدم والتي لوحظت في المجموعات المستحقة بهذه المضافات قد تعكس تلف خلايا الكبد وتتسببها وزيادة نفاذية الغشاء البلازمي (Pari & Arumugam, 2008; Ahmed, 2016). وتشير هذه الزيادة إلى استخدام الأحماض الأمينية في الأكسدة أو في استحداث السكر وهي تستخدم لتحديد تلف الكبد والنخر الخلوي بسبب السمية أو قد تكون هذه الزيادة ناتجة عن الإجهاد التأكسدي الناجم عن نيتريت الصوديوم وزيادة التعبير عن caspase-3 المنشط في أنسجة الكبد (Eissa et al., 2021). تؤدي الاضطرابات الخلوية الكبدية الالتهابية إلى مستويات عالية جدًا من الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين ALT وAST (Foreston et al., 1985; Hultcrantz et al., 1986; Helal & Elsaid, 2006).

ومن المعروف أن هذه الإنزيمات موجودة بشكل رئيسي في الكبد بتركيزات عالية، والقيم العالية في نشاطات الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين، ALP وGGT في مصل دم الجرذان المعاملة بالنيتريت بالنسبة لقيم المجموعة الضابطة تدل على تلف خلوي حاد داخل الكبد يعزى إلى جرعة المركب (Usunomena et al., 2011; Kadhum et al., 2015).

ينتمي ALP لمجموعة من الإنزيمات المحفزة لتحلل الاسترات أحادية الفوسفات. يوجد ALP على سطح الخلية في معظم الأنسجة البشرية. حيث يوجد بتركيز عالية في أنسجة الأمعاء، الكبد، العظام، الطحال والكلية (Hoss & Yousef, 1999; Hassan & Yousef, 2010). الموقع المحدد لهذا الإنزيم داخل كل من الجيبينات وأغشية القنات الصفراوية يفسر الارتفاعات الأكثر شيوعًا في اضطرابات معينة (Bishop et al., 2010; Hassan & Yousef, 2010). يجرى النخر الخلوي الحاد إنزيم ALP في الدورة الدموية ويرتفع مستواه في مصل الدم. ترتبط زيادة نشاط إنزيم ALP في مصل دم الأرانب التي تلقت نيتريت الصوديوم مع تلف أغشية الخلايا الكبدية واختلال وظيفة الكبد والتي تعزى جزئيًا إلى تأثير إنتاج الجذر الحر (أكسيد النيتريك) الناتج عن النيتريتات (Ahmed & Mannaa, 2015; Abed-Al-Azeez et al., 2000).

أظهرت الدراسة الحالية أن تناول المستخلص المائي لأوراق الزيتون بمفرده لم يؤدي إلى أي تغير ($P > 0.05$) في نشاطات إنزيمات الكبد (ALT, AST, ALP وGGT) في مصل دم ذكور الأرانب عندما قورنت مع المجموعة الضابطة وهذه النتائج تتفق مع العديد من الدراسات السابقة (Al-Attar & Shawush, 2015; Zahkhouk et al., 2017; Al-Thebaiti & Zari, 2018; Ustuner et al., 2018; Aggul et al., 2020; Assumaidae et al., 2020). وقد يرجع ذلك إلى أن مركبات متعددة

التأكسدي الذي يؤثر على الوظيفة التصنيعية للكبد بواسطة نيتريت الصوديوم (Naganna, 1989; Ateya et al., 2016). ويمكن أن يكون ناتجاً عن تكوين أكسيد النيتريك أو بيروكسي نيتريت، الذي يؤكسد البروتينات التي تضعف عملية الأيض في الكبد (Zraly et al., 1997; Hassan et al., 2018). انخفاض تركيز الألبومين قد يكون ناتجاً عن أمراض الكبد والكلية (O'Connell, 2005; Ateya et al., 2016). أوضحت نتائج الدراسة الحالية أن تجرع ذكور الأرانب بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بمفرده لم يؤدي إلى حدوث أي تغيرات ($P > 0.05$) في تركيزات الألبومين والجلوبيولين ونسبة الألبومين/الجلوبيولين في مصل الدم بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، واتفقت هذه النتائج مع دراسة (Badr & Fouad, 2016).

بينت نتائج الدراسة الحالية حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في تركيزات البروتين الكلي، الألبومين، ولا يوجد أي فرق معنوي ($P > 0.05$) في تركيز الجلوبيولين ونسبة الألبومين/الجلوبيولين في مصل دم الأرانب البالغة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بجرعة (2.21 مل/كجم من وزن الجسم) وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% ولمدة 8 أسابيع مقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم، وكانت النتائج الحالية مطابقة مع عدة دراسات سابقة أوضحت وجود ارتفاع معنوي في تركيزات البروتين الكلي والألبومين في مصل دم الجرذان المعاملة بمستخلص أوراق الزيتون مع مواد كيميائية مختلفة (Cyclosporine, Oxy tetracycline, Cadmium, Carbon tetrachloride, Streptozotocin chloride) بالمقارنة بالمجموعات التي تمت معاملتها بالمواد الكيميائية السابق ذكرها والتي أدت إلى انخفاض تركيزات هذه البروتينات (El Sayed et al., 2014; Hedeab et al., 2015; Afify et al., 2018; Ashour & Mohamed, 2019; Chaker et al., 2020; Nadimohamed et al., 2020).

قد يكون التحسن في محتوى البروتين بسبب الألوبروبين الذي حفز تكوين البطانة وكذلك تصنيع mRNA والبروتين (Carluccio et al., 2003; Abdelhafez et al., 2017). أو بسبب زيادة كمية الريبوسومات في الشبكة الإندوبلازمية الخشنة في الخلايا، مما يعكس قدرته على تحفيز تصنيع البروتين (Tunez et al., 2003; Abdelhafez et al., 2017).

أظهر (Al-Janabi et al., 2015) أن استخدام مستخلص أوراق الزيتون يحسن مستويات الألبومين والبروتين الكلي في مصل دم جرذان السكري المستحثة بـ Streptozotocin. وتعد أوراق الزيتون مصدرًا للعديد من مضادات الأكسدة (Briante et al., 2002; Bouaziz & Sayadi, 2005; Al-Attar & Shawush, 2014). حيث يستخدم الطب الشعبي والمعالجة النباتية أوراق الزيتون لعلاج ومنع العديد من الأمراض. تم وصف العديد من هذه الخصائص على أنها ناتجة عن السمة المضادة للأكسدة للألوبروبين (Visioli et al., 1998; Al-Attar & Shawush, 2014).

أوضح (Al-Attar and Abu Zeid, 2013) أن المعالجة المسبقة بمستخلصات أوراق الشاي والزيتون ومزيجهما يخفف من التغيرات الكيميائية الشديدة التي يسببها Diazinon، واقترحوا أن تأثيرات مستخلصات أوراق الشاي والزيتون ومزيجها ضد السمية الكبدية التي يسببها Diazinon، قد تكون بسبب الخصائص المضادة للأكسدة لمكوناتها الكيميائية الطبيعية.

أفاد (Micol et al., 2005; Ali and Ahmed, 2020) أن الزيادة في مستوى البروتين الكلي تشير إلى قدرة زيت الزيتون وأوراق الزيتون على تحفيز تجديد الأنسجة الكبدية مما أدى إلى زيادة تصنيع البروتين في الكبد التالف وتحسين وظائف خلايا الكبد وحالتها.

أكد (Ashour and Mohamed, 2019) التأثير الوقائي لمستخلص أوراق الزيتون على السمية الكبدية المستحثة برابع كلوريد الكربون في الجرذان من خلال قدرته على تثبيت أغشية الخلايا، وكسح الجنور الحرة والخصائص المضادة للأكسدة. كما استنتجوا أن كلا من مستخلص أوراق الزيتون البارد والمغلي لهما تأثيرات قوية على تحسين وظائف الكبد ومضادات الأكسدة في الجرذان التي يسببها رابع كلوريد الكربون للسم للكبد. حيث أشاروا إلى أنه يمكن استخدام مستخلص أوراق الزيتون ومكوناته النشطة ككامل وعوامل علاجية قد تكون مفيدة لمنع التغيرات الفسيولوجية والنسجية التي يسببها رابع كلوريد الكربون واستعادة حالة مضادات الأكسدة ووظائف الكبد إلى مستويات أقرب لمستويات المجموعة الضابطة.

الزيتون+ الباراسيتامول والتأثير الوقائي للمستخلص الذي يحتوي على الأحماض الدهنية (حمض الأولينوليك، حمض الستريك، pentaadecanoic acid, octadecenoic acid, Cis-vaccenic acid و E11) والفلافونيدات مثل (BSitosterol, Quercetin, Astibin, Isovitexin)، والتي تظهر خصائص واقية للكبد ولها دور في الحفاظ على السلامة التركيبية للغشاء الخلوي الكبدية التي يمكن أن تكون مسؤولة عن نشاط تثبيث الغشاء. حيث أدت جرعة مستخلص أوراق الزيتون إلى تحسين نشاط إنزيمات الكبد بشكل كبير مما يشير إلى أن مستخلص أوراق الزيتون الذي يحتوي على مكونات نباتية مثل الألوبروبين والهيدروكسي تايروسول يعكس الالتهاب المزمن والإجهاد التأكسدي.

2.1.5 تركيزات البروتين الكلي والألبومين والجلوبيولين ونسبة الألبومين/الجلوبيولين

يعد الكبد المصدر الوحيد لمعظم بروتينات البلازما وبشكل أساسي الألبومين، الفيبرينوجين والبروثرومبين. ومعظم الجلوبيولين α و β (Sherlock & Yousef, 2010; Dooley, 1993; Hassan & Yousef, 2010). ويمكن استخدام تركيزات البروتين الكلي والألبومين في مصل الدم كمؤشرات لحالة الكبد والتقريب بين الأنواع المختلفة من تلف الكبد (Naganna et al., 1989; Helal et al., 2017a).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاضًا معنويًا ($P < 0.001$) في تركيزات البروتين الكلي، الألبومين، ولا يوجد أي فرق معنوي ($P > 0.05$) في تركيز الجلوبيولين ونسبة الألبومين/الجلوبيولين في مصل دم الأرانب البالغة المغذاة بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، هذه النتائج اتفقت بشكل جزئي مع بعض الدراسات في حدوث انخفاض معنوي في تركيزات البروتين الكلي والألبومين في مصل دم حيوانات التجارب (الجرذان) المعاملة بنيتريت الصوديوم بالمقارنة مع المجموعة الضابطة ولكنها لا تتفق مع نتائج تركيز الجلوبيولين ونسبة الألبومين/الجلوبيولين حيث حدث انخفاض معنوي في كل منهما (Helal & Elsaid, 2006; Helal et al., 2008; El-Sheikh & Khalil, 2011; Abu Aita & Mohammed, 2014; Hammoud et al., 2014; Hassan et al., 2018; Abushofa et al., 2019; Adewale et al., 2019; Radwan et al., 2021; Soliman et al., 2020b). في حين اتفقت دراسة (Helal et al., 2017a) في حدوث تغير غير معنوي في نتائج نسبة الألبومين/الجلوبيولين، وحدث انخفاض معنوي في تركيزات البروتين الكلي والألبومين في مصل دم الجرذان المعاملة بنيتريت الصوديوم بالمقارنة مع المجموعات الضابطة ولم تتفق مع نتائج تركيز الجلوبيولين.

هذا الانخفاض قد يعزى إلى تحفيز الغدة الدرقية والغدد الكظرية بواسطة نيتريت الصوديوم الذي يؤدي إلى عرقلة في تصنيع البروتين، وتحطيمه سريعًا، وزيادة معدل الأحماض الأمينية الحرة، وانخفاض دوران البروتين (Abdeen et al., 2016; Ateya et al., 2008; et al.). وتؤدي تفاعلات النيتريت إلى إطلاق أكسيد النيتريك، والذي يمكن أن يثبط تصنيع البروتين (Kolpakov et al., 2011; El-Sheikh & Khalil, 1995; al.). ويسبب نيتريت الصوديوم التلف التأكسدي لغشاء الخلية، وتلف أنسجة الكبد، مما أدى إلى انخفاض مستويات الألبومين (Salama et al., 2013; Aboulgasem et al., 2015). واستخدام الأحماض الأمينية في الأكسدة أو استحداث السكر (Etim et al., 2006; Helal et al., 2017b). وزيادة في نزع الجلوكوز من الأحماض الأمينية (Varely, 2010; Hassan & Yousef, 2010; Hassan & Yousef, 1987). وتكوين مركبات N- نيتروزو السامة التي تثبط عملية الفسفرة التأكسدية (Anthony et al., 1994; Hassan & Yousef, 2010).

إن الانخفاض في مستوى الألبومين في مصل الدم قد يكون بسبب فقدان البروتين من القناة الهضمية، أو بسبب انخفاض تكوين الألبومين في الكبد أو بسبب تخر الكبد نتيجة لإعطاء نيتريت الصوديوم لذكور الجرذان البيضاء (Said et al., 1992; Helal et al., 2008).

انخفاض تركيزات البروتينات الكلية والألبومين بشكل معنوي في المجموعة التي تناولت نيتريت الصوديوم مقارنة مع المجموعة الضابطة قد يعزى إلى تأثيرات نيتريت الصوديوم على الكبد إما من خلال تثبيط عملية الفسفرة التأكسدية (Anthony et al., 1994; Abu Aita & Mohammed, 2014) أو من خلال التغيرات النخرية خصوصًا في الغشاء البلازمي (Guler et al., 1994; Abu Aita & Mohammed, 2014).

إن تركيزات البروتين الكلي والألبومين في مصل الدم قد انخفضت بشكل معنوي وقد تكون هذه الانخفاضات بسبب الإجهاد

3.1.5 تركيزات اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم

تلعب الكلى دورًا حيويًا في إفراز الفضلات والسموم مثل اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك، وتنظيم حجم سوائل الجسم، والأسموزية وتركيزات الإلكتروليتات في مصل الدم (Okoro & Farate, 2019; Nwose et al., 2019; Damiati, 2019; Rodriguez et al., 2021). وغالبًا ما يتم التعرف على السمية الكلوية من خلال العديد من الاضطرابات الأيضية بما في ذلك زيادة الكرياتينين واليوريا في الدم (Naggayi et al., 2015; Nadimohamed et al., 2020).

تعد اليوريا المنتج النهائي للنيروجيني الرئيسي لأيض البروتين والأحماض الأمينية، وتنتج عن طريق الكبد. يتم تصفية اليوريا من الدم في الكلى عن طريق الكبيبات ويتم امتصاصها جزئيًا بواسطة الأنابيب الكلوية (Corbett, 2010; Gowda et al., 2010). لذا لا يعتمد كليًا على فحص اليوريا في تقييم وظيفة الترشيح الكلوي بل يتم فحص الكرياتينين الذي يترشح كليًا بدون أن يمتص ثانية من قبل الأنابيب الكلوية (Loughridge & Lewis, 2008). أما الكرياتينين فهو أحد نواتج تكسير فوسفات الكرياتين في العضلات، وعادة ما يتم إنتاجه بمعدل ثابت إلى حد ما من قبل الجسم اعتمادًا على كتلة العضلات (Yuegang & Chengjun, 2008; Gowda et al., 2010). ينقل الكرياتينين بعد تكوينه عن طريق الدم للكلى، حيث يترشح بواسطة الكبيبات الكلوية ويخرج عن طريق الإدرار من دون أن يعاد امتصاصه من قبل الأنابيب الكلوية (Petersmann et al., 2016). يستخدم الكرياتينين بشكل شائع كمقياس لوظيفة الكلى (Corbett, 2008; Gowda et al., 2010).

يعد حمض البوليك الناتج النهائي في عملية تمثيل مجموعة من القواعد النيروجينية التي تعرف بالبيورينات Purines والتي تدخل ضمن التركيب الكيميائي للأحماض النووية Nucleic acid (Nezhat et al., 2017). وهو حمض ضعيف يرتبط بشدة بالتغيرات المرضية الكلوية ويتم إفرازه والتخلص منه عن طريق الكلى (Hassan & Gilbert, 2011).

بينت نتائج الدراسة الحالية حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.001$) في تركيزات اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دم الأرانب البالغة التي تم تغذيتها بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% مقارنة بالمجموعة الضابطة. حيث اتفقت نتائج هذه الدراسة مع ما توصل إليه العديد من الباحثين الذين أفادوا بحدوث ارتفاع معنوي في تركيزات اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دم حيوانات التجارب (الجرذان، خنازير غينيا) المعاملة بنيتريت الصوديوم بالمقارنة مع المجموعات الضابطة (El-Sabagh et al., 2014; Aboulghasem et al., 2015; Ahmed, 2016; Al-Gayyar et al., 2016; Amin et al., 2016; Bala & Gupta, 2016; Khalaf et al., 2016; Fouad et al., 2017; Abdel-Rahman et al., 2018; Uslu et al., 2019; Adewale et al., 2020a; Adewale et al., 2020b; El-Nabarawy et al., 2020; Radwan et al., 2020b). في حين اتفقت دراسة (Abdel-Baky, 2019) بشكل جزئي في وجود ارتفاع معنوي في تركيزات اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك وأيونات الصوديوم في مصل دم الجرذان المعاملة بنيتريت الصوديوم ولكنها لا تتفق مع نتائج أيونات البوتاسيوم حيث حدث انخفاض معنوي في أيونات البوتاسيوم في مصل دم نفس المجموعة.

يؤثر نيتريت الصوديوم على وظائف الكلى ويسبب زيادة في اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك في مصل الدم والذي قد يعزى إلى التغييرات في معدل الترشيح الكبيبي، وتدفق الدم الكلوي وعتبة إعادة الامتصاص الأنبيبي (Hassan et al., 2009; Abed-Al-Azeez et al., 2015; Abdel-Baky, 2019). وهذا يعكس التأثير السام لنيتريت الصوديوم على الكلى (Zurovsky & Haber, 1995; Abu Aita & Mohammed, 2014). والذي قد يتفاعل مع أمينات الأطعمة في المعدة وتنتج النيتروز أمينات والجذور الحرة التي قد تزيد أكسدة الدهون مما يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي ويمكن أن يكون ضار بالأعضاء المختلفة مثل الكلى (Choi et al., 2002; Mohammed & Abu Aita, 2014). أو قد يكون بسبب تكوين أكسيد النيتريك الذي يسبب خلل وظيفي في الكلى (Ahmed & Manna, 2016; Ahmed et al., 2000; Ismail et al., 2003; Ateya et al., 2016). وعدم قدرة الكلية على إفراز الفضلات النيروجينية (Ahmed, 2016).

