جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

التأثير العلاجي لزيت بذور العنب ضد التأثيرات النسجية و الفسلجية لبعض المضادات الحيوية في انسجة بعض اعضاء الجرذان البيض

أمنة حسين عبدالله أحمد البالكي

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتورة سنابل عبد المنعم عبد المجيد الذنون

1446هـ

2024م

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية للتعرف على التأثير العلاجي لزيت بذور العنب Grape Seed Oil (GSO) ضد التأثيرات الوزنية، الكيموحيوية، النسجية والكيميائية النسجية المناعية التي يحدثها كل من المضاد الحيوي الدوكسوروبيسين Doxorubicin (DOX) والأزيثرومايسين Azithromycin (AZ) في انسجة كبد وكلية ذكور الجرذان البيض.

لتحقيق أهداف الدراسة استخدمت في هذه الدراسة 36 جرذاً ذكراً قسمت إلى ستة مجاميع تجريبية مع مجموعه السيطرة، كل مجموعة تضم ستة جرذان، جرعت المجموعة الأولى بالماء المقطر لمدة ستة أسابيع متتالية. بينما حقنت المجموعة الثانية بتركيز 3 ملغم/كغم من وزن الجسم بعقار DOX لمدة ثلاثة أسابيع. وجرعت المجموعة الثالثة بتركيز 25 ملغم/كغم من وزن الجسم بعقار AZ لمدة ثلاثة أسابيع. في حين جرعت المجموعة الرابعة بـ GSO لمدة ستة أسابيع متتالية وبجرعة 0.3 مل/ كغم من وزن الجسم. أما المجموعة الخامسة، فقد حقنت بـ DOX مع GSO وبنفس الجرعة والمدة لكل منهما كما في أعلاه. وكذلك الحال بالنسبة للمجموعة السادسة التي جرعت بـ AZ مع GSO.

وزنت الحيوانات، وتم سحب الدم قبل البدء بالتجربة وبعد مرور ثلاثة وستة أسابيع لغرض التعرف على التغييرات في وزن الجسم وكذلك لقياس التغييرات الوظيفية لإنزيمات الكبد ،مستوى الكلوكوز، الكولسترول، اليوريا والكيرياتينين. تم التضحية بنصف حيوانات كل مجموعة بعد مرور ثلاثة أسابيع من بدء التجربة، والنصف الاخر بعد مرور ستة أسابيع لغرض الدراسة النسجية المرضية وكذلك الكيميائية النسجية المناعية لكل من الكبد والكلية.

بينت النتائج وجود انخفاض معنوي في اوزان الجرذان في المجاميع المعاملة بـ DOX وAZ، بينما لم تظهر المجموعة المعاملة GSO إلى اختلاف في الوزن بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. كما اظهر GSO قدرة على اعادة وزن الحيوانات إلى الشكل الطبيعي في المجاميع الخامسة والسادسة.

أما فيما يخص إنزيمات الكبد ALT , AST وALP فقد أظهرت ارتفاع معنوي في المجاميع الثانية والثالثة بينما كان طبيعياً في المجموعة المعاملة بـ GSO. كما إن المجاميع

المعاملة بـ DOX وAZ مع GSO كانت اقل وبفرق معنوي عن المجاميع الثانية والثالثة مما يشير إلى فعالية GSO في معالجة التأثير السلبي لها.

كما أظهرت النتائج ارتفاع معنوي في مستوى الكلوكوز والكوليسترول في مصل دم المجاميع المعاملة بـ DOX وAZ فقط بالمقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بـ GSO فقط. وفي المجاميع المعالجة بـ GSO ضد DOX وAZ ظهر انخفاض معنوي في مستوى هذه المعايير الحيوية دلالة على قدرة GSO في معالجة الخلل في مستويات الكلوكوز والكوليسترول. كما أوضحت نتائج الدراسة الوظيفية للكلية وجود ارتفاع معنوي في مستوى تركيز اليوريا والكرياتينين في مصل دم الجرذان المعاملة بـ DOX و AZ بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة GSO. وإن مستوى تركيز اليوريا والكرياتينين انخفض في المجموعات الخامسة والسادسة المعالجة بـ GSO.

