جامـــــعة الزاويـــــــة

إدارة الدراســـــات العليا والتدريب

كلية العلـــــــوم

قســـم الأحيـــــــاء - شـــعبة علم الحيـــــوان

التأثيرات الوقائية المحتملة لمستخلص أوراق الزيتون على السمية الكبدية–الكلوية المستحثة بنيتريت الصوديوم

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

إعداد الطالبة

فاطمة أبوبكر السائح السائح

إشراف

د: محمد عمر الباشا — **أستاذ مشارك**

د: عزب السيد عزب — **أستاذ مشارك**

2023

قُدِّمت هذه الرسالة استكمالًا لمتطلّبات الإجازة العالية الماجستير بتاريخ 2023/3/16م الموافق 24/شعبان/1444هـ شعبة علم الحيوان قسم الأحياء/ كلية العلوم جامعة الزاوية

بِسْمِ اللَّـهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿اللَّهُ نُورُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ مَثَلُ نُورِهِ كَمِشْكَاةٍ فِيهَا مِصْبَاحٌ الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِنْ شَجَرَةٍ مُبَارَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَا شَرْقِيَّةٍ وَلَا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ نُورٌ عَلَى نُورٍ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ مَنْ يَشَاءُ وَيَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَالَ لِلنَّاسِ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ﴾[1]

صدق الله العظيم

---

[1]– سورة النور، الآية 35.

الإهــداء

إلى من سعى وبذل جهوده لإيصالي إلى هذا المستوى، والنور الذي أضاء دربي **والدي العزيز**.

إلى من تذوب كالشمعة؛ لتنير درب الخير والمحبة، والتي غمرتني بالحنان والاطمئنان، **والدتي العزيزة**.

إلى من هم عزي وفخري، وعوني وسندي **أخي وأخواتي**.

إلى الذين لم يتوانوا يومًا في نصحي وإرشادي وتعليمي، **أساتذتي**.

إلى من ترتسم صورهم في مخيلتي دائمًا، إلى من وقفوا معي وساندوني بكلمة أو موقف أو دعاء.

إلى كل من شغله أمري وأسعده نجاحي، **أصدقائي وأحبتي**.

أهدي هذا الجهد العلمي المتواضع.

فاطمة

شكر وتقدير

الشكر لله عزَّ وجلّ على ما مَنَّ به عليّ من فضل ونعمة، كانت سببًا في توفيقي، الآن وقد بلغت المراحل الأخيرة في مسيرة دراستي، حق عليّ أنْ أوجِّه كلمات الشكر والتقدير وكامل الثناء لكل من ساعدني وساندني في إنجاز هذه الرسالة، وأول كلمات العرفان بالجميل أوجهها للمشرفيَّن على رسالتي، الدكتور: محمد عمر الباشا المشرف الأول، والدكتور: عزب السيد عزب، المشرف الثاني، على رحابة صدريهما، وما بذلاه من جهد عظيم وإرشاد ومتابعة طوال مرحلة البحث، ومن الواجب أنْ أقدِّم شكري واحترامي لمختبر الفيروز لتحاليل الأنسجة والخلايا والأورام بما أبدوه من مساعدة وتعاون كبيرين، وأخص بالذكر الدكتورة: إلهام اليسير، والشكر موصول إلى مختبر الوقاية للتحاليل الطبية على تعاونهم معي، وأخص بالذكر المهندس عبد الحكيم. وأتقدم بخالص شكري وتقديري إلى المهندس: بشير بالخيرات، والمهندس: جمعة الزاوي.

كما أتوجَّه بالشكر والثناء إلى المركز الليبي للبحوث الطبية بالزاوية، وأخص بالذكر الأستاذ: خالد أبو رأس، والشكر موصول إلى أصدقائي الأساتذة في بعض الجامعات الليبية وهم: أ. د هدى شعبان القبي، جامعة مصراته، وأ. د سالم عبد العالي الشطشاط، جامعة بنغازي، وأ. د قدري محمد القنوني، جامعة الزاوية، وأ. مريم محمد بشر، جامعة سبها، على مساعداتهم وتعاونهم معي أثناء فترة البحث.

أتقدم بجزيل شكري وامتناني إلى أساتذتي بقسم علم الحيوان بكلية العلوم جامعة الزاوية. كما أتقدَّم بالشكر والعرفان إلى كل من قدَّم لي يد المساعدة والنصيحة وساهم في إتمام بحثي.

ولا أنسى في هذه اللحظة أنْ أتقدَّم بالشكر والعرفان إلى عائلتي التي كانت سندًا لي إذ منحتني وقتها وجهدها ومؤازرتها لي معنويًا في إتمام هذه الرسالة، داعية الله سبحانه وتعالى أنْ يحفظها وينعم عليها بفضله.

فاطمة

فهرس المحتويات

Table of contents

البند	الموضوع	رقم الصفحة
	الآية.	
	الإهداء.	ب
	شكر وتقدير.	ج
	فهرس المحتويات.	هـ
	قائمة الجداول.	ي
	قائمة الأشكال.	ك
	الملخص بالعربي.	م
	الملخص بالإنجليزي.	س
	قائمة الاختصارات.	ف
الفصل الأول المقدِّمة		
.1	المقدِّمة.	1
1.1	أهداف الدراسة.	4
الفصل الثاني الدراسات السابقة		
1.2	المواد الحافظة.	5
2.2	نيتريت الصوديوم.	5
1.2.2	مصادر التعرض للنيتريت.	6
2.2.2	الحركية الدوائية للنيتريت.	6
3.2.2	استخدامات نيتريت الصوديوم.	8
4.2.2	التأثيرات الضارة لنيتريت الصوديوم.	11
3.2	النباتات الطبية.	20
1.3.2	نبات الزيتون.	21

1.1.3.2	نبذة عامة عن نبات الزيتون.	21
2.1.3.2	التصنيف العلمي لنبات الزيتون.	22
3.1.3.2	الوصف النباتي لشجرة الزيتون.	22
4.1.3.2	التركيب الكيميائي لأوراق الزيتون.	23
5.1.3.2	الاستخدام الآمن لمستخلص أوراق الزيتون.	25
6.1.3.2	الأهمية الطبية لأوراق الزيتون.	26
7.1.3.2	تأثيرات مستخلص أوراق الزيتون على الكبد والكلى.	29
4.2	الإجهاد التأكسدي.	36
5.2	الجذور الحرة.	37
6.2	مضادات الأكسدة.	38
1.6.2	مضادات أكسدة إنزيمية.	38
2.6.2	مضادات أكسدة غير إنزيمية.	39
1.2.6.2	مضادات أكسدة داخلية.	39
2.2.6.2	مضادات أكسدة خارجية.	39
7.2	الكبد.	40
1.7.2	تركيب الكبد.	41
2.7.2	فصيصات الكبد.	41
3.7.2	وظائف الكبد.	42
8.2	الكلية.	43
1.8.2	التركيب التشريحي للكلية.	43
2.8.2	النفرونات.	45
3.8.2	وظائف الكلية.	46
الفصل الثالث **المواد وطرق العمل**		
1.3	الحيوانات المستخدمة في الدراسة.	48
2.3	النبات المستعمل في الدراسة.	48
3.3	المواد الكيميائية.	49

4.3	طرق العمل.	49
1.4.3	تحضير المستخلص المائي لأوراق الزيتون.	49
2.4.3	تصميم التجربة.	50
3.4.3	جمع عينات الدم والأنسجة.	50
1.3.4.3	تقدير المعايير الكيموحيوية في مصل الدم.	51
1.1.3.4.3	تقدير نشاطات إنزيمات الكبد (ALT، AST، ALP، GGT) في مصل الدم.	51
2.1.3.4.3	تقدير تركيزات البروتينات (TP، Alb، Glob)، ونسبة A/G في مصل الدم.	51
3.1.3.4.3	تقدير تركيزات (اليوريا، الكرياتينين، حمض البوليك) في مصل الدم.	52
4.1.3.4.3	تقدير تركيزات الإلكتروليتات (Na^+، K^+) في مصل الدم.	52
2.3.4.3	الدراسات النسيجية.	52
3.3.4.3	صبغ المقاطع النسيجية.	53
4.3.4.3	فحص وتصوير المقاطع النسيجية.	54
4.4.3	التحليل الاحصائي.	54
الفصل الرابع **النتائج**		
1.4	الدراسة الكيموحيوية.	55
1.1.4	التغيرات في نشاط بعض إنزيمات الكبد لذكور الأرانب البالغة.	55
1.1.1.4	نشاط إنزيم الالانين الناقل لمجموعة الأمين ALT في مصل الدم.	55
2.1.1.4	نشاط إنزيم الاسبارتيت الناقل لمجموعة الأمين AST في مصل الدم.	57
3.1.1.4	نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP في مصل الدم.	58
4.1.1.4	نشاط إنزيم جاما جلوتاميل ترانسفيراز GGT في مصل الدم.	59
5.1.1.4	تركيز البروتين الكلي TP في مصل الدم.	60
6.1.1.4	تركيز الألبومين Alb في مصل الدم.	61
7.1.1.4	تركيز الجلوبيولين Glob في مصل الدم.	62
8.1.1.4	نسبة الألبومين/الجلوبيولين A/G في مصل الدم.	63

2.1.4	التغيرات في تراكيز بعض وظائف الكلى لذكور الأرانب البالغة.	64
1.2.1.4	تركيز اليوريا في مصل الدم.	64
2.2.1.4	تركيز الكرياتينين في مصل الدم.	66
3.2.1.4	تركيز حمض البوليك في مصل الدم.	67
4.2.1.4	تركيز أيونات الصوديوم Na^+ في مصل الدم.	68
5.2.1.4	تركيز أيونات البوتاسيوم K^+ في مصل الدم.	69
2.4	الدراسة النسيجية.	70
1.2.4	التغيرات النسيجية في الكبد.	70
1.1.2.4	التركيب النسيجي للكبد في المجموعة الضابطة لذكور الأرانب.	70
2.1.2.4	التغيرات النسيجية في كبد الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون.	71
3.1.2.4	التغيرات النسيجية في كبد الأرانب المعاملة بنيتريت الصوديوم.	72
4.1.2.4	التغيرات النسيجية في كبد الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون مع نيتريت الصوديوم.	74
2.2.4	التغيرات النسيجية في الكلى.	75
1.2.2.4	التركيب النسيجي للكلى في المجموعة الضابطة لذكور الأرانب.	75
2.2.2.4	التغيرات النسيجية في كلى الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون.	76
3.2.2.4	التغيرات النسيجية في كلى ذكور الأرانب المعاملة بنيتريت الصوديوم.	77
4.2.2.4	التغيرات النسيجية في كلى الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون مع نيتريت الصوديوم.	79
الفصل الخامس **المناقشة**		
1.5	الدراسة الكيموحيوية.	81
1.1.5	نشاط إنزيمات الكبد (ALT، AST، ALP وGGT).	81
2.1.5	تركيزات البروتين الكلي والألبومين والجلوبيولين ونسبة الألبومين/الجلوبيولين.	89
3.1.5	تركيزات اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم.	93

2.5	الدراسة النسيجية.	101
1.2.5	التغيرات النسيجية في الكبد.	102
2.2.5	التغيرات النسيجية في الكلية.	110
الاستنتاجات والتوصيات		
1.6	الاستنتاجات.	119
2.6	التوصيات.	120
المراجع		
1.7	المراجع العربية.	121
2.7	المراجع الأجنبية.	123

قائمة الجداول

List of Tables

رقم الجدول	العنوان	رقم الصفحة
(1.2)	تصنيف نبات الزيتون *Olea europaea L.*.	22
(1.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين، الفوسفاتيز القاعدي وجاما جلوتاميل ترانسفيراز وتركيز البروتينات في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	56
(2.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز اليوريا، الكرياتينين، حمض البوليك، أيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	65

قائمة الأشكال

List of Figures

رقم الشكل	العنوان	رقم الصفحة
(1.2)	دورة النيتريت والنترات في الجسم.	8
(2.2)	شجرة الزيتون وأوراقها.	23
(3.2)	تركيب الكبد.	40
(4.2)	فصيصات الكبد.	42
(5.2)	مقطع أمامي في الكلية.	44
(6.2)	مقطع طولي في الكلية.	45
(7.2)	تركيب النفرون.	46
(1.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم الالانين الناقل لمجموعة الأمين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	57
(2.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم الاسبارتيت الناقل لمجموعة الأمين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	58
(3.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	59
(4.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم جاما جلوتاميل ترانسفيراز في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	60
(5.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز البروتين الكلي في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	61
(6.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز الألبومين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	62

(7.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز الجلوبيولين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	63
(8.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نسبة الألبومين/الجلوبيولين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	64
(9.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز اليوريا في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	66
(10.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز الكرياتينين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	67
(11.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز حمض البوليك في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	68
(12.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز أيونات الصوديوم في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	69
(13.4)	تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز أيونات البوتاسيوم في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.	70
(14.4)	قطاعات نسيجية في كبد المجموعة الضابطة لذكور الأرانب.	71
(15.4)	قطاع نسيجي في كبد ذكور الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون.	72
(16.4)	قطاعات نسيجية في كبد المجموعة التي تناولت نيتريت الصوديوم.	73
(17.4)	قطاعات نسيجية في كبد المجموعة التي جرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وتناولت نيتريت الصوديوم.	75
(18.4)	قطاعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية لذكور الأرانب في المجموعة الضابطة.	76
(19.4)	قطاعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية لذكور الأرانب التي جرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون.	77
(20.4)	قطاعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية لذكور الأرانب التي تناولت نيتريت الصوديوم.	78
(21.4)	قطاعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية لذكور الأرانب التي جرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وتناولت نيتريت الصوديوم.	80

الملخَّص

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم التأثيرات الوقائية المحتملة للمستخلص المائي لأوراق الزيتون ضد السُمية الكبدية- الكلوية المستحثة بنيتريت الصوديوم في ذكور الأرانب، وذلك من خلال دراسة بعض المعايير الفسيولوجية والكيموحيوية والتغيرات النسيجية.

استخدم في هذه الدراسة 24 من ذكور الأرانب المحلية البالغة، وقسّمت إلى 4 مجموعات (6 أرانب لكل مجموعة)، وتمَّت معاملتها يوميًا لمدة 8 أسابيع على 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 غذاءً 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 غذاءً يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4%.

في نهاية التجربة سُحب الدم من وريد أذن الأرنب في كل المجموعات؛ لتقييم المعايير الكيموحيوية في مصل الدم، وجُمعت عينات من كبد وكلى الأرانب للفحص النسيجي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة ارتفاعًا معنويًا ($P<0.001$) 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 دم المجموعة المعاملة بنيتريت الصوديوم فقط عندما قورنت بالمجموعة الضابطة.

سجّلت المجموعة المعاملة بنيتريت الصوديوم + المستخلص المائي لأوراق الزيتون انخفاضًا معنويًا ($P<0.01$) 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 ارتفاعًا معنويًا ($P<0.01$) 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 أنَّ الخلايا الكبدية أظهرت تورُّمًا غائمًا واحتواء سيتوبلازمها على فجوات دهنية و/أو مائية. وأيضًا حدوث

اتساع واحتقان في الوريد المركزي والوريد البابي، زيادة سُمك بطانة الوريد المركزي وجُدر الوريد البابي والقنيات الصفراوية والشريان الكبدي، وضيق في الجيبيينات الدموية واحتوائها على كريات دم حمراء، بالإضافة إلى وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء، وتليُّف في المنطقة البابية. بينما كشفت القطاعات النسيجية في كلى المجموعة المعاملة بنيتريت الصوديوم عن انكماش في الكبيبات الكلوية، واتساع في محافظ بومان، وحدوث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبيجي، وزيادة سُمك جُدرها، وجود رواسب بروتينية في تجاويف الأنيبيبات الكلوية، وحدوث نزف دموي وتوسُّع وارتشاح خلايا الدم البيضاء بين الأنابيب البولية، وكذلك وجود نخر وتكوُّن فجوات في سيتوبلازم الخلايا المبطّنة للأنيبيبات البولية وأيضًا وجود Edema في بعض الأماكن بالقشرة الكلوية. بينما كشفت نتائج الفحص النسيجي للمجموعة المعالجة بنيتريت الصوديوم + المستخلص المائي لأوراق الزيتون عن تحسُّن في أنسجة الكبد والكلى. في الختام، ووفقًا للنتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة، فالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بجرعة 2.21 مل/كجم من وزن الجسم/يوم له تأثير وقائي ضد السُمية الكبدية– الكلوية التي يسبِّبها نيتريت الصوديوم في 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 local male rabbits were used in this study and divided into 4 groups; 6 rabbits each/group, 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, 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 albumin/globulin, in this group when compared with that of sodium nitrite only.

Histological sections of liver of the treated group by sodium nitrite 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.

قائمة الاختصارات

List of the abbreviation

المختصر	المصطلح
A/G	Albumin/Globulin ratio
Alb	Albumin
ALP	Alkaline Phosphatase
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate aminotransferase
ATP	Adenosine Triphosphate
BD	Bile Ductulei
BOLE	Boiled Olive Leaves Extract
CCl_4	Carbon Tetrachloride
Cd	Cadmium
$CdCl_2$	Cadmium Chloride
Cl^-	Chloride ion
COLE	Cold Olive Leaves Extract
Conc.	Concentration
CP	Cisplatin
CV	Central Vein
DEM	Deltamethrin
DF	Diclofenac
DNA	Deoxy Ribonucleic Acid
Fe^{+2}	Ferrous ion
Fe^{+3}	Ferric ion
G	Glomerulus
g/dl	Grams per decilitre
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
Glob	Globulin
GSH	Glutathione
H^+	Hydrogen ion
H&E	Hematoxylin & Eosin
Hb	Hemoglobin
HCO_3^-	Bicarbonate
H_2O_2	Hydrogen peroxide

K^+	Potassium ion
LI	Leukocytes Infiltration
LPO	Lipid Peroxidation
MDA	Malondialdehyde
MetHb	Methemoglobin
mg/dl	Milligrams per decilitre
mmol/l	Millimoles per litre
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
Na^+	Sodium ion
Na^+/K^+ ATPase	Sodium ion/ Potassium ion Adenosine Triphosphate enzyme
$NaNO_2$	Sodium nitrite
$NaNO_3$	Sodium nitrate
NO	Nitric oxide
NO_2^-	Nitrite
NO_3^-	Nitrate
OL	Olive Leaves
OLP	Olive Leaves Powder
OLE	Olive Leaves Extract
pH	Power of Hydrogen
PV	Portal Vein
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROS	Reactive Oxygen Species
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TP	Total protein
U/L	Units per litre

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1. المقدِّمة Introduction

المضافات الغذائية هي: مواد تضاف إلى الغذاء وتستخدم لأغراض مختلفة، مثل الحفظ والتلوين وتعزيز الغذاء (Al-Shinnawy, 2009). الجزء الأكبر من المضافات الغذائية المستخدم في الغذاء هو المواد الحافظة. تبطئ المواد الحافظة الغذائية نمو الكائنات الحية الدقيقة؛ لكونها المسبِّبة للأمراض في البشر كالفطريات والبكتيريا، إذ تتكوَّن المواد الحافظة الغذائية من مضادات الميكروبات التي تثبط نمو البكتيريا، أو الفطريات ومضادات الأكسدة التي تثبط أكسدة المركَّبات المكوِّنة للغذاء. فالاستخدام الواسع للمواد الحافظة الغذائية يسبِّب مشاكل خطيرة للصحة (Rasgele & Kaymak, 2013).

ويعد النيتريت من المواد الحافظة الرئيسية، الذي يستخدم بشكل أملاح أو أحماض حرة (Helal *et al*., 2008). تضاف أملاح النيتريت إلى اللحوم والدواجن والأسماك بتراكيز منخفضة كوسيلة للحفظ منذ عدَّة سنوات (Sherif & Al-Gayyar, 2013).

أصبح حفظ اللحوم بالنيتريت أو النترات أمرًا مهمًا للبشرية في التحكُّم في تلف اللحوم، وفي إنتاج منتجات لحوم آمنة ومستساغة مع خصائص حفظ جيدة، حتى في درجة الحرارة المحيطة. لنيتريت الصوديوم دور في منتجات اللحوم من خلال تثبيت 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 أنْ يؤدي استهلاك مثل هذه الأطعمة المحفوظة بتركيز عالٍ من النيتريت من قبل البشر إلى تعرُّضهم لأضرار شديدة (Adewale *et al*., 2019). وقد يتفاعل نيتريت الصوديوم كمادة مضافة للغذاء مع أمينات الأطعمة الموجودة في المعدة، وتنتج النيتروز أمين Nitrosamine أو أعدادًا كبيرة من الجذور

الحرة. ومن المعروف أنَّ هذه الجذور الحرة تسبب الإجهاد التأكسدي، والتي يمكن أنْ تكون ضارةً بأعضاء مختلفة مثل الكبد والكلى (Aboulgasem *et al*., 2015).

يتفاعل نيتريت الصوديوم أيضًا مع الهيموجلوبين في الدم لتكوين الميثهيموجلوبينيميا Methaemoglobinaemia، وبالتالي فهو يؤثر في عملية تكوين الدم، أي أنَّه يقلِّل الهيموجلوبين القادر على نقل الأكسجين (El-Nabarawy *et al*., 2020)، يمكن تحويل نيتريت الصوديوم إلى أكسيد النيتريك الذي يسبِّب ارتخاء العضلات الملساء للأوعية الدموية، مما يؤثر على الكبيبات والأنيبيبات الكلوية مسببًا توسع الأوعية، وبالتالي نقص الأكسجة الخلوية والتليُّف متبوعًا بالموت (Al-Hiti *et al*., 2018; Arnold *et al*., 2020).

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

إنَّ نعم الله تعالى على خلقه كثيرة لا تعد ولا تحصى، ومن هذه النعم وجود نباتات طبية، والتي تعد غذاءً ومصدرًا طبيًا للعديد من الأمراض؛ لاحتوائها على أجزاء نباتية مكوَّنة من مواد كيميائية ذات فائدة وأهمية كبيرة من الناحية الفسيولوجية للحيوان والإنسان (Surh, 2003). وقد توجَّهت معظم الدراسات الحديثة لدراسة النباتات الطبية؛ وذلك من أجل إيجاد دور لمثبِّطات الأكسدة في هذه النباتات للوقاية من الأضرار التأكسدية الناتجة من تفاعلات الجذور الحرة في عدد من الحالات المرضية، وبالتالي حماية الوظائف 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 عدَّة أسباب أهمها: التعرُّض للمواد الكيميائية، ومنها المضافات الغذائية Food additives ومن ضمنها المواد الحافظة والمنكِّهات (De & De, 2019)، ممَّا أدَّى إلى الاهتمام بزراعتها وإنتاجها، واستخراج المواد الفعَّالة 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 نوعًا من النباتات الطبية، والتي استخدمت لأغراض علاجية، أو كمادة خام لإنتاج الأدوية من خلال دورها الفعَّال 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 Olea (Al-Enazi *et al*., 2015). وتعد شجرة الزيتون من النباتات الزيتية دائمة الخضرة، والتي أقسم الله بها في القرآن الكريم بقوله تعالى ﴿وَالتِّينِ وَالزَّيْتُونِ(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، أسبانيا، ايطاليا، فرنسا، تركيا، المغرب، وتونس؛ لعلاج الجروح، الحمى، مرض السكر، النقرس، تصلُّب 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 والكلى والكبد، وبنشاطها المضاد للميكروبات وخصائصها المضادة للالتهابات. تحتوي أوراق الزيتون على سيكوريدويد مثل الأوليروبين

والليجوستروسايد، وثنائي ميثيل أوليروبين والأوليسايد والفلافونويدات بما في ذلك الأبيجينين والكامبفيرول واللوتولين بالإضافة إلى المركبات الفينولية مثل حمض الكافييك والتايرسول والهيدروكسي تايروسول (Abed, 2017).

أظهرت الدراسات التجريبية قدرة أوراق الزيتون لعلاج وتخفيف حدَّة الأمراض المختلفة، والتغيرات الوظيفية والكيموحيوية والنسيجية 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).

1.1 أهداف الدراسة Objectives of the study

شجرة الزيتون هي واحدة من النباتات الطبية التي لها أثر كبير في علم الصيدلة والأدوية لسنوات عديدة، وتعد أوراق الزيتون مادة خام رخيصة متوفرة في الفصول المختلفة في ليبيا، ويمكن استخدامها كمصدر مفيد للمركبات الفينولية، وعلى ضوء ما تقدَّم ونظرًا للاستخدام الواسع للفلافونويدات في معالجة الكثير من الأمراض كان الهدف من هذه الدراسة ما يلي:

1. التعرُّف على التأثيرات الضارة الوظيفية والنسيجية لنيتريت الصوديوم على الكبد والكلى في ذكور الأرانب.

2. تقييم التأثيرات الوقائية المحتملة للمستخلص المائي لأوراق الزيتون ضد التغييرات الوظيفية والنسيجية لنيتريت الصوديوم المسبِّب للسمية الكبدية– الكلوية في ذكور الأرانب.