يرتبط فرط حمض البوليك في الدم بتوليد الجذور الحرة (Jin et al., 2012; Ahmed, 2016) حيث يحفز إنزيم أكسدة الزانثين (الزانثين أكسيداز) أكسدة

الهيپوزانثين/زانثين إلى حمض البوليك ويولد جذور فوق الأكسيد مما يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي (Paul et al., 2012; Ahmed, 2016). ويمكن أيضًا أن تعزى هذه التأثيرات إلى التأثير السام للخلايا لمركبات N- نيتروزو في الكلى (Zurovsky & Haber, 1995; Ahmed, 2016). أو قد يكون بسبب زيادة الإجهاد التأكسدي المستحدث بنيتريت الصوديوم والذي يؤدي إلى زيادة إنتاج الجذور الحرة التي تسبب خلل في الأحماض النووية حيث أشار الصالح (2011) إلى أن الجذور الحرة تلحق الضرر بمكونات الخلية ومنها الأحماض النووية والقواعد النيروجينية ويعد حمض البوليك الناتج النهائي لأيض البيورينات لذلك سوف يرتفع تركيزه في الدم، أو قد يكون نتيجة تأثير نيتريت الصوديوم على خلايا الكلية، إذ يسبب اضطراب في وظائفها حيث لاحظ (Scibior et al., 2014) أن هناك علاقة بين الإجهاد التأكسدي المستحدث ودرجة الفشل الكلوي في ذكور الفئران البيضاء إذ تسبب الجذور الحرة أكسدة الأغشية البلازمية المكونة للخلايا الكلوية مما يسبب تدفق حمض البوليك إلى مصل الدم وبالتالي ارتفاعه.

قد تكون زيادة تركيزات الكرياتينين واليوريا في الدم خلال أمراض الكلى أو التلف الكلوي بسبب النشاطات العالية لإنزيم الزانثين أكسيداز، فضلًا عن ضعف النشاطات إنزيم دورة اليوريا (Anwar & Meki, 2003; Helal et al., 2017c). أو قد ترتبط بانخفاض معدل الترشيح الكبيبي الناتج عن الفشل الكلوي المزمن نتيجة لتقليل إفراز الكرياتينين بواسطة كل من الكبيبات والأنابيب (Branten et al., 2005; Adewale et al., 2020a). إن نيتريت الصوديوم يؤدي إلى نقص الأكسجة مما يؤدي إلى تلف شديد في الكبيبات والأنابيب الملتهبة القريبة (Ismail et al., 2003; Atef et al., 1991; Zaidi, 2020).

تعمل الكلى على الحفاظ على تركيزات الإلكتروليتات في الدم ثابتة على الرغم من التغيرات في الجسم. لذلك، يتم استخدام قيم الإلكتروليتات بشكل شائع كمؤشرات لوظائف الكلى أو الاختلالات الوظيفية. تشارك الإلكتروليتات والمعادن في معظم الأنشطة الخلوية ولها دور رئيسي في عملية التمثيل الغذائي. إن استهلاك نيتريت الصوديوم له تأثيرات كبيرة على الامتصاص والإخراج والتركيزات المصلية للعديد من الإلكتروليتات والمعادن المهمة من الناحية الفسيولوجية، بما في ذلك الصوديوم والبوتاسيوم. قد يؤدي اضطراب الإلكتروليتات إلى تغييرات استقلابية شديدة مهددة للحياة (Reddy et al., 2018; Abdel-Baky, 2019).

ترتبط أهمية أيونات K^+ و Na^+ في مصل الدم بمشاركتها في العديد من النشاطات الحيوية للخلايا والأنسجة، حيث يتم نقلها بشكل نشط من خلال أغشية الخلية، بجانب دورها في تقلص العضلات. يمكن ربط النتائج الحالية بتلف غشاء الخلية الذي يؤدي إلى اضطرابات في ضخ K^+ و Na^+ واضطرابات في نفاذية الغشاء (Ganong, 1999; El-Missiry et al., 2001; Hassan, 2007). أو من خلال تثبيط نشاط $Na^+/K^+ATPase$ ، حيث يكون هذا الإنزيم مسؤولًا عن النقل النشط للصوديوم والبوتاسيوم عبر غشاء الخلية ويشير إلى أنه المكافئ الإنزيمي لمضخة الصوديوم والبوتاسيوم (Na^+ , K^+ pump) (Keller, 1986; Hassan, 2007).

كما ذكر (James and Mitchel (2006); Adewale et al. (2020a) أنه يشار إلى ارتفاع البوتاسيوم على أنه أكثر علامات الإلكتروليتات مصداقية للفشل الكلوي. يمكن أن تكون زيادة مستوى البوتاسيوم نتيجة لانخفاض إفراز البوتاسيوم في الأنبيبات البعيدة أثناء الفشل الكلوي مما يؤدي إلى زيادة البوتاسيوم في الدم. تم أيضًا ربط الزيادة الكبيرة في Na^+ و K^+ ارتباطًا مباشرًا بالسمية الكلوية (Jeomah et al., 2018; Adewale et al., 2020a). وبالتالي تقوية التأثير السام المعزز الناتج عن نيتريت الصوديوم (Branten et al., 2005; Adewale et al., 2020a).

يرتبط سبب زيادة البوتاسيوم بمعدل الترشيح الكبيبي والانتشار الخلفي السلبي من خلال الخلايا الأنبوبية التالفة. هذا بسبب خلل في نظام الرينين أنجيوتنسين-الألدوستيرون، وضعف الترشيح الكبيبي وانخفاض إعادة الامتصاص (Coll et al., 2000; Khanagay et al., 2014; Varghese et al., 2018).

قد يتسبب التعرض البيئي والمهني للمواد السامة للكلية في حدوث ضعف في الأنابيب الكلوية والكبيبي (Marek, 2005; Okpogba et al., 2021). الكلى معرضة بشكل خاص لهذه التأثيرات بسبب تركيبها ووظيفتها. تتلقى الكلية حُصَم الناتج القلبي أثناء الراحة، ويخضع 10% منها للترشيح في الكبيبة. هذا يجلب كميات كبيرة من المواد المذابة/الجسيمات إلى الأجزاء الكبيبية والأنبوبية (Marek, 2005; Okpogba et al., 2021).

التغيرات الحادة في المتغيرات الكيموحيوية واضطرابات التركيب النسيجي الكلوي (Al-Attar et al., 2017).

قد يكون هذا التأثير الوقائي ناتجاً عن خصائص تثبيت الغشاء غير المباشر للأوليوروبين الموجود في مستخلص أوراق الزيتون (Ademola et al., 2019; Jemai et al., 2018)، الذي يقمع الإجهاد التأكسدي في كلية الفئران من خلال تقليل تراكم الجذور الحرة المتولدة (Lins et al., 2018; Jemai et al., 2019).

إن إعطاء الجردان مستخلص أوراق الزيتون عكس وظائف الكلى نحو المستويات الطبيعية والتي يمكن أن تكون بسبب انخفاض الاضطرابات الأيضية مثل التمثيل الغذائي للبروتين والحمض النووي (Zoair, 2014). حيث أشار (Al-Attar and Alsalmi, 2019b) إلى أن الاستخدام العلاجي المحتمل لمستخلص أوراق الزيتون كعامل جديد وقائي للكلية ضد الفشل الكلوي الحاد قد يعود إلى قدرته على خفض Ang II في أنسجة الكلى وبالتالي تقليل الضغط على الشرايين في كبيبات الكلى (Scheffler, et al., 2008; Al-Hayaly et al., 2020).

2.5 Histological study

تعد دراسة التغيرات التي تحدث في أنسجة الأعضاء نتيجة التعرض للمواد الكيميائية مؤشراً هاماً لتقييم التأثيرات السامة الناتجة عن تلك المواد من خلال معرفة التغيرات ونتائجها وطرق علاجها للارتباط الوثيق بين وظيفة الأعضاء المتضررة وتركيبها النسيجي (Luster et al., 1988).

1.2.5 التغيرات النسيجية في الكبد

الكبد لديه القدرة على إزالة السموم وهو ضروري لعملية التمثيل الغذائي وإفراز المواد السامة. قد يؤدي التعرض للمواد السامة إلى تغيرات نسيجية في الكبد، والتي بدورها يمكن استخدامها كمؤشر حيوي للإشارة إلى التعرض المسبق. يمتلك الكبد القدرة على تقليل المركبات السامة، لكن الآليات التنظيمية يمكن أن تغمرها التركيزات العالية من هذه المركبات، مما قد يؤدي إلى تلف الأنسجة بعد ذلك (Scott & bord, 1996)، وعبد الله وحسين، (2015).

لوحظ في الدراسة الحالية من خلال الفحص المجهرى للقطاعات النسيجية في كبد ذكور الأرانب التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% ولمدة 8 أسابيع أن الخلايا الكبدية منتفخة وبها تورمات غائمة ويحتوي سيتوبلازمها على فجوات مختلفة الأحجام (دهنية أو مائية)، وحدثت اتساع واحتقان ودم متجلط في الأوردة المركزية وزيادة سمك بطانتها في بعض الفصيصات الكبدية. وحدثت ضيق في الجيبينات الدموية واحتوانها على كريات دم حمراء، بالإضافة إلى وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء في بعض مناطق أنسجة الكبد وخصوصاً بالقرب من الوريد المركزي وفي المنطقة البابية، ولاحظ أيضاً وجود احتقان ودم متجلط في الوريد البابي وزيادة سمك جداره وزيادة سمك القنابات الصفراوية، وحدثت تليف في المنطقة البابية، وزيادة سمك الشريان الكبدى، وكذلك وجود خلايا كبدية ثنائية النواة وارتشاح دهني. اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات السابقة منها دراسات (Abed-Al-Azeez et al., 2015; Amin et al., 2016; Eissa et al., 2021) الذين أفادوا بأن نيتريت الصوديوم سبب احتقان في الأوعية الدموية، ارتشاح بخلايا الدم البيضاء أحادية النواة حول الأوعية الدموية، تنكس دهني، تنكس مائي منتشر، تغيرات نووية، تنشيط خلايا كوبر. أيضاً أظهرت دراسات أخرى حدوث زيادة ملحوظة في عدد الخلايا الكبدية ثنائية النواة، تُظهر المنطقة البابية تضخماً ملحوظاً في القناة الصفراوية، احتقان بابي وارتشاح خلايا الدم البيضاء أحادية النواة والالتهابية، تضخم الطلائية المبطنة للقنوات الصفراوية وسماكة جدرانها وتكون فجوات سيتوبلازمية في الخلايا الكبدية، احتقان الوريد المركزي والبابي والجيبينات الدموية، وتوسع في الوريد المركزي، تليف ونزيف في المنطقة البابية وتنشيط خلايا كوبر (Abu Aita & Mohammed, 2014; Hammoud et al., 2020a; Ozen et al., 2014; Al-Hiti et al., 2018; Osman et al., 2021; Soliman et al., 2018; al., 2018) فقد أشارت إلى حدوث تنكس مائي معتدل إلى متوسط غالباً، والذي تميز بانتفاخ في الخلايا الكبدية خصوصاً في المناطق المحيطة بالوريد المركزي، احتقان الأوردة المركزية والبابية والجيبينات وارتشاح خلايا الدم البيضاء أحادية النواة واللمفاوية حول الأوعية الدموية، ولاحظوا أيضاً أن الخلايا الكبدية مرتبة بشكل غير منتظم مع تكون الفجوات السيتوبلازمية الناتجة عن التنكسات الفجوية والمائية أو التغيرات الدهنية، وضيق الجيبينات الدموية. بينما بين (Abebe et al., 2013a,b) حدوث نزف حاد داخل الجيبينات، ارتشاح المثلث البابي عن طريق الخلايا الالتهابية.

سجلت الدراسة الحالية أنه عند معاملة ذكور الأرانب بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بمفرده لم يحدث أي تغير ($P>0.05$) في تركيزات اليوريا، الكرياتينين، حمض البوليك، وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دم هذه الأرانب عندما قورنت بالمجموعة الضابطة، وكانت هذه النتائج متوافقة مع دراسات سابقة (Abdelhafez et al., 2017; Al-Thebaiti & Zari, 2018).

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.01$) في تركيزات اليوريا وحمض البوليك وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم وعند ($P<0.05$) في الكرياتينين في مصل دم الأرانب البالغة التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بجرعة (2.21 مل/كجم من وزن الجسم) وتم تغذيتها بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% ولمدة 8 أسابيع عند مقارنتها بمجموعة نيتريت الصوديوم، واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات السابقة التي أشارت إلى حدوث انخفاض معنوي في تركيزات اليوريا، الكرياتينين وحمض البوليك، وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دم حيوانات التجارب (الفئران، الجردان) المعاملة بمستخلص أوراق الزيتون مع مواد كيميائية (Gentamicin, Streptomycin, Cisplatin, Deltamethrin, Amikacin, Ischemia/Reperfusion, Alloxan, Diclofenac, Cadmium chloride, Glycerol) بالمقارنة بالمجموعات التي تمت معاملة المواد الكيميائية السابق ذكرها والتي أدت إلى ارتفاع تركيزات هذه المتغيرات (Abdel-Toolabi et al., 2011; Gayoum et al., 2015; Abd El-Rahman, 2016; Badr & Fouad, 2016; Laaboudi et al., 2016; Geyikoglu et al., 2017; Maalej et al., 2017; Salah et al., 2017; Senturk & Yildiz, 2018; Soussi et al., 2018; Jemai et al., 2019; Soussi et al., 2019; Abd El-Baky et al., 2020; Abugomaa & Elbadawy, 2020; Ali & Ahmed, 2020; Al-Hayaly et al., 2020).

قد يكون هذا التأثير الوقائي بسبب قدرة المركبات الفينولية على السماح بالتدخلات العلاجية في المراحل المبكرة لإبطاء تقدم المرض. وبالتالي تقليل المضاعفات المرتبطة بانخفاض معدل الترشيح الكبيبي مما يؤدي إلى تحسن وظائف الكلى (Petroni et al., 1995; Visioli et al., 1995; Maalej et al., 2017; Abaza et al., 2015; Abdel-Gayoum et al., 2015; Soussi et al., 2019; Jafaripour et al., 2016; Mehanna et al., 2016) الذي يزيد من محتوى الجلوتاثيون الكلوي (GSH) ويزيد من نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة الكلوية (Jemai et al., 2009; Tavafi et al., 2012; Pasban et al., 2013; Hedeab et al., 2015; Castellano et al., 2013; Mehanna et al., 2016) وتعزز آلية الدفاع المضادة للأكسدة الواقية للخلايا (Masella et al., 2005; Hamden et al., 2009; Mehanna et al., 2016)، بالإضافة إلى النشاطات البيولوجية المضادة للأكسدة للفينولات الحيوية الأخرى مثل فيرباسكوسايد، ليجستروسايد، التايروسول، وهيدروكسي تايروسول (Benavente-Garcia et al., 2000; Bonilla et al., 2006; Fares et al., 2011; Al-Jubury, 2020; Nadimohamed et al., 2013)، أو من خلال خصائصه الدوائية المعززة للصحة (Abugomaa & Elbadawy, 2020).

تحافظ إزالة الفضلات الأيضية مثل اليوريا وحمض البوليك والكرياتينين عن طريق الكلى على التركيب الكيميائي الأمثل لسوائل الجسم (Zoair, 2014)، وأشار (Abd El-Rahman, 2016) إلى أن جميع جرعات مستخلصات أوراق الزيتون المائية تحمي من ارتفاع مستويات اليوريا والكرياتينين في مصل دم الجردان المستحث بـ Gentamicin، واستعادت جرعة مستخلصات ورق الزيتون وفيتامين E مستويات الصوديوم والبوتاسيوم، مشيراً إلى النشاط الواقي للكلية. يمكن أن يؤدي اختلال توازن الإلكتروليتات إلى عواقب وخيمة لأنه يؤثر على توازن الجسم. التوازن هو العملية التي تحافظ بها خلايا الجسم على توازنها الداخلي على الرغم من التغيرات في البيئة الخارجية التي تقاس عادة بالإلكتروليتات (أيونات الصوديوم، البوتاسيوم، الكالسيوم، بيكربونات، الكلوريد... إلخ) والتي تعتبر مؤشرات جيدة لوظائف الكلى (Cohen & Lemann, 1991; Abd El-Rahman, 2016). أو لوجود خصائص مضادة للالتهابات الخلوية تحسن حالة الأكسدة. وقد يكون ناتجاً عن وجود مواد كيميائية نباتية مثل الفلافونويدات، أو من خلال تثبيط أكسدة الدهون (Abd El-Rahman, 2016)، وذلك من خلال منع

المُرَجَّح أن يكون سببه حدوث تلف للخلايا الكبدية، وهذا يحدث نتيجة للتأثير السام لنيتريت الصوديوم، إذ أن الإجهاد التأكسدي الناتج عن تجمع الجذور الحرة في الكبد يسبب تحطم الخلايا الكبدية، بالإضافة إلى أكسدة الدهون Lipid peroxidation المتواجدة ضمن غشاء الخلية أو أغشية الميتوكوندريا، مما يسبب ظهور الاستجابة الالتهابية والمناعية (Majumadar et al., 2008).

إن حدوث الفجوات في السيترولازم علامة مهمة على ضعف أنسجة وخلايا الكبد وهي من الآليات الدفاعية للخلايا الكبدية لمنع المادة السامة من عرقلة أنشطة الخلية وهذا ما يفسر انحلال أغشية الخلايا الكبدية (Abdel Hameed, 2004)، وإن هذه الفجوات مسؤولة عن جميع العناصر الضارة ومنعها من التدخل في الوظائف البيولوجية لهذه الخلايا (Cheville, 2009). أما التورم الخلوي فينتج من خلال التناكس الدهني الذي يشير إلى التراكم غير الطبيعي في الدهون الثلاثية في خلايا الكبد (Kumar et al., 2007; Abed-Al-Azeez et al., 2015). إن تراكم الدهون في الكبد عملية غير مفهومة بشكل دقيق، فعندما يتجاوز كمية الأحماض الدهنية الكبدية القدرة على التخلص منها، يتم تخزينها على شكل TG في الكبد (Babin & Gibbons, 2009).