أما فيما يخص الدراسة المرضية النسجية فقد أظهرت المجاميع المعاملة بـ DOX وAZ آفات نسجية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة GSO. ففي الكبد، كانت ابرز الآفات النسجية في مجموعة DOX فقط تحول جزء من نسيج الكبد بالقرب احد فروع الوريد المركزي إلى كبد اسفنجي بعد مرور ثلاثة أسابيع، فضلاً عن ظهور تنخر وتنكس وفرط تنسج لجدران الأوعية الدموية والقنوات الصفراوية. وبعد مرور ستة أسابيع زادت حدة هذه التغيرات وشملت بالإضافة إلى الآفات السابقة ظهور ارتشاح بؤري قوي للخلايا الالتهابية. وفي المجموعة الثالثة المعاملة بـ AZ، فبعد مرور ثلاثة أسابيع ظهر وجود احتقان منتشر بين الاوعية الدموية وتفجي وتنكس في الخلايا الكبدية مع زيادة كمية الألياف الكولاجينية. وبعد مرور ستة أسابيع، ظهرت بؤر ارتشاحيه وزيادة في سمك الوريد المركزي وارتشاح الخلايا الالتهابية. بينما في المجموعة المعاملة بـ GSO فقط، فقد ظهر التركيب النسجي للكبد وللفترتين اقرب ما يكون إلى التركيبة الطبيعي. أما بالنسبة للمجاميع العلاجية الخامسة والسادسة، فقد ظهر آفات نسجية في فترة ثلاثة أسابيع شملت ظهور نخر وتنكس وارتشاح الخلايا الالتهابية فضلاً عن ظهور آفات اخرى. إلا إن هذه الآفات قلت وبشكل ملحوظ بعد مرور ستة أسابيع مما يدل على القدرة العلاجية لزيت بذور العنب على إصلاح الآفات النسجية التي سببها كل من DOX و AZ.

أما بالنسبة للكلية، فبعد مرور ثلاثة أسابيع، ظهر في المجموعة الثانية تغييرات مرضية نسجية شملت تضخم بعض الكبيبات، ونخر وتوسف في بعض النبيبات البولية. وفي مجموعة الثالثة، ظهر نزف شديد وأحتقان وتشدف وتغيير شكل بعض الكبيبات. أما بعد مرور ستة أسابيع، فقد لوحظ ارتشاح بؤري شديد في المجموعة الثانية، مع ضمور بعض الكبيبات وكثرة الالياف الكولاجينية. وفي المجموعة الثالثة، ظهرت بعض الكبيبات متضخمة وتمزق محفظة بومان وظهور قالب بروتيني في بعض النبيبات البولية. أما في المجموعة الرابعة وللفترتين ظهر نسيج الكلية شبه طبيعي مع ظهور نزف بين مكونات النسيج، بينما في المجاميع العلاجية الخامسة والسادسة، فقد ظهرت آفات نسجية مختلفة بعد مرور ثلاثة أسابيع، ولكن بعد مرور ستة أسابيع قلت هذه الآفات بشكل ملحوظ وظهر تركيب نسيج الكلية قريب بشكل كبير إلى التركيب الطبيعي.

أما فيما يخص الدراسة الكيميائية النسجية المناعية والتي استخدمت للكشف المناعي عن الألياف الكولاجين النوع الرابع IV. كانت هناك استجابات موجبة في المجاميع المعاملة بـ DOX وAZ بشكل خاص. ففي الكبد كانت الاستجابة للتفاعل الكيميائي النسجي المناعي قوية جداً في المجموعة الثانية والثالثة وللفترتين ثلاثة وستة أسابيع. في حين كان التفاعل موجب ضعيف في المجموعة الرابعة بعد مرور ثلاثة أسابيع وسالب بعد مرور ستة أسابيع. في حين كان التفاعل موجب قوي بعد مرور ثلاثة أسابيع وزادت قوة التفاعل بعد مرور ستة أسابيع في المجموعة الخامسة. وفي المجموعة السادسة، كان التفاعل موجب قوي بعد مرور ثلاثة أسابيع وموجب ضعيف بعد مرور ستة أسابيع.

وفي نسيج الكلية، كانت نتيجة التفاعل الكيميائي النسجي المناعي قوي جداً وفي الفترتين ثلاثة وستة أسابيع في المجاميع الثانية والثالثة والخامسة والسادسة. بينما الاستجابة سالبة او ضعيفة في المجموعة الرابعة ولكلا الفترتين.

واستنتجت الدراسة إن لعقاريّ DOX وAZ تأثيرات كيموحيوية ونسجية وكيميائية نسجية مناعية سلبية كبيرة جداً على أنسجة الكبد والكلية. وإن لزيت بذور العنب دور مهم جداً في تقليل هذه الآثار السلبية وتخفيفها إلا إنه يحتاج إلى فترة طويلة نسبياً.

Abstract

The current study was conducted to investigate the therapeutic effect of Grape Seed Oil (GSO) against the weight, biochemical, histological, and immunohistochemical impacts induced by the antibiotics Doxorubicin (DOX) and Azithromycin (AZ) in the liver and kidney tissue of white male rats.

To achieve the study's objectives, 36 male rats were used and divided into six experimental groups along with a control group, with each group comprising six rats. The first group was administered distilled water for six consecutive weeks. The second group was injected with 3 mg/kg body weight of DOX for three weeks. The third group was administered 25 mg/kg body weight of AZ for three weeks. The fourth group was administered GSO for six consecutive weeks at a dose of 0.3 ml/kg body weight. The fifth group was injected with both DOX and GSO at the same dose and duration as mentioned above. Similarly, the sixth group was administered both AZ and GSO.