الفصل الثالث

المواد وطرق العمل

Materials and Methods

3. المواد وطرق العمل Materials and Methods

1.3 الحيوانات المستخدمة في الدراسة

تضمَّنت هذه الدراسة استخدام 24 ذكرًا من الأرانب المحلية البالغة بعمر 5 أشهر، تتراوح أوزانها ما بين (1500–2000 جم)، وقد تم الحصول على الأرانب من الأسواق المحلية في المنطقة الغربية، بليبيا. تم ايواءها في البيت الحيواني التابع للمركز الليبي للبحوث الطبية بمدينة الزاوية، للفترة بين (2020/11/12 م) إلى (2021/1/12 م)، وزعت الأرانب بصورة عشوائية، ووضعت في أقفاص معدنية فردية نظيفة ومعقَّمة أعدَّت لهذا الغرض. مزوَّدة بمعالف ومشارب خاصة لتوفير العلف والماء بشكل حر Ad libitum، فرشت أرضية الحجرة تحت الأقفاص بنشارة خشب نظيفة، وكانت تُجرى عملية تنظيف وغسل الأقفاص يوميًا. وقد تُركت الأرانب لمدة عشرة أيام لغرض التأقلم على ظروف التجربة؛ ولضمان خلوِّها من أي أمراض، إذ خضعت جميع الحيوانات إلى ظروف مختبرية متشابهة من ناحية التهوية والإضاءة والظلام، ودرجة الحرارة (18–22°م) وتحت درجة رطوبة عادية (60–70%)، وقدِّم لها العلف الذي تم جلبه من مصنع النورس بمدينة الزاوية. تم فحص الأرانب للتأكد من سلامتها وخلوِّها من الأمراض.

2.3 النبات المستعمل في الدراسة

استخدمت في هذه الدراسة الأوراق الخضراء متوسطة العمر لنبات الزيتون، والتي تم جمعها من أشجار الزيتون من مزرعة بمدينة العجيلات، في الفترة مابين 2020/11/12 م إلى 2021/1/12 م.

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)، إذ تتراوح الجرعة من (0.3–0.4 جم/كجم من وزن الجسم)، حيث يتناول الأرنب 150 جم من العلف يوميًا. والمواد الكيميائية الأخرى المستخدمة هي: الكحول، الزايلين، الفورمالين، الماء المقطر، شمع البرافين، صبغة الهيماتوكسلين والأيوسين.

4.3 طرق العمل Methods

1.4.3 تحضير المستخلص المائي لأوراق الزيتون

Preparation of the aqueous extract of olive leaves

حُضِّر المستخلص المائي لأوراق نبات الزيتون *Olea europaea L.* حسب طريقة (Zari & Al-Attar, 2011)، حيث أُخذت 10 جرامات من أوراق الزيتون الخضراء، وغُسلت بالماء المقطَّر عدَّة مرات؛ لإزالة الأتربة والغبار العالق بها، ثم وضعت بين ورقتي ترشيح لامتصاص ماء الغسيل، وبعد ذلك وضعت في الخلَّاط الكهربائي مع إضافة لتر واحد من الماء المقطَّر لها، ثم خُلطت لمدَّة 15 دقيقَة. تم ترشيح المستخلص بعدة طبقات من الشاش الطبي لكي نضمن إزالة الأجزاء غير المسحوقة بشكل جيد، وكذلك ترشيحه بورق ترشيح؛ للتخلُّص من الألياف النباتية لكي نضمن الحصول على مستخلص خام، ووضع الراشح في قنينة معتَّمة لحين استخدامه. تم إعداد هذا المستخلص بشكل يومي طوال مدة التجربة. أعطي المستخلص عن طريق الفم بواسطة محقنة طبية سعة (10 مل) مزوَّدة بأداة تجريع على هيئة أنبوبة معدنية رفيعة ومعقوفة الشكل.

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

2.4.3 تصميم التجربة Experimental Design

استخدم في هذه التجربة 24 أرنبًا ووزعت إلى أربعة مجموعات وبأعداد متساوية بواقع 6 ذكور لكل مجموعة، كما يلي:

1. المجموعة الأولى (المجموعة الضابطة): عوملت أرانب هذه المجموعة بماء شرب عادي وعلف عادي لمدة 8 أسابيع.
2. المجموعة الثانية (مجموعة مستخلص أوراق الزيتون): أعطيت حيوانات هذه المجموعة ماء شرب عادي وعلف عادي، وجُرِّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بجرعة 2.21 مل/كجم من وزن الجسم بالتجريع عن طريق الفم لمدة 8 أسابيع.
3. المجموعة الثالثة (مجموعة نيتريت الصوديوم): تم معاملة حيوانات هذه المجموعة بماء شرب عادي وعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% لمدة 8 أسابيع.
4. المجموعة الرابعة (مجموعة مستخلص أوراق الزيتون + نيتريت الصوديوم): جُرِّعت أرانب هذه المجموعة بالمستخلص المائي لأوراق 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 ساعةً من عملية التجريع الأخيرة، تم سحب الدم من وريد الأذن الحافي Marginal ear vein. حفظ الدم في أنابيب لا تحتوي على مادة مانعة للتخثُّر لمدة 30 دقيقةً، بعدها وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقةً، وبسرعة (3000 دورة/الدقيقة)؛

لغرض الحصول على مصل الدم، ولإجراء التحاليل الكيموحيوية، وبعدها تم ذبح الأرانب وتشريحها، وتم استئصال الكبد والكلى 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.

1.3.4.3 تقدير المعايير الكيموحيوية في مصل الدم

Estimation of serum biochemical parameters

1.1.3.4.3 تقدير نشاطات إنزيمات الكبد (ALT، AST، ALP، GGT) في مصل الدم

تم قياس نشاطات إنزيمات ALT وAST في مصل الدم وفقًا لطريقة (Bergmeyer & Horder, 1980)، وتم قياس نشاط إنزيم ALP وفقًا لطريقة (Kind *et al*., 1980)، أمَّا إنزيم GGT فتم قياسه طبقًا لـ (Szas, 1976).

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

تم تقدير تركيز البروتين الكلي باستخدام طريقة بايوريت Biuret method (Weichselbaum, 1946)، أمَّا تركيز الألبومين فتم تقديره باستخدام طريقة بروموكريسول الأخضر Bromocresol green method وفقًا لـ (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.

في حين نسبة الألبومين/الجلوبيولين فقد تم حسابها بالاعتماد على المعادلة التالية:

$$A/G=\frac{\text{Albumin}}{\text{Globulin}}\times 100$$

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

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

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

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

2.3.4.3 الدراسات النسيجية Histological Studies

بعد جمع عينات الدم حسب الطريقة المذكورة سابقًا، وبعد ذبح الأرانب وتشريحها تم أخذ عينات من الكبد والكلى، ووضعت 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 عدَّة مرات؛ لإزالة أيَّة بقايا للمثبت. ثم تعرّض الأنسجة لتدرُّج كحولي صاعد (70%، 80%، 90%، 95%، 100%) وتتراوح المدة مابين نصف ساعة إلى ساعة لكل خطوة، أمَّا إجراء خطوة الكحول المطلق فيكون مرتين؛ للتأكد من الإزالة

الكلية للماء. تنقل الأنسجة إلى الزايلين حيث تروق عينات الأنسجة قبل قطعها مرتين، مدة كل منها حوالي 15–30 دقيقةً؛ لإزالة آثار الكحول والسماح بالتشرب مع شمع البرافين. ثم يوضع النسيج في وعاء يحتوي خليطًا من الزايلين وشمع البرافين المنصهر بنسبة 1:1 لكي يتاح للشمع تخلُّل 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 الخلايا وفجواتها، يطمر 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. يثبَّت القالب على حامل مناسب، ثم يوضع في جهاز التقطيع ويضبط بسمك 5 ميكرون، بعد الحصول على العدد المناسب من المقاطع المفردة أو المتسلسلة، توضع المقاطع في حمَّام مائي بدرجة حرارة (40–45°م)، 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 المحمَّلة بالمقاطع النسيجية في الزايلين مرتين متتاليتين، مدة كل مرَّة دقيقتان. وتوضع في كحول مطلق، ثم تدرُّج كحولي هابط 95%، 70%، 50%، ومدة كل خطوة دقيقتان. ثم توضع في صبغة هيماتوكسلين لمدة 15 دقيقةً، ثم تغسل الشرائح بماء الصنبور الجاري؛ لإزالة الصبغة الزائدة. توضع الشرائح في صبغة الايوسين لمدة 3 دقائق. ثم توضع في الماء لمدة 3 دقائق، ايثانول 70% دقيقة واحدة، ايثانول 95% دقيقةً واحدة، الايثانول المطلق مرتين كل مرة دقيقة واحدة. تروق المقاطع بالزايلين مرتين متتاليتين مدة كل مرة 3 دقائق. تغطى

المقاطع بالوسط المناسب وبغطاء زجاجي مناسب، ثم تترك لتجف؛ لكي يتم فحصها بعد ذلك تحت المجهر (الطردة وآخرون، 2000).

4.3.4.3 فحص وتصوير المقاطع النسيجية

فحصت الشرائح النسيجية باستخدام مجهر ضوئي من نوع (XSZ-107BN Microscope) زوِّد بكاميرا عالية الدقة (Sony Cyber-short×6) لتصوير المقاطع.

4.4.3 التحليل الإحصائي Statistical analysis

تم إجراء التحليل الإحصائي للبيانات باستخدام برنامج الحزم الإحصائية للعلوم الاجتماعية (SPSS) من خلال تحليل التباين الأحادي One way analysis of variance، وتم التعبير عن النتائج بالمتوسط ± الخطأ القياسي، وتمت مقارنة الفروقات بين متوسطات القيم والخطأ القياسي باستخدام اختبار دنكان المتعدد Duncan's multiple range test. ويعد مستوى الاحتمالية ($P<0.05$، $P<0.01$) في كل الاختبارات الإحصائية معنويًا.

الفصل الرابع

النتائج

Results

4. النتائج Results

1.4 الدراسة الكيموحيوية Biochemical Study

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

1.1.4 التغيرات في نشاط بعض إنزيمات الكبد لذكور الأرانب البالغة

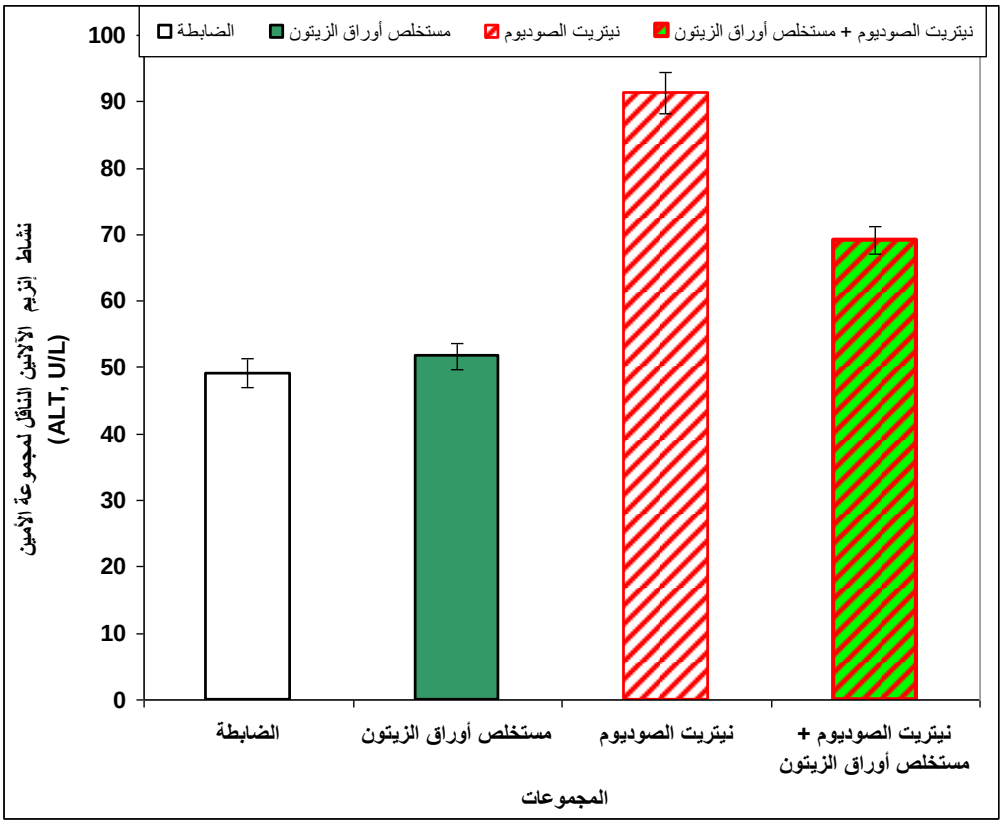
1.1.1.4 نشاط إنزيم الالانين الناقل لمجموعة الأمين ALT في مصل الدم

تُظهر النتائج كما في الجدول (1.4) والشكل (1.4) ارتفاعًا معنويًا ($P<0.001$) في نشاط إنزيم ALT (وحدة/لتر) (91.33±3.09) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز (0.4%) عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة الطبيعية (49.17±2.24). في حين تُظهر مجموعة ذكور الأرانب التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون (2.21 مل/كجم من وزن الجسم) وغُذِّيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم انخفاضًا معنويًا ($P<0.01$) في نشاط إنزيم ALT (69.17±2.02) عند مقارنتها بمجموعة نيتريت الصوديوم (91.33±3.09). بينما لا يوجد فرق معنوي ($P>0.05$) في نشاط إنزيم ALT في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (51.67±2.01) مقارنة بالمجموعة الضابطة (49.17±2.24).

جدول (1.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين، الفوسفاتيز القاعدي وجاما جلوتاميل ترانسفيراز وتركيز البروتينات في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

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

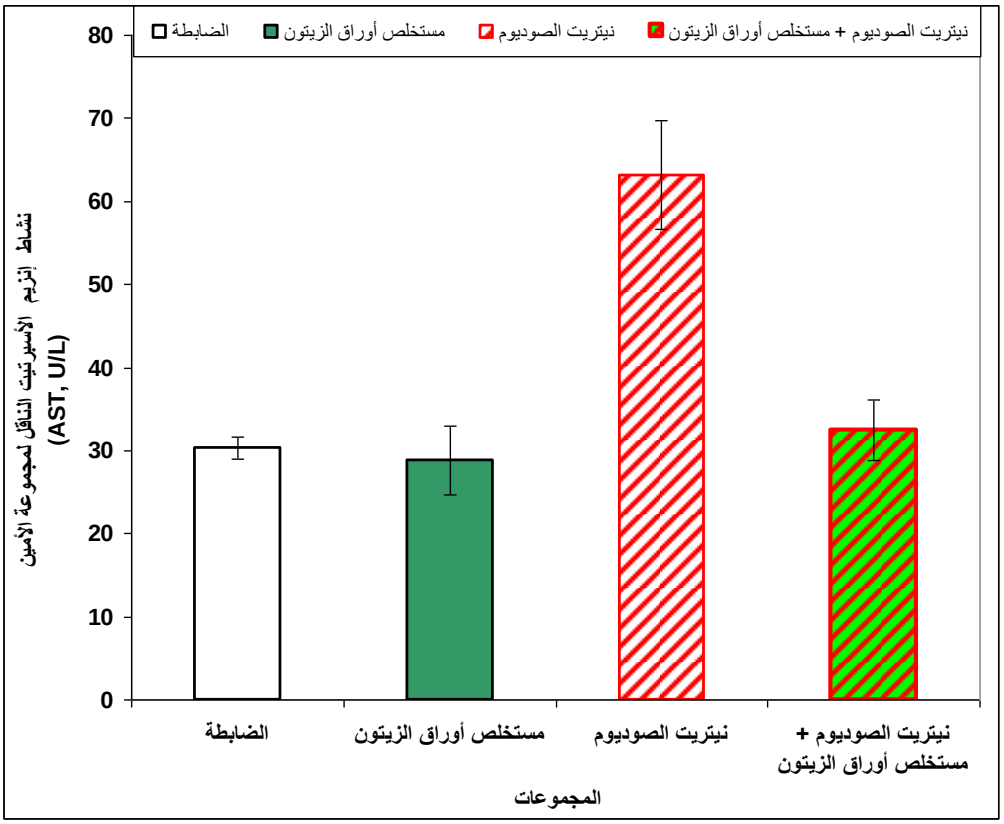
*: تغير معنوي ($P<0.05$) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، ** : تغير معنوي ($P<0.001$) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، ## : تغير معنوي ($P<0.01$) بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم.



شكل (1.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم الالانين الناقل لمجموعة الأمين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

2.1.1.4 نشاط إنزيم الاسبارتيت الناقل لمجموعة الأمين AST في مصل الدم

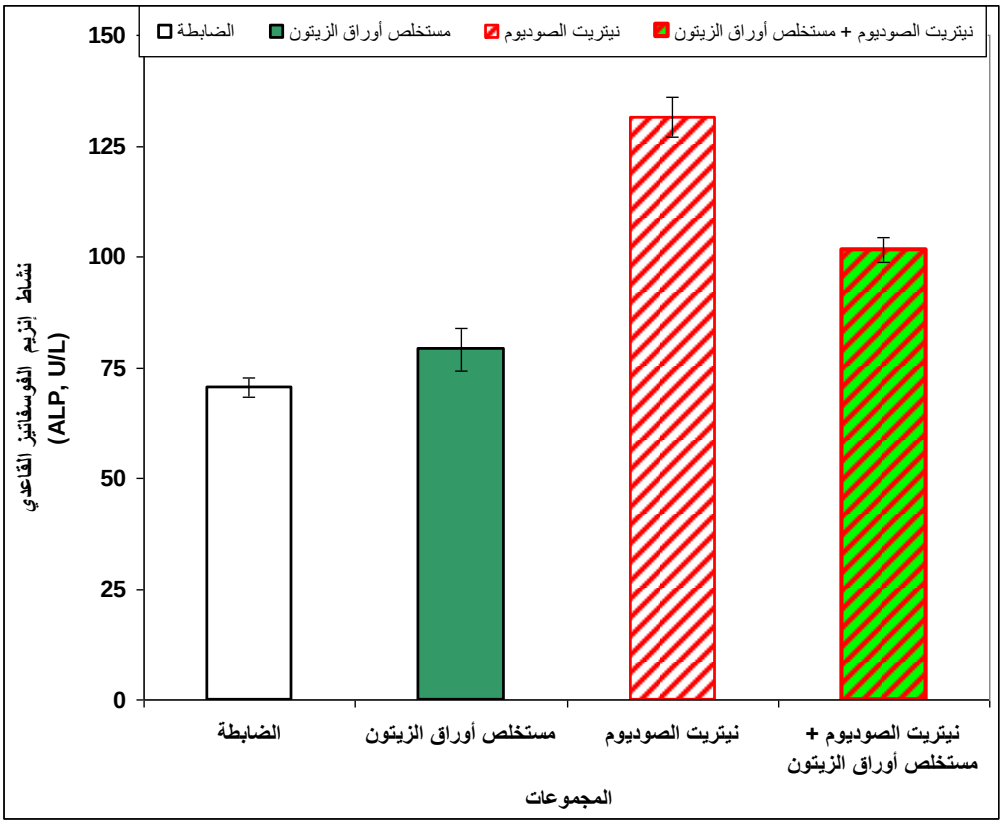
تُبين النتائج في الجدول (1.4) والشكل (2.4) حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في نشاط إنزيم AST (وحدة/لتر) (63.17±6.51) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم عند مقارنتها بالمجموعة الضابطة (30.33±1.36). أظهرت ذكور الأرانب التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون والمتغذية على علف يحتوي على نيتريت الصوديوم انخفاضًا معنويًا ($P<0.01$) في نشاط إنزيم AST (32.5±3.6) عند مقارنتها بمجموعة نيتريت الصوديوم (63.17±6.51). في حين لا يوجد أي فرق معنوي ($P>0.05$) في نشاط إنزيم AST في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (28.83±4.21) مقارنة مع المجموعة الضابطة (30.33±1.36).



شكل (2.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم الاسبارتيت الناقل لمجموعة الأمين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

3.1.1.4 نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP في مصل الدم

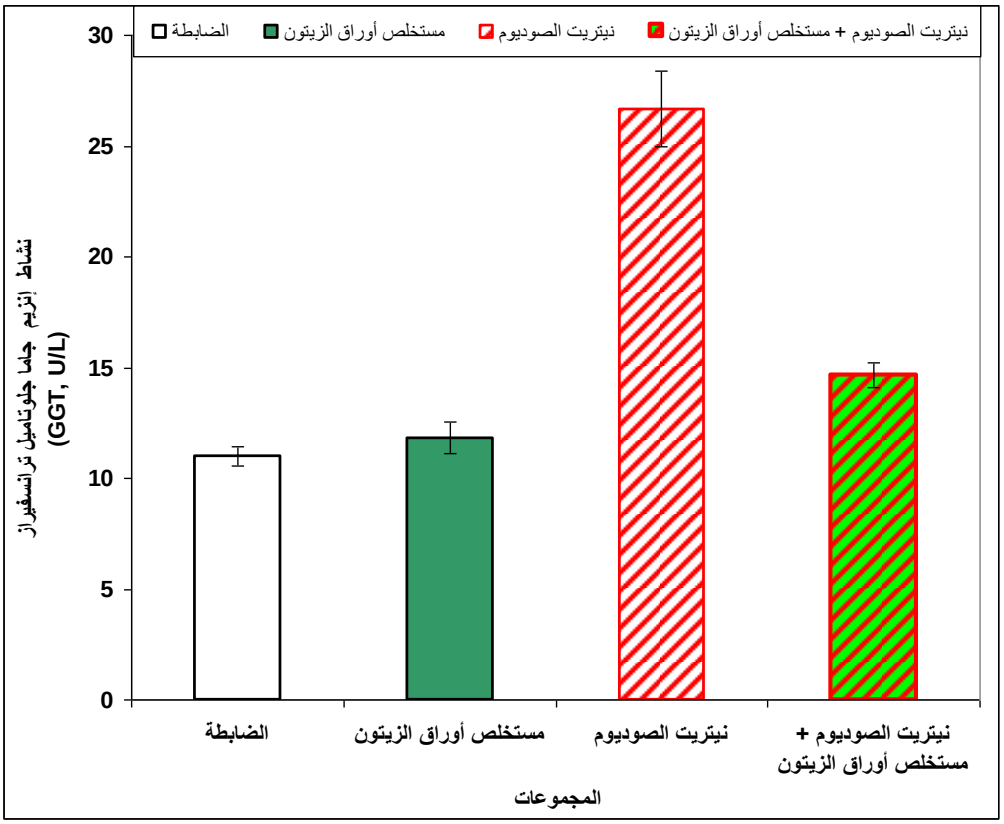
يبين التحليل الإحصائي للنتائج بالجدول (1.4) وبالشكل (3.4) حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في نشاط إنزيم ALP (وحدة/لتر) (4.48±131.5) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة (2.28±70.5). في حين تُظهر النتائج انخفاضًا معنويًا ($P<0.01$) في نشاط إنزيم ALP في المجموعة التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، والمغذَّاة بعلف يحتوي على نيتريت 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).



شكل (3.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

4.1.1.4 نشاط إنزيم جاما جلوتاميل ترانسفيراز GGT في مصل الدم

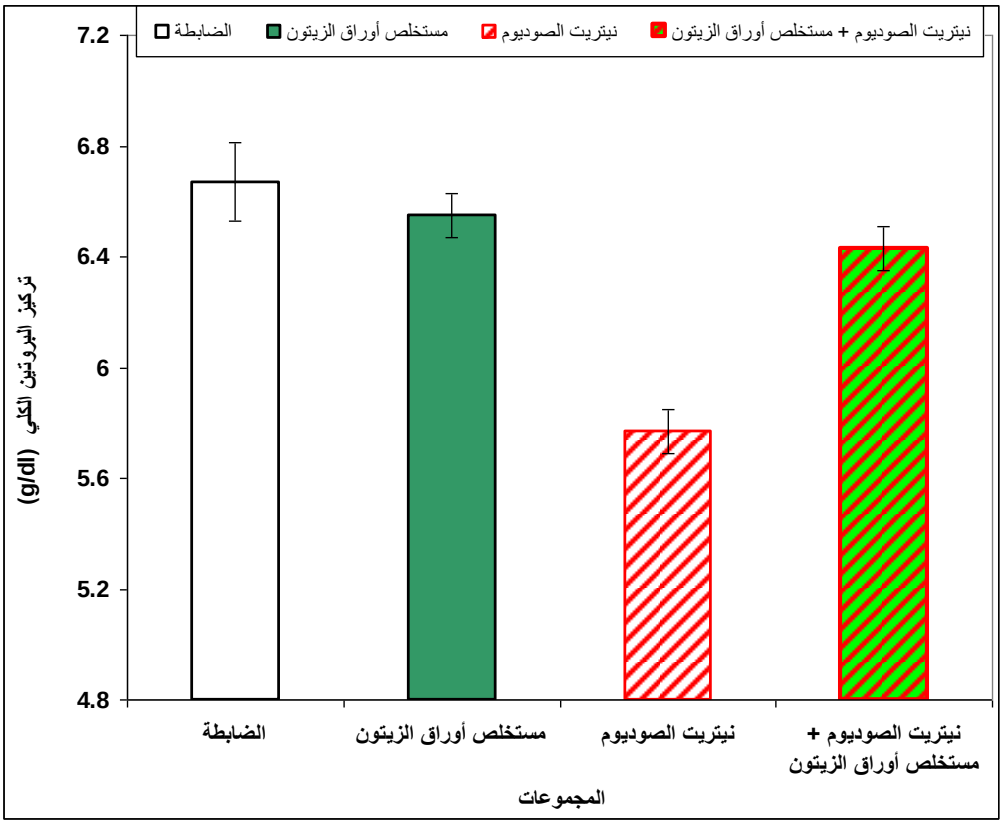
نلاحظ من النتائج الموجودة بالجدول (1.4)، والشكل (4.4) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في نشاط إنزيم GGT (وحدة/لتر) (1.72±26.67) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم عند مقارنتها بالمجموعة الضابطة (0.45±11.00). وكذلك توضِّح النتائج حدوث انخفاض معنوي ($P<0.01$) في نشاط إنزيم GGT في المجموعة التي جُرّعت 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).