إن زيادة عدد الخلايا الكبدية ثنائية النواة قد تعزى إلى الإصابة بنيتريت الصوديوم السام للخلايا الكبدية كما أظهرت دراسات سابقة أن زيادة تكرار فرضية الخلايا الكبدية ثنائية النواة كمؤشر لشدة المرض الكبدية وأن ثنائية النواة قد فسرت كحالة خلوية التي تكون أكثر قدرة على الاستجابة للمطلب الكبير لتصنيع البروتين (Grizziand & Chiriva, 2007; Abu Aita & Mohammed, 2014)، وقد تكون ردة فعل لاستجابة الخلية لإصابة الكبد (Madeha, 2011; Abu Aita & Mohammed, 2014).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية للفحص المجهرى لنسيج كبد ذكور الأرانب التي تناولت المستخلص المائي لأوراق الزيتون بمفرده إلى عدم حدوث أي تغييرات نسيجية في نسيج الكبد وظهر الكبد بمظهر طبيعي مماثلًا للمجموعة الضابطة، واتفقت هذه النتائج مع عدة دراسات سابقة (Abd El-Azim, 2014; Sakr et al., 2016; Mohammed et al., 2017; Ustuner et al., 2018; Ashour & Mohamed, 2019; Assumaidae et al., 2020; Chaker et al., 2020; Taamalli et al., 2020).

أشارت نتائج الدراسة الحالية للفحص المجهرى لنسيج كبد الأرانب التي جرعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون ثم تناولت نيتريت الصوديوم إلى حدوث تحسن واضح في التركيب النسيجي للكبد بالمقارنة بمجموعة نيتريت الصوديوم فقط، حيث استعادت الخلايا الكبدية شكلها الطبيعي وانتظامها على هيئة أشرطة كبدية، وقل قطر الوريد المركزي، مع استمرار ارتشاح قليل بخلايا الدم البيضاء، واستعادت الجيبينات الدموية شكلها الطبيعي ووجود كريات دم حمراء في بعضها. وجاءت هذه النتائج متفقة مع نتائج عدة دراسات سابقة (Khalil, 2004; Abd-El-Azim, 2014; El-Sayed et al., 2014; Sangi et al., 2014; Yildirim et al., 2014; Al-Attar & Shawush, 2015; Cerig et al., 2016; Sakr et al., 2016; Mohammed et al., 2017; Salah et al., 2017; Elgebaly et al., 2018; Mahmoudi et al., 2018; Soussi et al., 2018; Ustuner et al., 2018; Al-Attar & Alsalmi, 2019a; Assumaidae et al., 2020; Chaker et al., 2020; Fki et al., 2020; Jemai et al., 2020; Taamalli et al., 2020; Taha et al., 2020).

إن العلاج بمستخلص أوراق الزيتون حسن التغييرات النسيجية المرضية للخلايا الكبدية التي لوحظت في الجرذان المصابة بداء السكري المستحث بـ Streptozotocin جنباً إلى جنب مع تخفيض ALT وAST (Sakr et al., 2016). مستخلص أوراق الزيتون غني بالمركبات الفينولية تشمل الفلافونوات، الفلافونولات، Catechin، الفينولات المستبدلة (Japon-) المتعددة الأكثر وفرة في أوراق الزيتون ذات الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب (Visioli et al., 2002; Pereira et al., 2006; Cumaoglu et al., 2011; Sakr et al., 2016).

أشار (Abd El-Azim (2014) إلى أن الجرذان المعالجة بمستخلص أوراق الزيتون والمحفونة داخل الصفاق بـ Methotrexate قد أظهرت تحسناً في تنكس الخلايا الكبدية بالإضافة إلى الاتساع الجببي، وخضف ارتشاح الخلايا للمفاوية، وتنكس دهني أقل. أما في حالة الجرذان المعالجة بمستخلص أوراق الزيتون فتركيب الخلايا الكبدية، القنيات الصفراوية والجيبينات الدموية فكانت طبيعية تماماً كذلك الموجودة في المجموعة الضابطة. وأشار Abd El-Azim

أظهر الكثير من الباحثين في دراساتهم على تأثير نيتريت الصوديوم على نسيج الكبد حدوث تنكس فجوي ومائي في الخلايا الكبدية، احتقان واتساع في الأوعية الدموية واحتقان الأوردة المركزية والبابية والجيبينات الدموية، ارتشاح خلايا الدم البيضاء أحادية النواة والالتهابية حول الوريد البابي، انتفاخ الخلايا الكبدية، تكون فجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية، تليف بابي، وتنشيط خلايا كوبرفر المنتشرة خلال الأنسجة المتكسدة (Usunomena et al., 2011; Efurube et al., 2013; El-Sabagh et al., 2014; Suparmi et al., 2016; Fouad et al., 2017; Hassan et al., 2018; Abushofa et al., 2019; El-Nabarawy et al., 2020; Hama et al., 2020).

هذه التغييرات النسيجية المرضية تعزى إلى الإجهاد التأكسدي الناتج عن عمل المسارات الأيضية المتولدة ضد المركبات السامة (Ozen et al., 2014; Suparmi et al., 2016). حيث أن نيتريت الصوديوم يسبب تفاعلات التهابية وارتشاح الخلايا الالتهابية التي تطلق بعد ذلك كميات كبيرة من المواد المؤكسدة المحتملة مثل فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) الذي قد يسبب تلف للأنسجة المحيطة والخلايا (Sarsour & Hassuneh, 2001). وارتشاح الخلايا أحادية النواة في الخلايا البرنشيمية الكبدية إما حول وعائية، حول بابية أو المنطقة الوسطية Midzonal التي تتصاحب أحياناً بنخر الخلية المفردة المحيطة (Rees et al., 1990; Gomaa & Abd El-aziz, 2011). كما يحدث ارتشاح الخلايا الالتهابية بسبب الالتهاب الحاد الذي يعزى إلى زيادة النفاذية الوعائية نتيجة لانقباض الخلايا البطانية مما يؤدي إلى فجوات بين الخلايا (Kumar et al., 2007; Abed-Al-Azeez et al., 2015). أو يمكن تفسير وجود خلايا التهابية مترشحة إلى وجود تغييرات تنكسية في نسيج الكبد أدت إلى إفرازه عوامل الجذب الكيميائية ومن ثم ارتشاح المنطقة بهذه الخلايا مثل خلايا الدم البيضاء المتعادلة والأحادية للدفاع عن الجسم (Jaeschke et al., 1999; وحسن وآخرون, 2020).

بعد التهاب جزء من استجابة بيولوجية معقدة يحاول فيها الجسم القضاء على مسببات الأمراض والعوامل الأخرى لبدء عملية الشفاء (Ferror-Miliani et al., 2007; وحسن وآخرون, 2020). فعند دخول جسم غريب أو مادة سامة إلى الجسم تبدأ العملية الالتهابية بالخطوة الأولى في التعرف على المادة الغريبة، ثم تبدأ الأوعية الدموية بالتوسع ويترشح منها السوائل والخلايا الالتهابية إلى الأنسجة المجاورة إذ تتجذب إلى موقع الإصابة لمعالجة التهاب (Johnson et al., 2002; وحسن وآخرون, 2020). كما أشار (Murray et al., 2003)؛ وحسن وآخرون 2020 إلى أنه يزداد نشاط التمثيل الغذائي للكبد عند تعرضه للمواد السامة أثناء عملية إزالة السموم Detoxification لغرض موازنة الإجهاد الناتج من فعل السموم، وهذه الزيادة من أجل إطلاق مصادر الطاقة مثل الجلوكوز بصاحبها موت الخلايا وتحللها، وقد يحدث النخر بعد تنكس شديد أو يحدث بشكل مباشر، فالأجزاء الصغيرة يتخلص منها بواسطة الخلايا البلعمية والباقي يصبح سائلاً ويدخل اللف والأوردة.

إن الاحتقان الناتج عن التهاب الحاد الناتج عن توسع الأوعية الدموية (Kumar et al., 2007; Abed-Al-Azeez et al., 2015; Hama et al., 2020)، والاحتقان الكبدية نتيجة لذلك التأثير المباشر على جدار الأوعية الدموية أو ارتفاع الضغط داخل المنطقة البابية (Klastskin & Hama et al., 2020; Conn, 1993). فحالات الاحتقان الدموي في بعض المناطق في الكبد مثل الوريد المركزي قد يعزى سببها إلى ضعف التصريف الدموي نتيجة لانسداد وريدي كبدي، مما يسبب في توقف أو تعطيل للانسباب الدموي خلال الخلايا البرنشيمية الكبدية (Al-Rawi, 2007; Mir et al., 2008).

تفسر الزيادة في اتساع الوريد المركزي في ذكور الأرانب إلى التأثير السام لنيتريت الصوديوم على خلايا الكبد عند تناوله بشكل مستمر (Zavodnik et al., 1999). أو نتيجة لوجود خلايا الدم الحمراء المتحللة (Eweka & Om'Iniabohs, 2008)، ونتيجة تأثره بشدة بالمادة السامة ($NaNO_2$). أما ضيق الجيبينات فيحدث نتيجة لانتفاخ الخلايا الكبدية (حسن وآخرون, 2020). إن تضخم الخلايا الكبدية يحدث نتيجة إصابتها بالتنكس المائي Hydroptic degeneration وذلك لترسب كميات من الماء داخل هذه الخلايا مما أدى إلى اختفاء الجيبينات بينها (العكاشي, 2017). في حين أن ظاهرة تكون الفجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية جاءت كنتيجة لاستعمال نيتريت الصوديوم، فقد بين Robbins and Angell (1970) بأن ظهور الفجوات وبوضوح في السيترولازم هي إحدى عوامل الاستجابة الأولية المهمة للماء الداخل كماء كاف متجمع داخل هذه الخلايا، مما يؤدي إلى تضخم الخلايا وإزاحة أنويتها إلى الجوانب، كما أن تكون الفجوات في السيترولازم من

تعزى جميع التغييرات الكلوية لنيترتيد الصوديوم المسبب لنقص الأوكسجة مع تكوين جنور حرة لاحقاً التي تسبب تغييرات في الأنسجة الكلوية (Aruoma, 1998; Choi *et al.*, 2002; Abu Aita & Mohammed, 2014; El-ahzabi *et al.*, 2020b). حيث لاحظ (Ansari *et al.*, 2018; Adewale *et al.*, 2020b) أن المواد الحافظة الغذائية تسبب تغييرات في بطانة خلايا الأنبيبات الملنفة الكلوية وكذلك محافظ بومان. وهذا له ما يبرره لأن الأنبيبات الكلوية حساسة بشكل خاص للتأثيرات السامة، ويرجع ذلك جزئياً إلى استهلاك كميات كبيرة من الأوكسجين وأنظمة الإنزيم الضعيفة، وقد يرجع أيضاً إلى أن لديها آليات نقل معقدة قد تستخدم لنقل السموم وقد تتضرر من جراء تلك السموم. قد تتضمن الآليات المحتملة الأخرى الإجهاد التأكسدي (Alden & Frith, 1992; Ahmed, 2016)، وزيادة توليد أكسيد النيتريك (Reisser *et al.*, 2021) الذي يؤدي لزيادة أكسدة الدهون (Gomaa & Abd El-aziz, 2011; Obeid *et al.*, 2021) الذي يؤدي لزيادة أكسدة الدهون (Gomaa & Abd El-aziz, 2011; Al-Gayyar *et al.*, 2016; Obeid *et al.*, 2021) ويسبب استرخاء العضلة الملساء الوعائية التي تؤدي إلى اتساع تجاوبها وزيادة تدفق الدم، ويسبب اتساع الأوعية والاحتقان (Hassan *et al.*, 2018; Hama *et al.*, 2020) أو تغير نقل أيونات الصوديوم والكلوريد في الأنبيبات البولية مما يؤثر سلباً على وظيفة الكلى (Zaki *et al.*, 2005; Gomaa & Abd El-aziz, 2011). كما تتلامس الأنبيبات مع المواد الكيميائية السامة أثناء إجراها وإزالتها بواسطة الكلتيين (Tisher & Brenner, 1989; Hassan *et al.*, 2018). إن هذه التغييرات حدثت بسبب تأثيرات سمية النيتريت، والتي تقلل من نشاطات إنزيمات أغشية حافة الفرشاة Brush border membrane، وتزيد من أكسدة الدهون، وأكسدة البروتين، وتزيد من مستويات بيروكسيد الهيدروجين وبالتالي تدمير أغشية الخلايا في الأنبيبات البولية والكبيبات (Ansari & Mahmood, 2016).

إن حدوث النزف الدموي في نسيج الكلية قد يعزى لتراكم النيتريت في النسيج الذي يعمل على تغيير نفاذية الغشاء الخلوي حيث يؤثر على دخول وخروج الأيونات لخلايا الأنبيبات (Hammam & Abdel Mottaleb, 2007; Amer *et al.*, 2007). أما النزف في النسيج البيني للأنبيبات الملنفة الكلوية مع تنكس للخلايا التي تبطن الأنبيبات فيحدث نتيجة ضغط الدم الهيدروستاتيكي Hydrostatic pressure الذي يتسبب بنضوح الخلايا الدموية إلى الفراغات المتواجدة بين الخلايا الجلانية (Anderson, 1980). قد يرجع السبب في انكماش الكبيبات الكلوية إلى سمية نيتريت الصوديوم على خلايا الكبيبات والأوعية الدموية الموجودة فيها، أو إلى تضرر الكبيبات نتيجة المعاملة بنيتريت الصوديوم وهذا التضرر يؤدي إلى تباطؤ تدفق الدم إلى الكبيبات وبالتالي يقلل من وصول المواد السامة إليها (Ebad *et al.*, 2007). أو قد يعود ضمور الكبيبات إلى تنخر الخلايا (Rabah, 2010). أو بسبب انكماش الشعيرات الدموية أو الأنبيبات ويحدث ذلك نتيجة التعرض للسموم (عواد وحمد, 2015). وإن سبب حدوث توسع في فسحة (فراغ) محظية بومان قد يرجع إلى التقلص الحاصل في الكبيبات الكلوية أو إلى تحطم الطبقة الاحشائية لمحظية بومان (Fartkhoni *et al.*, 2016). أو قد يعود إلى وجود خلايا نجمية الشكل تدعى بمسراق الكبيبة Mesangial cell ذات بروتازات سيتوبلازمية تقوم بإسناد جدران الشعيرات الدموية ويؤدي تحسها لضغط الدم العالي فتتمدد بما يعمل على توسع الأوعية الدموية الشعيرية في الكبيبة بما يؤدي إلى طرح المزيد من السوائل خارج الجسم (عبد الكريم, 1980). إن تنخر الأنبيبات يحدث بالتزامن مع التعرض للسموم والعقاقير أو مستقبلاتها وذلك لتداخل السموم مع أيض الخلايا الجلانية (Hertz *et al.*, 2010)، أو قد يعود إلى زيادة ترشح البروتينات خاصة الألبومين (عواد وحمد, 2015). أو قد يكون وجود النخر مرتبطاً باستنفاد ATP، والذي يؤدي في النهاية إلى موت الخلايا (Shimizu *et al.*, 1996; Hassan *et al.*, 2018). إن من أسباب نخر الأنبيبات البولية هو موت الخلايا الجلانية المبطن لها نتيجة عدم حصولها على كمية كافية من الأوكسجين (Krishna, 2004)؛ وحسن وآخرون, 2020). حيث أن فعاليتها الأيضية تعتمد على الأوكسجين الذي تزوده به الأوعية الدموية، وإن أي ضرر يحدث للأوعية الدموية من نخر أو ضيق في الشريان الكلوي يؤدي إلى اضطراب في تدفق الدم وبالتالي نقص في إمداد الخلايا بالأوكسجين. فنخر الخلايا المبطن للأنبيبات البولية وتلف الكبيبات بدرجات متفاوتة تماماً، وكذلك تلف الأوعية الدموية وحدث نزف واحتقان في الأنسجة، قد يكون ذلك بسبب عملها المتعلق بالتوازن المعدني (حسن وآخرون, 2020).

إلى أن المعالجة بمستخلص أوراق الزيتون كان لها تأثير وقائي ضد الإصابة التأكسدية ليس فقط من الناحية الكيموحيوية بل أيضاً من الناحية النسيجية المرضية مما يشير إلى أن تلف الأنسجة الناتج عن Methotrexate يمكن أن يمنع بشكل فعال بواسطة مستخلص أوراق الزيتون، وعلاج مستخلص أوراق الزيتون لمجموعة Methotrexate يحسن خلايا الكبد ويقلل من تنشيط خلايا كوبر في الكبد.

للمستخلص البلية خاصة في منع العوامل الضارة من اختراق جدار الخلايا والنفاذ إلى داخل الكبد وبذلك تحافظ على سير العمليات الأيضية وبالتالي رجوع المعايير الإنزيمية إلى مستواها الطبيعي (إبراهيم وساجت, 2012). لقد ساهم مستخلص أوراق الزيتون في استقرار الأغشية البلازمية للخلايا الكبدية، وإصلاح تلف الأنسجة الكبدية الناتج عن Cisplatin (Cerig *et al.*, 2016). لقد أدى إعطاء مستخلص أوراق الزيتون إلى تقليل ارتشاح الخلايا الليمفاوية وتنشيط خلايا كوبر بطريقة تعتمد على الجرعة. وبالتالي، فإن قمعها بمستخلص أوراق الزيتون قد يساهم في تعطيل احتمالية التليف. لأن مستخلص أوراق الزيتون يقدم خصائص مناعية كبيرة في الكبد عن طريق تنظيم الإجهاد التأكسدي. يمكن لمستخلص أوراق الزيتون أن يحفظ الكبد من الاحتقان، والتوسع الجيبي وكذلك النزيف (Cerig *et al.*, 2016). وأن مستخلص أوراق الزيتون قلل من تسرب الأوعية الدموية الدقيقة وكذلك التصاق الكريات البيض وتكوين أنواع الأكسجين المتفاعلة، بينما تم حماية التروية الشعرية (Lapi *et al.*, 2015; Cerig *et al.*, 2016).

أظهر مستخلص أوراق الزيتون سلوكاً تآزرياً مع محتوياته من الأوليروبين والفيونولات المتعددة النشطة في منع تكوين الجنور الحرة (Andrikopoulos, 2014; Abd El-Azim, 2014). وتوليد أنواع الأكسجين المتفاعلة بواسطة كريات الدم البيضاء السلمية (Visioli *et al.*, 2002; Abd El-Azim, 2014). وإيقاف التلف الناتج في الخلايا الكبدية (Khalil, 2004). مما يقلل من الإجهاد التأكسدي والتغيرات الفسيولوجية والنسجية (Taha *et al.*, 2020) من خلال نشاطه المضاد للأكسدة (Al-Attar & Shawush, 2015). لاحتوائه على أحماض فينولية وفلافونويدات (Soussi *et al.*, 2018). الهيدروكسي تايروسول، التايروسول، وحمض الكافيك، p-coumaric acid، حمض الفانيليك، الفانيلين، اللوتولين، داي اوسميتين، الروتين، اللوتولين-7-جليكوسايد، ابيجينين-7-جليكوسايد، وداياوسميتين-7-جليكوسايد (Bianco & Uccella, 2000; Ryan *et al.*, 2012; Tavafi *et al.*, 2002). أو نشاطه المضاد للالتهابات والمضاد للموت المبرمج لخلايا الكبد (Osman & Tantawy, 2017). إن الأوليروبين يحمي غشاء خلايا الكبد من الأضرار التأكسدية التي تسببها المواد الكيميائية عن طريق تحسين نظام الدفاع المضاد للأكسدة وتقليل مستويات بيروكسيدات الدهون (Alirezaei *et al.*, 2012).