The animals were weighed, and blood was drawn before starting the experiment and after three and six weeks to identify changes in body weight and measure functional changes in liver enzymes, glucose levels, cholesterol, urea, and creatinine. Half of the animals in each group were sacrificed after three weeks from the start of the experiment, and the other half after six weeks, for the purpose of conducting histopathological and immunohistochemical studies of both the liver and kidney.

The results showed a significant decrease in the weights of the rats in the groups treated with DOX and AZ, while the group treated with GSO did not show any difference in weight compared to the control group. Additionally, GSO demonstrated the ability to restore the animals' weights to normal in the fifth and sixth groups.

For liver enzymes AST, ALT, and ALP, there was a significant increase in the second and third groups, while levels were normal in the group treated with GSO. Moreover, the groups treated with both DOX and AZ along with GSO showed significantly lower

levels compared to the second and third groups, indicating the effectiveness of GSO in mitigating their negative effects.

The results also showed a significant increase in glucose and cholesterol levels in the serum of the groups treated with DOX and AZ compared to the control group and the group treated with GSO only. In the groups treated with GSO against DOX and AZ, there was a significant decrease in these biomarkers, indicating GSO's ability to correct the imbalances in glucose and cholesterol levels. Additionally, the functional study of the kidneys showed a significant increase in the concentration of urea and creatinine in the serum of rats treated with DOX and AZ compared to the control group and the GSO group. The concentration of urea and creatinine decreased in the fifth and sixth groups treated with GSO.

For the histopathological study, the groups treated with DOX and AZ showed tissue lesions compared to the control group and the GSO group. In the liver, the main lesions in the DOX group included the transformation of part of the liver tissue near one of the branches of the central vein into spongy liver after three weeks, along with necrosis, degeneration, and hyperplasia of the walls of blood vessels and bile ducts. After six weeks, these changes intensified, including strong focal infiltration of inflammatory cells. In the third group treated with AZ, after three weeks, there was widespread congestion between blood vessels, swelling, and degeneration of liver cells with an increase in collagen fibers. After six weeks, there were infiltrative foci, increased thickness of the central vein, and infiltration of inflammatory cells.

In the group treated with GSO only, the histological structure of the liver for both periods was closest to the normal structure. As for the therapeutic groups (fifth and sixth), tissue lesions appeared after three weeks, including necrosis, degeneration, and infiltration of inflammatory cells, as well as other lesions. However, these lesions significantly decreased after six weeks, indicating the therapeutic ability of grape seed oil to repair the tissue lesions caused by both DOX and AZ.

In the kidney, after three weeks, the second group showed pathological changes including hypertrophy of some glomeruli, necrosis, and desquamation in some renal tubules. In the third group, there was severe hemorrhage, congestion, and deformation of some glomeruli. After six weeks, the second group exhibited severe focal infiltration, atrophy of some glomeruli, and an abundance of collagen fibers. In the third group, some glomeruli were enlarged, Bowman's capsule was ruptured, and protein casts were present in some renal tubules.

In the fourth group, the kidney tissue appeared nearly normal for both periods, with some hemorrhage observed between the tissue components. In the therapeutic groups (fifth and sixth), various tissue lesions appeared after three weeks. However, after six weeks, these lesions significantly decreased, and the kidney tissue structure was very close to the normal structure.

For the immunohistochemical study, which was used to detect type IV collagen fibers, there were positive responses particularly in the groups treated with DOX and AZ. In the liver, the response to the immunohistochemical reaction was very strong in the second and third groups for both periods of three and six weeks. In contrast, the reaction was weakly positive in the fourth group after three weeks and negative after six weeks. In the fifth group, the reaction was strongly positive after three weeks and increased in intensity after six weeks. In the sixth group, the reaction was strongly positive after three weeks and weakly positive after six weeks.

In the kidney tissue, the immunohistochemical reaction was very strong in the second, third, fifth, and sixth groups for both three and six weeks. The response was either negative or weak in the fourth group for both periods.

The study concluded that DOX and AZ have significant negative biochemical, histological, and immunohistochemical effects on liver and kidney tissues. Grape seed oil plays a very important role in reducing and mitigating these negative effects, although it requires a relatively long period.

University of Mosul

College of Education

for Pure Science

The therapeutic effect of Grape Seeds Oil against the Histological and Physiological effects of some Antibiotics on the tissues of some Organs of Albino Rats

Amena Hussein Abdulla Ahmed Albalake

Master Thesis

In Biology

Supervised by

Assist. Prof.

Dr. Sanabel Abd-Almonum Abd- Almajeed AlThanoon

2024 A.D **1446 A.H**