شكل (4.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نشاط إنزيم جاما جلوتاميل ترانسفيراز في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

5.1.1.4 تركيز البروتين الكلي TP في مصل الدم

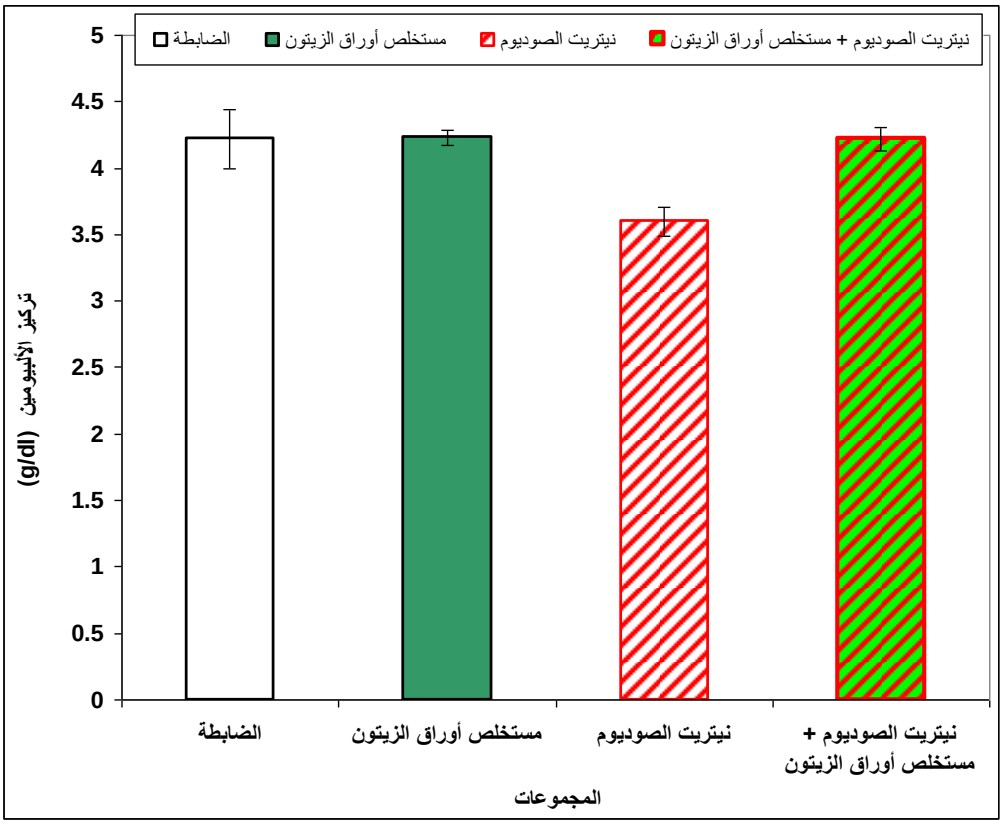
يظهر في الجدول (1.4) والشكل (5.4) انخفاضًا معنويًا ($P<0.001$) في تركيز البروتين الكلي (جم/ديسيلتر) (0.08±5.77) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة (0.14±6.67). في حين تُظهر النتائج ارتفاعًا معنويًا ($P<0.01$) في تركيز البروتين الكلي في المجموعة التي جُرّعت 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).



شكل (5.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز البروتين الكلي في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

6.1.1.4 تركيز الألبومين Alb في مصل الدم

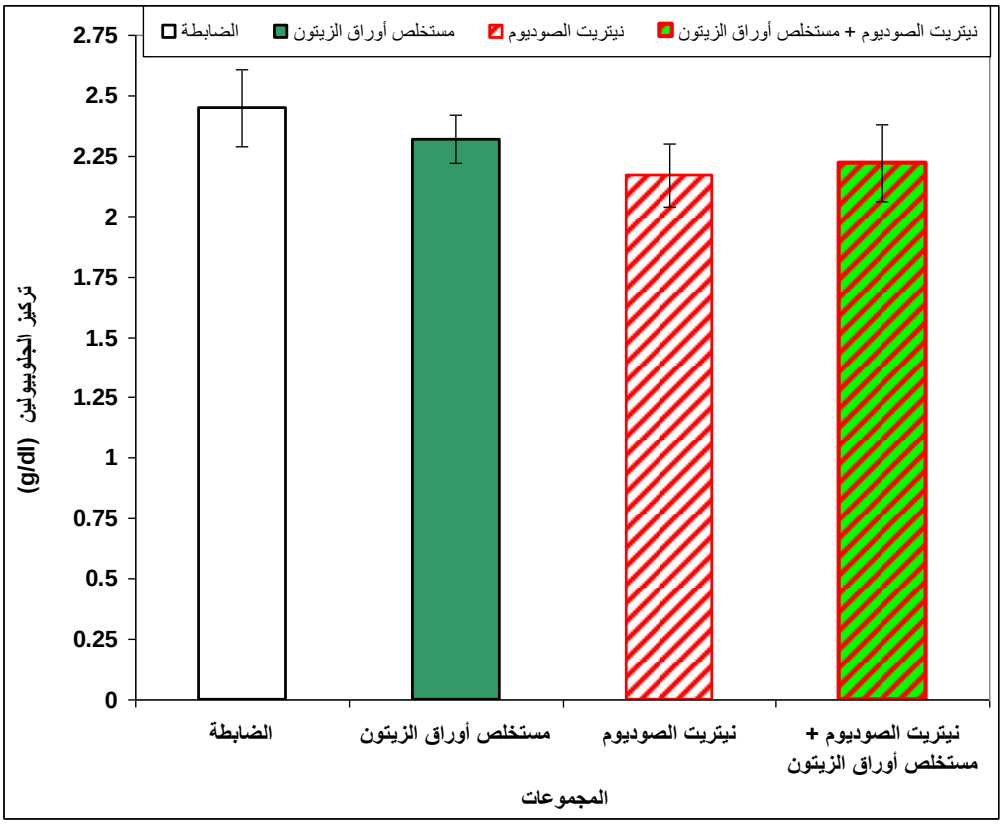
يلاحظ بالجدول (1.4) والشكل (6.4) حدوث انخفاض معنوي ($P<0.001$) في تركيز الألبومين (جم/ديسيلتر) (3.60±0.11) في المجموعة التي غذيت على علف يحتوي على نيتريت الصوديوم عند المقارنة مع المجموعة الضابطة (4.22±0.22). بينما يُؤدي تجريع الأرانب بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، وتغذيتها بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (4.22±0.09) إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في تركيز الألبومين عند المقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم (3.60±0.11). بينما لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الألبومين في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (4.23±0.06) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (4.22±0.22).



شكل (6.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز الألبومين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

7.1.1.4 تركيز الجلوبيولين Glob في مصل الدم

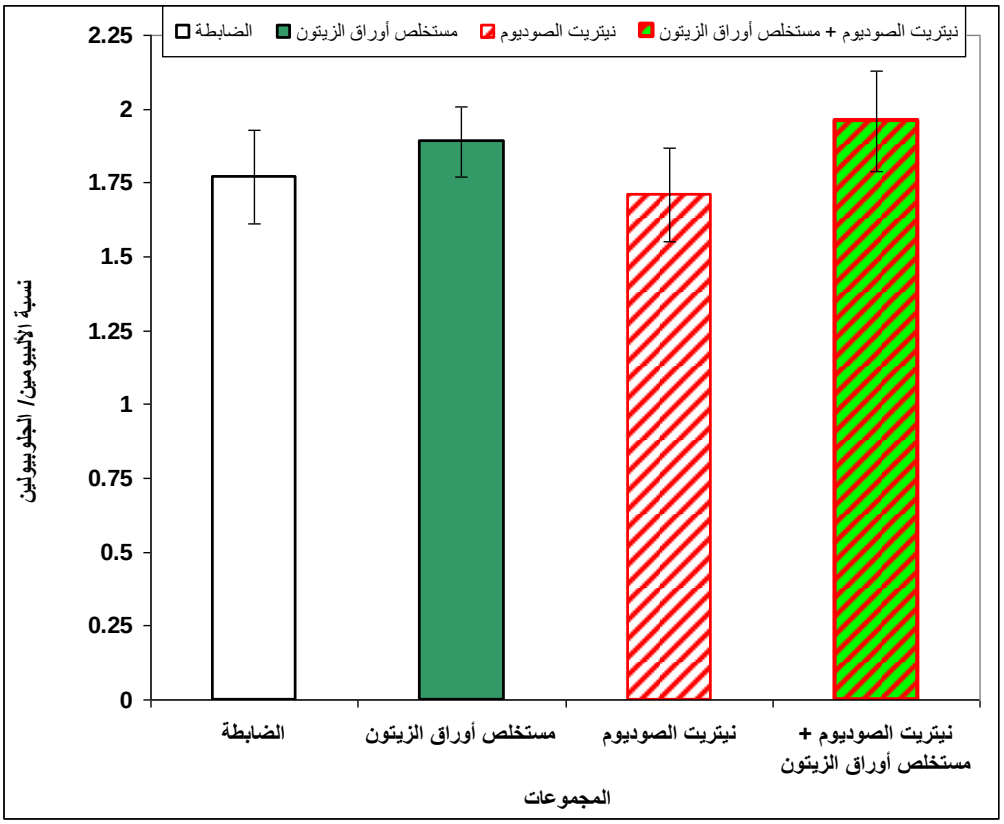
من الجدول (1.4) والشكل (7.4) نلاحظ عدم وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الجلوبيولين (جم/ديسيلتر) (0.13±2.17) بالمجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بالمقارنة بالمجموعة الضابطة (0.16±2.45). في حين لم يظهر أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الجلوبيولين في المجموعة التي جُرّعت بالمستخلص المائي 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).



شكل (7.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز الجلوبيولين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

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

يلاحظ من خلال الجدول (1.4) والشكل (8.4) أنَّه لا يوجد فرق معنوي ($P>0.05$) في نسبة الألبومين/الجلوبيولين (1.71±0.16) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم عند المقارنة مع المجموعة الضابطة (1.77±0.16). في حين تُظهر النتائج عدم وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في نسبة الألبومين/الجلوبيولين في المجموعة التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، والمغذاة بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (1.96±0.17) عند مقارنتها مع مجموعة نيتريت الصوديوم (1.71±0.16). بينما لم يلاحظ وجود فرق معنوي ($P>0.05$) في نسبة الألبومين/الجلوبيولين في مجموعة المستخلص المائي لأوراق الزيتون فقط (1.89±0.12) مقارنة مع المجموعة الضابطة (1.77±0.16).



شكل (8.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على نسبة الألبومين/الجلوبيولين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

2.1.4 التغيرات في تراكيز بعض وظائف الكلى لذكور الأرانب البالغة

1.2.1.4 تركيز اليوريا في مصل الدم

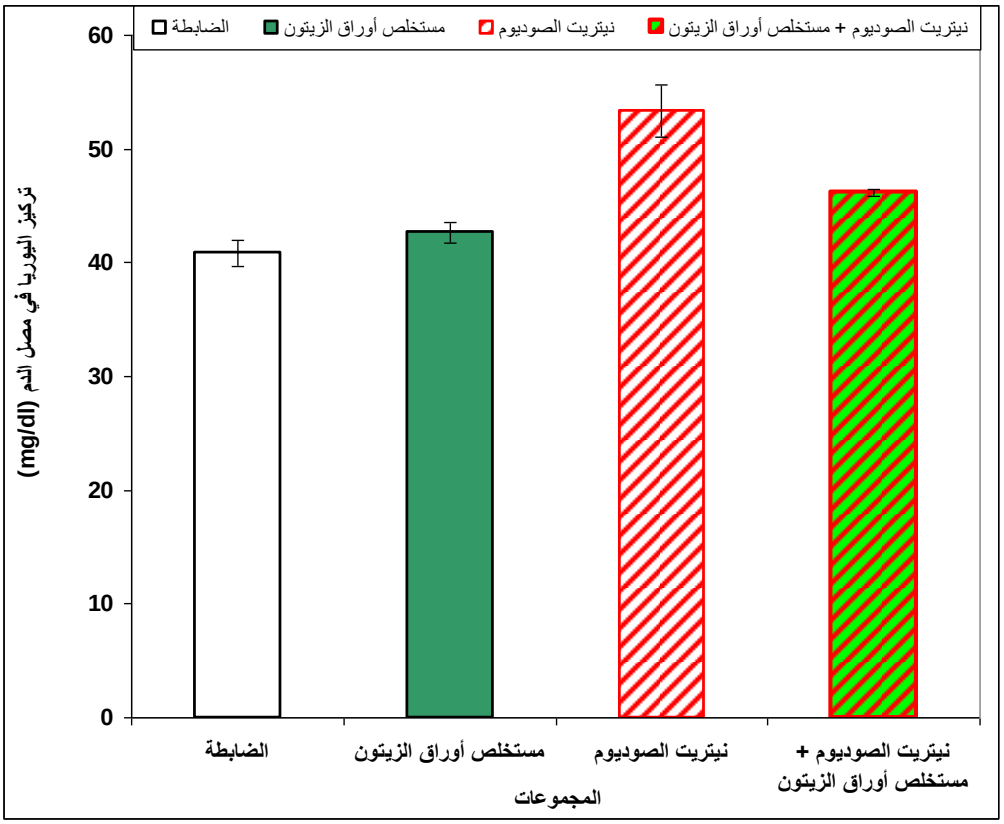
في الجدول (2.4) والشكل (9.4) تُظهر النتائج ارتفاعًا معنويًا ($P<0.001$) في تركيز اليوريا (ملجم/ديسيلتر) في المجموعة المغذاة بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز (0.4%) (2.33±53.33) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة السليمة (1.11±40.83). في حين تُظهر المجموعة التي تم تجريعها بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، وتمت تغذيتها بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.31±46.17) انخفاضًا معنويًا ($P<0.01$) 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 (42.67±0.92) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (40.83±1.11).

جدول (2.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز اليوريا، الكرياتينين، حمض البوليك، أيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

المجموعات	الضابطة	مستخلص أوراق الزيتون	نيتريت الصوديوم	نيتريت الصوديوم + مستخلص أوراق الزيتون
المتغيرات	المتوسط ± الخطأ القياسي	المتوسط ± الخطأ القياسي	المتوسط ± الخطأ القياسي	المتوسط ± الخطأ القياسي
تركيز اليوريا (ملجم/ديسيلتر)	1.11±40.83	0.92±42.67	**2.33±53.33	*##0.31±46.17
تركيز الكرياتينين (ملجم/ديسيلتر)	0.05±0.73	0.06±0.8	**0.16±1.17	#0.07±0.82
تركيز حمض البوليك (ملجم/ديسيلتر)	0.04±2.1	0.04±2.1	**0.20±3.38	##0.07±2.28
تركيز أيونات الصوديوم (مليمول/لتر)	0.42±140.33	0.48±141.17	**0.31±144.83	##0.42±141.96
تركيز أيونات البوتاسيوم (مليمول/لتر)	0.11±3.35	0.13±3.48	**0.07±4.33	*##0.07±3.68

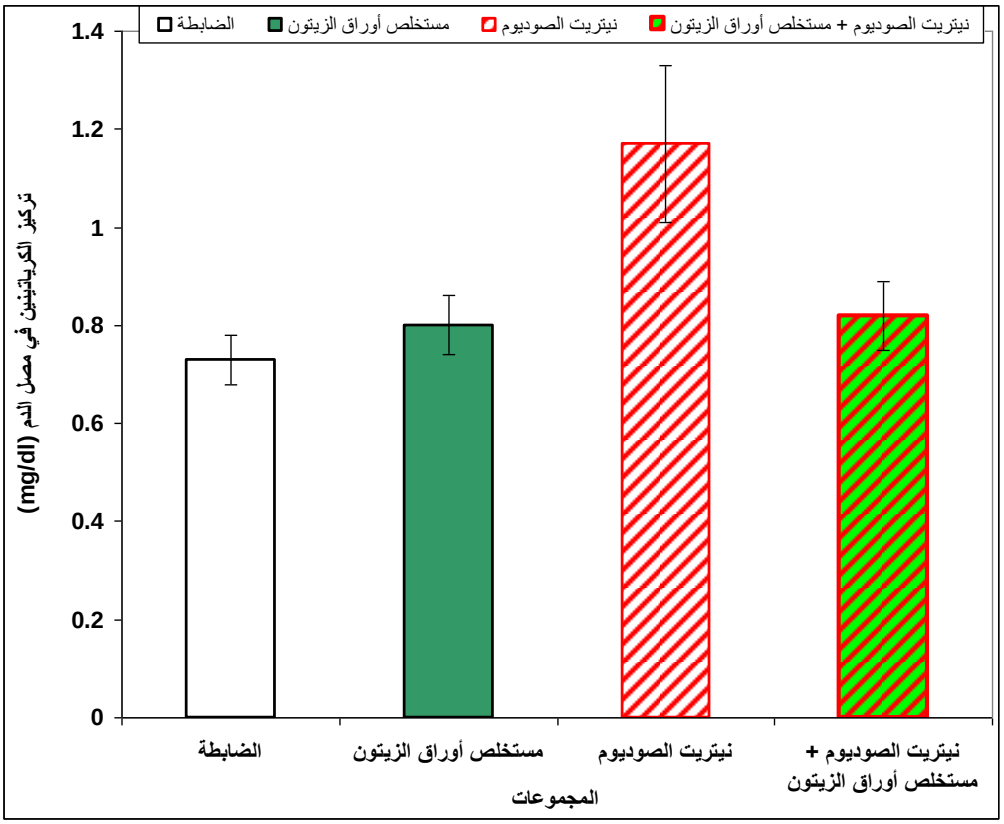
***: تغير معنوي ($P<0.05$) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، ** : تغير معنوي ($P<0.001$) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة، # : تغير معنوي ($P<0.05$) بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم، ## : تغير معنوي ($P<0.01$) بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم.**



شكل (9.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز اليوريا في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

2.2.1.4 تركيز الكرياتينين في مصل الدم

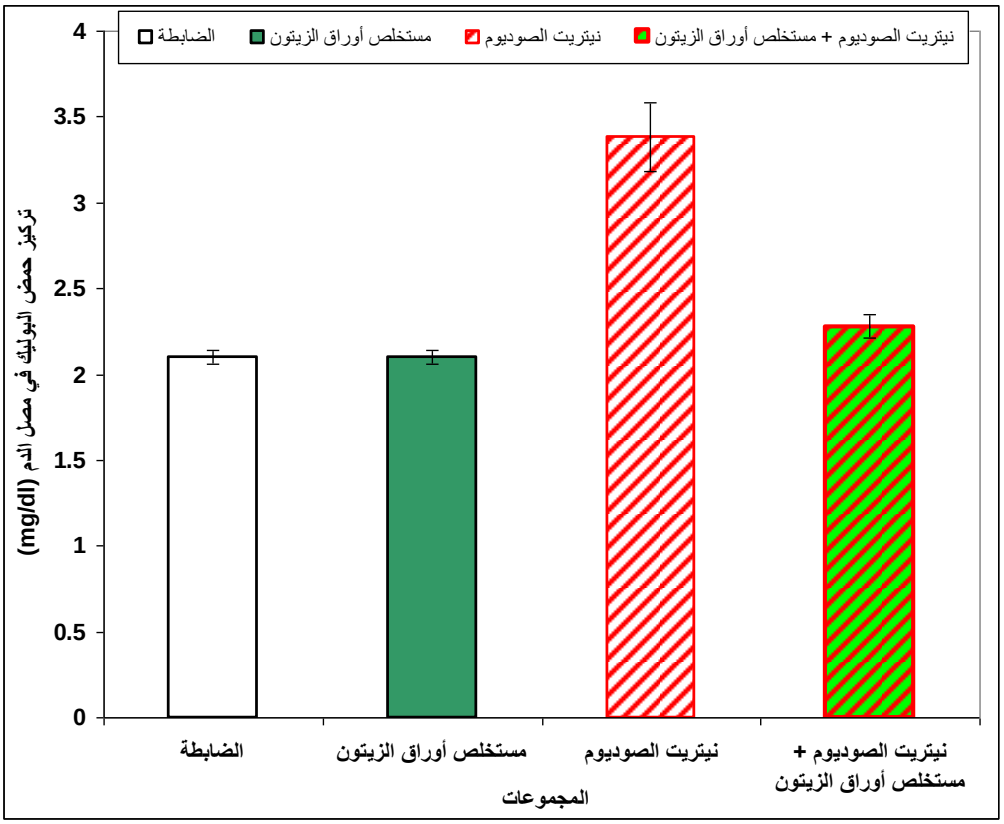
تُشير النتائج الموجودة بالجدول (2.4) والشكل (10.4) إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في تركيز الكرياتينين (ملجم/ديسيلتر) في المجموعة التي تغذت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.16±1.17) بالمقارنة بالمجموعة الضابطة (0.05±0.73). في حين تُظهر المجموعة التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، وغذت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.07±0.82) انخفاضًا معنويًا ($P<0.05$) في تركيز الكرياتينين بالمقارنة مع المجموعة المعاملة بنيتريت الصوديوم (0.16±1.17). أمَّا مجموعة المستخلص المائي للأوراق فقط، فلم تُظهر أي فرق معنوي ($P>0.05$) في تركيز الكرياتينين (0.06±0.8) مقارنة مع المجموعة الضابطة (0.05±0.73).



شكل (10.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز الكرياتينين في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

3.2.1.4 تركيز حمض البوليك في مصل الدم

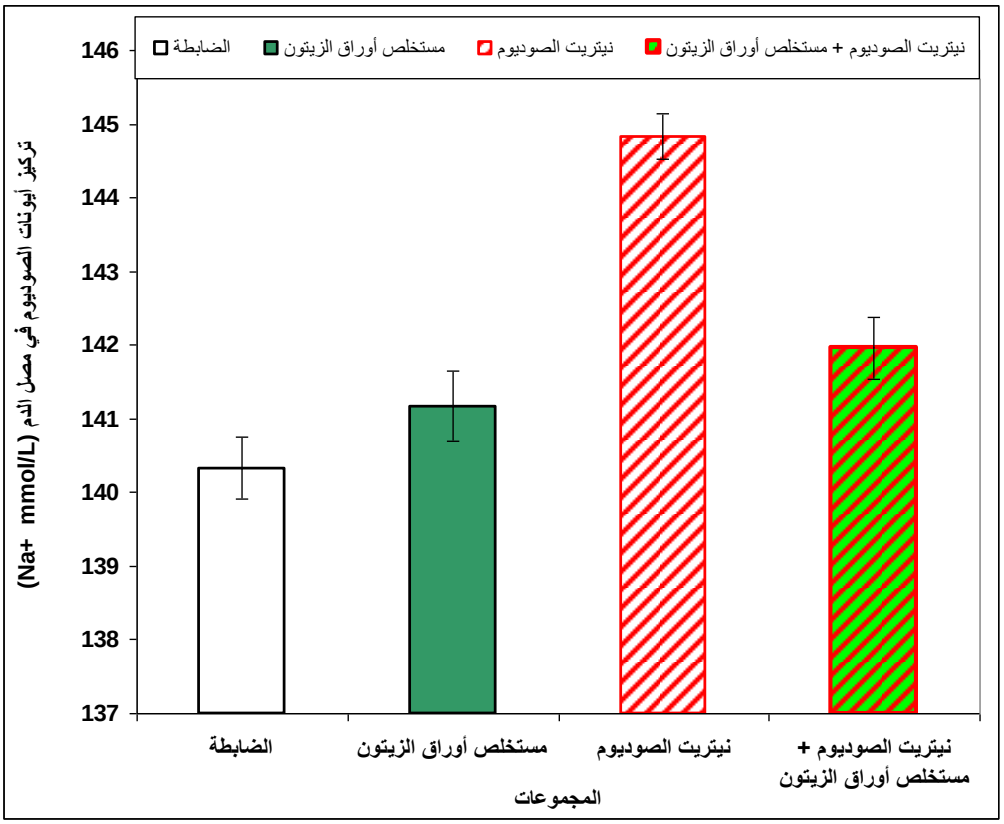
يُشير الجدول (2.4) والشكل (11.4) إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في تركيز حمض البوليك (ملجم/ديسيلتر) في المجموعة التي تغذت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.20±3.38) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (0.04±2.1). بينما تُظهر المجموعة التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.07±2.28) انخفاضًا معنويًا ($P<0.01$) 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).