2.2.5 التغييرات النسيجية في الكلية

أوضحت نتائج الدراسة الحالية أن القطاعات النسيجية لقشرة الكلية في ذكور الأرانب التي تم تغذيتها بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% ولمدة 8 أسابيع حدث بها انكماش في الكبيبات الكلوية واتساع في محافظ بومان، واحتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبجي، وزيادة سمك جدر الأوعية الدموية في بعض المناطق. ووجود ترسيبات في تجاوب الأنبيبات الكلوية، وقد قل سمك جدرها مما يدل على فقد أسطح خلاياها للخيميلات الدقيقة. بالإضافة لوجود نزف دموي ووجود توسع وارتشاح بخلايا الدم البيضاء بين الأنبيبات البولية، ووجود Edema في بعض الأماكن في منطقة القشرة، ووجود فجوات في سيتوبلازم الخلايا المبطنة للأنبيبات البولية وحدث نخر خلوي لها. اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات السابقة التي أشارت إلى وجود احتقان حاد ونزف في الأوعية الدموية الكلوية بين القنات وتنكس جدرها واحتقان الشعيرات الكبيبية وأودما حول وعائية وانكماش الكبيبات إلى جانب ذلك، فقد لوحظ احتقان ونخر وتنكس في بطانة جلانية الأنبيبات الكلوية، وحدث اتساع في محافظ بومان والأنبيبات الكلوية مع وجود رواسب بروتينية في تجاوب بعض الأنبيبات، وارتشاحات بخلايا الدم البيضاء أحادية النواة حول الكبيبات وبين القنات، وكذلك تكون فجوات سيتوبلازمية كما لوحظ أيضاً احتقان شديد في النسيج الخلالي الكلوي (Abdeen *et al.*, 2015; Amin *et al.*, 2016; Bala & Gupta, 2016; Elsherbin *et al.*, 2017; Fouad *et al.*, 2017; Hassan *et al.*, 2018; El-Nabarawy *et al.*, 2020; Radwan *et al.*, 2020b; Zaidi, 2020; Rani & D'Souza, 2020; Hama *et al.*, 2020; Obeid *et al.*, 2021).

الكولية للـ Amikacin مماثل أو أفضل من زيت الزيتون البكر (Abdel-Gayoum *et al.*, 2015).

كشفت (Abd El-Rahman (2016) أيضاً أن النشاط الوقائي للكلى لمستخلص أوراق الزيتون يشبه لنشاط فيتامين E. وقد يكون النشاط المحدث من المستخلص بسبب قدرته على تنشيط الإنزيمات المضادة للأكسدة لاحتوائه على الأوليروبين، هيدروكسي تايروسول، اللوتولين، حمض الكافيك، حمض الكوماريك، حمض الفانيلين، الفانيلين، اللوتولين، دايوسميتين، الروتين، اللوتولين-7-جليكوسايد، ابيجينين-7-جليكوسايد وديوسميتين-7-جليكوسايد والتي تعتبر عوامل علاجية توخر تطور الأمراض الالتهابية المتقدمة (Chandler *et al.*, 2010; Abd El-Rahman, 2016).

أشاروا (Benavente-Garcia *et al.* (2000); Vogel *et al.* (2000); Abd El-Rahman (2016) إلى أن المركبات الفينولية في الزيتون تظهر سلوكاً متأزراً في القدرة على التخلص من الجذور الحرة عند خلطها في شكل مستخلص، أعلى من قدرة مضادات الأكسدة لفيتامين E وC. تحتوي أوراق الزيتون على الفلافونويدات مثل اللوتولين، ابيجينين، الأوليروبين وجليكوسيدات الفلافونويد بالإضافة إلى التانينات، التربينات الثلاثية، القلويدات، الريسين (الرائحة)، الزيت المتطاير والأحماض العضوية (Baytop, 1984; Mericli & Yilmaz, 1993; Fehri *et al.*, 1994; Marles & Farnsworth, 1995; Heimler *et al.*, 1996; Onderoglu *et al.*, 1999). تمتلك الفلافونويدات خصائص مضادة للأكسدة قوية وكاسحة للجذور الحرة (Hertog *et al.*, 1993; Onderoglu *et al.*, 1999). لذلك، قد يكون التحسن البارز للأنسجة متعلقاً بمحتوى الفلافونويد لأوراق الزيتون.

أظهرت الحيوانات المعرضة للإشعاع بعد تجريب مستخلص أوراق الزيتون مظهراً طبيعياً تقريباً، ولكن لا يزال يتم ملاحظة بعض الأبيبيبات الكولية مع أنوية تغلظية والقليل من الحطام في تجريفها (Abdelhafez *et al.*, 2017). ربما تم تفسير الدور الفعال للمستخلصات جزئياً من خلال التأثيرات الخافضة للضغط لمستخلص أوراق الزيتون التي تجعل الكلى تعمل بشكل طبيعي (Nekooeian *et al.*, 2011; Abdelhafez *et al.*, 2017). أظهر مستخلص أوراق الزيتون تفاعل أقل التهابية في أنسجة الكلى التي يمكن أن تعزى إلى التأثيرات المضادة للالتهاب لمستخلص أوراق الزيتون (Chebbi *et al.*, 2011; Abdelhafez *et al.*, 2017). وأثبتت (Morgana *et al.* (2014); Abdelhafez *et al.* (2017) الجردان التي عولجت بالزيتون بعد التعرض للإجهاد التأكسدي ظهرت أنسجتها طبيعية مع احتقان طفيف. بينما أظهرت دراسة أن ذكور الجردان البيضاء البالغة المصابة بالسكري التي عولجت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، كشفت عن تحسن نسبي للتغيرات النسيجية (Mehanna *et al.*, 2016). أظهر الفحص النسيجي المرضي أن علاج الجردان المصابة بالسكري بمستخلص أوراق الزيتون يحمي التراكيب الكولية.

(Rice-Evans *et al.* (2019b). وخلصوا (Al-Attar & Alsalmi, 2019b) إلى أن التأثير التحسيني لمستخلصات أوراق الزيتون ضد التغيرات المرضية التي يسببها السكري في الجردان قد يعزى إلى وجود مركباته الفينولية التي لها فعل مضاد للأكسدة ومضاد لفرط ضغط الدم وخافض لسكر الدم في الأنظمة الحية؛ لأنها تعمل كواسح للجذور الحرة.

وجد (Soussi *et al.* (2019) تحسناً في أنسجة الكلى. حيث خففت المعالجة بمستخلص أوراق الزيتون بشكل كبير من التغيرات النسيجية المرضية التي يسببها الـ Diclofenac. وأظهروا أيضاً أن القطاعات النسيجية المرضية لكلى الفئران التي عولجت بمستخلص أوراق الزيتون كانت لها بنية كولية محسنة، مما يشير إلى تأثيره الوقائي، وأدت المعالجة بالمستخلص أيضاً إلى تحسين المعايير الكيموحيوية وتقليل التأثير الضار للإجهاد التأكسدي الناتج عن هذا الدواء في أنسجة الفئران؛ نظراً لغناه بمكونات عديدة الفينول والفلافونويد. إن العلاج بالأوليروبين بجرعة 16 ملجم/كجم من وزن الجسم قلل من التغيرات النسيجية التي يسببها الكادميوم. يمكن أن يعزى ذلك إلى الخصائص المضادة للأكسدة والمخيلية للأوليروبين، والتي قللت بشكل كبير من الإجهاد التأكسدي مما أدى إلى الحد من التغيرات النسيجية المرضية، حيث قام الأوليروبين بعكس الإجهاد التأكسدي الكلوي الذي يسببه الكادميوم عن طريق تحسين نظام الدفاع المضاد للأكسدة، وتقليل مستويات بيروكسيدات الدهون وبالتالي حماية أنسجة الكلى (Jemai *et al.*, 2019).

6. الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

يحدث الارتشاح الالتهابي استجابة لحدوث التنخر في نسيج الكلية (Das *et al.*, 2014). إن ظهور الخلايا الالتهابية القريبة من الأوعية الدموية والجسيمات الكولية والأبيبيبات الكولية وظهور التغيرات النسيجية يمكن أن يرجع إلى تولد أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) والإجهاد التأكسدي والذي يتكون بسبب زيادة بيروكسيد الدهون الناتج من سمية نيتريت الصوديوم في الكلى. وإن تواجد الخلايا الالتهابية قد يؤثر في التوازن بين أنواع الأكسجين التفاعلي وإنتاج مضادات الأكسدة إذ تعمل على تدمير الخلايا الظهارية المبطنة للأبيبيبات الكولية من خلال التمثيل الغذائي للدهون (Pujalte *et al.*, 2011). وحدوث اختلال في وظائف الكلى وظهور علامات التهابية سببه يعود إلى الإجهاد التأكسدي الذي يعد الآلية الرئيسية المسؤولة عن السمية وحدوث زيادة في أنواع الأكسجين التفاعلي وقلة الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل إنزيم الجلوتاثيون في أنسجة الكلى (Shrivastava *et al.*, 2016). حيث تتحرك الخلايا الالتهابية باتجاه التركيز العالي لبعض المواد السامة التي تسببت في هذا الالتهاب (الشطي، 1992؛ حسن وآخرون، 2020). كما جاء في دراسات أخرى، يمكن أن تعزى الحساسية غير العادية للكلى للتأثيرات السامة للمواد الكيميائية الضارة جزئياً إلى الخصائص الوظيفية والتشريحية الفريدة لهذا العضو (Brezis *et al.*, 1991؛ وحسن وآخرون، 2020).

بينت نتائج الفحص المجهرى لنسيج كلى ذكور الأرانب التي جرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بمفرده في الدراسة الحالية عدم حدوث أي تغيرات نسيجية في نسيج الكلى وظهرت بمظهر طبيعي كما في المجموعة الضابطة، وكانت هذه النتائج متوافقة مع دراسات سابقة (Soussi *et al.*, 2019; Abugomaa & Elbadawy, 2020).

أشارت نتائج الدراسة الحالية للفحص المجهرى لنسيج الكلية في طبقة القشرة للأرانب التي جرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون ثم تناولت نيتريت الصوديوم إلى أن كريات مليمي والأبيبيبات الكولية أصبحت منتظمة واستعادت شكلها الطبيعي، والأبيبيبات جدارها سميك، ووجود Edema في بعض الأماكن في منطقة القشرة، ووجود احتقان في بعض الأوعية الدموية وكريات دم حمراء بين الأبيبيبات البولية. وجاءت هذه النتائج متوافقة مع العديد من الدراسات السابقة (Toolabi *et al.*, 2011; Abdel-Gayoum *et al.*, 2015; Hedeab *et al.*, 2015; Kumral *et al.*, 2015; Abd El-Rahman, 2016; Badr & Fouad, 2016; Mehanna *et al.*, 2016; Abdelhafez *et al.*, 2017; Geyikoglu *et al.*, 2017; Maalej *et al.*, 2017; Senturk *et al.*, 2018; Al-Attar & Alsalmi, 2019b; Ashour & Mohamed, 2019; Jemai *et al.*, 2019; Soussi *et al.*, 2019; Abugomaa and Elbadawy, 2020; Al-Hayaly *et al.*, 2020).

أشار (Hedeab *et al.* (2015) إلى أن جرعة مستخلص أوراق الزيتون تصدت للخلل في وظائف الكلى والتغيرات النسيجية الناجمة عن الـ Cyclosporine بجرعات 80 ملجم/كجم و120 ملجم/كجم، كما يتضح من خلال الانخفاض المعنوي في مستويات اليوريا والكرياتينين، ويتضح مثل هذا التأثير الوقائي من خلال تسجيل آفات مجهرية أقل شدة وحفظ البناء الكلوي الطبيعي لهذه المجموعات. حيث أظهرت المعالجة بمستخلص أوراق الزيتون تفاعلاً أقل للالتهاب في الأنسجة الكولية التي يمكن أن تعزى إلى التأثيرات المضادة للالتهاب لمستخلص أوراق الزيتون (Chebbi *et al.*, 2011; Hedeab *et al.*, 2015). وحافظت المعالجة المسبقة بجرعات مختلفة من مستخلص أوراق الزيتون على اختبارات ووظائف الكلى الطبيعية وحماية أنسجة الكلى من السمية التي يسببها الـ Cisplatin بطريقة تعتمد على الجرعة (Badr & Fouad, 2016).

استنتج (Maalej *et al.* (2017) أن مستخلص ثمار الزيتون ومشتقاته الأوليروبين قادرة نظرياً على توفير تأثيرات واقية للكلى من خلال خصائصها المضادة للأكسدة. وأن مستخلص ثمار الزيتون ومستخلص أوراق الزيتون أظهرتا تحسناً كلوباً معنوياً في التغيرات النسيجية المرضية، وأدى إلى تحسن معنوي في وظائف الكلى. قد ذكر (Behling *et al.* (2006); Maalej *et al.* (2017) أن هذا التأثير المحسن لمستخلص أوراق الزيتون مرتبط بقدرة على كسح الجذور الحرة للأكسجين في الخلايا الأنبوبية الكولية للجردان.

أوراق الزيتون غنية بالفينولات المتعددة تستخدم مستخلصها للحماية من السمية الكولية للجنتاميسين (Tavafi *et al.*, 2012) وسمية رابع كلوريد الكربون (Al-Sowayan & Mousa, 2014). تعد الفينولات المتعددة الموجودة في أوراق الزيتون مثل الأوليروبين، فيرباسكوسايد وليجستروسايد من مضادات الأكسدة القوية التي يمكنها تثبيط توليد الجذور الحرة للأكسجين الناتجة عن الدواء في الكلية (Jemai *et al.*, 2009; Abdel-Gayoum *et al.*, 2015). كان التأثير المحسن لمستخلص أوراق الزيتون ضد السمية

حسن، سارة فائزة، حميد، عزيز خالد، أحمد، منيف صعب. (2020). الدور الوقائي لحبوب طلع نخيل التمر *Phoenix dactylifera* ضد السمية المستحثة بعقار Methotrexate في كبد وكلية ذكور الأرانب البيض. المؤتمر الدولي الثاني والعلمي الرابع لكلية العلوم، جامعة تكريت، ج2، 17-10.

عبد الكريم، محمد أمين. (1980). كتاب مترجم: علم مصور الأنسجة الوصفي. لـريث وروس. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. العراق.

عبد الله، شهد محمد وحسين، فريال فاروق. (2015). تأثير بعض مضادات الأكسدة على عدد من المتغيرات الكيموحيوية والنسجية في ذكور الأرانب البيض المعاملة بالكوليستيرول. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية، 15(3): 184-205.

علي، إسراء حسين عبد. (2021). دراسة تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات الهندباء *Taraxacum officinale* في بعض المعايير الفسلجية والنسجية في ذكور الأرانب المعاملة بمادة كلوتاميت احادي الصوديوم. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة. قسم علوم الحياة، جامعة كربلاء، العراق.

عواد، مثنى محمد وحمد، هالة مهدي. (2015). دراسة تأثير استعمال بعض أدوية العقم في وظائف الكلى في الجرذان. مجلة جامعة الأنبار للعلوم الصرفة، 9(2): 63-72.

ثانياً: المراجع الأجنبية

- Abaza, L., Taamalli, A., Nsir, H., and Zarrouk, M. (2015). Olive tree (*Olea europaea* L.) leaves: Importance and advances in the analysis of phenolic compounds. *Antioxidants*, 4(4): 682-698.
- Abd El-Azim, A. O. (2014). Antioxidant effect of olive leaf extract on methotrexate-induced hepatic injury in rats. *Canad. J. Clin. Nutr.*, 2(1): 4-14.
- Abd El-Baky, M. S., Zaki, E. A., and El Haggag, M. S. (2020). Effect of Olive and Stevia leaves and Flaxseed extracts on diabetic rats. *Egypt. J. Appl. Sci.*, 35(7): 49-68.
- Abd El-Rahman, H. S. M. (2016). The effect of olive leaf extract and A-Tocopherol on nephroprotective activity in rats. *J. Nutr. Food Sci*, 6(2): 1-9.
- Abdeen, A. M., EL-Shayeb, A. F., Hassan, H. A., and El-Agamy, S. A. (2015). The protective role of garlic oil against the histopathological and histochemical changes induced by sodium nitrite toxicity in kidneys of albino rats. *J. Jazan Univ. Appl. Sci. Branch*, 4(1): 57-67.
- Abdeen, A. M., El-Shayeb, A. F., Othman, A. I., and El-Agamy, S. H. (2008). Histopathological and histochemical studies of the influence of garlic oil against sodium nitrite induced toxicity in the liver and lungs of albino rat. *Egypt. Germ. Soci. Zool. J.* 55: 261-287.
- Abdel Hameed, T. F. (2004). Light and electron microscopic studies on the effect of orally-administered formalin on liver and kidney of guinea pig. *J. Egypt. Germansoc. Zool.*, 45(C): 203-224.
- Abdel-Baky, E. S. (2019). Effects of *Lipidium sativum* seeds extract (Garden cress) on the kidney in sodium nitrite receiving rats. *SJAS*, 1(1): 38-45.
- Abdel-Gayoum, A. A., Al-Hassan, A. A., Ginawi, I. A., and Alshankyty, I. M. (2015). The ameliorative effects of virgin olive oil and olive leaf extract on amikacin-induced nephrotoxicity in the rat. *Toxicol. Rep.*, 2: 1327-1333.
- Abdelhafez, H. M., Al-Tounsy, M. M., and Omran, D. A. (2017). The possible therapeutic effect of ethanolic olive leaves extract or bone marrow mesenchymal stem cells on the kidney of gamma-irradiated adult male rats. *Stem Cell*, 8(1): 60-81.
- Abdel-Hamid, N. M., Fawzy, M. A., and El-Moselhy, M. A. (2011). Evaluation of hepatoprotective and anticancer properties of aqueous olive leaf extract in chemically induced hepatocellular carcinoma in rats. *Am. J. Med. Med. Sci.*, 1(1): 15-22.
- Abdel-Rahman, H. G., Abd-El-Fattah, M. E., Youssef, M. F., Essawi, E. A. R. T., and Elsedawy, M. E. I. (2018). The protective effect of different doses of alpha lipoic acid against hepatotoxicity of

1.6 الاستنتاجات Conclusions

في ضوء النتائج التي أظهرتها الدراسة الحالية أمكن التوصل إلى الاستنتاجات الآتية:

1. إن إعطاء ذكور الأرانب نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% أدى إلى حدوث تغيرات واضحة في نشاطات وتركيزات بعض المعايير الكيموحيوية مثل ALT, AST, ALP, GGT, TP, Alb, Glob, A/G, اليوريا، الكرياتينين، حمض البوليك، K^+ و Na^+ .
2. أدى إعطاء نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% لذكور الأرانب إلى حدوث تغيرات نسيجية مرضية في أنسجة الكبد والكلى لذكور الأرانب.
3. إن تجريع ذكور الأرانب بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون له فعالية للحد من التأثيرات السمية لنيتريت الصوديوم على كبد وكلية ذكور الأرانب.
4. إن المستخلص المائي لأوراق الزيتون له دور كبير في منع الإجهاد التأكسدي وتثبيط ومقاومة الجذور الحرة ووقاية الخلايا والأنسجة من تأثيراتها؛ وذلك لاحتوائه على خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للتلفات.

2.6 التوصيات Recommendations

توصي هذه الدراسة بما يأتي:

1. التقليل من استهلاك المواد الغذائية الحاسوبية على المواد الحافظة بشكل عام ونيتريت الصوديوم بشكل خاص؛ بسبب تأثيراتها السلبية على أعضاء الجسم وأجهزته.
2. على مصنعي الأغذية التقليل من إضافة المواد الحافظة واستخدام بدائلها من المواد الحافظة الطبيعية؛ وذلك لأنها أقل ضرر على صحة الإنسان.
3. تناول نظام غذائي غني بمضادات الأكسدة سوف يمنع تكوين مادة النيتروز أمين الضارة التي تسبب السرطان.
4. إجراء دراسات تناول تأثير مستخلص أوراق الزيتون كمادة مضادة للأكسدة ودوره في الوقاية من خطر الإصابة بأمراض مزمنة كالفشل الكلوي، أمراض القلب والسرطان.
5. فصل مكونات المستخلص المائي لأوراق الزيتون أو استخدام مكونات شجرة الزيتون الأخرى مثل الزيت والثمار ودراسة تأثيرها على أجهزة الجسم.
6. إجراء دراسة لمعرفة تأثير مستخلص أوراق الزيتون قبل وبعد إعطاء نيتريت الصوديوم في ذكور الأرانب.
7. توضيح الاستفادة من المركبات الفعالة في مستخلص أوراق الزيتون بعد عزلها للتقليل من التأثيرات الجانبية للمواد الحافظة في حيوانات التجارب.
8. إجراء العديد من الدراسات على النباتات الطبية المختلفة وإمكانية استخدام مستخلصاتها في العلاج الطبي.

المراجع References

أولاً: المراجع العربية

- الحاج، حميد أحمد. (2015). التحضيرات المجهرية (النظرية والتطبيق). دار المسيرة للنشر والتوزيع. الطبعة الثالثة. عمان، الأردن.
- الخفاجي، صابرين عبد الأمير كمال. (2014). تحليل المجتمع الفطري لترب أشجار الزيتون ودراسة تأثير بعض المبيدات الفطرية في نمو الفطريات السائدة. مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية، 22(8): 2113-2122.
- الشنطي، محمد أياد. (1992). أسس علم الأمراض. دار البشائر للطباعة والنشر والتوزيع. دمشق، ص 469-654-861.
- الصالح، نور عبد الواحد. (2011). تأثير البايوتين في بعض الصفات الفسلجية والكيموحيوية والنسجية لذكور الأرانب المحلية للإجهاد التأكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.
- الطرده، محمود محمد، عثمان، جمال محمد، أبو دية، محمد، الرطروط، أسامة خالد. (2000). أساسيات علم التحضير النسيجي. مكتبة دار الثقافة للنشر والتوزيع. الطبعة الأولى، الإصدار الثاني، عمان، الأردن.
- العاكشي، علي حسين كاظم. (2017). تأثير المستخلص المائي البارد للثوم (*sativum Allium*) على بعض المعايير الفسلجية والنسجية لذكور الأرانب المعاملة بالسايكلوفوسفومايد. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة. قسم علوم الحياة، جامعة كربلاء، العراق.
- إبراهيم، احسان ريسان وساجت، خليل جدوع. (2012). تأثير المستخلص المائي البارد لأوراق الزيتون *Olea europaea* L. في مستوى الإجهاد التأكسدي وبعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذان المعاملة بعقار السايكلوفوسفومايد (Cyclophosphamide CP). مجلة علوم ذي قار، 4(2): 88-80.

- type 2 diabetes mellitus. *Fresen. Environ. Bull.*, 27: 3733-3739.
- Ağgül, A., Gür, F., and Gülaboğlu, M. (2020). Streptozotocin-induced oxidative stress in rats: the protective role of olive leaf extract. *Bull. the Korea. Chem. Soc.*, 42: 1-8.
- Ahmed, H. H., and Mannaa, F. (2000). Protective effect of vitamins C and E against the toxic action of drinking sodium nitrate-contaminated water in adult male rats. *Egypt. Germ. Soci. Zool. J.*, 32(A): 165-185.
- Ahmed, M. H. (2016). Effect of some food additives consumption on the body weight and toxicity and the possible ameliorative role of green tea extract. *Sci.*, 6(4): 716-730.
- Akhzari, M., Shafiee, S. M., Rashno, S., and Akmal, M. (2019). Berberine attenuated oxidative stress induced by sodium nitrite in rat liver. *Jundishapur J. Nat. Pharmaceut. Prod.*, 14(1): 1-8.
- Al-Attar, A. M., Alrobai, A. A., and Almalki, D. A. (2016). Effect of *Olea oleaster* and *Juniperus procera* leaves extracts on thioacetamide induced hepatic cirrhosis in male albino mice. *Saudi. J. Biol. Sci.*, 23: 363-371.
- Al-Attar, A. M., Alrobai, A. A., and Almalki, D. A. (2017). Protective effect of olive and juniper leaves extracts on nephrotoxicity induced by thioacetamide in male mice. *Saudi J. Biol. Sci.*, 24(1): 15-22.
- Al-Attar, A. M., and Abu Zeid, I. M. (2013). Effect of tea (*Camellia sinensis*) and olive (*Olea europaea* L.) leaves extracts on male mice exposed to diazinon. *BioMed. res. Int.*, 2013(2): 1-6.
- Al-Attar, A. M., and Alsalmi, F. A. (2019a). Effect of *Olea europaea* leaves extract on streptozotocin induced diabetes in male albino rats. *Saudi J. Biol. Sci.*, 26(1): 118-128.
- Al-Attar, A. M., and Alsalmi, F. A. (2019b). Influence of olive leaves extract on hepatorenal injury in streptozotocin diabetic rats. *Saudi J. Biol. sci.*, 26(7): 1865-1874.
- Al-Attar, A. M., and Shawush, N. A. (2014). Physiological investigations on the effect of olive and rosemary leaves extracts in male rats exposed to thioacetamide. *Saudi J. Biol. Sci.*, 21(5): 473-480.
- Al-Attar, A. M., and Shawush, N. A. (2015). Influence of olive and rosemary leaves extracts on chemically induced liver cirrhosis in male rats. *Saudi. J. Biol. Sci.*, 22(2): 157-163.
- Al-awad, S. M., and Jaccob, A. A. (2020). Synthesis and pharmacological evaluation of novel coumarin derivatives. *Int. J. Res. Pharmaceut. Sci.*, 11(1): 865-874.
- Al-Basher, G. I. (2018). Anti-fibrogenic and hepatoprotective potential of methanolic olive extract on cadmium induced toxicity in rats. *Life Sci. J.*, 15(7): 1-11.
- Alden, C. L., and Frith, C. H. (1992). Urinary system. in: handbook of toxicologic pathology, ed. Hashek WM and Rousseaux CG, 1st ed., pp: 316-379, Academic Press, San Diego, CA.
- Al-Enazi, M., Rahiman, S., El-Bahrawy, A. Z., and Tantry, B. A. (2015). Antioxidant modulating effect of *Olea europaea* leaf extract on superoxide dismutase (SOD) activity in streptozotocin induced diabetes. *Adv. Biores.*, 6(1): 19-24.
- Al-Gayyar, M. M., Hassan, H. M., Alyoussef, A., Abbas, A., Darweish, M. M., and El-Hawwary, A. A. (2016). *Nigella sativa* oil attenuates chronic nephrotoxicity induced by oral sodium nitrite: Effects on tissue fibrosis and apoptosis. *Redox Rep.*, 21(2): 50-60.
- Al-Hayaly, L., Al-Badrany, A. G., and Sultan, S. (2020). Effect of olive extract on alloxan induced diabetes in male albino mice. *IMDC-SDSP*.
- Al-Hiti, S., Hussain, A. H. M., and Al-Zabaidy, A. A. F. (2018). Evaluation of histopathological changes in the mice exposed to sodium nitrite for long term by using hematoxylin and eosin sodium nitrite in rat. *Int. J. Dev. Res.*, 8(11): 24140-2
- Abdel-Reheim, E. S., Abdel-Hafeez, H. A., Mahmoud, B. M., and Abd-Allah, E. N. (2014). Effect of food additives (monosodium glutamate and sodium nitrite) on some biochemical parameters in albino rats. *Int. J. Bioassays.*, 3(08): 3260-3273.
- Abebe, E. F., Akpabio, C. J., and Maduagwu, E. N. (2013a). Metabolism of precursors of N-nitrosamine in vitro and nitrosamine toxicology in wistar rat. *Pelagia Res. Libr.*, 4(4): 145-151.
- Abebe, E. F., Akpabio, C. J., and Maduagwu, E. N. (2013b). N-nitrosation of N-methylaniline and nitrosamine toxicology in the wistar rats. *Europ. J. Experim. Bio.*, 3(3): 362-369.
- Abed, R. M. (2017). Effect of olive oil on Ibuprofen induced hepatorenal toxicity in rats. *Master Deg. College of Edu. for Pure Sci.-Dep. of Chem., Univ. Karbala, Iraq*.
- Abed-Al-Azeez, L. A., Ali, A. H., and Haba, M. K. (2015). Study the protective effect of radish (*Raphanus sativus*) seeds extract against harmful effects of sodium nitrite on some physiological and histological parameters in male rabbits. *Iraqi J. Biotechnol.*, 14(2): 59-78.
- Aboulgasem, G. J. A., Azab, A. E. and Almaky, M. M. (2015). Sodium nitrite induced biochemical alterations in the blood serum and its amelioration by aqueous extract of Libyan propolis in Guinea pigs. *Int. J. Sci. Res.*, 4(8): 1040-1048.
- Abu Aita, N. A. A., and Mohammed, F. F. (2014). Effect of marjoram oil on the clinicopathological, cytogenetic and histopathological alterations induced by sodium nitrite toxicity in rats. *Glob. Veter.*, 12(5): 606-616.
- Abugomaa, A., and Elbadawy, M. (2020). Olive leaf extract modulates glycerol-induced kidney and liver damage in rats. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 1-12.
- Abushofa, F., Azab, A., and Alkadrawy, S. (2019). Hepatic pathophysiological changes induced by nicotine and/or sodium nitrite injection in male albino rats. *East Africa. Schol. J. Med. Sci.*, 2(4): 184-196.
- Adebayo, A. H., Abolaji, A. O., Opata, T. K., and Adegbenro, I. K. (2010). Effects of ethanolic leaf extract of *Chrysophyllum albidum* G. on biochemical and haematological parameters of albino Wistar rats. *Africa. J. Biotechnol.*, 9(14): 2145-2150.
- Ademola, C. F., Abumchukwu, J. E., Chioma, S. U., Ebele, J. I., and Fidelis, E. E. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory mechanisms of polyphenols isolated from virgin coconut oil attenuate cadmium-induced oxidative stress-mediated nephrotoxicity and inflammation in rats. *J. Appl. Biomed.*, 6: 281.
- Adetutu, A., Owoade, O. A., Aderibigbe, I. R., Oyekunle, O. S., Adegbola, P. I., Aborisade, B. B., and Abubakar, F. A. (2020). Selected plant extracts attenuates dimethylamine and sodium nitrite induced liver injury in experimental mice. *J. Pharmaceut. Res. Int.*, 32(25): 76-88.
- Adewale, O. O., Bakare, M. I., and Adetunji, J. B. (2020b). Mechanism underlying nephroprotective property of curcumin against sodium nitrite-induced nephrotoxicity in male wistar rat. *J. Food Biochem.*, 1-10.
- Adewale, O. O., Samuel, E. S., Manubolu, M., and Pathakoti, K. (2019). Curcumin protects sodium nitrite-induced hepatotoxicity in wistar rats. *Toxicol. Rep.*, 6: 1006-1011.
- Adewale, O., Aremu, K., and Adeyemo, A. (2020a). Assessment of combined toxic effects of potassium bromate and sodium nitrite in some key renal markers in male wistar rats. *Res. J. Health Sci.*, 8(1): 6-17.
- Afify, A. E. M. M., El-Beltagi, H. S., Fayed, S. A., and El-Ansary, A. E. (2018). Beneficial and potent effect of olive leaves extract on hyperglycemic state, kidney and liver function in STZ-induced

- Arnold, J. T., Lloyd, A. B., Bailey, S. J., Fujimoto, T., Matsutake, R., Takayanagi, M., ... and Fujii, N. (2020). The nitric oxide dependence of cutaneous microvascular function to independent and combined hypoxic cold exposure. *J. Appl. Physiol.*, 129(4): 947-956.
- Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75: 199-212.
- Ashour, S., and Mohamed, N. (2019). Effect of aqueous extract of olive leaves on some biochemical changes induced by carbon tetrachloride in male rats. *J. Experim. Appl. Animal Sci.*, 3(1): 69-81.
- Assumaidae, A. A. M., Ali, N. M., Ibraheem, Z. O., Fadhil, A. A., and Al-Helli, K. A. A. (2020). Anti-Oxidoreductive stress effects of Iraqi *Olea europaea* L. leaves extract against low double doses of alloxan induced diabetes mellitus in rats. *System. Rev. Pharm.*, 11(1): 292-302.
- Atef, M., Abo-Norag, M. A., Hanafy, M. S., and Aghag, A. E. (1991). Pharmacotoxicological aspects of nitrate and nitrite in domestic fowls. *Brit. Poult. Sci.*, 32(2): 399-404.
- Ateya, R. H., Taha, N. M., Mandour, A. E. A., Lebda, M. A., and El-Morshedy, A. M. (2016). Effect of monosodium glutamate and sodium nitrite on some biochemical parameters in Japanese Quails. *Alexandria J. Veter. Sci. (AJVS)*, 48(1): 107-114.
- Babin, P. J., and Gibbons, G. F. (2009). The evolution of plasma cholesterol: direct utility or a "spandrel" of hepatic lipid metabolism. *Progress in lipid research*, 48(2): 73-91.
- Badr, A., and Fouad, D. (2016). Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of olive leaf extract against cisplatin-induced nephrotoxicity in male rats. *Int. J. Pharmacol.*, 12(7): 675-688.
- Bala, M., and Gupta, G. L. (2016). Hepato- and Nephro- protective effect of *Tinospora cordifolia* against sodium nitrite- induced oxidative stress. *Indo Am. J. Pharmaceut. Res.*, 6(1): 4102-4110.
- Bartels, H., Bohmer, M. and Heierlic, C. (1972). Serum creatinine determination without protein precipitation. *Clinica. Chemica. Acta.*, 37: 193-197.
- Baytop, T. (1984). *Turkiye 'de bitkiler ile tedavi*. Istanbul Universitesi, Eczacilik Fakultesi Yayinlari, No: 3255. Istanbul.
- Behling, E. B., Sendao, M. C., Francescato, H. D. C., Antunes, L. M. G., Costa, R. S., and Bianchi, M. L. (2006). Comparative study of multiple dosage of quercetin against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rat kidneys. *Pharmacol. Rep.*, 58: 526-532.
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., and Del Rio, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem.*, 68: 457-462.
- Bergmeyer, H., and Horder, C. (1980). ALT Kit. International federation of clinical chemistry, Scientific Committee, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 18: 521-534.
- Bianco, A., and Uccella, N. (2000). Biophenolic components of olives. *Food Res. Int.*, 33: 475-485.
- Bijargah, A. S., Alirezaei, M., and Dezfoulian, O. (2019). Evaluation of olive leaf extract effects on functional and structural changes of liver tissue following lipopolysaccharide administration in rats. *Alborz Univ. Med. J.*, 8(1): 27-34.
- Bishop, L. M., Fody, P. E., and Schoe, H. L. (2005). *Clinical Chemistry Principles, Procedures Correlations*, fifth ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, Hong Kong. pp. 220-253.
- Bonilla, M., Salido, S., Beek, T. A., Palomino, P. J., Altarejos, J., Nogueras, M., and Sanchez, A. (2006). Isolation and identification of radical scavengers in olive tree (*Olea europaea*) wood. *J. Chromatogr.*, 1112: 311-318.
- Bouaziz, M., and Sayadi, S. (2005). Isolation and evaluation of staining. *Int. J. Pharmac. Sci. Res.*, 9(2): 483-489.
- Ali, H. M., and Ahmed, Z. S. A. (2020). Potential effect of olive leaves powder and its extract on streptozotocin-induced diabetic rats. *JEDU.*, 6(29): 289-263.
- Alirezaei, M., Dezfoulian, O., Kheradmand, A., Neamati, S., Khonsari, A., and Pirzadeh, A. (2012). Hepatoprotective effects of purified oleuropein from olive leaf extract against ethanol-induced damages in the rat. *Iran. J. Veter. Res.*, 13(3): 218-226.
- Al-Janabi, O. S. I. (2018). The protective effect of hydroalcoholic extracts of olive and morus alba leaves on liver enzymes of male rats treated with streptozotocin. *Iraqi J. Veter. Sci.*, 32(2): 267-271.
- Al-Janabi, O. S., Amer, M. S., and Khayri, M. H. (2015). Effects of the extracts of olive and *Morus alba* leaves on experimentally STZ induced diabetes in male rats. *IJSR*, 4(3): 1725-1732.
- Al-Jubury, N. O. (2013). Effects of Olive leaves extract on urea, uric acid and creatinine concentrations in serum of heat stressed male rabbits. *J. Wassit Sci. Med.*, 6(1): 225-236.
- Al-Rawi, M. M. (2007). Effect of *Trifolium* sp. flowers extracts on the status of liver histology of streptozotocin-induced diabetic rats. *Saudi J. Biol. Sci.*, 14(1): 21-28.
- Alruwaili, M., and Hamed, D. I. (2017). Protective effect of olive leaf extract on carbon tetrachloride induced hepatic damage in rabbits. *Al-Jouf Univ., College of Appl. Med. Sci.*, 1-13.
- Al-Shinnawy, M. S. (2009). Physiological effect of a food additive on some haematological and biochemical parameters of male albino rats. *Egypt. Acad. J. Biol. Sci., A, Entomol.*, 2(1): 143-151.
- Al-Sowayan, N. S., and Mousa, H. M. (2014). Ameliorative effect of olive leaf extract on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats. *Life Sci. J.*, 11(5): 238-242.
- Al-Thebaiti, M. A., and Zari, T. A. (2018). Effect of olive leaves extract on hepatorenal function in streptozotocin diabetic male wistar rats. *Glob. J. Pharmacol.*, 12(1): 13-23.
- Amer, F. I., Zakaria, I., El-Shabaka, H. A., and Ashour, I. (2007). The effect of an organophosphorous insecticide on the hepatic, renal and pulmonary tissues of mice fetuses. *Egypt J. Med. Lab. Sci.*, 16(2): 99-113.
- Amin, R. A., Elsabagh, R. A., and Amin, A. (2016). Protective effects of ascorbic acid and Garlic oil against toxic effects induced by sodium nitrite as meat additive in male rats. *Glob. Veter.*, 16(6): 508-524.
- Anderson, J. R. (1980). *Muir's Textbook of Pathology*, 11th Ed. Edward Arnold. Norwich. England.
- Andrikopoulos, N. K., Kaliora, A. C., Assimopoulou, A. N., and Papageorgiou, V. P. (2002). Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against in-vitro low-density lipoprotein oxidation. *J. Med. Food*, 5(1): 1-7.
- Ansari, F. A., Ali, S. N., Khan, A. A., and Mahmood, R. (2018). Acute oral dose of sodium nitrite causes redox imbalance and DNA damage in rat kidney. *J. Cellul. Biochem.*, 119(4): 3744-3754.
- Ansari, F. A., and Mahmood, R. (2016). Sodium nitrite enhances generation of reactive oxygen species that decrease antioxidant power and inhibit plasma membrane redox system of human erythrocytes. *Cell Biol. Int.*, 40(8): 887-894.
- Anthony, M. L., Gartland, K. P., Beddell, C. R., Lindon, J. K., (1994). Studies on the biochemical toxicology of uranyl nitrate in the rat. *Arch. Toxicol.* 68: 43-53.
- Anwar, M. M., and Meki, A. R. (2003). Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: Effects of garlic oil and melatonin. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 135:347-539.