شكل (11.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز حمض البوليك في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

4.2.1.4 تركيز أيونات الصوديوم Na^+ في مصل الدم

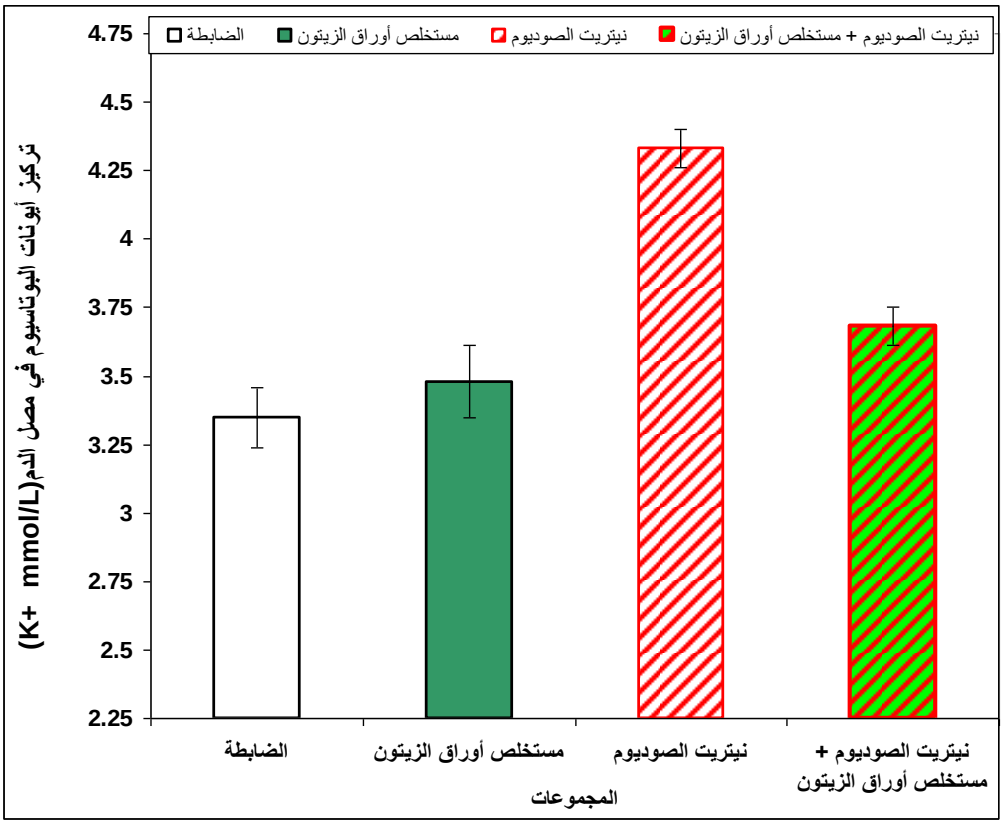
تُبين النتائج بالجدول (2.4) والشكل (12.4) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في تركيز أيونات الصوديوم (مليمول/لتر) في المجموعة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.31±144.83) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة (0.42±140.33). بينما تُظهر المجموعة التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.42±141.96) انخفاضًا معنويًا ($P<0.01$) 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).



شكل (12.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز أيونات الصوديوم في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

5.2.1.4 تركيز أيونات البوتاسيوم K^+ في مصل الدم

تُظهر النتائج الموضَّحة بالجدول (2.4) والشكل (13.4) ارتفاعًا معنويًا ($P<0.001$) في تركيز أيونات البوتاسيوم (مليمول/لتر) في المجموعة التي تمت تغذيتها بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.07±4.33) بالمقارنة مع المجموعة الضابطة السليمة (0.11±3.35). في حين تُظهر المجموعة التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، وغذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم (0.07±3.68) انخفاضًا معنويًا ($P<0.01$) بالمقارنة مع مجموعة نيتريت الصوديوم (0.07±4.33). أمَّا 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).



شكل (13.4): تأثير تناول نيتريت الصوديوم، المستخلص المائي لأوراق الزيتون وكليهما معًا على تركيز أيونات البوتاسيوم في مصل دم ذكور الأرانب البالغة.

2.4 الدراسة النسيجية Histological Study

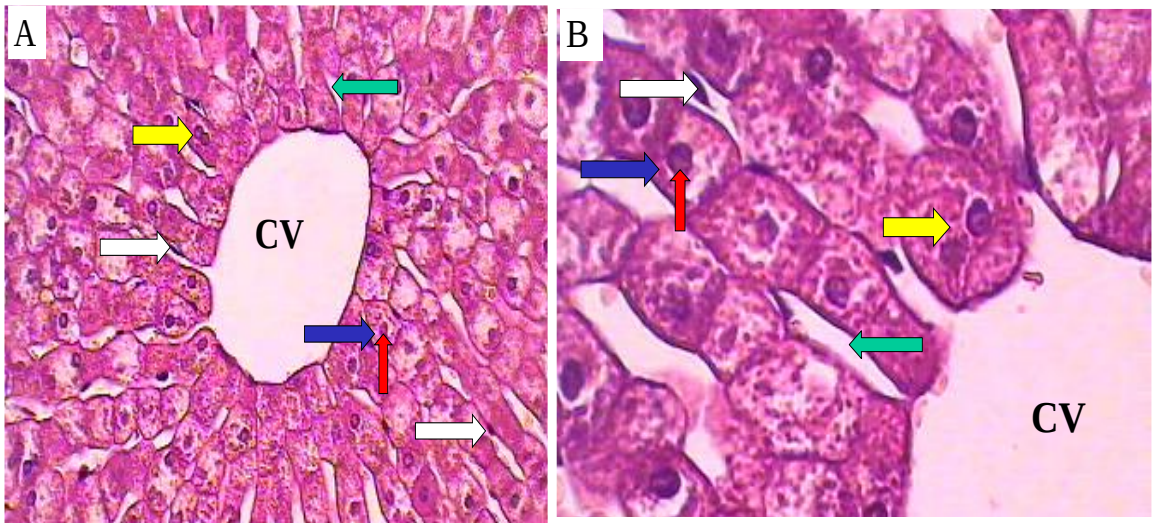
أظهرت نتائج الفحوصات النسيجية للمجموعة الحيوانية المعاملة بنيتريت الصوديوم حدوث تغيرات نسيجية مرضية واضحة في نسيج الكبد ونسيج الكلى، عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة.

1.2.4 التغيرات النسيجية في الكبد

1.1.2.4 التركيب النسيجي للكبد في المجموعة الضابطة لذكور الأرانب

أظهر الفحص المجهري للقطاعات النسيجية في كبد المجموعة الضابطة، تركيبه النسيجي الطبيعي، حيث تبدو الخلايا الكبدية متعدِّدة الأضلاع، ومتجانسة السيتوبلازم، ومحتوية على أنوية كبيرة مركزية، وتترتب هذه الخلايا على هيئة أشرطة كبدية بينها جيبيبنات دموية تحتوي على خلايا

كوبفر (Kupffer cells)، ويوجد وريد مركزي في مركز الفصيص الكبدي مبطَّن بنسيج طلائي حرشفي بسيط كما في الشكل (14.4).

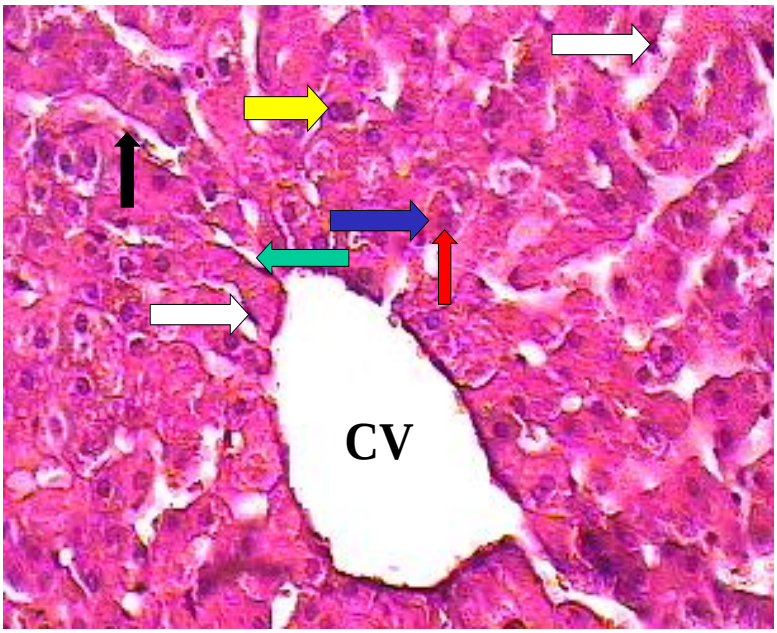


شكل (14.4): قطاعات نسيجية في كبد المجموعة الضابطة لذكور الأرانب.

يظهر فيها وريد مركزي (CV)، خلية كبدية (السهم الأزرق)، نواة خلية كبدية (السهم الأحمر)، خلية كبدية ذات نواتين (السهم الأصفر)، جييب دموي (السهم الأخضر)، خلية كوبفر (السهم الأبيض). (1000X: B, 400X: A; H&E).

2.1.2.4 التغيرات النسيجية في كبد الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون

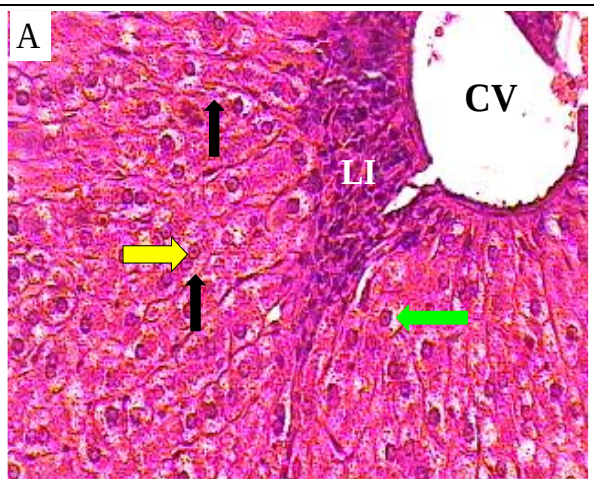
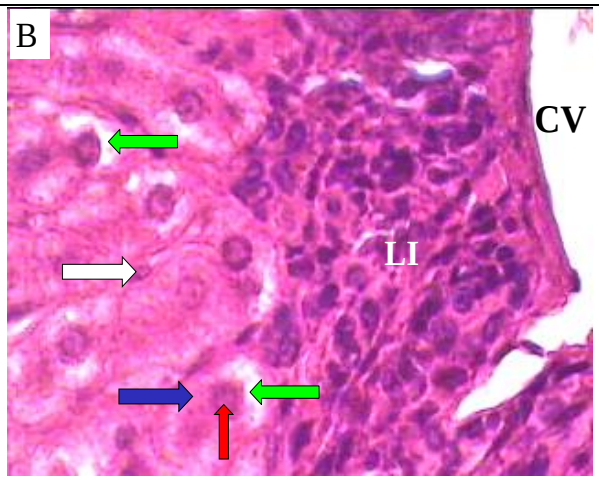
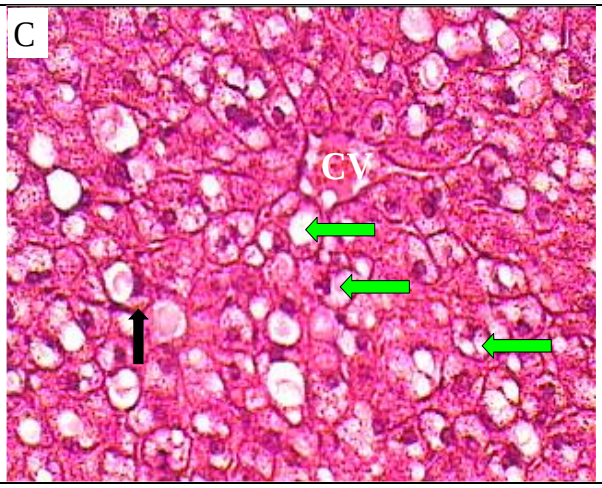
بيَّنت نتائج الفحص المجهري لنسيج الكبد في الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، أنَّ الخلايا الكبدية شكلها طبيعي, وذات سيتوبلازم متجانس، وتحتوي على أنوية كبيرة مركزية، وتترتَّب هذه الخلايا على هيئة أشرطة كبدية بينها جيبيينات دموية تحتوي على خلايا كوبفر وبعضها يحتوي على القليل من كريات الدم الحمراء، ويوجد وريد مركزي في مركز الفصيص الكبدي مبطَّن بنسيج طلائي حرشفي بسيط كما في الشكل (15.4).

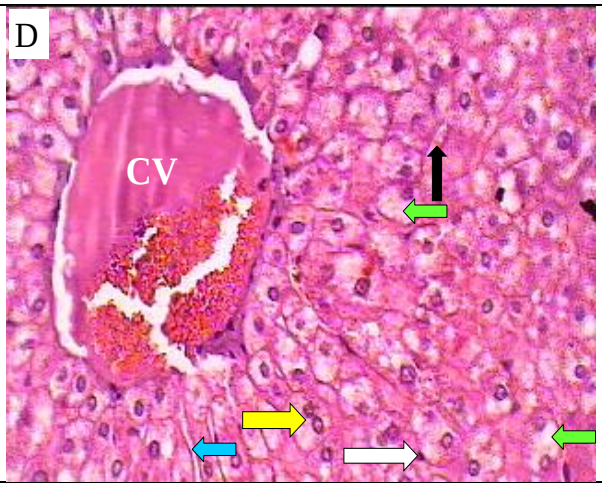
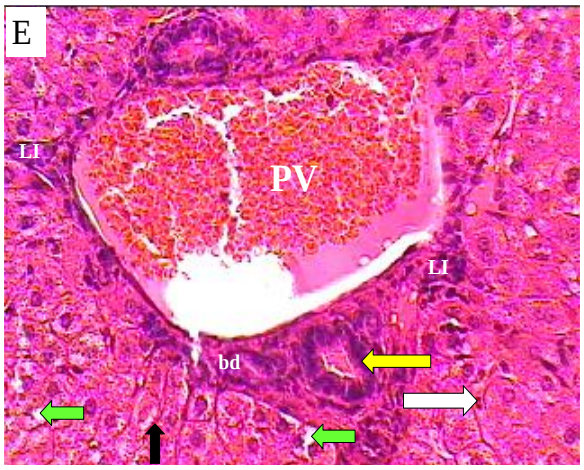
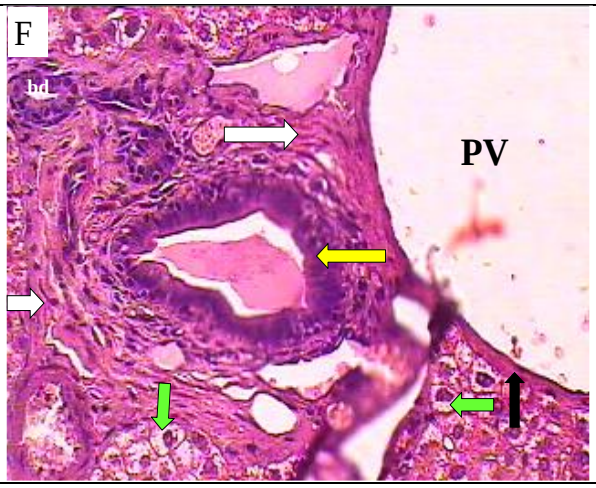


شكل (15.4): قطاع نسيجي في كبد ذكور الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون.
يوضح وريد مركزي (CV)، خلية كبدية (السهم الأزرق)، نواة خلية كبدية (السهم الأحمر)، خلية كبدية ذات نواتين (السهم الأصفر)، جييب دموي (السهم الأخضر)، خلية كوبفر (السهم الأبيض)، كريات دم حمراء في الجييب الدموي (السهم الأسود). (400X; H&E).

3.1.2.4 التغيرات النسيجية في كبد الأرانب المعاملة بنيتريت الصوديوم

أظهرت القطاعات النسيجية في كبد الأرانب التي تناولت نيتريت الصوديوم أنَّ الخلايا الكبدية منتفخة، وبها تورمات غائمة ويحتوي سيتوبلازمها على فجوات مختلفة الأحجام (دهنية أو مائية), وحدث اتساع واحتقان ودم متجلّط في الوريد المركزي، وزيادة سُمك بطانته لبعض الفصيصات الكبدية, وحدوث ضيق في الجيبيينات الدموية واحتوائها على كريات دم حمراء، بالإضافة إلى وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء ببعض مناطق أنسجة الكبد، وخصوصًا بالقرب من الوريد المركزي، وفي المنطقة البابية، ونلاحظ أيضًا وجود احتقان ودم متجلّط في الوريد البابي، وزيادة سُمك جداره وزيادة سُمك القنيات الصفراوية، وحدوث تليُّف في المنطقة البابية، وزيادة سُمك الشريان الكبدي، كما يبين الشكل (16.4).

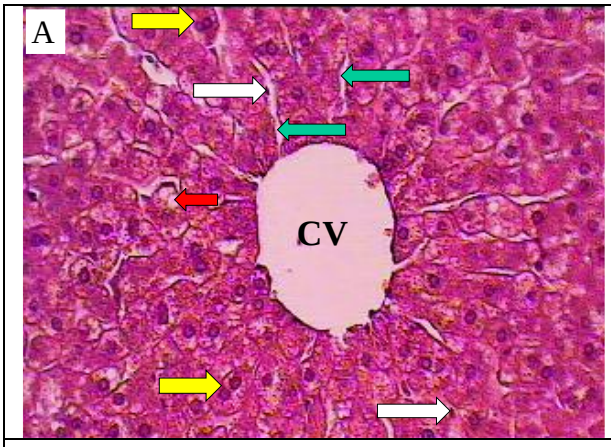
	شكل (16.4): قطاعات نسيجية في كبد المجموعة التي تناولت نيتريت الصوديوم. تظهر الصورة A: اتساع الوريد المركزي (CV)، وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء بالقرب من الوريد المركزي (LI)، فجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية (السهم الأخضر)، وكريات دم حمراء في الجيبيبنات الدموية (السهم الأسود)، ووجود خلايا كبدية ثنائية الأنوية (السهم الأصفر). (400X; H&E).
	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 كوبفر (السهم الأبيض). (1000X; H&E).
	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).

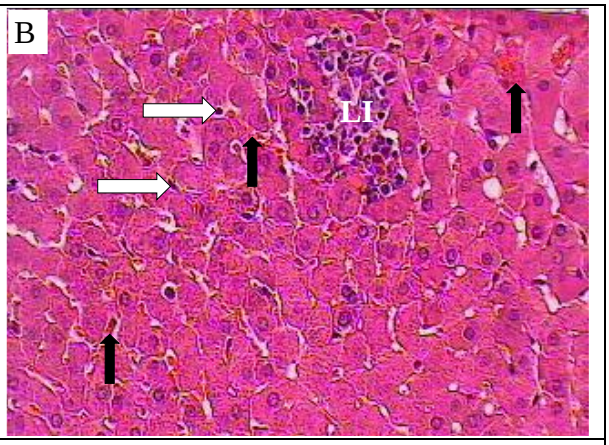
	**D: وريد مركزي متسع محتقن بالدم، ويحتوي على دم متجلّط (CV)، فجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية (السهم الأخضر)، وكريات دم حمراء في الجيبيبنات الدموية (السهم الأسود)، ووجود خلايا كبدية ثنائية الأنوية (السهم الأصفر)، جيبب دموي (السهم الأزرق)، خلية كوبفر (السهم الأبيض). (400X; H&E).**
	**E: حدوث اتساع واحتقان في الوريد البابي الكبدي (PV)، وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء (LI)، وكريات دم حمراء في الجيبيبنات الدموية (السهم الأسود)، وزيادة في سمك القنيات الصفراوية (BD)، وزيادة سمك جدار الشريان الكبدي (السهم الأصفر)، وفجوات في سيتولازم الخلايا الكبدية (السهم الأخضر)، خلية كوبفر (السهم الأبيض). (400X; H&E).**
	**F: حدوث اتساع في الوريد البابي الكبدي (PV)، وزيادة سمك جداره (السهم الأسود)، حدوث تليُّف في المنطقة البابية (السهم الأبيض)، وزيادة في سمك القنيات الصفراوية (BD)، وزيادة سمك جدار الشريان الكبدي (السهم الأصفر)، وجود ارتشاح دهني وفجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية (السهم الأخضر). (1000X; H&E).**

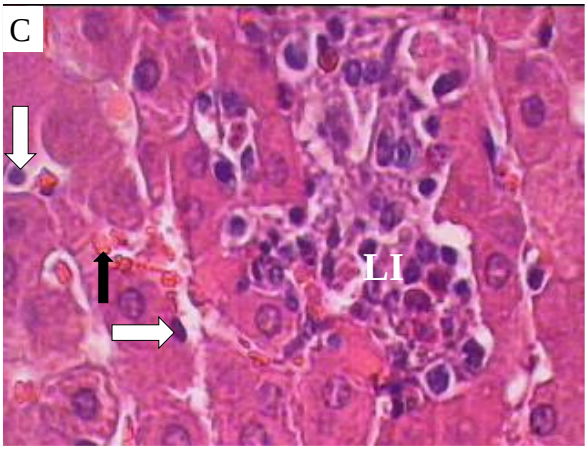
4.1.2.4 التغيرات النسيجية في كبد الارانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون مع نيتريت الصوديوم

أشارت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد الأرانب التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، ثم تناولت نيتريت الصوديوم إلى حدوث تحسُّن واضح في التركيب النسيجي للكبد بالمقارنة

بمجموعة نيتريت الصوديوم فقط، حيث استعادت الخلايا الكبدية شكلها الطبيعي وانتظامها على هيئة أشرطة كبدية، وقلَّ قطر الوريد المركزي، مع استمرار ارتشاح قليل بخلايا الدم البيضاء، واستعادت الجيبيبنات الدموية شكلها وحجمها الطبيعي، ووجود كريات دم حمراء في بعضها. شكل (17.4).