- De, A. K., and De, M. (2019). Functional and therapeutic applications of some important spices. In the role of functional food security in Glob. Health (pp. 499-510). Elsevier.
- Doumas, B., and Watson, W. (1971). Enzymatic colorimetric method of albumin. *Clinica Chimica Acta.*, 31: 87-96.
- Duncan, J. R., Prasse, K. W., and Mahaffey, E. A. (1994). Veterinary laboratory medicine (clinical Pathology) About CAB Abstracts. Third edition, Iowa State Univ. Press.
- Ebaid, H., Dkhil, M. A., Danfour, M., Tohamy, A., and Gabry, M. S. (2007). Piroxicam induced hepatic and renal histopathological changes in mice. *Libyan J. Med.*, 13: 56-61.
- Efuruibe, A. A., Akpabio, C. J., and Maduagwu, E. N. (2013). Sub-cellular correlation of nitrite in Cassava (*Manihot Esculenta Crantz*) leaves and nitrosamine toxicology in wistar rats. *Int. J. Toxicol. Pharmacol. Res.*, 5(3): 59-62.
- Eissa, M. M., Ahmed, M. M., Abd Eldaim, M. A., Mousa, A. A., Elkirdasy, A. F., Mohamed, M. A., and Orabi, S. H. (2021). *Chlorella vulgaris* ameliorates sodium nitrite-induced hepatotoxicity in rats. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 28(8): 9731-9741.
- El Sayed, A., Badawi, A., and Asmaa, M. (2014). The protective effect of olive leaf and pomegranate peel extracts on oxidative stress and liver injury induced by oxytetracycline in albino rats. *Egypt. J. Drug Res. Egypt*, 35(1): 33-41.
- El-Demerdash, F. M., Yousef, M. I., Kedwany, F. S., and Baghdadi, H. H. (2005). Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and B-carotene. *Food Chem. Toxic.*, 42: 1563-71.
- Elgebaly, H. A., Mosa, N. M., Allach, M., El-massry, K. F., El-Ghorab, A. H., Al Hroob, A. M., and Mahmoud, A. M. (2018). Olive oil and leaf extract prevent fluoxetine-induced hepatotoxicity by attenuating oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Biomed. Pharmacothera.*, 98: 446-453.
- El-Khayat, Z., Ahmed, R. E., Mahmoud, S. A., Wafaa, I. R. and Tahany, R. E. (2009). Potential effects of bee honey and propolis against the toxicity of ochratoxin A in rats. *Maced. J. Med. Sci.*, 2(4): 311-318.
- El-Missiry, M., Othman, A., Amer, M., and Abd El-Aziz, M. (2001). Attenuation of the acute adriamycin-induced cardiac and hepatic oxidative toxicity by N-(2- mercaptopropionyl) Glycine in rats. *Free Radical Res.*, 35: 575-581.
- El-Nabarawy, N. A., Gouda, A. S., Khatat, M. A., and Rashed, L. A. (2020). Effects of nitrite graded doses on hepatotoxicity and nephrotoxicity, histopathological alterations, and activation of apoptosis in adult rats. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 27(12): 14019-14032.
- El-Sabagh, R. A., Amin, R. A., and Amin, A. (2014). Health risks of some meat additives on male rats. *World J. Dairy Food Sci.*, 9(2): 285-298.
- El-Sheikh, N. M., and Khalil, F. A. (2011). L-Arginine and L-glutamine as immunonutrients and modulating agents for oxidative stress and toxicity induced by sodium nitrite in rats. *Food and Chemic. Toxicol. J.*, 49(4): 758-762.
- Elshebiny, N. M., Maysarah, N. M., El-Sherbiny, M., and Al-Gayyar, M. M. (2017). Renal protective effects of thymoquinone against sodium nitrite-induced chronic toxicity in rats: Impact on inflammation and apoptosis. *Life sci.*, 180: 1-8.
- Enovwo, O. (2010). Effects of aqueous extracts of ginger (*Zingiber officinale*) and onions (*Allium cepa*) on some biochemical parameters in plasma following oral intake of sodium nitrite by Wistar albino rats. M. Sc. Thesis, Med. Biochem, Port Harcourt Univ
- antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 107: 497-504.
- Branten, A. J., Vervoort, G., and Wetzels, J. F. (2005). Serum creatinine is a poor marker of GFR in nephritic syndrome. *Nephrol. Dial. Transpl.*, 20: 707-711.
- Brezis, M., Rosen, S., and Epstein, F. H. (1991). Acute Renal Failure, in Brenner BM, Rector FJ (eds): *The Kidney*, 4th ed. Philadelphia, pp: 993-1061.
- Briante, R., Patumi, M., Terenziani, S., Bismuto, E., Febbraio, F., and Nucci, R., (2002). *Olea europaea* L. leaf extract and derivatives: antioxidant properties. *J. Agric. Food Chem.* 50(17): 4934-4940.
- Burtis, C. A., and Bruns, D. E. (2014). *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book*. Elsevier Health Sciences.
- Carluccio, M. A., Siculella, L., Ancora, M. A., Massaro, M., Scoditti, E., Storelli, C., Visioli, F., Distant, A., and De-Caterina, R. (2003). Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 23(4): 622-629.
- Castellano, J. M., Guinda, A., Delgado, T., and Rada, M. (2013). Biochemical basis of the antidiabetic activity of oleanolic acid and related pentacyclic triterpenes. *Diabetes.* 62: 1791-1799.
- Cerig, S., Geyikoglu, F., Bakir, M., Colak, S., Sonmez, M., and Koc, K. (2016). Hepatoprotective effect of oleuropein against cisplatin-induced liver damage in rat. *World Acad. Sci. Eng. Technol., Int. J. Med. Health Biomed. Bioeng. Pharm. Eng.*, 10(5): 260-262.
- Chaker, R., Mansouri, O., Hamamdia, Z., and Abdennour, C. (2020). Olive leaves' extract may attenuate cadmium-induced liver damage in Wistar rat. *J. Stress Physiol. Biochem.*, 16(3): 14-25.
- Chandler, D., Woldu, A., Rahmadi, A., Shanmugam, K., Steiner, N., et al. (2010). Effects of plant-derived polyphenols on TNF-alpha and nitric oxide production induced by advanced glycation endproducts. *Mol. Nutr. Food Res. Suppl.* 54: 141-150.
- Chebbi, M. R., Khemiss, M., Dhidah, M., Dellai, A., Bouraoui, A., and Khemiss, F. (2011). "Chloroformic and methanolic extracts of *Olea europaea* L. leaves present anti-Inflammatory and analgesic activities". *ISRN Pharmacol.*, 11: 1-5.
- Cheville, N. F. (2009). *Ultrastructural pathology: the comparative cellular basis of disease*. John Wiley & Sons.
- Choi, S. Y., Chung M. J., and Sung, N. J. (2002). Volatile N-nitrosamine inhibition after intake of Korean green tea and Maesil extracts with an amine-rich diet in subjects ingesting nitrate. *Food Chem. Toxicol.*, 40: 949-957.
- Cohen, E. P., and Lemann, J. Jr. (1991). The role of the laboratory in evaluation of kidney function. *Clin. Chem.*, 37: 785-796.
- Coll, E., Botey, A., Alvarez, L., Poch, E., Quinto, L., Saurina, A., et al. (2000). Serum cystatin- C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early impairment. *Am. J. Kidney Dis.*, 36: 29-34.
- Corbett, J. V. (2008). *Laboratory tests and diagnostic procedures with nursing diagnoses*, 7th Ed, pp: 90-107.
- Cumaoglu, A., Rackova, L., Stefek, M., Kartal, M., Maechler, P., and Karasu, C. (2011). Effects of olive leaf polyphenols against H₂O₂ toxicity in insulin secreting β -cells. *Acta. Biochim. Pol.*, 58: 45-50.
- Damiati, S. A. (2019). Pilot study to assess kidney functions and toxic dimethyl-arginines as risk biomarkers in women with low vitamin D levels. *J. Med. Biochem.*, 38(2): 145-152.
- Das, C. J., Ahmad, Z., Sharma, S., and Gupta, A. K. (2014). Multimodality imaging of renal inflammatory lesions. *World J. Radiol.*, 6(11): 865-873.

- Goligorsky, M. S., Brodsky, S. V., and Noiri, E. (2002). Nitric oxide in acute renal failure: NOS versus NOS. *Kidney Int.*, (3): 855-61.
- Gomaa, G. M., and Elaziz, E. A. A. (2011). Protective effect of aqueous green tea extract on toxicity caused by sodium nitrite. *Assiut Veter. Med. J.*, 57(130): 138-162.
- Gounden, V., Bhatt, H., and Jialal, I. (2021). Renal function tests: StatPearls.
- Gowda, S., Desai, P. B., Kulkarni, S. S., Hull, V. V., Math, A. A. K., and Vernekar, S. N. (2010). Markers of renal function tests. *North Am. J. Med. Sci.*, 2(4): 170-173.
- Grawish, M. E., Zyada, M. M., and Zaher, A. R. (2011). Inhibition of 4-NQO-induced F433 rat tongue carcinogenesis by oleuropein-rich extract. *Med. Oncol.*, 28: 1163-1168.
- Grizziani, F., and Chiriva, M. (2007). Human binucleate hepatocytes: Are they a defense during chronic liver diseases? *Med. Hypotheses*, 69(2): 258-261.
- Guler, A. H., N. Sapan, B. Ediz, Z. Genc and K. Ozkan, (1994). Effect of copper on liver and bone metabolism in malnutrition. *Turkish, J. Pediat.* 36(3): 205-213.
- Guyton, A., and Hall, J. (2006). *Textbook of medical physiology*, 11th. Elsevier Inc.
- Hama, A. A., Al-Masoudi, W. A., and Houat, A. J. R. (2020). Histopathological study of amoxicillin drug derivative on rats treated with sodium nitrite. The 5th Int. Sci. Confer. Med. Health Special., 288-294.
- Hamad, I. (2015, June). Antioxidant activity and potential hepatoprotective effect of Saudi olive leaf extract. In proceedings of the 2nd Int. Confer. on Adv. Environ., Agric. Med. Sci., Antalya, Turkey (pp. 11-12).
- Hamden, K., Allouche, N., Damak, M., and Elfeki, A. (2009). Hypoglycemic and antioxidant effects of phenolic extracts and purified hydroxytyrosol from olive mill waste in vitro and in rats. *Chemico-Biol. Intera.*, 180: 421-432.
- Hammam, F. M., and Abdel Mottaleb, E. M. (2007). Studies of the Genotoxic and Histopathological effects of the Organophosphorous insecticide 'Profenofos' on white rats. *The Egypt. J. Hosp. Med.*, 29: 685-706.
- Hammoud, G. (2014). Protective effect of grape seeds extract against sodium nitrite-induced toxicity and oxidative stress in albino rats. *Al-Azhar J. Pharmaceut. Sci.*, 49(1): 1-34.
- Hassan, H. A. (2007). The possible protective role of bees honey against hazard effects of some synthetic food additives on the kidney functions of male rats. *J. the Egypt. Soc. Toxicol.*, 36: 13-21.
- Hassan, H. A., and Yousef, M. I. (2010). Ameliorating effect of chicory (*Cichorium intybus* L.)-supplemented diet against nitrosamine precursors-induced liver injury and oxidative stress in male rats. *Food Chem. Toxicol.*, 48(8-9): 2163-2169.
- Hassan, H. A., El-Agmy, S. M., Gaur, R. L., Fernando, A., Raj, M. H., and Ouhit, A. (2009). In vivo evidence of hepato- and reno-protective effect of garlic oil against sodium nitrite-induced oxidative stress. *Int. J. Biol. Sci.*, 5(3): 249-255.
- Hassan, I., and Gilbert, D. (2011). Acide urique et fonction rénale, *Revue du Rhumatisme*, 78: 134-141.
- Hassan, S. M., Zagloul, N. F., and El-shamy, S. A. (2018). Comparative studies on turmeric and vitamin C on sodium nitrite treated rats. *Alexandria J. Veter. Sci. (AJVS)*, 56(1): 56-68.
- Hedeab, G. M., Sati, L. M., Elnaggar, H. M., Elgatlawey, Z. O., Eltwab, A. A., Elshagayer, W. A., and Ali, H. (2015). Ameliorating effect of olive leaf extract on cyclosporine induced nephrotoxicity in rats. *Iran. J. Kid. Diseases*, 9(5): 361-368.
- Heimler, D., Cimato, A., Alessandri, S., Sani, G., and Pieroni, A. (1996). Seasonal trend of flavonoids in olive (*Olea europaea* L.)
- Etim, O. E., Farombi, E. O., Usuh, I. F. et al. (2006). The protective effect of aloe vera juice on lindane induced hepatotoxicity and genotoxicity. *J. Pharmaceut. Sci.*, 19: 337-340.
- Ettaya, A., Dhibi, S., Samout, N., Elfeki, A., and Hfaeidh, N. (2016). Hepatoprotective activity of white horehound (*Marrubium vulgare*) extract against cyclophosphamide toxicity in male rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 94: 441-447.
- Eweka, A. O., and Om'Iniabo, F. A. E. (2008). Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the liver of adult wistar rats. *The Internet J. Gastroenterol.*, 6; available.
- Farag, R. S., El-Baroty, G. S., and Basuny, A. M. (2003). Safty evaluation of olive phenolic compounds as natural antioxidants. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 64(3): 159.
- Fares, R., Bazzi, S., Baydoun, S. E., and Abdel-Massih, R. M. (2011). The antioxidant and anti-proliferative activity of the Lebanese *Olea europaea* extract. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 66: 58-63.
- Fartkhoni, F., Noori, A., and Mohammadi, A. (2016). Effects of Titanium dioxide nanoparticles toxicity on the kidney of male rats. *Int. J. Lif. Sci.*, 10(1): 65-69.
- Fawcett, J. K., and Scott, J. E. (1960). A rapid and precise method for the determination of urea. *J. Clin. Pathol.*, 13: 156-159.
- Fehri, B., Aiache, J. M., Memmi, A., Korbi, S., Yacoubi, M. T., Mrad, S., and Lamaison, J. L. (1994). Hypotension, hypoglycemia and hypouricemia recorded after repeated administration of aqueous leaf extract of *Olea europaea* L. *J. Pharm. Belg.*, 49(2): 101-108.
- Fehri, B., Aiache, J. M., Memmi, A., Korbi, S., Yacoubi, M. T., Mrad, S., and Lamaison, J. L. (1994). Hypotension, hypoglycemia and hypouricemia recorded after repeated administration of aqueous leaf extract of *Olea europaea* L. *J. Pharm. Belg.*, 49: 101-10
- Ferron-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S., and Girardin, S. E. (2007). "Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation". *Clin. Exp. Immunol.*, 147(2): 227-235.
- Fki, I., Sayadi, S., Mahmoudi, A., Daoued, I., Marrekchi, R., and Ghorbel, H. (2020). Comparative study on beneficial effects of hydroxytyrosol and oleuropein-rich olive leaf extracts on high-fat diet-induced lipid metabolism disturbance and liver injury in rats. *BioMed. res. int.*, 2020: 1-15.
- Fortson, W. C., Tedesco, F. J., Starnes, E. C., and Shaw, C. T. (1985). Marked elevation of serum transaminase activity associated with extrahepatic biliary tract disease. *J. clin. Gastroenterol.*, 7(6): 502-505.
- Fossatti, P., Prencipe, L., and Berti, G. (1980). Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzene-sulfonic acid /4-aminophenazone chromogenic system indirect enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin. Chem.*, 26: 227-231.
- Fouad, S. S., Mohi-Eldin, M. M., Haridy, M. A., and Khalil, A. M. (2017). Ameliorative effects of ascorbic acid (vit. C) against sodium nitrite toxicity in albino rats: hematological, biochemical and histopathological studies. *Am-Eurasia. J. Toxicol. Sci.*, 9(1): 01-06.
- Ganong, W. F. (1999). *Review and Medical Physiology*, Appelton, Lange, editors. Med. Publications, California, 19th Ed.
- Geyikoglu, F., Emir, M., Colak, S., Koc, K., Turkez, H., Bakir, M., ... and Ozek, N. S. (2017). Effect of oleuropein against chemotherapy drug-induced histological changes, oxidative stress, and DNA damages in rat kidney injury. *J. Food Drug Anal.*, 25(2): 447-459.
- Ghanam, J., Laaboudi, W., and Benlemlih, M. (2015). Effects of rich polyphenols olive tree extract on inflammation and pain in patients with rheumatoid arthritis: an 8-weeks randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Int. J. Biol. Pharm. Res.*, 2: 51-61.