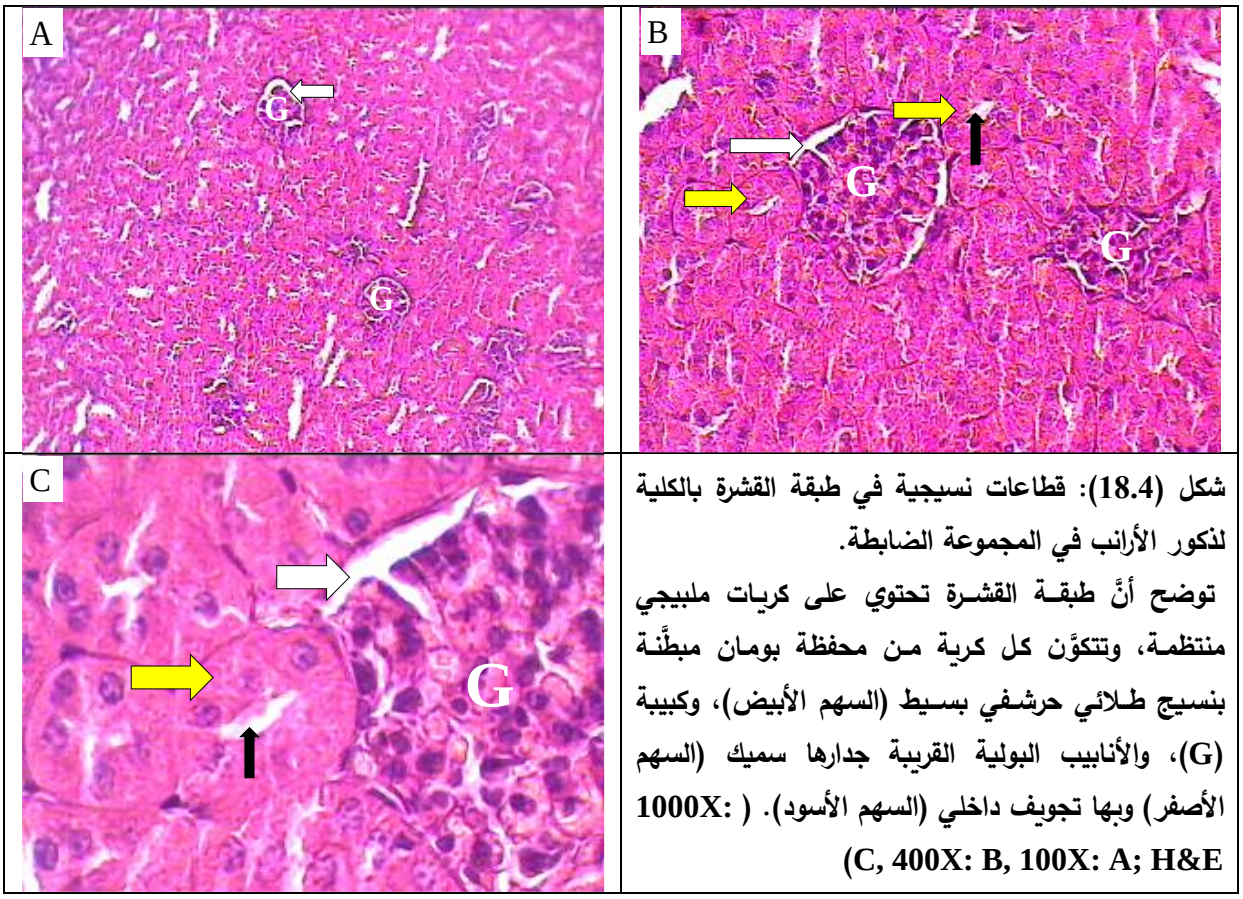
شكل (17.4): قطاعات نسيجية في كبد المجموعة التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون وتناولت نيتريت الصوديوم.
تبيّن استعادة الخلايا الكبدية شكلها وانتظامها على هيئة أشرطة كبدية بينها جيبيبنات دموية (السهم الأخضر)، تحتوي على خلايا كوبفر نشطة (السهم الأبيض)، وقل قطر الوريد المركزي (CV)، مع استمرار ارتشاح قليل بخلايا الدم البيضاء (LI)، ووجود كريات دم حمراء في الجيبيبنات الدموية (السهم الأسود)، ووجود خلايا كبدية ثنائية الأنوية (السهم الأصفر)، وجود بعض الفجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية (السهم الأحمر).
(1000X: C & 400X: B&A; H&E)

2.2.4 التغيرات النسيجية في الكلى

1.2.2.4 التركيب النسيجي للكلى في المجموعة الضابطة لذكور الأرانب

أوضحت القطاعات النسيجية في قشرة الكلية للمجموعة الضابطة أنَّ طبقة القشرة تحتوي على كريات ملبيجي منتظمة الشكل، وتتكوَّن كل كرية من محفظة بومان مبطَّنة بنسيج طلائي

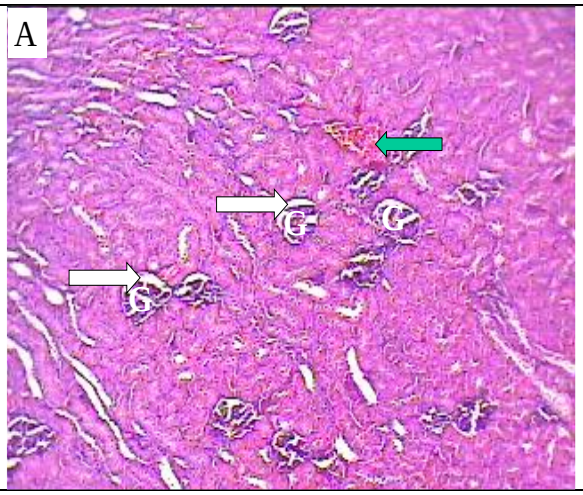
حرشفي بسيط وكبيبة، والأنيبيبات البولية القريبة جدارها سميك وفارغة من الداخل، أي لا توجد بها أي رواسب شكل (18.4).

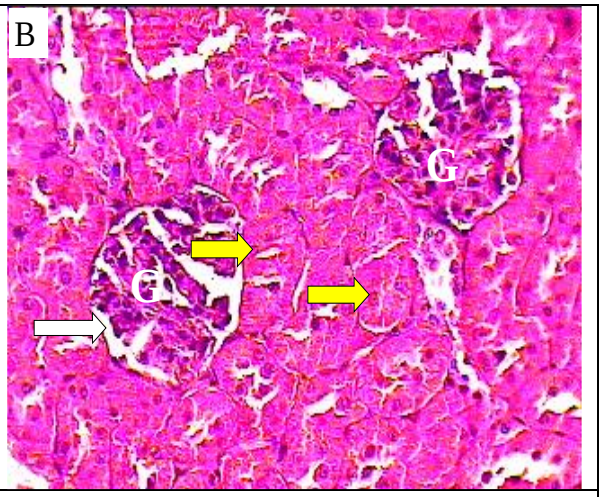


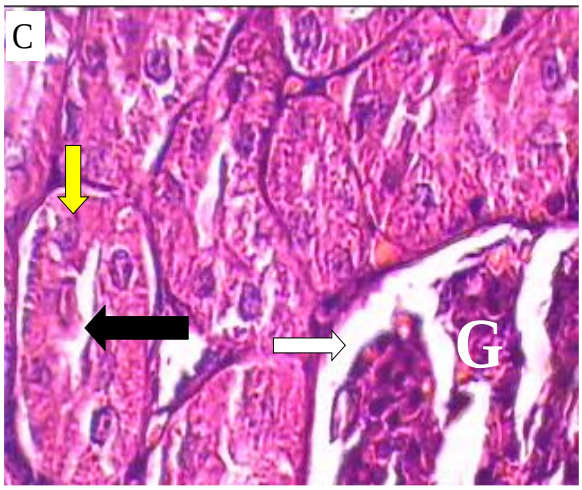
شكل (18.4): قطاعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية لذكور الأرانب في المجموعة الضابطة.
توضح أنَّ طبقة القشرة تحتوي على كريات ملبيجي منتظمة، وتتكوَّن كل كرية من محفظة بومان مبطَّنة بنسيج طلائي حرشفي بسيط (السهم الأبيض)، وكبيبة (G)، والأنابيب البولية القريبة جدارها سميك (السهم الأصفر) وبها تجويف داخلي (السهم الأسود). (1000X: C, 400X: B, 100X: A; H&E)

2.2.2.4 التغيرات النسيجية في كلى الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون

أظهر الفحص النسيجي لكلى الأرانب التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون أنَّ كريات ملبيجي في طبقة القشرة تكون منتظمة الشكل، وتتكوَّن كل كرية من محفظة بومان مبطَّنة بنسيج طلائي حرشفي بسيط وكبيبة، والأنيبيبات 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 الأنيبيبات البولية كما في الشكل (19.4).







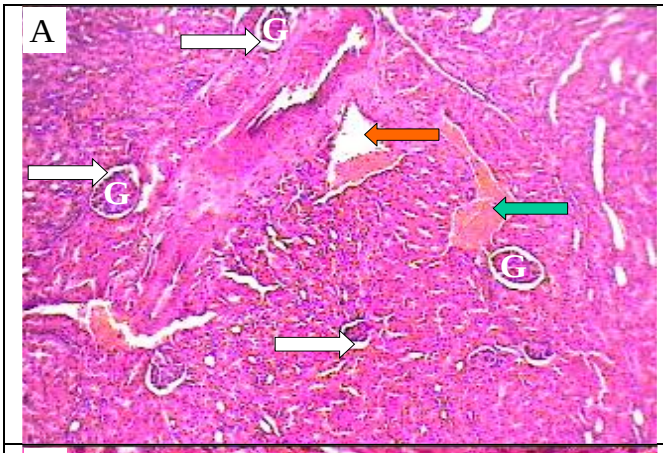
شكل (19.4): قطاعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية لذكور الأرانب التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون.

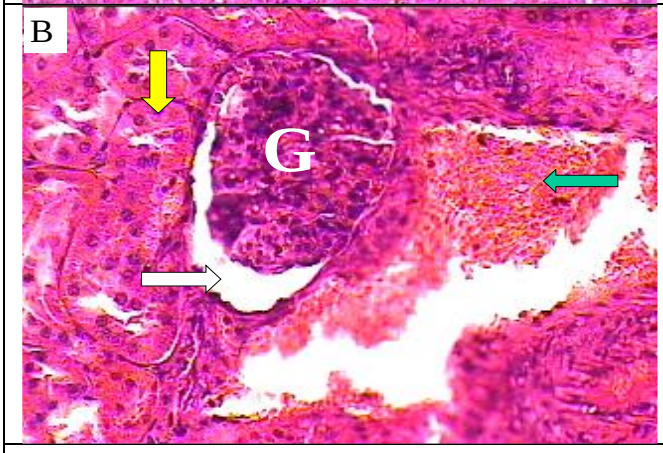
تظهر أنَّ طبقة القشـرة تحتوي على كريات ملبيجي منتظمة، وتتكوَّن كل كرية من محفظة بومان مبطنة بنسيج طلائي حرشفي بسيط (السهم الأبيض)، وكبيبة (G)، والأنـابيب البوليـة القريبة جـدارها سـميك (السهم الأصفر) وبها تجويف داخلي (السهم الأسود)، ووجود احتقان وبعض كريات الدم الحمراء بين الأنيبيبات البولية (السهم الأخضر). (1000X: C, 400X: B, 100X: A; H&E)

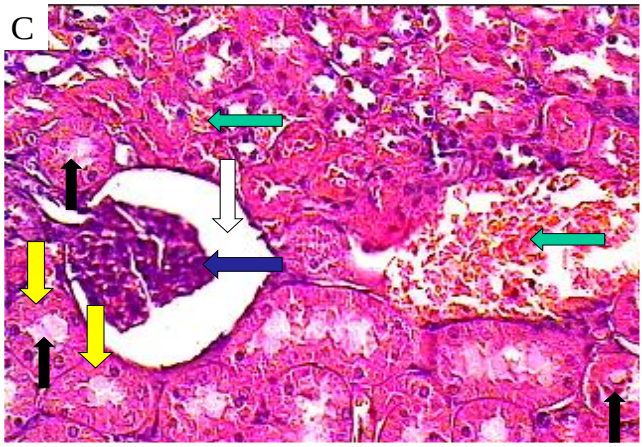
3.2.2.4 التغيرات النسيجية في كلى ذكور الأرانب المعاملة بنيتريت الصوديوم

تبيِّن القطاعات النسيجية لقشرة الكلية في الأرانب التي تناولت نيتريت الصوديوم فقط حدوث انكماش في الكبيبات الكلوية، واتساع في محافظ بومان. وحدوث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبيجي، وزيادة سمك جدر الأوعية الدموية في بعض المناطق. ووجود ترسيبات في تجاويف الأنيبيبات الكلوية، وقد قلَّ سُمْك جدارها، ممَّا يدل على فقد أسطح خلاياها للخميلات الدقيقة، بالإضافة إلى وجود نزف دموي ووجود توسُّع وارتشاح بخلايا الدم البيضاء بين الأنابيب البولية، ووجود Edema في بعض الأماكن في منطقة القشرة، وجود فجوات

في سيتوبلازم الخلايا المبطّنة للأنيبيبات البولية وحدوث نخر خلوي لها كما هو مبيَّن بالشكل (20.4).



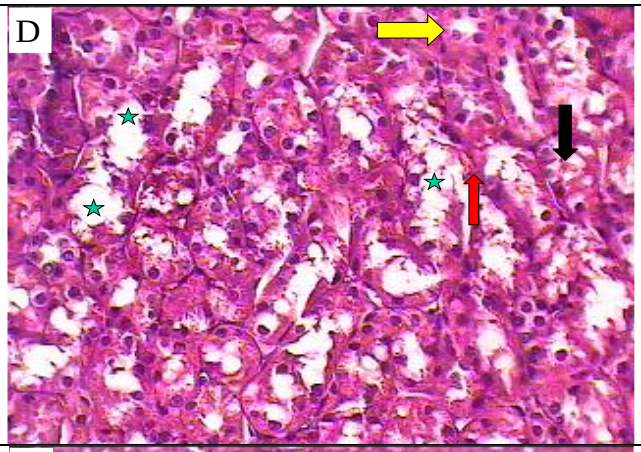
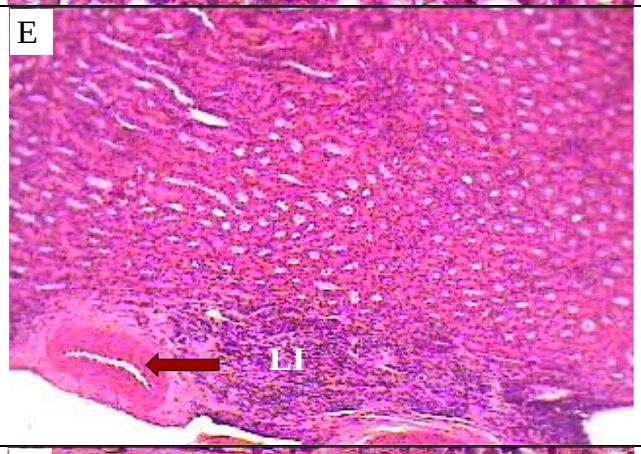
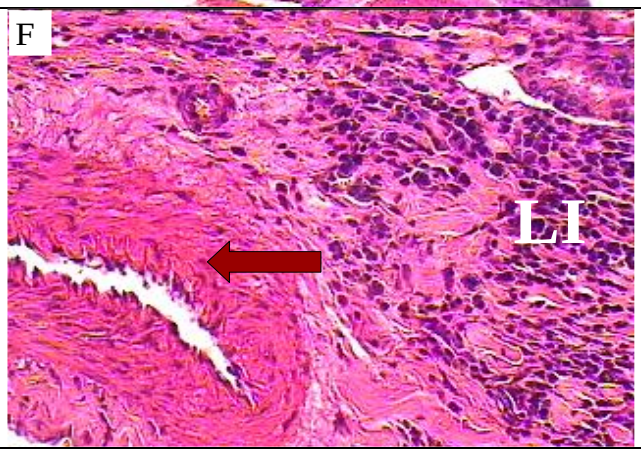




شكل (20.4): قطاعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية لذكور الأرانب التي تناولت نيتريت الصوديوم.

توضح الصورة A، B: حدوث اتساع في محفظة بومان (السهم الأبيض)، وحدوث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبيجي (السهم الأخضر)، ووجود Edema (السهم البرتقالي), وقل سمك جدر الأنيبيبات الكلوية (السهم الأصفر). (H&E; A: 100X, B: 400X).

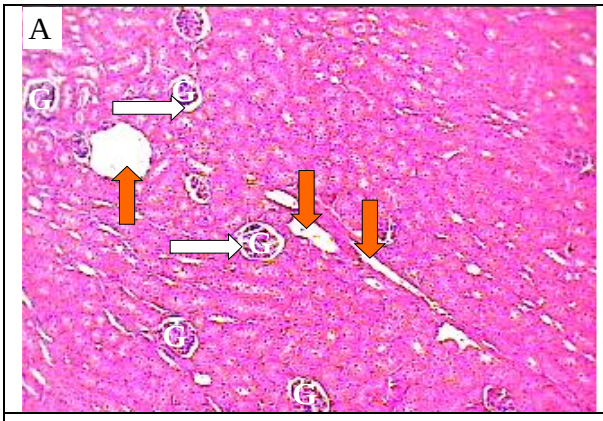
C: تبين وجود انكماش في الكبيبات الكلوية (G) (السهم الأزرق)، ووجود ترسيبات في تجاويف الأنيبيبات الكلوية (السهم الأسود)، وقلّ سُمْك جدار الأنيبيبات الكلوية (السهم الأصفر)، حدوث اتساع في محفظة بومان (السهم الأبيض)، وحدوث احتقان ونزف دموي في الأوعية الدموية القريبة من كريات ملبيجي (السهم الأخضر). (H&E; C: 400X).

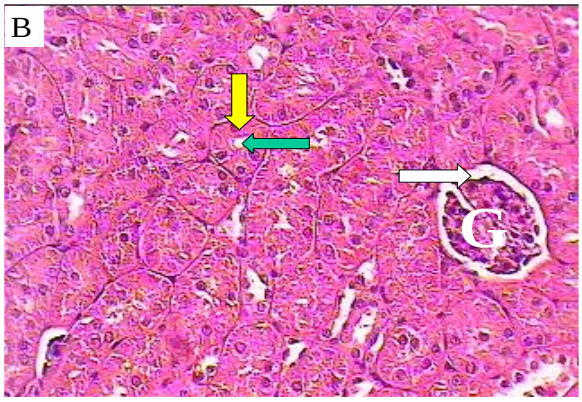
	**D: تحلُّل الخلايا المكوِّنة للأنيبيبات الكلوية، وقلّ سُمك جدارها (النجمة)، ونزف دموي بين الأنيبيبات البولية (السهم الأحمر)، ووجود ترسيبات في تجاويف الأنيبيبات الكلوية (السهم الأسود)، وقلّ سمك جدر الأنيبيبات الكلوية (السهم الأصفر). (D; 400X: H&E).**
	**E، F: حدوث ارتشاحات بخلايا الدم البيضاء (LI)، وزيادة سُمك جدار الأوعية الدموية (السهم البني). (E; 100X: F, 400X: H&E).**
	

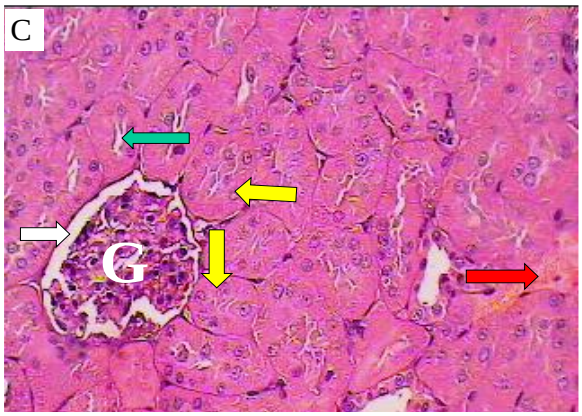
4.2.2.4 التغيرات النسيجية في كلى الأرانب المعاملة بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون مع نيتريت الصوديوم

أشارت نتائج الفحص المجهري لنسيج الكلية في طبقة القشرة للأرانب التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، ثم تناولت نيتريت الصوديوم إلى أنَّ كريات ملبيجي والأنيبيبات الكلوية أصبحت منتظمةً، واستعادت شكلها الطبيعي، والأنيبيبات جدارها سميك، ووجود Edema

في بعض الأماكن في منطقة القشرة، ووجود احتقان في بعض الأوعية الدموية وكريات دم حمراء بين الأنيبيبات البولية شكل (21.4).







شكل (21.4): قطاعات نسيجية في طبقة القشرة بالكلية للمجموعة التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، وتناولت نيتريت الصوديوم.

توضح أنَّ كريات ملبيجي (G) والأنيبيبات الكلوية أصبحت منتظمةً، واستعادت شكلها الطبيعي، والأنيبيبات جدارها سميك (السهم الأصفر)، وتجويفها الداخلي طبيعي (السهم الأخضر)، وعودة محافظ بومان إلى شكلها الطبيعي (السهم الأبيض)، ووجود احتقان في بعض الأوعية الدموية (السهم الأحمر)، وكريات دم حمراء بين الأنيبيبات البولية، ووجود Edema في بعض مناطق القشرة (السهم البرتقالي). (400X: C & B – 100X: E, A; H&E).

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

5. المناقشة Discussion

إنَّ تناول الجرذان لنيتريت الصوديوم عن طريق الفم، يؤدى إلى تلف كبير في الكلى والكبد (Hassan *et al*., 2009; Sherif & Al-Gayyar, 2013; Elsherbiny *et al*., 2017; Uslu *et al*., 2019).

لقد استخدم نبات الزيتون (*Olea europaea L.*) بشكل تقليدي لعدَّة قرون؛ للوقاية وعلاج العديد من الأمراض (Al-Basher, 2018). فقد استخدمت أوراق الزيتون كعلاج لمختلف الأمراض منها ارتفاع ضغط الدم والسكري والاضطرابات الالتهابية (Soussi *et al*., 2018). حيث أظهر Japon-Lujan *et al*. (2006a); Al-Jubury (2013) أنَّ أوراق الزيتون تعد أكثر أجزاء أشجار الزيتون قوةً في كسح الجذور الحرة.

1.5 الدراسة الكيموحيوية Biochemical studies

1.1.5 نشاط إنزيمات الكبد (ALT، AST، ALP وGGT)

توجد إنزيمات الكبد عادة في الدورة الدموية بكميات صغيرة؛ بسبب نمو الكبد والإصلاح. إذ تعمل نشاطات الإنزيمات الكبدية كمؤشرات حيوية مهمة سريريًا؛ للكشف عن السمية الكبدية. يعد 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). إنَّ إنزيم الكبد النوعي ALT فقط يرتفع بشكل معنوي في أمراض الكبد الصفراوية، والزيادة في نشاط إنزيم AST يمكن أنْ ترجع إلى أضرار في القلب، أو العضلات الهيكلية وكذلك في النسيج الحشوي الكبدي (Sherlock & Dooley, 1993; Hassan & Yousef, 2010).

يوجد إنزيم GGT في خلايا الكبد، الخلايا الظهارية الصفراوية، الأنابيب الكلوية، البنكرياس والأمعاء، كما أنَّه يوجد في غشاء الخلية، ويعزى نشاط هذا الإنزيم في الدم بشكل رئيسي إلى الجهاز الصفراوي (Burtis & Bruns, 2014).

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في مستوى نشاطات إنزيمات الكبد (ALT، AST، ALP وGGT) في مصل دم ذكور الأرانب البالغة التي غذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% بالمقارنة مع المجموعة الضابطة. واتفقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات السابقة التي أشارت إلى حدوث خلل وظيفي في الكبد تسبَّب بارتفاع معنوي في نشاطات إنزيمات الكبد (ALT، AST، ALP وGGT) في مصل دم حيوانات التجارب (فئران، جرذان، أرانب) التي تمت معاملتها بنيتريت الصوديوم بالمقارنة مع المجموعات الضابطة (Usunomena *et al*., 2011; Abebe *et al*., 2013b; Efuruibe *et al*., 2013; Hammoud, 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 مصل الدم إلى عدَّة أسباب، منها التأثير السام لمركَّبات النيتروزو المتكوِّنة في البيئة الحامضية في المعدة مسبِّبةً نخر كبدي حاد (Kalantari & Salehi, 2001; Hassan *et al*., 2009; Enovwo, 2010; Aboulgasem *et al*., 2015)، أو قد يكون بسبب فقر الدم وMethaemoglobinaemia الذي يسبِّب الإصابة بنقص الأكسجة في الخلايا الكبدية، والتي تؤدي بالتالي إلى تسرُّب الإنزيمات

Duncan *et al*., 1994; El-Sabagh *et al*., 2014; Aboulgasem *et al*., 2015; Ahmed, 2016).

يسبب نيتريت الصوديوم التلف التأكسدي لأغشية الخلايا الكبدية، ممَّا يؤدي إلى زيادة نشاط الإنزيمات الكبدية في مصل الدم (Salama *et al*., 2013; Abdel-Reheim, 2014; Abed-Al-Azeez *et al*., 2015)، وخلل التصنيع الحيوي لهذه الإنزيمات (Talas *et al*., 2013; Aboulgasem *et al*., 2015)، أو إلى تكوين أكثر من 300 مركبًا N-nitroso سامًا للخلايا؛ نتيجة لاتحاد نيتريت الصوديوم مع الأمينات الثانوية في الغذاء أو الجسم (Tricker & Preussmann, 1991; Kalantari & Salehi, 2001; Ibrahim *et al*., 2009; Ahmed, 2016).

وقد يعزى أيضًا إلى الضرر الكبدي الهائل الذي يسبِّبه التأثير السام لنيتريت الصوديوم. نتيجة للضرر الخلوي العديد من الإنزيمات مثل ALT وAST تخرج إلى مصل الدم، ومن ثم يشير مستواها إلى نوع ومدى الضرر الناجم عن حالة إصابة خلايا الكبد (Pari & Arumugam, 2008; Helal *et al*., 2017b). ويمكن أنْ يعزى الارتفاع المعنوي في الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين في مصل الدم إلى أنَّه في ظل الظروف المرضية، فالخلايا البرنشيمية للفصوص الكبدية تفشل في أداء الوظائف الحيوية، والتي عادةً ما تؤدي إلى تمثيل غذائي وسطي غير متوازن أو مضطرب. ويمكن تفسير هذه الزيادة أيضًا عن طريق إنتاج الجذور الحرَّة، التي تتفاعل مع الأحماض الدهنية المتعدِّدة غير المشبعة لغشاء الخلية، ممَّا يؤدي إلى إجهاد تأكسدي يؤدي إلى إضعاف غشاء الميتوكوندريا والغشاء البلازمي، ممَّا يؤدي إلى تسرُّب 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 & Khalil, 2011; Bala & Gupta, 2016). ويتفاعل مع الأمينات الثانوية لإنتاج النيتروز أمينات، والتي تكون مسرطنة في الطبيعة، ويزيد من مستوى بيروكسيد الدهون LPO الذي يسهم في تلف خلوي واضح في ظل الإجهاد التأكسدي (Iyyaswamy & Rathinasamy, 2012; Bala & Gupta, 2016).

إنَّ الزيــادة في نشاط ALT وAST في مصل الدم، والتي لوحظت في المجموعة المستحثة بنيتريت الصوديوم قد تعكس تلف خلايا الكبد وتنكسها 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 السُمية (Kalender *et al*., 2005; Etim *et al*., 2006; Ahmed, 2016)، 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).

ويزداد نشاط إنزيم GGT بشكل معنوي في مصل الدم، الذي 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 لأنَّ المضافات الغذائية تتسبِّب في تلف خلايا الكبد، والتنكس 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*., 2006; Ateya *et*

al., 2016). يرتفع نشاط إنزيم GGT أيضًا في معظم حالات اضطرابات الكبد، وفي كل من سرطان الكبد الابتدائي والثانوي (Whitby *et al*., 1992; Onyema *et al*., 2006; Ateya *et al*., 2016).

ومن المعروف أنَّ 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 المركَّب (Usunomena *et al*., 2011; Kadhum *et al*., 2015).

ينتمي ALP لمجموعة من الإنزيمات المحفِّزة لتحلُّل الاسترات أحادية الفوسفات. يوجد ALP على سطح الخلية في معظم الأنسجة البشرية. حيث يوجد بتراكيز عالية في أنسجة الأمعاء، الكبد، العظام، الطحال والكلى (Moss & Handerson, 1999; Hassan & Yousef, 2010). الموقع المحدَّد لهذا الإنزيم داخل كل من الجيبيبنات وأغشية القنيات الصفراوية يفسِّر الارتفاعات الأكثر شيوعًا في اضطرابات معيَّنة (Bishop *et al*., 2005; Hassan & Yousef, 2010). يحرِّر النخر الخلوي الحاد إنزيم ALP في الدورة الدموية، ويرتفع مستواه في مصل الدم. ترتبط زيادة نشاط إنزيم ALP في مصل دم الأرانب التي تلقَّت 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, 2000; Abed-Al-Azeez *et al*., 2015).

أظهرت الدراسة الحالية أنَّ 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; Zahkouk *et al*., 2017; Al-Thebaiti & Zari, 2018; Ustuner *et al*., 2018; Ağgül *et al*., 2020; Assumaidaae *et al*., 2020). وقد يرجع ذلك إلى أنَّ مركَّبات متعدِّدة الفينول الحرَّة والكلية المستخلصة من أوراق الزيتون تنظِّم مستويات ALT وAST في مصل الدم (Farag *et al*., 2003; Khalil, 2004).

سجّلت نتائج الدراسة الحالية انخفاضًا معنويًا ($P<0.01$) في مستوى نشاطات إنزيمات الكبد (ALT، AST، ALP وGGT) في مصل دم ذكور الأرانب البالغة التي جرّعت 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 مماثلةً لعدَّة دراسات سابقة، أشارت إلى حدوث انخفاض معنوي في نشاطات الإنزيمات الكبدية (ALT، AST، ALP وGGT) في مصل دم الحيوانات المعاملة بمستخلص أوراق الزيتون مع مواد كيميائية مختلفة (Streptozotocin، Doxorubicin، Paracetamol، Cisplatin، Methotrexate، Fluoxetine، Carbon tetrachloride، Cadmium، Alloxan، Cyclophosphamide، Lipopolysacchride، High fat diet، Bisphenol A) بالمقارنة بالمجموعات التي تمَّت معاملتها بالمواد الكيميائية السابق ذكرها، والتي أدَّت 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 & 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; Ağgül *et al*.,

2020; Assumaidaee *et al*., 2020; Fki *et al*., 2020; Jemai *et al*., 2020; Taamalli *et al*., 2020).

يعزى هذا الانخفاض في إنزيمات الكبد إلى عدَّة أسباب، منها النشاط المضاد للالتهاب للمركَّبات عديدة الفينول في المستخلص المائي لأوراق الزيتون، والذي يسمح بتنظيم مستويات الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين (Ghanam *et al*., 2015; Laaboudi *et al*., 2016)، وتلعب هذه المركَّبات دورًا مهمًا في تثبيت الأغشية البلازمية، ومنع تسرُّب الإنزيمات وإصلاح تلف أنسجة الكبد نتيجة تقليل الجذور الحرَّة التي تسبِّبها المواد الكيميائية السامة للكبد كرابع كلوريد الكربون، الباراسيتامول والتعرُّض لأشعة جاما (Briante *et al*., 2002; Khalil, 2004; Zahkouk *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; Zahkouk *et al*., 2017). وكذلك لوجود الأحماض الفينولية والفلافونويدات القادرة على إطلاق بروتون الهيدروجين من مجموعة الهيدروكسيل الخاصة بهم، ممَّا يحبس الجذور الحرَّة ويمنع تلف الكبد (Ettaya *et al*., 2016; Sakr *et al*., 2016; Soussi *et al*., 2018). أو قد يكون بسبب وجود مركَّبات نشطة بيولوجيًا مثل التربينات الثلاثية (Taamalli *et al*., 2020).

وأظـهر Jamshed *et al*. (2014) أنَّ الأوليروبين المستخلص من ورق الزيتون يوفِّر تأثيرًا واقيًا للكبد عن طريق عكس التغيرات التي ينتجها Tamoxifin، وأظهر أيضًا تأثيرًا محتملًا ومفيدًا للأوليروبين في تخفيف الإجهاد التأكسـدي، وتعزيز الدفاعات المضادة للأكسدة في الفئران

التجريبية. لقد ثبت أنَّ الأوليروبين ومشتقاته من هيدروكسي تايروسول هم كواسح لأنيونات فوق الأكسيد، وجذور الهيدروكسيل ومثبطات للجذور المشتقة من حمض الهيدروكلوريك (Lissoni *et al*., 2005; Jordan, 2006; Jamshed *et al*., 2014).

تحتوي أوراق الزيتون على التربينات الثلاثية (حمض الاولينولك وحمض الماسلينك)، الفلافونويدات مثل (اللوتولين، الابيجينين والروتين)، والشالكونات Chalcones مثل (اوليفين، اوليفين ثنائي جليكوساييد)، والتربينات الأحادية Monoterpenes iridoide، والتي يعتقد أنَّها مسئولة عن التأثيرات الدوائية (Meirinhos *et al*., 2005; Pereira *et al*., 2007; Al-Attar & Shawush, 2015). وقد تبيَّن أنَّ مستخلص أوراق الزيتون الكلي له نشاط مضاد للأكسدة أعلى من فيتامين ج وفيتامين هـ، بسبب التآزر بين الفلافونويد، والأوليوروبوسايدات والفينولات (Benavente-Garcia *et al*., 2000; Al-Attar & Shawush, 2015).

أكَّد Taha *et al*. (2020) الانخفاض الكبير في نشاطات الإنزيمات الكبدية ALT، AST، ALP وGGT في الجرذان المعالجة بمستخلص أوراق الزيتون مع الباراسيتامول، والتأثير الوقائي للمستخلص الذي يحتوي على الأحماض الدهنية (Oleanolic acid، Stearic acid، Pentaadecanoic acid، Octadecenoic acid، وCis-vaccenic acid)، والفلافونويدات مثل (Isovitexin، Astibin، Quercetin، وBSitosterol)، والتي تُظهر خصائص واقية للكبد، ولها دور في الحفاظ على السلامة التركيبية للغشاء الخلوي الكبدي، والتي يمكن أنْ تكون مسئولة عن نشاط تثبيت الغشاء. حيث أدَّت جرعة مستخلص أوراق الزيتون إلى تحسين نشاط إنزيمات الكبد بشكل كبير، ممَّا يشير إلى أنَّ مستخلص أوراق الزيتون الذي يحتوي على مكوِّنات نباتية مثل الأوليروبين 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 والبروثرمبين، ومعظم الجلوبيولين α وβ (Sherlock & Dooley, 1993; Hassan & Yousef, 2010). ويمكن استخدام تركيزات البروتين الكلي والألبومين في مصل الدم كمؤشرات لحالة الكبد والتفريق 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 المغذَّاة 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 (الفئران، الجرذان) المعاملة بنيتريت الصوديوم، بالمقارنة مع المجموعات الضابطة، ولكنَّها 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, 2014; Hassan *et al*., 2018; Abushofa *et al*., 2019; Adewale *et al*., 2019; Radwan *et al*., 2020b; Soliman *et al*., 2021)، في حين اتفقت دراسة Helal *et al*. (2017a) في حدوث تغير غير معنوي في نتائج نسبة الألبومين/الجلوبيولين، وحدوث 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 معدَّل الأحماض الأمينية الحرة، وانخفاض دوران البروتين (Abdeen *et al*., 2008; Ateya *et al*., 2016). وتؤدي تفاعلات النيتريت إلى إطلاق أكسيد النيتريك، والذي يمكن أنْ يثبط تصنيع البروتين (Kolpakov *et al*., 1995; El-Sheikh & Khalil, 2011). ويسبِّب نيتريت الصوديوم التلف التأكسدي لغشاء الخلِّية، وتلف أنسجة الكبد، ممَّا أدَّى إلى انخفاض مستويات الألبومين (Salama *et al*., 2013; Aboulgasem *et al*., 2015). واستخدام الأحماض الأمينية في الأكسدة، أو استحداث السكر Gluconeogenesis (Etim *et al*., 2006; Helal *et al*., 2017b)، وزيادة في نزع مجموعة الأمين من الأحماض الأمينية (Varely, 1987; Hassan & Yousef, 2010)، وتكوين مركَّبات N-nitroso السامة التي تثبط عملية الفسفرة التأكسدية (Anthony *et al*., 1994; Hassan & Yousef, 2010).

إنَّ الانخفاض في مستوى الألبومين في مصل الدم، قد يكون بسبب فقدان البروتين من القناة الهضمية، أو بسبب انخفاض تكوين الألبومين في الكبد أو بسبب تنخُّر الكبد نتيجةً 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، إمَّا من خلال تثبيط عملية الفسفرة التأكسدية (Anthony *et al*., 1994; Abu Aita & Mohammed, 2014)، أو من خلال التغييرات النخرية خصوصًا في الغشـــاء البـلازمي (Guler *et al*., 1994; Abu Aita & Mohammed, 2014).

إنَّ تركيزات البروتين الكلي والألبومين في مصل الدم قد انخفضت بشكل معنوي، وقد تكون هذه الانخفاضات بسبب الإجهاد التأكسدي الذي يؤثر على الوظيفة التصنيعية للكبد بواسطة نيتريت الصوديوم (Naganna, 1989; Ateya *et al*., 2016). ويمكن أنْ يكون ناتجًا 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 ناتجًا عن أمراض الكبد والكلى (O'Connell, 2005; Ateya *et al*., 2016).

أوضحت نتائج الدراسة الحالية أنَّ تجريع 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).

بيَّنت 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 جرّعت 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 عدَّة دراسات سابقة، أوضحت وجود ارتفاع معنوي في تركيزات البروتين الكلي والألبومين في مصل دم الجرذان المعاملة بمستخلص أوراق الزيتون مع مواد كيميائية مختلفة (Oxytetracycline، Cyclosporine، Streptozotocin، Carbon tetrachloride، Cadmium chloride) بالمقارنة بالمجموعات التي تمت معاملتها بالمواد الكيميائية السابق ذكرها، والتي أدَّت 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 التحسُّن في محتوى البروتين بسبب الأوليروبين الذي حفَّز تكوين الخلايا البطانية، وكذلك تصنيع mRNA والبروتين (Carluccio *et al*., 2003; Abdelhafez *et al*., 2017). أو بسبب زيادة كمية الريبوسومات في الشبكة الإندوبلازمية الخشنة في الخلايا، ممَّا يعكس قدرته على تحفيز تصنيع البروتين (Tunez *et al*., 2003; Abdelhafez *et al*., 2017).

أظهر Al-Janabi *et al*. (2015) أنَّ استخدام مستخلص أوراق الزيتون يحسّن 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; Meirinhos *et al*., 2005; Ranalli *et al*., 2006; Al-Attar & Shawush, 2014). حيث يستخدم الطب الشعبي والمعالجة النباتية أوراق الزيتون لعلاج ومنع العديد من الأمراض (Al-Attar & Shawush, 2014).

أوضح Al-Attar and Abu Zeid (2013) أنَّ المعالجة المسبقة بمستخلصات أوراق الشاي والزيتون ومزيجهما يخفِّف من التغيرات الكيموحيوية الشديدة التي يسبِّبها Diazinon، واقترحوا أنَّ تأثيرات مستخلصات أوراق الشاي والزيتون ومزيجها ضد السمية الكبدية التي يسبِّبها Diazinon، قد تكون بسبب الخصائص المضادة للأكسدة لمكوِّناتها الكيميائية الطبيعية.

أفاد Micol *et al*. (2005); Ali and Ahmed (2020) أنَّ الزيادة في مستوى البروتين الكلي تُشير إلى قدرة زيت الزيتون وأوراق الزيتون على تحفيز تجديد الأنسجة الكبدية، ممَّا أدَّى إلى زيادة تصنيع البروتين في الكبد التالف، وتحسين وظائف خلايا الكبد وحالتها.

أكَّد 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 الجذور الحرَّة، والخصائص المضادة للأكسدة. كما استنتجوا أنَّ كلًا من مستخلص أوراق الزيتون البارد والمغلي لهما تأثيرات قوية على تحسين وظائف الكبد، ومضادات الأكسدة في الجرذان التي يسبِّبها رابع كلوريد الكربون السام للكبد. حيث أشاروا إلى أنَّه يمكن استخدام مستخلص أوراق الزيتون ومكوِّناته النشطة كمكمل وعوامل علاجية قد تكون مفيدة لمنع التغيرات الفسيولوجية والنسيجية التي يسبِّبها رابع كلوريد الكربون، واستعادة حالة مضادات الأكسدة ووظائف الكبد إلى مستويات أقرب لمستويات المجموعة الضابطة.

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-Cubillo *et al*., 2019; Gounden *et al*., 2021). وغالبًا ما يتم التعرُّف 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 النيتروجيني 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, 2008; Gowda *et al*., 2010). لذا لا يعتمد كليًا على فحص اليوريا في تقييم وظيفة الترشيح الكلوي، بل يتم فحص الكرياتينين الذي يترشَّح كليًا دون أنْ يمتص ثانيةً من قبل الأنابيب الكلوية (Loughridge & Lewis, 2008).

أمَّا الكرياتينين فهو أحد نواتج تكسير فوسفات الكرياتين في العضلات، وعادة ما يتم إنتاجه بمعدَّل ثابت إلى حد ما من قبل الجسم اعتمادًا على كتلة العضلات (Yuegang & Chengjun, 2008; Gowda *et al*., 2010). ينتقل الكرياتينين بعد تكوينه عن طريق الدم للكلية؛ حيث يترشَّح بواسطة الكبيبات الكلوية، ويطرح إلى الخارج عن طريق الإدرار من دون أنْ 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 النيتروجينية 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 والتخلَّص منه عن طريق الكلى (Hassan & Gilbert, 2011).

بيَّنت نتائج الدراسة الحالية حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.001$) في تركيزات اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل دم الأرانب البالغة التي تمت تغذيتها بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% مقارنة بالمجموعة الضابطة، حيث اتفقت نتائج هذه الدراسة مع ما توصَّل 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; Aboulgasem *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، ولكنَّها لا تتفق مع نتائج أيونات البوتاسيوم حيث حدث انخفاض معنوي في أيونات البوتاسيوم في مصل دم نفس المجموعة.

يؤثر نيتريت الصوديوم على وظائف الكلى، ويسبِّب زيادة في تركيزات اليوريا والكرياتينين وحمض البوليك في مصل الدم، والذي قد يعزى إلى التغييرات في معدَّل الترشيح الكبيبي، وتدفُّق الدم الكلوي وعتبة إعادة الامتصاص الأنيبيبي (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 الحرَّة التي قد تزيد أكسدة الدهون ممَّا يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي، ويمكن أنْ يكون ضارًا بالأعضاء المختلفة مثل الكلى (Choi *et al*., 2002; Abu Aita & Mohammed, 2014)، أو قد يكون بسبب تكوين أكسيد النيتريك الذي يسبِّب خللًا وظيفيًا في الكلى (Ahmed & Mannaa, 2000; Ismail *et al*., 2003; Ateya *et al*., 2016)، وعدم قدرة الكلية على إفراز الفضلات النيتروجينية (Ahmed, 2016).

يرتبط فرط حمض البوليك في الدم بتوليد الجذور الحرَّة (Jin *et al*., 2012; Ahmed, 2016) حيث يحفِّز إنزيم أكسدة الزانثين (الزانثين اكسيداز) أكسدة الهيبوزانثين/زانثين إلى حمض البوليك ويولِّد جذور فوق الأكسيد ممَّا يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي (Paul *et al*., 2012; Ahmed, 2016). ويمكن أيضًا أنْ تعزى هذه التأثيرات إلى التأثير السام للخلايا لمركَّبات N-nitroso في الكلى (Zurovsky & Haber, 1995; Ahmed, 2016). أو قد يكون بسبب زيادة الإجهاد التأكسدي المستحدث بنيتريت الصوديوم، والذي يؤدي إلى زيادة إنتاج الجذور الحرَّة التي تسبِّب خللًا في الأحماض النووية، حيث أشار الصالح (2011) إلى أنَّ الجذور الحرَّة تلحق الضرر بمكوِّنات الخلية، ومنها الأحماض النووية والقواعد النيتروجينية، ويعد حمض البوليك الناتج النهائي لأيض البيورينات؛ لذلك سوف يرتفع تركيزه في الدم، أو قد يكون نتيجة تأثير نيتريت الصوديوم على خلايا الكلية، إذ يسبِّب اضطراب في وظائفها، حيث لاحظ Scibior *et al*. (2014) أنَّ هناك علاقة بين الإجهاد التأكسدي المستحدث، ودرجة الفشل الكلوي في ذكور الفئران البيضاء، إذ تسبِّب الجذور الحرَّة أكسدة الأغشية البلازمية المكوِّنة للخلايا الكلوية؛ ممَّا يسبِّب 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 اكسيداز، فضلًا عن ضعف نشاطات إنزيم دورة اليوريا (Anwar & Meki, 2003; Helal *et al*., 2017c)، أو قد ترتبط بانخفاض معدَّل الترشيح الكبيبي الناتج عن الفشل الكلوي المزمن نتيجةً لتقليل إفراز الكرياتينين بواسطة كل من الكبيبات والأنابيب الكلوية (Branten *et al*., 2005; Adewale *et al*., 2020a). إنَّ نيتريت الصوديوم

يؤدي إلـى نقص الأكسجة ممَّا يؤدي إلـى تلف شديد فـي الكبيبات والأنيبيبات الملتفة القريبة (Atef *et al*., 1991; Ismail *et al*., 2003; 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. إنَّ استهلاك نيتريت الصوديوم له تأثيرات كبيرة على الامتصاص والإخراج والتركيزات المصلية للعديد من الإلكتروليتات والمعادن المهمة من الناحية الفسيولوجية، بما في ذلك الصوديوم والبوتاسيوم. فقد يؤدي اضطراب الإلكتروليتات إلى تغيرات استقلابية شديدة مهدِّدة للحياة (Reddy *et al*., 2018; Abdel-Baky, 2019).

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

كما ذكر James and Mitchel (2006); Adewale *et al*. (2020a) يشار إلى ارتفاع البوتاسيوم على أنَّه أكثر علامات الإلكتروليتات مصداقية للفشل الكلوي. يمكن أنْ تكون زيادة مستوى البوتاسيوم نتيجة لانخفاض إفراز البوتاسيوم في الأنيبيبات الملتفة البعيدة أثناء الفشل

الكلوي ممَّا يؤدي إلى زيادة البوتاسيوم في الدم. تم أيضًا ربط الزيـادة الكبيرة في Na^+ وK^+ ارتباطًا مباشرًا بالسُمية الكلوية (Ijeomah *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 السلبي من خلال الخلايا الأنبوبية التالفة. هذا بسبب خلل في نظام الرينين أنجيوتنسين- الألدوستيرون، وضعف الترشيح الكبيبي وانخفاض إعادة الامتصاص (Coll *et al*., 2000; Khanagavi *et al*., 2014; Varghese *et al*., 2018).

قد يتسبَّب التعرُّض البيئي والمهني للمواد السامة للكلية في حدوث ضعف في الأنبوب الكلوي والكبيبي (Marek, 2005; Okpogba *et al*., 2021). الكلى معرَّضة بشكل خاص لهذه التأثيرات بسبب تركيبها ووظيفتها. تتلقَّى الكلية خُمس النتاج 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).

سجلت الدراسة الحالية أنَّه 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 جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بجرعة (2.21 مل/كجم من وزن الجسم) وتمت 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، الجرذان) المعاملة بمستخلص أوراق الزيتون مع مواد كيميائية (Gentamicin، Amikacin، Gentamicin sulfate، Cisplatin، Streptozotocin، Deltamethrin، Alloxan، Ischemia/Reperfusion، Diclofenac، Cadmium chloride، Glycerol) بالمقارنة بالمجموعات التي تمت معاملتها بالمواد الكيميائية السابق ذكرها، والتي أدَّت إلى ارتفاع تركيزات هذه المتغيرات (Toolabi *et al*., 2011; Abdel-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 المركَّبات الفينولية على السماح بالتدخلات العلاجية في المراحل المبكرة لإبطاء تقدم المرض، وبالتالي تقليل المضاعفات المرتبطة بانخفاض معدَّل الترشيح الكبيبي ممَّا يؤدي إلى تحسن وظائف الكلى (Petroni *et al*., 1995; Visioli *et al*., 1995; Maalej *et al*., 2017)، أو قد يكون من خلال النشاط المضاد للأكسدة (Abaza *et al*., 2015; Abdel-Gayoum *et al*., 2015; Jafaripour *et al*., 2016; Soussi *et*

al., 2019)، الذي يزيد من محتوى الجلوتاثيون الكلوي (GSH) ويزيد من نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة الكلوية (Jemai *et al*., 2009; Tavafi *et al*., 2012; Pasban-Aliabadi *et al*., 2013; Hedeab *et al*., 2015)، أو بفضل النشاط المضاد للأكسدة لحمض الأولينولك (Castellano *et al*., 2013; Mehanna *et al*., 2016)، وتعزيز 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, 2013; Nadimohamed *et al*., 2020)، أو من خلال خصائصه الدوائية المعزِّزة 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 أنَّ جميع جرعات مستخلصات أوراق الزيتون المائية تحمي من ارتفاع مستويات اليوريا والكرياتينين في مصل دم الجرذان المستحث بـ Gentamicin، واستعادت جرعة مستخلصات ورق الزيتون وفيتامين ه مستويات الصوديوم والبوتاسيوم، مشيرًا إلى النشاط الواقي للكلى. يمكن أنْ يؤدي اختلال توازن الإلكتروليتات إلى عواقب وخيمة لأنَّه 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 تعد مؤشرات جيدة لوظائف الكلى (Cohen & Lemann, 1991; Abd El-Rahman, 2016). أو لوجود خصائص مضادة للالتهابات الخلوية تحسّن

حالة الأكسدة، وقد يكون ناتجًا عن وجود مواد كيميائية نباتية مثل الفلافونويدات، أو من خلال تثبيط أكسدة الدهون (Abd El-Rahman, 2016)، وذلك من خلال منع التغييرات الحادة في المتغيرات الكيموحيوية واضطرابات التركيب النسيجي الكلوي (Al-Attar *et al*., 2017).

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

إنَّ إعطاء الجرذان مستخلص أوراق الزيتون عكس وظائف الكُلى نحو المستويات الطبيعية، والتي يمكن أنْ تكون بسبب انخفاض الاضطرابات الأيضية مثل التمثيل الغذائي للبروتين والحمض النووي (Zoair, 2014). حيث أشار Al-Attar and Alsalmi (2019b) إلى أنَّ الاستخدام العلاجي المحتمل لمستخلص أوراق الزيتون كعامل جديد وقائي للكُلى ضد الفشل الكلوي الحاد قد يعود إلى قدرته على خفض الأنجيوتنسين 2 في أنسجة الكُلى، وبالتالي تقليل الضغط على الشرايين في كبيبات الكلى (Scheffler, *et al*., 2008; Al-Hayaly *et al*., 2020).

2.5 الدراسة النسيجية Histological study

تعد دراسة التغيرات التي تحدث في أنسجة الأعضاء نتيجة التعرُّض للمواد الكيميائية مؤشرًا مهمًا 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 التعرُّض للمواد السامة إلى تغيرات نسيجية في الكبد، والتي بدورها يمكن استخدامها كمؤشر حيوي للإشارة إلى التعرُّض المسبق. يمتلك الكبد القدرة على تقليل المركَّبات السامة، لكن الآليات التنظيمية يمكن أنْ تغمرها التركيزات العالية من هذه المركَّبات، ممَّا قد يؤدي إلى تلف الأنسجة بعد ذلك (Scott & Bord, 1996؛ وعبد الله وحسين، 2015).