- (2014). Ameliorative role of oleuropein extracted from olive leaf on tamoxifen-induced hepatic 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA of Balb/C mice. *World Appl. Sci. J.*, 30(6): 765-769.
- Japón-Luján, R., Luque-Rodríguez, J., and De Castro, M. L. (2006b). Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *J. Chromatography A*, 1108: 76-82.
- Japón-Luján, R., Ruiz-Jiménez, J. and Luque de Castro, M. D. (2006a). Discrimination and classification of olive tree varieties and cultivation zones by biophenol contents. *J. Agric. Food Chem.*, 54(26): 9706-9712.
- Jemai, H., Feki, A. E. L., and Sayadi, S. (2009). Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *J. Agric. Food Chem.*, 57: 8798-8804.
- Jemai, H., Feryeni, A., Mahmoudi, A., Fki, I., Bouallagui, Z., and Sayadi, S. (2019). Oleuropein protects kidney against oxidative and histopathological damages in subchronic cadmium intoxicated mice. *Indian. J. Experim. Biol.*, 57(8): 602-609.
- Jemai, H., Mahmoudi, A., Feryeni, A., Fki, I., Bouallagui, Z., Choura, S., Chamkha, M., and Sayadi, S. (2020). Hepatoprotective effect of oleuropein-rich extract from olive leaves against cadmium-induced toxicity in mice. *BioMed. Res. Int.*, 2020: 1-9.
- Jin, M., Yang, F., Yang, I., Yin, Y., Luo, J. J., Wang, H., and Yang, X. F. (2012). Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases. *Front Biosci.*, 17: 656-669.
- Johnson, L. V., Anderson, D. H., Mullins, R. F., and Hageman, G. S. (2002). A role for local inflammation in the formation of drusen in the aging eye. *Am. J. Ophthalmol.*, 134(3): 411-31.
- Jordan, V. C. (2006). Tamoxifen as a targeted therapy to treat and prevent breast cancer. *Br. J. Pharmacol.*, 147: 269-276.
- Juibar, F., Fattahi, H., and Sadaty, F. (2017). The effects of sodium nitrite on nitric oxide levels and serum hepatic enzymes and liver histopathology in adult male rats. *J. Adv. Med. Biomed. Res.*, 25(109): 109-119.
- Kadhum, H. J., Al-Diwan, M. A., and Al-Jadaan, S. A. S. N. (2015). Hepatoprotective and hypolipidemic effects of bis [4-(4'-hydroxy-3'-methoxybenzylideneaminophenyl)] telluride (R2TE) against sodium nitrite intoxication in male albino rats. *Basrah J. Veter. Res.*, 14(1): 12-25.
- Kalantari, H. and Salehi, M. (2001). The protective effect of garlic oil on hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice and comparison with Nacetylcysteine. *Saudi Med. J.* 22(12): 1080-1084.
- Kalender, S., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Açikgoz, F., Durak, D., Ulusoy, Y., and Kalender, Y. (2005). Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicol.*, 211(3): 197-206.
- Keller, D. (1986). Diabetic keto-acidosis: current views on pathogenesis and treatment. *Diabetologia*, 29: 71-77.
- Khalaf, N. K., Saleh, S. Y., and Ghannam, A. E. R. A. E. (2016). Biochemical studies on effect of sodium nitrite and monosodium glutamate (MSG) on male rats. *Veter. Sci.*, 6(9): 210-215.
- Khalil, E. A. (2004). Evaluation of the hepatoprotective activity of an aqueous extract of olive leaves in male albino rats. *The Egypt. J. Hosp. Med.*, 15(1): 118-123.
- Khanagavi, J., Gupta, T., Aronow, W. S., et al. (2014). Hyperkalemia among hospitalized patients and association between duration of hyperkalemic and outcomes. *Arch. Med. Sci.*, 10: 251-7.
- Kind, P. R. N., King, E. J., Varley, H., Gowenlock, A. H., and Bell, M. (1980). *Method of practical clinical biochemistry*. Heinman, London, pp. 899-900.
- leaves. *Agr. Med.*, 126: 205-209.
- Helal, E. G. E., El-Sayed, R. A. A., and El-Gamal, M. S. (2017a). Assessment of the physiological changes induced by sodium nitrite, annatto or mono sodium glutamate in male albino rats. *The Egypt. J. Hosp. Med.*, 67(1): 330-335.
- Helal, E. G., El-Sayed, R. A., Hedeab, G., and El-Gamal, M. S. (2017c). Effects of some food additives on some biochemical parameters in young male albino rats and the ameliorative role of Royal Jelly. *The Egypt. J. Hosp. Med.*, 67(2): 605-613.
- Helal, E. G., El-Sayed, R. A., Mustafa, M. A., and El-Gamal, M. S. (2017b). Adverse effects of two kinds of food additive mixtures (flavor enhancer, food preservative or food coloring agent) on physiological parameters in young male albino rats. *The Egypt. J. Hosp. Med.*, 67(1): 344-351.
- Helal, E., and Elsaid, F. (2006). Management the action of sodium nitrite on albino rats by aqueous garlic extract. *Res. J. Med. Med. Sci.*, 1(3): 85-89.
- Helal, E., Zahkok, S., Soliman, G. Z., Al-Kassas, M., and Abdel Wahed, H. (2008). Biochemical studies on the effect of sodium nitrite and/or glutathione treatment on male rats. *The Egypt. J. Hosp. Med.*, 30(1): 25-38.
- Herlitz, L. C., Mohan, S., Stokes, M. B., Radhakrishnan, J., D'Agati, V. D., and Markowitz, G. S. (2010). Tenofovir nephrotoxicity: acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney Int.*, 78(11):1171-7
- Hertog, M. G. L., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B., and Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen Elderly Study. *Lancet.*, 342: 1007-1011.
- Hultcrantz, R. H. G. L., Glaumann, H., Lindberg, G., and Nilsson, L. H. (1986). Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum: aminotransferases. *Scandinavian J. of Gastroenterol.*, 21(1): 109-113.
- Ibrahim, I. A., Hassan, A. G. A., Shalaby, A. A. H., Dessouki, A. A., and Habib, D. S. (2009). Biochemical studies on the effect of sodium nitrite and butylated hydroxytoluene in rats. *SCVMJ*; 14(2): 265-278.
- Ijeomah, A. U., Ugwu, M. N., and Dasofunjo, K. (2018). Long term effect of artemisinin combination therapies (acts) on the kidney function and electrolyte balance in healthy male Wistar rats. *CIBTech J. Pharmaceut. Sci.*, 7(2): 1-8.
- Ismail, A. M., Mostafa, A. M., and Abd El-Rahman, G. B. (2003). Microscopic studies of the effects of some food additives on the kidney of albino rat. *The Egypt. J. Hospit. Med.* 12: 12-27.
- Iyyaswamy, A. and Rathinasamy, S. (2012). Effect of chronic exposure to aspartame on oxidative stress in the brain of albino rats. *J. Biosci.*, 37: 679-88.
- Jaeschke, H., Hartmut, Y. S., Fisher, M. A., Lawson, J. A., and Farhood, A. (1999). Glutathione peroxidase - deficient mice are more susceptible to neutrophil-mediated hepatic parenchymal cell injury during endotoxemia: Importance of an intracellular oxidant stress. *Hematol.*, 29(2): 443-450.
- Jafaripour, L., Rasoulia, B., Tavafi, M., Rafighdoost, H., Mahmodi, M., Rashidipour, M., and Ahmadvand, H. (2016). Pretreatment with olive leaf extract improves renal and liver antioxidant systems following renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Herb. Med. J.*, 1: 37-46.
- James, S., and Mitchel, G. (2006). Physiology and disorder of water electrolytes and acid base metabolism. In: Carl AB, Edward R, David E, editors. *Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 4th ed. New Delhi: Elsevier Inc; pp. 1747-1776.
- Jamshed, F., Ahmad, W., Haque, A., Saad, A., and Al-Jassabi, S.

- Maruna, R. F. L., and Trinder, P. (1958). *Clinica Chemica Acta.*, 2: 581.
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., and Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J. Nutr. Biochem.*, 16: 577-586.
- Mazahreh, T. S., Aleshawi, A. J., Al-Zoubi, N. A., Altabari, M., and Aljarrah, Q. (2020). Comparison of postoperative liver function between different dissection techniques during laparoscopic cholecystectomy. *Future Sci., OA*, 6(4): FSO462.
- Mehanna, M. S., Aal, F. S. A., Maksod, D. A. A., and Taha, M. K. (2016). Histological and immunohistochemical study on the possible protective effect of olive leaves extract on mitochondrial changes of the proximal convoluted tubule in diabetic male albino rats. *Am. J. Med. Med. Sci.*, 6(3): 98-116.
- Meirinhos, J., Silva, B. M., Valentao, P., Seabra, R. M., Pereira, J. A., Dias, A., Andrade, P. B., and Ferreres, F., (2005). Analysis and quantification of flavonoidic compounds from Portuguese olive (*Olea europaea* L.) leaf cultivars. *Nat. Prod. Res.*, 19: 189-195.
- Merikli, F., and Yilmaz, F. (1993). Halk arasinda tansiyon dusurucu olarak kullanimin zeytin (*Olea europaea* L.) yapraklari uzerinde bir calisma. 10. Bitkisel Ilac hammaddeleri toplanti bildiri oEzetleri, PB-40, Istanbul Univ., Istanbul.
- Micol, V., Caturla, N., Perez-Fons, L., Estepa, A., Mas, V., and Perez, L. (2005). The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV) *Antiviral Res.* (66): 129-136.
- Mir, S. H., Abdul-Baqi, Bhagat, R. C., Darzi, M. M., and Abdul-Wahid, S. (2008). Biochemical and histomorphological study of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rabbits. *Pakistan J. Nutr.*, 7(2): 359-364.
- Mohammed, H. A., Aleissaa, M. S., Mohamady, A. H., Ibrahim, M. A., and Emam, N. M. (2017). The hepatoprotective effect of olive leaf extract on diabetic pregnant mice and their fetuses. *J. Biol. Life Sci.*, 8(2): 85-101.
- Morales, A., Vicente, C., Santiag, J., Egido, J., Mayoral, P., Arevalo, M., Fernandez, M., Lopez-Novoa, J., and Perez, F. (2006). Protective effect of quercetin on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in rats is based on its antioxidant properties. *Food Chem. Toxicol.*, 44(12): 2092-2100.
- Morgana, A. M., El-Ballal, S. S., El-Bialy, B. E., and El-Boraic, N. B. (2014). "Studies on the potential protective effect of cinnamon against bisphenol A- and octylphenol-induced oxidative stress in male albino rats". *Toxicol. Rep.*, 1: 92-101.
- Moss, D. W., and Handerson, A. R., (1999). *Clinical enzymology*. In: Burtis, C.A., Ashwood, F. R. (Eds.), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, third ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 617-721.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., and Rodwell, V. W. (2003). *Metabolism of Xenobiotic & red & white blood cells*. In: *Harper's biochemistry*, 25th ed. McGraw-Hill, Appleton & Lange, pp: 781-786.
- Nadimohamed, N., Mahmoud, B., Abdel-Reheim, E. S., and Abdel-Moneim, A. (2020). Olive and basil leave extracts protect against Ibuprofen induced nephrotoxicity in albino rats. *Res. J. Pharm. Technol.*, 13(9): 4190-4194.
- Naganna, B., Srivastava, L. M. and Moudgil, K. D. (1989). *Textbook of biochemistry and human biology*, 2nd Edition, Prentice Hall of India Private Ltd., New-Delhi, 59-61.
- Naggayi, M., Mukiibi, N., and Iliya, E. (2015). The protective effects of aqueous extract of *Carica papaya* seeds in paracetamol induced nephrotoxicity in male wistar rats. *Afr. Health Sci.*, 15: 598-605.
- Nekooeian, A., Dehghani, G., Mostafavi, H., and Khalili, A. (2011). "The effect of hydroalcoholic extract of olive leaves on blood Klastskin, G., and Conn, H. (1993). *Histopathology of liver*. Vol.1, Oxford Univ. Press, Oxford and Newyork.
- Kolpakov, V., Gordon, D., and Kulik, T. J. (1995). Nitric oxide-generating corresponds inhibit total protein and collagen synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* 76: 305-309.
- Krishna, V. (2004). *Text book of pathology*, printed in Indian by offset himayatnager, hyderatbad 500029 (A.P.) India, pp: 564- 573.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., and Mitchell, R. N.(2007). *Robbins Basic Pathology*. 8th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. Pp 946.
- Kumral, A., Soluk-Tekkesin, M., Olgaç, V., Doğru-Abbasoğlu, S., Türkoğlu, Ü., and Uysal, M. (2015). Effect of olive leaf extract treatment on doxorubicin-induced cardiac, hepatic and renal toxicity in rats. *Pathophysiol.*, 22(2): 117-123.
- Laaboudi, W., Ghanam, J., Ghomari, O., Sounni, F., Merzouki, M., and Benlemlih, M. (2016). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of phenolic olive tree extract in streptozotocin diabetic rats. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 8(12): 287-291.
- Lapi, D., Di Maro, M., Mastantuono, T., Battiloro, L., Sabatino, L., Muscariello, E., and Colantuoni, A. (2015). Effects of oleuropein and pinosresino on microvascular damage induced by hypoperfusion and reperfusion in rat . *Pial Circulation Microcirculation*, 22: 79-90.
- Lins, P. G., Pugine, S. M., Scatolini, A. M., and De Melo, M. P. (2018). In vitro antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea* L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes. *Heliyon*, 4: 22.
- Lissoni, P., Vigano, P., and Vaghi, M. (2005). A phase II study of tamoxifen in hormone-resistant metastatic prostate cancer: possible relation with prolactin secretion. *Anticancer Res.*, 25: 3597-3599.
- Loughridge, L., and Lewis, M. G. (2008). Nephrotic syndrome in malignant disease. *Lancet*, 1971, Willimam JMarshall. *Clinical Chemistry*, 6 edition, p: 70-82.
- Luster, M. I., Munson, A. E., and Thomas, T. (1988). Method evaluation development of testing Battery to assess chemical-induced immunotoxicity. *National Toxicology Program's Guidelines for immunotoxicity evaluation in mice. Fundam. Appl. Toxicol.* 10: 2-19.
- Maalej, A., Mahmoudi, A., Bouallagui, Z., Fki, I., Marrekchi, R., and Sayadi, S. (2017). Olive phenolic compounds attenuate deltamethrin-induced liver and kidney toxicity through regulating oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Food Chem. Toxicol.*, 106: 455-465.
- Madeha, A., Nagwa, E., Soad S., and Asma, A. (2011). Investigation of the biochemical and histological changes induced by zearalenone mycotoxin on Liver in male mice and the protective role of crude venom extracted from Jellyfish *Cassiopea Andromeda*. *Food Nutr. Sci.*, 2: 314-322.
- Mahmoudi, A., Hadrach, F., Feki, I., Ghorbel, H., Bouallagui, Z., Marrekchi, R., Fourati, H., and Sayadi, S. (2018). Oleuropein and hydroxytyrosol rich extracts from olive leaves attenuate liver injury and lipid metabolism disturbance in bisphenol A-treat rats. *Food & Fun.*, 9(6): 3220-3234.
- Majumdar, A. S., Saraf, M. N., Andrades, N. R., and Kamble, R. Y. (2008). Preliminary studies on the antioxidant activity of *Tribulus terrestris*. and *Eclipta alba*. *Phcog. Mag.*, 4(13): 102-107.
- Marek, J. (2005). Influence of occupational exposure to organic solvents on kidney function. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*, 18(1): 5-14.
- Marles, R. J., and Farnsworth, N. R. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomed.*, 2: 137-189.