لوحظ في الدراسة الحالية من خلال الفحص المجهري للقطاعات النسيجية في كبد ذكور الأرانب التي غُذيت بعلف يحتوي على نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% ولمدة 8 أسابيع أنَّ الخلايا الكبدية منتفخة، وبها تورُّمات غائمة، ويحتوي سيتوبلازمها على فجوات مختلفة الأحجام (دهنية أو مائية)، وحدوث اتساع واحتقان ودم متجلِّط في الأوردة المركزية، وزيادة سمك بطانتها في بعض الفصيصات الكبدية. وحدوث ضيق في الجيبيبنات الدموية واحتوائها على كريات دم حمراء، بالإضافة إلى وجود ارتشاح بخلايا الدم البيضاء في بعض مناطق أنسجة الكبد، وخصوصًا بالقرب من الوريد المركزي، وفي المنطقة البابية، ونلاحظ أيضًا وجود احتقان ودم متجلِّط في الوريد البابي وزيادة سمك جداره وزيادة سمك القنيات الصفراوية، وحدوث تليُّف في المنطقة البابية، وزيادة سمك الشريان الكبدي، 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 بأنَّ نيتريت الصوديوم سبَّب احتقان في الأوعية الدموية، ارتشاح بخلايا الدم البيضاء أحادية النواة حول الأوعية الدموية، تنكس دهني، تنكس مائي منتشر، تغيرات نووية، تنشيط خلايا كوبفر. أيضًا أظهرت دراسات أخرى حدوث زيادة ملحوظة في

عدد الخلايا الكبدية ثنائية النواة، تُظهر المنطقة البابية تضخُّمًا ملحوظًا في القناة الصفراوية، احتقان بابي وارتشاح خلايا الدم البيضاء أحادية النواة والالتهابية، تضخم الطلائية المبطّنة للقنوات الصفراوية وسماكة جدرها وتكوّن فجوات سيتوبلازمية في الخلايا الكبدية، احتقان الوريد المركزي والبابي والجيبيبنات الدموية، وتوسُّع في الوريد المركزي، تليُّف ونزيف في المنطقة البابية وتنشيط خلايا كوبفر (Abu Aita & Mohammed, 2014; Hammoud, 2014; Ahmed, 2016; Ozen *et al*., 2014; Al-Hiti *et al*., 2018; Radwan *et al*., 2020a). أمَّا دراسات (Osman *et al*., 2018; Soliman *et al*., 2021) فقد أشارت إلى حدوث تنكس مائي معتدل إلى متوسط غالبًا، والذي تميَّز بانتفاخ في الخلايا الكبدية خصوصًا في المناطق المحيطة بالوريد المركزي، احتقان الأوردة المركزية والبابية والجيبيبنات وارتشاح خلايا الدم البيضاء أحادية النواة واللمفاوية حول الأوعية الدموية، ولاحظوا أيضًا أنَّ الخلايا الكبدية مرتبة بشكل غير منتظم مع تكوّن الفجوات السيتوبلازمية الناتجة عن التنكسات الفجوية والمائية، أو التغيرات الدهنية، وضيق الجيبيبنات الدموية. بينما بيّن Abebe *et al*. (2013a,b) حدوث نزف حاد داخل الجيبيبنات، ارتشاح المثلث البابي عن طريق الخلايا الالتهابية.

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 والجيبيبنات الدموية، ارتشاح خلايا الدم البيضاء أحادية النواة والالتهابية حول الوريد البابي، انتفاخ الخلايا الكبدية، تكوّن فجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية، تليُّف بابي، وتنشيط خلايا كوبفر المنتشرة خلال الأنسجة المتنكِّسة (Usunomena *et al*., 2011; Efuruibe *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 التغيرات النسيجية المرضية تعزى إلى الإجهاد التأكسدي الناتج عن عمل المسارات الأيضية المتولِّدة ضد المركَّبات السامة (Ozen *et al*., 2014; Suparmi *et al*., 2016). حيث يسبِّب نيتريت الصوديوم تفاعلات التهابية وارتشاح الخلايا الالتهابية التي تطلق بعد ذلك كميات كبيرة من المواد المؤكسدة المحتملة، مثل فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) الذي قد يسبِّب تلف للأنسجة المحيطة والخلايا (Sarsour & Hassuneh, 2001). يحدث ارتشاح الخلايا الالتهابية بسبب الالتهاب الحاد الذي يعزى إلى زيادة النفاذية الوعائية؛ نتيجة لانقباض الخلايا البطانية ممَّا يؤدي إلى فجوات بين الخلايا (Kumar *et al*., 2007; Abed-Al-Azeez *et al*., 2015). أو قد يعود وجود الخلايا الالتهابية المترشحة إلى التغيرات التنكسية التي حدثت في أنسجة الكبد مما يؤدي إلى إفراز الكبد عوامل الجذب الكيميائية، وبالتالي ارتشاح المنطقة المصابة بهذه الخلايا مثل خلايا الدم البيضاء المتعادلة والأحادية للدفاع عن الجسم (Jaeschke *et al*., 1999؛ وحسن وآخرون، 2020).

الالتهاب هو جزء من استجابة بيولوجية معقَّدة، يحاول فيها الجسم القضاء على مسبِّبات 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 التعرُّف على المادة الغريبة، ثم تبدأ الأوعية الدموية بالتوسُّع، ويترشَّح منها السوائل والخلايا الالتهابية إلى الأنسجة المجاورة، وبالتالي تنجذب إلى موقع الإصابة لعلاج الالتهاب (Johnson *et al*., 2002؛ وحسن وآخرون، 2020).

ينتج الاحتقان عن الالتهاب الحاد الناتج عن توسُّع الأوعية الدموية (Kumar *et al*., 2007; Abed-Al-Azeez *et al*., 2015; Hama *et al*., 2020)، ويكون الاحتقان الكبدي نتيجةً لذلك التأثير المباشر على جدار الأوعية الدموية، أو ارتفاع الضغط داخل المنطقة البابية (Klastskin & Conn, 1993; Hama *et al*., 2020). فحالات الاحتقان الدموي في بعض المناطق في الكبد مثل الوريد المركزي قد يعزى سببها إلى ضعف التصريف الدموي نتيجة لانسداد وريدي كبدي، ممَّا يسبِّب في توقف أو تعطيل للانسياب 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 المتحلِّلة (Eweka & Om‟Iniabohs, 2008)، ونتيجة تأثره بشدة بالمادة السامة ($NaNO_2$). أمـَّا ضيق الجيبيبنات فيحدث نتيجة لانتفاخ الخلايا الكبدية (حسن وآخرون، 2020). يحدث تضخُّم خلايا الكبد بسبب إصابتها بالتنكس المائي Hydropic degeneration؛ وذلك نتيجة تراكم كميات من الماء داخل هذه الخلايا ممَّا يؤدي إلى اختفاء الجيبيبنات بينها (العكايشي، 2017). بينما ظاهرة تكوّن الفجوات في سيتوبلازم الخلايا الكبدية فقد جاءت بسبب استخدام نيتريت الصوديوم، حيث أشار Robbins and Angell (1970) إلى أنَّ ظهور الفجوات بشكل واضح في السيتوبلازم هي إحدى عوامل الاستجابة الأولية المهمة لدخول الماء وتراكمه بكميات كافية داخل هذه الخلايا، ممَّا يسبب في تضخُّم الخلايا وإزاحة أنويتها إلى الأطراف، كما أنْ تكوّن الفجوات في السيتوبلازم من المحتمل أنْ يكون بسبب تلف الخلايا الكبدية نتيجة للتأثير السام لنيتريت الصوديوم، إذ أنَّ الإجهاد التأكسدي الناتج عن تراكم الجذور الحرة في

الكبد يؤدي إلى تحطُّم الخلايا الكبدية، وكذلك أكسدة الدهون Lipid peroxidation المتواجدة في غشاء الخلية أو أغشية الميتوكوندريا، ممَّا يؤدي إلى ظهور الاستجابة الالتهابية والمناعية (Majumadar *et al*., 2008). يعد حدوث الفجوات في السيتوبلازم مؤشرًا مهمًا على ضعف أنسجة وخلايا الكبد، وهو من الآليات الدفاعية لخلايا الكبد لمنع المادة السامة من إعاقة نشاطات الخلية، وهذا ما يفسِّر تفكك أغشية الخلايا الكبدية (Abdel Hameed, 2004)، وأنَّ هذه الفجوات مسئولة عن جميع العناصر الضارة، ومنعها من التدخُّل في الوظائف البيولوجية لهذه الخلايا (Cheville, 2009).

أمَّا التورُّم الخلوي فينتج من خلال التنكس الدهني الذي يشير إلى التراكم غير الطبيعي في الدهون الثلاثية في خلايا الكبد (Kumar *et al*., 2007; Abed-Al-Azeez *et al*., 2015). إنَّ تراكم الدهون في الكبد عملية غير مفهومة بشكل دقيق، فعندما تتجاوز كمية الأحماض الدهنية الكبدية القدرة على التخلُّص منها، يتم تخزينها على شكل دهون ثلاثية في الكبد (Babin & Gibbons, 2009).

إنَّ زيادة عدد الخلايا الكبدية ثنائية النواة قد تعزى إلى الإصابة بنيتريت الصوديوم السام للخلايا الكبدية، كما أظهرت دراسات سابقة أنَّ زيادة تكرار فرضية الخلايا الكبدية ثنائية النواة كمؤشر لشدة المرض الكبدي، وأنَّ 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 المجهري لنسيج كبد ذكور الأرانب التي جُرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون بمفرده إلى عدم حدوث أي تغيرات نسيجية في نسيج الكبد، وظهر الكبد بمظهر طبيعي مماثلًا للمجموعة الضابطة، واتفقت هذه النتائج مع عدَّة دراسات سابقة (Abd El-Azim, 2014; Sakr *et al*., 2016; Mohammed *et al*., 2017; Ustuner *et al*., 2018; Ashour & Mohamed, 2019; Assumaidaee *et al*., 2020; Chaker *et al*., 2020; Taamalli *et al*., 2020).

أشارت نتائج الدراسة الحالية للفحص المجهري لنسيج كبد الأرانب التي جُرِّعت 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، وقلَّ قطر الوريد المركزي، مع استمرار ارتشاح قليل بخلايا الدم البيضاء، واستعادت الجيبيبنات الدموية شكلها وحجمها الطبيعي ووجود كريات دم حمراء في بعضها. وجاءت هذه النتائج متفقةً مع نتائج عدَّة 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; Assumaidaee *et al*., 2020; Chaker *et al*., 2020; Fki *et al*., 2020; Jemai *et al*., 2020; Taamalli *et al*., 2020; Taha *et al*., 2020).

إنَّ العلاج بمستخلص أوراق الزيتون حسّن التغييرات النسيجية المرضية للخلايا الكبدية التي لوحظت في الجرذان المصابة بداء السكري المستحث بـ Streptozotocin جنبًا إلى جنب مع تخفيض ALT وAST (Sakr *et al*., 2016). مستخلص أوراق الزيتون غني بالمركبات

الفينولية تشمل الفلافونات، الفلافونولات، Catechin، الفينولات (Japon-Lujan *et al*., 2006b; Sakr *et al*., 2016)، والفينولات المتعدِّدة 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 أنَّ الجرذان المعالجة بمستخلص أوراق الزيتون والمحقونة داخل الصفاق بـ Methotrexate قد أظهرت تحسُّنًا في تنكس الخلايا الكبدية بالإضافة إلى الاتساع الجيبيي، وخفض ارتشاح الخلايا اللمفاوية، وتنكس دهني أقل، وأشار أيضًا إلى أنَّ المعالجة بمستخلص أوراق الزيتون كان لها تأثير وقائي ضد الإصابة التأكسدية ليس فقط من الناحية الكيموحيوية بل أيضًا من الناحية النسيجية المرضية ممَّا يشير إلى أنَّ تلف الأنسجة الناتج عن Methotrexate يمكن أنْ يمنع بشكل فعَّال بواسطة مستخلص أوراق الزيتون، وعلاج مستخلص أوراق الزيتون لمجموعة Methotrexate يحسّن خلايا الكبد ويقلِّل من تنشيط خلايا كوبفر في الكبد.

للمستخلص آلية خاصة في منع العوامل الضارة من اختراق جدار الخلايا، والنفوذ إلى داخل الكبد وبذلك تحافظ على سير العمليات الأيضية، وبالتالي رجوع المعايير الإنزيمية إلى مستواها الطبيعي (إبراهيم وساجت، 2012).

لقد أسهم مستخلص أوراق الزيتون في استقرار الأغشية البلازمية للخلايا الكبدية، وإصلاح تلف الأنسجة الكبدية الناجم عن الـ Cisplatin، وتقليل ارتشاح الخلايا الليمفاوية وتنشيط خلايا كوبفر بطريقة تعتمد على الجرعة. وبالتالي فقمعها بمستخلص أوراق الزيتون قد يسهم في تعطيل احتمالية التليُّف. كما أنَّه يقدم خصائص مناعية كبيرة في الكبد عن طريق تنظيم الإجهاد

التأكسدي، ويمكن لمستخلص أوراق الزيتون أنْ يحفظ الكبد من الاحتقان، والتوسُّع الجيبي، والنزيف (Cerig *et al*., 2016)، وأيضًا قلَّل من تسرُّب الأوعية الدموية الدقيقة، وكذلك التصاق الكريات البيض، وتكوين أنواع الأكسجين المتفاعلة (Lapi *et al*., 2015; Cerig *et al*., 2016).

أظهر مستخلص أوراق الزيتون سلوكًا تآزريًا مع محتوياته من الأوليروبين والفينولات المتعدِّدة النشطة في منع تكوين الجذور الحرة (Andrikopoulos *et al*., 2002; Abd El-Azim, 2014)، وتوليد أنواع الأكسجين المتفاعلة بواسطة كريات الدم البيضاء السليمة (Visioli *et al*., 2002; Abd El-Azim, 2014)، وإيقاف التلف الناتج في الخلايا الكبدية (Khalil, 2004) ممَّا يقلِّل من الإجهاد التأكسدي والتغيرات الفسيولوجية والنسيجية (Taha *et al*., 2020) من خلال نشاطه المضاد للأكسدة (Al-Attar & Shawush, 2015)؛ لاحتوائه على أحماض فينولية وفلافونويدات (Soussi *et al*., 2018)، مثل الهيدروكسي تايروسول، التايروسول، وحمض الكافييك، p-coumaric acid، حمض الفانيليك، الفانيلين، اللوتولين، ثنائي اوسميتين، الروتين، اللوتولين-7-جليكوساید، ابيجينين-7-جليكوساید، ودایاوسميتين-7-جليكوساید (Bianco & Uccella, 2000; Ryan *et al*., 2002; Tavafi *et al*., 2012)، أو نشاطه المضاد للالتهابات والمضاد للموت المبرمج لخلايا الكبد (Osman & Tantawy, 2017).

إنَّ الأوليروبين يحمي غشاء خلايا الكبد من الأضرار التأكسدية التي تسبِّبها المواد الكيميائية عن طريق تحسين نظام الدفاع المضاد للأكسدة وتقليل مستويات بيروكسيدات الدهون (Alirezaei *et al*., 2012).

2.2.5 التغيرات النسيجية في الكلية

أوضحت نتائج الدراسة الحالية أنَّ القطاعات النسيجية لقشرة الكلية في ذكور الأرانب التي تمت 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 ملبيجي، وزيادة سمك جُدر الأوعية الدموية في بعض المناطق. ووجود ترسيبات في تجاويف الأنيبيبات الكلوية، وقد قلَّ سمك جُدرها ممَّا يدل على فقد أسطح خلاياها للخميلات الدقيقة. بالإضافة إلى وجود نزف دموي ووجود توسُّع وارتشاح بخلايا الدم البيضاء بين الأنابيب البولية، ووجود Edema في بعض الأماكن في منطقة القشرة، وجود فجوات في سيتوبلازم الخلايا المبطّنة للأنيبيبات البولية، وحدوث نخر خلوي لها. اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات السابقة التي أشارت إلى وجود احتقان حاد ونزف في الأوعية الدموية الكلوية بين القنيات وتنكُّس جُدرها، واحتقان الشعيرات الكبيبية، وأوديما حول الأوعية الدموية، وانكماش الكبيبات إلى جانب ذلك فقد لوحظ احتقان ونخر وتنكُّس في بطانة طلائية الأنيبيبات الكلوية، وحدوث اتساع في محافظ بومان والأنيبيبات الكلوية مع وجود رواسب بروتينية في تجاويف بعض الأنيبيبات، وارتشاحات بخلايا الدم البيضاء أحادية النواة حول الكبيبات وبين القنيات، وكذلك تكوُّن فجوات سيتوبلازمية، كما لوحظ أيضًا احتقان شديد في النسيج الخلالي الكلوي (Abdeen *et al*., 2015; Amin *et al*., 2016; Bala & Gupta, 2016; Elsherbiny *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).

تعزى جميع التغييرات الكلوية لنيتريت الصوديوم المسبِّب لنقص الأكسجة مع تكوين جذور حرة لاحقًا التي تسبِّب تغيرات في الأنسجة الكلوية (Aruoma, 1998; Choi *et al*., 2002; Abu Aita & Mohammed, 2014; Ansari *et al*., 2018; Adewale *et al*., 2020b). حيث لاحظ El-Demerdash *et al*. (2005); Khalaf *et al*. (2016) أنَّ المواد الحافظة الغذائية تسبِّب تغييرات في بطانة خلايا الأنيبيبات الملتفة الكلوية، وكذلك محافظ بومان. وهذا له ما يبرِّره؛ لأنَّ الأنيبيبات الكلوية حسَّاسة بشكل خاص للتأثيرات السامة، ويرجع ذلك جزئيًا إلى استهلاك كميات كبيرة من الأكسجين، وأنظمة الإنزيم الضعيفة، وقد يرجع أيضًا إلى أنَّ لديها آليات نقل معقَّدة، قد تستخدم لنقل السموم، وقد تتضرَّر من جرَّاء تلك السموم. قد تتضمَّن الآليات المحتملة الأخرى الإجهاد التأكسدي (Alden & Frith, 1992; Ahmed, 2016)، وزيادة توليد أكسيد النيتريك (Reisser *et al*., 1998; Gomaa & Abd El-aziz, 2011; Obeid *et al*., 2021) الذي يؤدي إلى زيادة أكسدة الدهون (Goligosky *et al*., 2002; Gomaa & Abd El-aziz, 2011; Al-Gayyar *et al*., 2016; Obeid *et al*., 2021) ويسبِّب استرخاء العضلة الملساء الوعائية التي تؤدي إلى اتساع تجاويفها وزيادة تدفُّق الدم، ويسبِّب اتساع الأوعية والاحتقان (Hassan *et al*., 2018; Hama *et al*., 2020) أو تغير نقل أيونات الصوديوم والكلوريد في الأنيبيبات البولية ممَّا يؤثر سلبًا على وظيفة الكلى (Zaki *et al*., 2005; Gomaa & Abd El-aziz, 2011). كما تتلامس الأنيبيبات مع المواد الكيميائية السامة أثناء إخراجها وإزالتها بواسطة الكليتين (Tisher & Brenner, 1989; Hassan *et al*., 2018). إنَّ هذه التغيرات حدثت بسبب تأثيرات سُمية النيتريت، والتي تقلِّل من نشاطات إنزيمات أغشية حافة الفرشاة Brush border membranes، وتزيد من أكسدة الدهون، وأكسدة البروتين، وتزيد من

مستويات بيروكسيد الهيدروجين وبالتالي تدمير أغشية الخلايا في الأنيبيبات البولية والكبيبات (Ansari & Mahmood, 2016).

إنَّ حدوث النزف الدموي في نسيج الكلية قد يكون ناتجًا عن تراكم النيتريت في الأنسجة مما يعمل على تغيير نفاذية غشاء الخلية، وبالتالي يؤثر على دخول وخروج الأيونات لخلايا الأنيبيبات الكلوية (Hammam & Abdel Mottaleb, 2007; Amer *et al*., 2007)، أمَّا النزيف في النسيج البيني للأنيبيبات الملتفة الكلوية مع تنكس الخلايا المبطنة للأنيبيبات الكلوية فيكون بسبب ضغط الدم الهيدروستاتيكي Hydrostatic pressure الذي يؤدي إلى نضوح الخلايا الدموية إلى الفراغات المتواجدة بين الخلايا الطلائية (Anderson, 1980).

قد يرجع السبب في انكماش الكبيبات الكلوية إلى سمية نيتريت الصوديوم على خلايا الكبيبة والأوعية الدموية الموجودة فيها، أو إلى تضرر الكبيبات بسبب المعاملة بنيتريت الصوديوم ويؤدي هذا التضرُّر إلى تباطؤ تدفُّق الدم إلى الكبيبات ومن ثم يقلِّل من وصول المواد السامة إليها (Ebaid *et al*., 2007)، أو قد يعود ضمور الكبيبات إلى تنخُّر الخلايا (Rabah, 2010)، أو بسبب انكماش الشعيرات الدموية أو الأنيبيبات الكلوية، ويحدث ذلك نتيجة التعرُّض للسموم (عواد وحمد، 2015). وقد يرجع التوسُّع في فسحة (فراغ) محفظة بومان إلى التقلُّص الذي حدث في الكبيبات الكلوية، أو إلى تحطُّم الطبقة الحشوية لمحفظة بومان (Fartkhooni *et al*., 2016)، أو قد يعزى إلى وجود خلايا نجمية الشكل تسمى بمسراق الكبيبة Mesangial cell ذات نتوءات سيتوبلازمية تقوم بدعم جدران الشعيرات الدموية، ويؤدي تحسُّسها لضغط الدم المرتفع فتتمدد مما يؤدي إلى توسُّع الأوعية الدموية الشعيرية في الكبيبة وبالتالي إفراز المزيد من السوائل خارج الجسم (عبد الكريم، 1980).

إنَّ تنخُّر الأنيبيبات الكلوية يحدث بالتزامن مع التعرُّض للسموم والعقاقير أو مستقلباتها، وذلك لتداخل السموم مع أيض الخلايا الطلائية (Herlitz *et al*., 2010)، أو قد يعزى إلى زيادة ترشُّح البروتينات خاصة الألبومين (عواد وحمد، 2015)، أو قد يكون وجود النخر مرتبطًا باستنفاذ ATP، والذي يؤدي في النهاية إلى موت الخلايا (Shimizu *et al*., 1996; Hassan *et al*., 2018). إنَّ من أسباب نخر الأنيبيبات الكلوية هو موت الخلايا الطلائية التي تبطنها، بسبب عدم حصولها على كمية كافية من الأكسجين (Krishna, 2004؛ وحسن وآخرون، 2020)، حيث أنَّ نشاطها الأيضي يعتمد على الأكسجين الذي تزوِّده به الأوعية الدموية، وأنَّ أي ضرر يحدث للأوعية الدموية من نخر أو ضيق في الشريان الكلوي يؤدي إلى اضطراب في تدفُّق الدم، ومن ثم يحدث نقص في إمداد الخلايا بالأكسجين. فنخر الخلايا المبطّنة للأنيبيبات الكلوية وتلف الكبيبات بدرجات متفاوتة تمامًا، وكذلك تلف الأوعية الدموية وحدوث نزف واحتقانات في الأنسجة، قد يكون ذلك بسبب عملها المتعلِّق بالتوازن المعدني (حسن وآخرون، 2020).

يحدث الارتشاح الالتهابي استجابة لحدوث التنخُّر في أنسجة الكلية (Das *et al*., 2014). أو يمكن أن يعزى ظهور الخلايا الالتهابية القريبة من الأوعية الدموية والجسيمات الكلوية والأنيبيبات الكلوية وظهور التغيرات النسيجية إلى إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) والإجهاد التأكسدي، والذي يتكوَّن نتيجة زيـادة بيروكسيد الدهون الذي ينتج عـن سمية نيتريت الصوديوم في الكلى. وقد يؤثر تواجد الخلايا الالتهابية في التوازن بين أنواع الأكسجين التفاعلية وإنتاج مضادات الأكسدة، إذ تقوم بتدمير الخلايا الطلائية التي تبطن الأنيبيبات الكلوية من خلال التمثيل الغذائي للدهون (Pujalte *et al*., 2011). ويعزى السبب في اعتلال وظائف الكلى وظهور العلامات الالتهابية إلى الإجهاد التأكسدي الذي يعد الآلية الرئيسية المسئولة عن السمية

وحدوث زيادة في أنواع الأكسجين التفاعلي، وقلَّة الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل إنزيم الجلوتاثيون في أنسجة الكلى (Shrivastava *et al*., 2016). حيث تتحرَّك الخلايا الالتهابية باتجاه التركيز العالي لبعض المواد السامة، التي تسبَّبت في هذا الالتهاب (الشطي، 1992؛ حسن وآخرون، 2020). كما جاء في دراسات أخرى، يمكن أنْ تعزى الحساسية غير العادية للكلى للتأثيرات السامة للمواد الكيميائية الضارة جزئيًا إلى الخصائص الوظيفية والتشريحية الفريدة لهذا العضو (Brezis *et al*., 1991؛ وحسن وآخرون، 2020).