- Toxicol. Mech. Methods, 22(8): 625-630.
- Pierce, A. (1999). Practical guide to natural medicines. New York. William Morrow and Co., P.469.
- Pereira, A. P., Ferreira, I. C., Marcelino, F., Valentao, P., Andrade, P. B., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A., and Pereira, J. A., (2007). Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrancosa) leaves. *Molecules* 12: 1153-1162.
- Pereira, J. A., Pereira, A. P., Ferreira, I. C., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., Estevinho, L., and Bento, A. (2006). Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 8425-8431.
- Petersmann, A., Ittermann, T., Frieß, C., Lubenow, N., Kohlmann, T., Greinacher, A., and Nauck, M. (2016). Impact of physical activity of individuals and creatine kinase on 99th percentiles of troponin I assays. *Clinica Chimica Acta*, 462: 187-192.
- Petroni, A., Blasevich, M., Salami, M., Papini, N., Montedoro, G. F., and Galli, C. (1995). Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb. Res.*, 78: 151-160.
- Poudyal, H., Campbell, I., and Brown, L. (2010). Olive leaf extract attenuates cardiac, hepatic, and metabolic changes in high carbohydrate, high fat-fed rats. *J. Nutr.*, 140: 946-953.
- Pujalté, I., Passagne, I., Brouillaud, B., Tréguer, M., Durand, E., Ohayon-Courtès, C., and L'Azou, B. (2011). Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. Part. *Fibre Toxicol.*, 8(1), 10.
- Rabah, S. O. (2010). Acute taxol nephrotoxicity: Histological and ultrastructural studies of mice kidney parenchyma. *Saudi J. Biol. Sci.*, 17(2): 105-114.
- Radwan, E. H., Elghazaly, M. M., Hussein, H. K., Aziz, K. K. A., and Barakat, A. I. (2020b). Adverse effect of mixture of food additives on some biochemical parameters in male albino rats. *J. Adv. Bio.*, 13: 1-13.
- Radwan, E., Elghazaly, M., Hussein, H. K., Aziz, K. A., and Barakat, A. (2020a). The possible effects of sodium nitrite and sodium benzoate as food additives on the liver in male rats. *J. Adv. Bio.*, 13: 14-30.
- Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Febo, M. D., Marchegiani, D., and Fonzo, V. D. (2006). Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). *J. Agric. Food Chem.* 54: 434-440.
- Rani, M., and D'Souza, D. (2020). Detrimental effects of sodium nitrite on the kidney of Swiss albino mice. *Int. J. Res. Anal. Rev.*, 7(2): 158-163.
- Rasgele, P., and Kaymak, F. (2013). Effects of food preservative natamycin on liver enzymes and total protein in *Mus Musculus*. *Bulgaria. J. Agric. Scie.*, 19(2): 298-302.
- Reddy, V. D., Krushna, G. S., Padmavathi, P., and Varadacharyulu, N. C. H. (2018). A study of alcohol toxicity and alcohol induced adverse effects in rats. *Int. J. Biochem. Biotechnol.*, 7(8): 853-857.
- Rees, D. D., Cellek, S., Palmer, R. M., and Moncada, S. (1990). Dexamethasone prevents the induction by indoxin of a nitric oxide synthase and the associated effects on vascular one: an insight into endotoxine shock. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 173: 541-547.
- Reisser, D., Lagadec, P., Arnould, L., Arnould, N., Maupoil, V., Pinard D., and Eannin, J. F. (1998). Nitric oxide inhibits proliferation but increases life-span of Tlymphocytes tumor-bearing rats. *Cancer Immunol., Immunother.*, 46: 160-166.
- Rice-Evans, C., Sampson, J., Bramley, P. M., and Holloway, D. E. (1997). Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo? pressure in rat model of two-kidney, one-clip goldblatt hypertension". *Iran. Cardiovasc. Res. J.*, 5(1): 1-6.
- Nezhat, C., Falik, R., McKinney, S., and King, L. P. (2017). Pathophysiology and management of urinary tract endometriosis. *Nat. Rev. Urol.*, 14(6): 359-372.
- Noroozani Ramezani, F., Ojinejad, D., and Ghorbani Ranjbar, A. (2016). Effects of sodium nitrite on liver enzymes and histological structure of liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Mazanda. Univ. Med. Sci.*, 26(144): 171-179.
- Nwose, E. U., Obianke, J., Richards, R. S., Bwitit, P. T., and Igumbor, E. O. (2019). Prevalence and correlations of hepatorenal functions in diabetes and cardiovascular disease among stratified adults. *Acta. Biomed.*, 90(1): 97-103.
- O'connell, T. (2005). Understanding and interpreting serum protein electrophoresis. *Am. Fam. Phys.*, 71: 105-12.
- Obeid, A. K., Alsalam, H. A. A., and Abdulshahed, R. H. (2021). The role of Moringa oleifera seed extract in amelioration of kidney injury induced by sodium nitrite in male rats. *Anna. the Romanian Soc. Cell Bio.*, 25(2): 2392-2402.
- Okoro, R. N., and Farate, V. T. (2019). The use of nephrotoxic drugs in patients with chronic kidney disease. *Int. J. Clin. Pharm.*, 41(3): 767-775.
- Okpogba, A. N., Ogbodo, E. C., Agada, U. N., Odeghe, B. O., Okwara, N. A., Ujowundu, F. N., Amah, A. K., and Onyeneke, E. C. (2021). Kidney function status in persons occupationally exposed to heavy metals in metal forging factory in Nnewi, Southeastern Nigeria. *Afr. J. Biomed. Res.*, 24: 151-157.
- Omagari, K., Kato, S., Tsuneyama, K., Hatta, H., Sato, M., Hamasaki, M., Sadakane, Y., Tashiro, T., Fukuhata, M., Miyata, Y., Tamaru, S., Tanaka, K., and Mune, M. (2010). Olive leaf extract prevents spontaneous occurrence of non-alcoholic steatohepatitis in SHR/NDmcr-cp rats. *Pathol.*, 42: 66-72.
- Onderoglu, S., Sozer, S., Erbil, K. M., Ortac, R., and Lermioglu, F. (1999). The evaluation of long-term effects of cinnamon bark and olive leaf on toxicity induced by streptozotocin administration to rats. *J. Pharm. Pharmacol.*, 51(11): 1305-1312.
- Onyema, O. O., Farombi, E. O., Emerole, G. O., Ukoha, A. I., and Onyeze, G. O. (2006). Effect of vitamin E on mono-sodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Ind. J. Biochem. Bio-phys.* 43(1): 20-24.
- Osman, A. A. M., Rashed, L. A., and Saleh, M. A. (2018). The potential role of bone marrow-mesenchymal stem cells on sodium nitrite-hypoxia model in liver of male rats. *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.*, 9(2): 682-696.
- Osman, I. H., and Tantawy, A. A. (2017). Comparative evaluation of antioxidant and hepatoprotective effects of three olive leaf species cultivated in Aljouf Region, Saudi Arabia. *The Egypt. J. Hosp. Med.*, 69(8): 3083-3091.
- Özen, H., Kamber, U., Karaman, M., Gül, S., Atakişi, E., Özcan, K., and Atakişi, O. (2014). Histopathologic, biochemical and genotoxic investigations on chronic sodium nitrite toxicity in mice. *Experim. and Toxicol. Pathol.*, 66(8): 367-375.
- Pari, L. S. and Arumugam, A. (2008). Effect of grape (*Vitis vinifera* L.) leaf extract on alcohol induced oxidative stress in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 46:1627-1634.
- Pasban-Aliabadi, H., Esmaceli-Mahani, S., Sheibani, V., Abbasnejad, M., Mehdizadeh, A., and Yaghoobi, M. M. (2013). Inhibition of 6-hydroxydopamine-induced PC12 cell apoptosis by olive (*Olea europaea* L.) leaf extract is performed by its main component oleuropein. *Rejuvenation Res.*, 16: 134-42.
- Paul, M. V., Abhilash, S., Varghese, M., Alex, M. V., and Nair, R. H. (2012). Protective effects of α -tocopherol against oxidative stress related to nephrotoxicity by monosodium glutamate in rats.

- Shimizu, S., Eguchi, Y., Kamiike, W., Waguri, S., Uchiyama, Y., Matsuda, H., Tsshimizu, S., and Ujimoto, Y. (1996). "Retardation of chemical hypoxia-induced necrotic cell death by Bcl-2 and ICE inhibitors: Possible involvement of common mediators in apoptotic and necrotic signal." *Transductions. Oncogene*, 12(91): 2045-2050.
- Shrivastava, R., Kushwaha, P., Bhutia, Y. C., and Flora, S. (2016). Oxidative stress following exposure to silver and gold nanoparticles in mice. *Toxicol. Ind. Health*, 32(8):1391-1404.
- Soliman, M. M., Aldahrani, A., and Metwally, M. M. (2021). Hepatoprotective effect of Thymus vulgaris extract on sodium nitrite-induced changes in oxidative stress, antioxidant and inflammatory marker expression. *Sci. Rep.*, 11(1): 1-13.
- Soussi, R., Hfaiedh, N., Guesmi, F., Sakly, M., and Ben Rhouma, K. (2018). Hepatoprotective and antioxidant properties of the aqueous extract of *Olea europaea* leaves against Diclofenac-induced liver damages in mice. *Appl. Physiol., Nutr., Metabol.*, 43(9): 1-36.
- Soussi, R., Hfaiedh, N., Sakly, M., and Rhouma, K. B. (2019). The aqueous extract of *Olea europaea* leaves protects from haematotoxicity and kidney damage induced by diclofenac in Swiss albino mice. *RSC adv.*, 9(40): 23352-23361.
- Sujatha, K. S. and Sisilamma, G. (2009). Protective effect of *Piper longum* (Linn.) on monosodium glutamate induced oxidative stress in rats. *India. J. Experim. Bio.*, 47(3): 186-192.
- Suparmi, S., Fasitasari, M., Martosupono, M., and Mangimbulude, J. C. (2016). Comparisons of curative effects of chlorophyll from *Sauropus androgynus* (L) Merr leaf extract and Cu-chlorophyllin on sodium nitrate-induced oxidative stress in rats. *J. Toxic.*, 1-7.
- Surh, Y. J. (2003). Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals *Nat. Rev. Cancer*, 3(10): 768-780.
- Szas, G. (1976). Reaction rate method for gamma glutamyl transferase activity in serum. *Clin. Chem.*, 22: 2031-2055.
- Taamalli, A., Feriani, A., Lozano-Sanchez, J., Ghazouani, L., El Mufti, A., Allagui, M. S., Segura-Carretero, A., Mhamdi, R., and Arráez-Roman, D. (2020). Potential hepatoprotective activity of super critical carbon dioxide olive leaf extracts against CCl₄-induced liver damage. *Foods*, 9(6): 1-18.
- Taha, M. E. S., Kamal, A. M., and Ibrahim, D. R. (2020). Possible protective effect of olive leaves extract on paracetamol induced hepatotoxicity in male albino rats. *Biosci. J.*, 36(1): 245-255.
- Talas, Z. S., Gogebakan, A. and Orun, I. (2013). Effects of propolis on blood biochemical and hematological parameters in nitric oxide synthase inhibited rats by N^ω-Nitro-L-arginine methyl ester. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 26(5): 915-919.
- Tavafi, M., Ahmadvand, H., and Toolabi, P. (2012). Inhibitory effect of olive leaf extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Iran. J. Kid. Diseases.*, 6(1): 25-32.
- Tietz, N. W. (1999). *Textbook of clinical chemistry* W.B. Saunders, U.S.A, 1271.
- Tisher, C., and Brenner, B. (1989). "Renal pathology with clinical and functional correlation." J. B. Lippincott Company. Philadelphia.
- Toolabi, P., Tavafi, M., Ebrahimi, S., Nasri, S., and Ahmadvand, H. (2011). Protective effect of hydroalcoholic olive leaf extract on inhibition of Gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. *Yafteh*, 13(3): 64-74.
- Tricker, A. R. and Pressmann, R. (1991). Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. *Mutation Res.*, 259: 277-289.
- Tunez, L., Munoz, M. C., Ferjoo-Lopez, A. L., Valdvia, E., Bujalance-Arenas, L., and Montilla, P. (2003). Effect of melatonin on hyperlipidemic nephropathology under constant light exposure. *J. Free Radic. Res.*, 26: 381-398.
- Robbins, S., and Angell, M. (1970). *Basic Pathology*. 2nd Ed. Philadelphia. W.B. Saunders Company.
- Rodríguez-Cubillo, B., Carnero-Alcázar, M., Cobiella-Carnicer, J., Rodríguez-Moreno, A., Alswies, A., Velo-Plaza, M., Pérez-Camargo, D., Sánchez-Fructuoso, A., and Maroto-Castellanos, L. (2019). Impact of postoperative acute kidney failure in long-term survival after heart valve surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.*, 29(1): 35-42.
- Ryan, D., Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K., and Lavee, S. (2002). Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L. *Scientia Horticulturae*, 92: 147-176.
- Saad, S. M., Edris, A. M., Ibrahim, H. M., Hassanin, F. S., and Nayel, M. S. (2013). Studies on nitrites as a chemical preservative in some meat products. *Benha Veter. Med. J.*, 24(1): 298-308.
- Said, H. N., Sadhu, H. G., Bhatnagar, V. K., et al. (1992). Cardiac toxicity following short term exposure to methomyl in spray men rabbits. *Human and Exp. Toxicol.*, 11(2): 93-97.
- Sakr, A. A., Abdel-Aziz, K. K., El-kott, A. F., and Khalifa, H. S. (2016). Ameliorative effect of olive leaves extract on hepatotoxicity and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Biosci. Appl. Res. (JBSAR)*, 2(8): 1-9.
- Salah, M. B., Hafedh, A., and Manef, A. (2017). Anti-diabetic activity and oxidative stress improvement of Tunisian Gerboui olive leaves extract on alloxan induced diabetic rats. *J. Mater. Environ. Sci.*, 8(4): 1359-1364.
- Salama, M. F., Abbas, A., Darweish, M. M., El-Hawwary, A. A., and Al-Gayyar, M. M. (2013). Hepatoprotective effects of cod liver oil against sodium nitrite toxicity in rats. *Pharmace. Bio.*, 51(11):1435-1443.
- Sangi, S., El-feky, S. A., Ali, S. S., Ahmedani, E. I., and Tashtoush, M. (2014). Hepatoprotective effects of oleuropein, thymoquinone and fruit of *Phoenix dactylifera* on CCl₄ induced hepatotoxicity in rats. *World J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 3(3): 3475-3486
- Sarsour, A. and Hassaneh, N. E. (2001): The effect of sodium nitrite on some parameters of the immune system. *Food Chem. Toxicol.*, 39(2): 119-24.
- Scheffler, A., Rauwald, H., Kampa, B., Mann, U., Mohr, F., and Dhein, S. (2008). *Olea europaea* leaf extract exerts L-type Ca²⁺ channel antagonistic effects. *J. Ethnopharmacol.*, 120: 233-240.
- Scibior, A., Golebiowska, D., Adamczyk, A., Neidzwiecka, I., and Fornal, E. (2014). "The renal effects of vanadate exposure: potential biomarkers and oxidative stress as a mechanism of functional renal disorders-preliminary studies." *BioMed. Res. Int.*, 2014: 1-15.
- Scott, M. D., and Bord, R. D. (1996). The direct observation of changes in function of the liver by certain poisons. *Univ. Pretoria. Fac. Yet. Sci., Dept. Yet. Trop. Dis., South Africa (abstract)*.
- Senturk, H., and Yildiz, F. (2018). Protective effects of *Olea Europaea* L. (olive) leaf extract against oxidative stress injury generated with renal ischemia reperfusion. *J. Animal Plant Sci.*, 28(4): 1027-1033.
- Sherif, I. O., and Al-Gayyar, M. M. (2013). Antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of silymarin on hepatic dysfunction induced by sodium nitrite. *Eur. Cytokine Netw.*, 24(3): 114-121.
- Sherif, I. O., and Al-Gayyar, M. M. (2015). Cod liver oil in sodium nitrite induced hepatic injury: does it have a potential protective effect?. *Redox Rep.*, 20(1): 11-16.
- Sherlock, S., and Dooley, J. (1993). *Diseases of the liver and biliary system*, ninth ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. pp. 17-32.

- Himmi, T. (2005). Effect of inorganic nitrates on the morphofunctional condition of the kidney in the rat. *Therapie.*, 60(1): 75-9.
- Zari, T. A., and Al-Attar, A. M. (2011). Therapeutic effects of olive leaves extract on rats treated with a sublethal concentration of carbendazim. *Europ. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 15(4): 413-426.
- Zavodnik, I. B., Lapshina, E. A., Rekawiecka, K., Zavodnik, L. B., Bartosz, G., and Bryszewska, M. (1999). Membrane effects of nitrite-induced oxidation of human red blood cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembr.*, 1421(2): 306-316.
- Zoair, M. A. (2014). A possible antioxidant effect of olive leaf extraction in diabetic rats. *Glob. J. Sci. Res.*, 2(6): 165-170.
- Zraly, Z., Bendova, J., Svecova, D., Faldikova, L., Veznik, Z., and Zajicova, A. (1997). "Effect of oral intake of nitrates on reproductive functions of bulls." *Veter. Med. (Praha)*, 42: 345-354.
- Zurovsky, Y. and Haber, C. (1995). Antioxidants attenuate endotoxin-generation induced acute renal failure in rats. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 29: 147-154.
- Physiol. Biochem., 55(2): 104 -114.
- Uslu, G. A., Hamit, U. S. L. U., and Adali, Y. (2019). Hepatoprotective and nephroprotective effects of *Trigonella foenum-graecum* L. (Fenugreek) seed extract against sodium nitrite toxicity in rats. *Biomed. Res. Thera.*, 6(5): 3142-3150.
- Ustuner, D., Colak, E., Dincer, M., Tekin, N., Burukoglu Donmez, D., Akyuz, F., ... and Ustuner, M. C. (2018). Posttreatment effects of *Olea europaea* L. leaf extract on carbon tetrachloride-induced liver injury and oxidative stress in rats. *J. Med. Food*, 21(9): 899-904.
- Usunomena, U., Sunday, J. J., Spencer, N., Esosa, U. S., Kingsley, O., and Emmanuel, M. N. (2011). Toxicity evaluation of the liver and in vitro metabolism in wistar rat on exposure to N-nitrosamine precursors. *British J. Pharm. Toxic.*, 2(3): 138-142.
- Varely, H., (1987). In: Gowenlock, A.H., McMurray, J.R., McLauchlan, D.M. (Eds.), *Practical Clinical Biochemistry*, sixth ed. Pract. Clin. Biochem., London, pp. 477-549.
- Varghese, M., Gaikwad, S., Fawade, M., Bhattacharya, M., and Gaikwad, A. (2018). Evaluation of early Adjuvant blood marker in acute kidney injury diagnosis. *Walawalkar Int. Med. J.*, 5(1): 17-25.
- Visioli, F., Bellasta, S., and Galli, C. (1998). Oleuropein, the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sci.* 62: 541-546.
- Visioli, F., Bellomo, G., Montedoro, G., and Galli, C. (1995). Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis*, 117: 25-32.
- Visioli, F., Poli, A., and Gall, C. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med. Res. Rev.*, 22(1): 65-75.
- Vogel, P., Kasper Machado, I., Garavaglia, J., Zani, V. T., de Souza, D., et al. (2014). Polyphenols benefits of olive leaf (*Olea europaea* L) to human health. *Nutr. Hosp.*, 31: 1427-1433.
- Wahyuningsih, S. P. A., Sajidah, E. S., Atika, B. N. D., Winami, D., and Pramudya, M. (2020). Hepatoprotective activity of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) in sodium nitrite-induced hepatotoxicity. *Veter. World*, 13(9): 1815-1821.
- Wainstein, J., Ganz, T., Boaz, M., Bar Dayan, Y., Dolev, E., Kerem, Z., and Madar, Z. (2012). Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *J. Med. Food*, 15: 605-610.
- Webster, D. (1974). Enzymatic colorimetric method of albumin. *Clinica Chemica Acta.*, 53: 109-115.
- Weichselbaum, T. E. (1946). Determination of total protein. *Am. Clin. Pathol.*, 16: 40-48.
- Whitby, L. G., Smith, A. F., Beckell, G. J., and Waker, S. W. (1992). *Liver diseases "In lecture notes on clinical biochemistry"*. Blackwell scientific publication. 5th Edition.
- Yildirim, M., Amanvermez, R., Polat, C., Karadag, A., Karayigit, M. O., and Erzurumlu, K. (2014). The olive leaf extract attenuates bacterial translocation and liver damage in obstructive jaundice. *Bratislavske lekarske listy*, 115(6): 357-361.
- Yuegang, Z., Chengjun, W., et al. (2008). Simultaneous determination of creatinine and uric acid in human urine by high performance liquid chromatography. *Anal. Sci.*, 24: 1589-1592.
- Zahkhouk, S. A., El-Kabany, H. A., and Dawoud, E. M. H. (2017). Therapeutic effects of an ethanolic olive leaves extract or bone marrow mesenchymal stem cells against liver injury induced by gamma radiation. *The Egypt. J. Hosp. Med.*, 67(1): 382-391.
- Zaidi, Z. F. (2020). Sodium nitrite-induced hypoxic nephrotoxicity in adult rats. *Ann. Clin. Anat.*, 3(1): 1-4.
- Zaki, A., Chaoui, A. A., Chait, A., Aboussaouira, T., Zarrouk, K., and