بيَّنت نتائج الفحص المجهري 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 المجهري لنسيج الكلية في طبقة القشرة للأرانب التي جرّعت بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون، ثم تناولت نيتريت الصوديوم إلى أنَّ كريات ملبيجي والأنيبيبات الكلوية أصبحت منتظمة، واستعادت شكلها الطبيعي، والأنيبيبات جدارها سميك، ووجود Edema في بعض الأماكن في منطقة القشرة، ووجود احتقان في بعض الأوعية الدموية وكريات دم حمراء بين الأنيبيبات البولية. وجاءت هذه النتائج متوافقةً 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 & Elbadawy, 2020; Al-Hayaly *et al*., 2020).

أشار Hedeab *et al*. (2015) إلى أنَّ جرعة مستخلص أوراق الزيتون تصدَّت 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 تغيرات أقلّ شدة وحفظ البناء الكلوي الطبيعي لهذه المجموعات. حيث أظهرت المعالجة بمستخلص أوراق الزيتون تفاعلًا أقلّ للالتهاب في الأنسجة الكلوية التي يمكن أنْ 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 وظائف الكلى الطبيعية وحماية أنسجة الكلى من السمية التي يسبِّبها الـ Cisplatin بطريقة تعتمد على الجرعة (Badr & Fouad, 2016).

استنتج Maalej *et al*. (2017) أنَّ مستخلص ثمار الزيتون ومستخلص أوراق الزيتون أظهرا تحسُّنًا كلويًا معنويًا في التغيرات النسيجية المرضية، وأدَّى إلى تحسُّن معنوي في وظائف الكلى، وذلك من خلال خصائصهما المضادة للأكسدة، وقد ذكر Behling *et al*. (2006); Maalej *et al*. (2017) أنَّ هذا التأثير المحسَّن لمستخلص أوراق الزيتون مرتبط بقدرته على كسح الجذور الحرة للأكسجين في الخلايا الأنبوبية الكلوية للجرذان.

أوراق الزيتون غنية بالفينولات المتعدِّدة، واستخدم مستخلصها للحماية من السمية الكلوية للجنتاميسين (Tavafi *et al*., 2012) وسمية رابع كلوريد الكربون (Al-Sowayan & Mousa,

2014). تعد الفينولات المتعدِّدة 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 المحسَّن لمستخلص أوراق الزيتون ضد السمية الكلوية للـ Amikacin مماثلًا أو أفضل من زيت الزيتون البكر (Abdel-Gayoum *et al*., 2015).

كشف Abd El-Rahman (2016) أيضًا أنَّ النشاط الواقي للكلى لمستخلص أوراق الزيتون يشبه لنشاط فيتامين هـ. قد يكون النشاط المحدث من المستخلص بسبب قدرته على تنشيط الإنزيمات المضادة للأكسدة؛ لاحتوائه على الأوليروبين، هيدروكسي تايروسول، تايروسول، حمض الكافييك، حمض الكوماريك، حمض الفانيلين، الفانيلين، اللوتولين، دايوسميتين، الروتين، اللوتولين-7-جليكوساید، ابيجينين-7-جليكوساید، وديوسميتين-7-جليكوساید والتي تعد عوامل علاجية تؤخر تطور الأمراض الالتهابية المتقدِّمة (Chandler *et al*., 2010; Abd El-Rahman, 2016).

أشار Benavente-Garcia *et al*. (2000); Vogel *et al*. (2014); Abd El-Rahman (2016) إلى أنَّ المركَّبات الفينولية الموجودة في مستخلص أوراق الزيتون تُظهر سلوكًا متآزرًا في القدرة على التخلُّص من الجذور الحرة، أعلى من قدرة مضادات الأكسدة لفيتامينات (هـ، ج). تحتوي أوراق الزيتون على الفلافونويدات مثل اللوتولين، ابيجينين، الأوليروبين وجليكوسيدات الفلافونويد بالإضافة إلى التانينات، التربينات الثلاثية، القلويات، الريسين (الرانتج)، 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 التحسُّن البارز للأنسجة متعلِّقًا بمحتوى الفلافونويد لأوراق الزيتون.

أظهرت الحيوانات المعرَّضة للإشعاع بعد تجريع مستخلص أوراق الزيتون مظهرًا طبيعيًا تقريبًا، ولكن لايزال هناك بعض الأنيبيبات الكلوية بأنوية تغلظية والقليل من الحطام في تجويفها (Abdelhafez *et al*., 2017). ربما تم تفسير الدور الفعَّال للمستخلص جزئيًا من خلال التأثيرات الخافضة للضغط لمستخلص أوراق الزيتون، التي تجعل الكلى تعمل بشكل طبيعي (Nekooeian *et al*., 2011; Abdelhafez *et al*., 2017).

أوضح الفحص النسيجي المرضي أنَّ علاج الجرذان المصابة بالسكري بمستخلص أوراق الزيتون يحمي التراكيب الكلوية، ويحسِّن نسبيًا التغيرات النسيجية الكلوية (Mehanna *et al*., 2016; Al-Attar & Alsalmi, 2019b)، وخلصوا Rice-Evans *et al*. (1997); Vogel *et al*., 2014; Al-Attar and Alsalmi, 2019b إلى أنَّ التأثير التحسيني لمستخلصات أوراق الزيتون ضد التغيرات المرضية التي يسبِّبها السكري في الجرذان قد يعزى إلى وجود مركَّباته الفينولية التي لها فعل مضاد للأكسدة، ومضاد لفرط ضغط الدم وخافض لسكر الدم في الأنظمة الحية؛ لأنَّها تعمل ككواسح للجذور الحرة.

وجد Soussi *et al*. (2019) تحسُّنًا في أنسجة الكلى، حيث خفَّفت المعالجة بمستخلص أوراق الزيتون بشكل كبير من التغيرات النسيجية المرضية التي يسبِّبها الـ Diclofenac، وأظهروا أيضًا أنَّ القطاعات النسيجية المرضية لكلى الفئران التي عولجت بمستخلص أوراق الزيتون كانت لها بنية كلوية محسّنة، ممَّا يشير إلى تأثيره الوقائي، وأدَّت المعالجة بالمستخلص أيضًا إلى تحسين

المعايير الكيموحيوية، وتقليل التأثير الضار للإجهاد التأكسدي الناجم عن هذا الدواء في أنسجة الفئران؛ نظرًا لغناه بمكوِّنات عديدة الفينول والفلافونويد.

إنَّ العلاج بالأوليروبين بجرعة 16 ملجم/كجم من وزن الجسم قلَّل من التغيرات النسيجية التي يسبِّبها الكادميوم، ويمكن أنْ يعزى ذلك إلى الخصائص المضادة للأكسدة والمخلبية للأوليروبين، والتي قلَّلت بشكل كبير من الإجهاد التأكسدي ممَّا أدَّى إلى الحد من التغيرات النسيجية المرضية، حيث قام الأوليروبين بعكس الإجهاد التأكسدي الكلوي الذي يسبِّبه الكادميوم عن طريق تحسين نظام الدفاع المضاد للأكسدة، وتقليل مستويات بيروكسيدات الدهون وبالتالي حماية أنسجة الكلى (Jemai *et al*., 2019).

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

6. الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations

1.6 الاستنتاجات Conclusions

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

1. إنَّ إعطاء ذكور الأرانب نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% أدَّى إلى حدوث تغيرات واضحة في نشاطات وتركيزات بعض المعايير الكيموحيوية مثل ALT، AST، ALP، GGT، TP، Alb، Glob، A/G، اليوريا، الكرياتينين، حمض البوليك، Na^+ و K^+.

2. أدَّى إعطاء نيتريت الصوديوم بتركيز 0.4% لذكور الأرانب إلى حدوث تغيرات نسيجية مرضية في أنسجة الكبد والكلى لذكور الأرانب.

3. إنَّ تجريع ذكور الأرانب بالمستخلص المائي لأوراق الزيتون له فعالية للحد من التأثيرات السُمية لنيتريت الصوديوم على كبد وكلى ذكور الأرانب.

4. إنَّ 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 للالتهابات.

2.6 التوصيات Recommendations

توصي هذه الدراسة بالآتي:

1. التقليل من استهلاك المواد الغذائية الحاوية على المواد الحافظة بشكل عام، ونيتريت الصوديوم بشكل خاص؛ بسبب تأثيراتها السلبية على أعضاء الجسم وأجهزته.

2. على مصنِّعي الأغذية التقليل من إضافة المواد الحافظة، واستخدام بدائلها من المواد الحافظة الطبيعية، وذلك لأنَّها أقل ضررًا على صحة الإنسان.

3. تناول نظام غذائي غني بمضادات الأكسدة سوف يمنع تكوين مادة النيتروز أمين الضارة التي تسبب السرطان.

4. إجراء دراسات تتناول تأثير مستخلص أوراق الزيتون كمادة مضادة للأكسدة ودوره في الوقاية من خطر الإصابة بأمراض مزمنة، كالفشل الكلوي، وأمراض القلب والسرطان.

5. فصل مكوِّنات المستخلص المائي لأوراق الزيتون، أو استخدام مكوِّنات شجرة الزيتون الأخرى، مثل الزيت والثمار ودراسة تأثيرها على أجهزة الجسم.

6. توضيح الاستفادة من المركَّبات الفعَّالة في مستخلص أوراق الزيتون بعد عزلها للتقليل من التأثيرات الجانبية للمواد الحافظة في حيوانات التجارب.

7. إجراء العديد من الدراسات على النباتات الطبية المختلفة، وإمكانية استخدام مستخلصاتها في العلاج الطبي.

المراجع

References

7. المراجع References

1.7 المراجع العربية

إبراهيم، إحسان 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 السايكلوفوسفوأميد Cyclophosphamide (CP). مجلة علوم ذي قار، 4(2): 80-88.

الأحبابي، أكثم حميد جاسم. (2017). تحديد الفعالية التثبيطية لمستخلصات أوراق الزيتون على بعض الخمائر والبكتيريا المرضية. رسالة ماجستير، كلية العلوم- قسم علوم الحياة، جامعة تكريت، العراق.

الحاج، حميد أحمد. (2013). مبادئ علم الأنسجة. دار المسيرة للنشر والتوزيع، الطبعة الأولى، عمان، الأردن.

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/العلوم الصرفة والتطبيقية، 22(8): 2113-2122.

الزعبي، محمد عمر. (2012). كتاب مترجم: أساسيات علم النسج لـ جانكويرا (كتاب وأطلس). المركز العربي للتعريب والترجمة والتأليف والنشر، الطبعة الثانية عشر، دمشق، سوريا.

الشطي، 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.

الطردة، 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.

الطيف، عماد محمود. (2017). دراسة تأثير مستخلصات أوراق الزيتون في فعالية إنزيم GOT وفعالياتها البايولوجية. مجلة بغداد للعلوم، 14(1): 48-59.

العبد الله، شتيوي. (2012). التشريح الوظيفي وعلم وظائف الأعضاء. دار المسيرة للنشر والتوزيع والطباعة، الطبعة الأولى، عمان، الأردن.

العبودي، علي مطيع عبد الحسين. (2016). تأثير استخدام مستويات مختلفة من المستخلص المائي المغلي لأوراق الزيتون في بعض الصفات الإنتاجية والمناعية والنسيجية والميكروبية لفروج اللحم. رسالة ماجستير، كلية الزراعة– قسم الإنتاج الحيواني، جامعة المثنى، العراق.

العكايشي، علي حسين كاظم. (2017). تأثير المستخلص المائي البارد للثوم (*Allium sativum*) على بعض المعايير الفسلجية والنسجية لذكور الأرانب المعاملة بالسيكلوفوسفومايد. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة– قسم علوم الحياة، جامعة كربلاء، العراق.

العلوجي، صباح ناصر. (2014). علم وظائف الأعضاء. دار الفكر ناشرون وموزعون، الطبعة الثالثة، عمان، الأردن، ص266–267.

الفتلاوي، صلاح هاشم شهيد جاسم. (2014). تهجين مركبات نانوية مع مادة اوكتيل كاليت الحافظة للأغذية ودراسة بعض فعالياتها الحيوية. رسالة ماجستير، كلية العلوم– قسم علوم الحياة، جامعة كربلاء، العراق.

حسن، انعام عبد القادر. (2012). تأثير مستخلص كحول الايثر النفطي الحار والبارد لأوراق الزيتون *Olea europaea* في نمو بعض أنواع البكتيريا الممرضة. مجلة كلية التربية الأساسية، 75: 709–717.

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

حسوني، عادل عبيد، عمران، محمد أحمد، يوسف، دعاء كامل. (2011). الفعالية الحياتية لعصير أوراق الزيتون الطازج على بكتيريا الاشريشيا القولونية *Esherichia coli*. مجلة الفرات للعلوم الزراعية، 3(3): 81–84.

حسين، ثامر عبد حمد الله. (2018). منظمات النمو وأثرها في النمو والمحتوى المعدني والهرموني لأوراق الزيتون اليافعة. رسالة ماجستير، كلية الدراسات العليا– قسم العلوم والتكنولوجيا، جامعة السودان، السودان.

زكري، أحمد محمد محمد. (2015). تأثير استخدام مستويين مختلفين من مسحوق ورق الزيتون في صفات الدم في ذكور الأرانب. مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، 8(1): 1–7.

عباس، ربيعة جدوع، غني، قتيبة جاسم، محمد، عبد الله عبد المنعم. (2012). تأثير إضافة مسحوق أوراق الزيتون في بعض الصفات الإنتاجية والفسلجية لفروج اللحم. مجلة البصرة للعلوم الزراعية، 25(خاص): 24–34.

عبد الكريم، محمد أمين. (1980). كتاب مترجم: علم مصور الأنسجة الوصفي. لـ ريث 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.

مالو، أحمد ومنصور، غيثاء. (2014). استخلاص المركبات الفينولية من أوراق بعض أصناف الزيتون السوري ودراسة تأثيرها في بعض أنواع الجراثيم. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، 30(2): 29-42.

محمد، زينب إبراهيم. (2013). تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات الزيتون *Olea europaea* على مستوى بعض الدهون في ذكور الأرانب المحلية المعرضة للإجهاد الحراري. مجلة القادسية للعلوم الصرفة، 18(3): 1-7.

محيريق، عفاف ووصيف، الزهرة لبيهي. (2020). دراسة الفعالية البيولوجية لمستخلصات بعض النباتات المستعملة في الطب الشعبي لعلاج مرض السكري. رسالة ماجستير، كلية علوم الطبيعة والحياة- قسم البيولوجيا، جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي، الجزائر.

نسيب، حليمة وعلي، نجاح. (2020). الدراسة الكيميائية لمستخلصات بعض النباتات الطبية المستخدمة في الطب التقليدي لعلاج ارتفاع ضغط الدم في منطقة واد سوف. رسالة ماجستير، كلية علوم الطبيعة والحياة- قسم البيولوجيا، جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي، الجزائر.

هاشمي، مسعود. (2021). تأثير مستخلص العكبر على الإجهاد التأكسدي والموت الخلوي الكبدي والكلوي الناتج عن المعادن الثقيلة. اطروحة دكتوراه، كلية علوم الطبيعة والحياة- قسم بيولوجيا العضوية، جامعة مصطفى بن بولعيد باتنة 2، الجزائر.

ياسين، ألفت تحسين. (2010). تأثير المستخلص المائي لأوراق الزيتون *Olea europaea L.* في نمو وتطور مبيض البعوض *Culex pipiens molestus Forskal*. مجلة التربية والعلم، 23(2): 91-103.

2.7 المراجع الأجنبية

Abaza, L., Taamalli, A., Nsir, H., and Zarrouk, M. (2015). Olive tree (*Olea europeae 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 Haggar, 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-adminstered 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 sodium nitrite in rat. Int. J. Dev. Res., 8(11): 24140-24145.

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.

Abed-Alazeez, L. A., Ali, A. H., and Haba, M. K. (2016). The protective effect of radish (*Raphanus sativus*) seeds against the oxidative stress induced by sodium nitrite in male rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). Baghdad Sci. J., 13(1): 44-52.

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.

Abuharfeil, N., Jaran, A., Shabsough, B., and Darmani, H. (2001). Effects of sodium nitrite on natural killer cells isolated from human peripheral blood. Archives Toxicol., 75(5): 291-296.

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 bromateand 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 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 Akmali, M. (2019). Berberine attenuated oxidative stress induced by sodium nitrite in rat liver. Jundishapur J. Nat. Pharmaceut. Prod., 14(1): 1-8.

Akpabio, C. J., Efuruibe, A. A., Ogunsola, M. O., Adeleke, G. E., and Maduagwu, E. N. (2013). Evaluation of level of precursors of N-Nitrosamine in vitro in wistar rats fed different levels of dietary protein. IOSR J. Pharm. Bio. Sci., 5(6): 59-65.

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-fibrogentic 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, Ist 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 europeaea* leaf extract on superoxide dismutase (SOD) activity in streptozotocin induced diabetes. Adv. Biores., 6(1): 19-24.

Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., Cravedi, J. P., Dogliotti, E., Domenico, A.D…, and Verger, P. (2009). Nitrite as undesirable substances in animal feed. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. EFSA. J., 1017: 1-47.

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 leaves 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 staining. Int. J. Pharmac. Sci. Res., 9(2): 483-489.

Ali, D. M. and Abdelzaher, W. Y. (2017). Possible protective effect of pumpkin seed oil against sodium nitrite in rats; A biochemical and genetic study. Int. J. Clin. Pharmacol. Toxicol., 6(2): 262-269.

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 streptozotosin. 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-Saedi, J. A. M., Al-Diwan, M. A., and Al-Masoudi, W. A. (2016). Antioxidant activity of schiff base derived from Methionine. Res. J. Pharmaceut. Bio. Chem. Sci., 7(1): 611-617.

Al-Salihi, S. (2014). Inhibitory effect of aqueous extract of Pomegranate peel on Escherichia. Kirkuk Univ. J. Sci. Stud., 9(1): 11-18.

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., Arif, H., Khan, A. A., and Mahmood, R. (2017). Acute oral dose of sodium nitrite induces redox imbalance, DNA damage, metabolic and histological changes in rat intestine. PLOS One, 12(4): 1-22.

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., and 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.

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.

Assumaidaee, 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-Norage, 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.

Ayala, A., Muñoz, M. F., and Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxid. Med. Cell. Longe., 2014: 1-31.

Azab, A. E., Abushofa, F. A., and Abdul Rahman, H. M. A. (2019). Nephroprotective effect of aqueous extract of parsley against nephrotoxicity induced by carbon tetrachloride in the male rats. J. Biotechnol. Bioengineer., 3(4): 16-26.

Azab, A. E., Lashkham, N. M., and Albasha, M. O. (2015). Haematoprotective and hypolipidemic effects of aqueous extract of Libyan propolis against sodium nitrite induced haematotoxicity and hyperlipidemia in Guinea pigs. Am. J. Biosci. Bioengineer., 3(4): 22-32.

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.

Baek, J. H., Zhang, X., Williams, M. C., Hicks, W., Buehler, P. W., and D'Agnillo, F. (2015). Sodium nitrite potentiates renal oxidative stress and injury in hemoglobin exposed guinea pigs. Toxicol., 333: 89-99.

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.

Bartosikova, L., Necas, J., Kubinova, R., Iliek, J., saplachate, J., Florian, T., Frydruch, M., Frana, P., Frana, L. and Dzurova, J. (2003). Atioxidative effect of morine in ischemia reperfusion of kidney in the laboratory rate. Acta. Veter. Brasil.,72(1): 87-94.

Bawazir, A. E. (2011). Chronic effect of olive oil on some neurotransmitter contents in different brain regions and physiological, histological structure of liver and kidney of male albino rats. World J. Neurosci., 1(3): 31-37.

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.

Ben Salem, M., Affes, H., Ksouda, K., Sahnoun, Z., Zeghal, K. M., and Hammami, S. (2015). Pharmacological activities of *Olea europaea* leaves. J. Food Process. Preserv., 39(6): 3128-3136.

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.

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., and Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organi. J., 5(1): 9-19.

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 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.

Bryan, N. S., Calvert, J. W., Elrod, J. W., Gundewar, S., Ji, S. Y., and Lefer, D. J. (2007). Dietary nitrite supplementation protects against myocardial ischemia-reperfusion injury. Proceed. Nat. Acad. Sci., 104(48): 19144-19149.

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., Distante, 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.

Cherif, S., Rahal, N. and Haouala, M. (1996). A clinical trial of a titrated Olea extract in the treatment of essential hypertension. J. Pharm. Belg., 51(2): 69-71.

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 H_2O_2 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.

Davies, K. J. (2000). An overview of oxidative stress. IUBMB life, 50(4-5): 241-244.

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.

Dejam, A., Hunter, C. J., and Gladwin, M. T. (2007). Effects of dietary nitrate on blood pressure. N. Engl. J. Med., 356(15): 1590.

Doumas, B., and Watson, W. (1971). Enzymatic colorimetric method of albumin. Clinica Chemica Acta., 31: 87-96.

Duncan, J. R., Prasse, K. W., and Mahaffey, E. A. (1994). Veterinary laboratory medicin (clinical Pathology) About CAB Abstracts. Third edition, Lowa 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.

EFSA, E. F. S. A. (2008). Nitrate in vegetables-scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. EFSA J., 6(6): 689.

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-Bahr, S. M. (2013). Biochemistry of free radicals and oxidative stress. Biochem., 1(5567/5cjiŋt), 11-11.

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., Khattab, 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.

Elsherbiny, 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.

Esquivel, O. O., Moreno, A. O., Alvarez, V. B., Alvarez, L. D., and Giusti, M. M. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. Food Res. Int., 44: 2160-2168.

Etim, O. E., Farombi, E. O., Usoh, I. F. *et al*. (2006). The protective effect of aloevera juice on lindane induced hepatotoxcity 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.

Evelin, H., and Kapoor, R. (2014). Arbuscular mycorrhizal symbiosis modulates antioxidant response in salt-stressed *Trigonella foenum-graecum* plants. Mycorrhiza, 24(3): 197-208.

Eweka, A. O., and Om‟Iniabohs, 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.

Farhat, Z., Browne, R. W., Bonner, M. R., Tian, L., Deng, F., Swanson, M., and Mu, L. (2018). How do glutathione antioxidant enzymes and total antioxidant status respond to air pollution exposure?. Environ. Int., 112: 287-293.

Fartkhooni, 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.

Feng, X., Li, C., Jia, X., Guo, Y., Lei, N., Hackman, R. M., ... and Zhou, G. (2016). Influence of sodium nitrite on protein oxidation and nitrosation of sausages subjected to processing and storage. Meat Sci., 116: 260-267.

Ferrari, C. K. B. (2001). Oxidative stress pathophysiology: Searching for an effective antioxidant protection. Int. Med. J. Tokyo, 8(3): 175-184.

Ferror-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.

Foretson, 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.

Gahlaut, A., Hooda, V., Gothwal, A., and Hooda, V. (2019). Enzyme-based ultrasensitive electrochemical biosensors for rapid assessment of nitrite toxicity: Recent advances and perspectives. Crit. Rev. Anal. Chem., 49(1): 32-43.

Ganong, W. F. (1999). Review and Medical Physiology, Appelton, Lange, editors. Med. Publications, Calfornia, 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.

Gluhcheva, Y., Ivanov, I., Petrova, E., Pavlova, E., and Vladov, I. (2012). Sodium nitrite-induced hematological and hemorheological changes in rats. Series on Biomechanic, 27(3-4): 53-58.

Godman, M., Bostick, R., M., Kucuk, O., and Jonas, D. P. (2011). Clinical trials of antioxidants as cancer prevention agents: past, present and future. Free Radical Bio. Med.-J., 51(5): 1068-1084.

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 Abd Elaziz, E. A. A. (2011). Protective effect of aquaeous green tea extract on toxicity caused by sodium nitrite. Assiut Veter. Med. J., 57(130): 138-162.

Gonchar, O., Mankovskaya, I., and Klyuchko, E. (2006). Role of complex nucleosides in the reversal of oxidative stress and metabolic disorders induced by acute nitrite poisoning. India. J. Pharmacol., 38(6): 414-418.

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.

Grizziand, 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.

Gulfraz, M., Sadiq, A., Tariq, H., Imran, M., Qureshi, R., and Zeenat, A. (2011). Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Eruca sativa* seed. Pakistan J. Bot., 43(2): 1351-1359.

Gupta, R., Katariya, P., Mathur, M., Bajaj, V. K., Yadav, S., Kamal, R., and Gupta, R.S. (2014). Antidiabetic and renoprotective activity of *Momordica dioica* in diabetic rats. Diabetol. Croa., 40(3): 81- 88.

Gutierrez, A. J., Rubio, C., Caballero, J. M., and Hardisson, A. (2014). Nitrites. Encyclo. Toxicol. (EOT), 3: 532-535.

Hakemi, S. G., Sharififar, F., Haghpanah, T., Babaee, A., and Eftekhar-Vaghefi, S. H. (2019). The effects of olive leaf extract on the testis, sperm quality and testicular germ cell apoptosis in male rats exposed to busulfan. Int. J. Fertil. Steril., 13(1): 57-65.

Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. Biochem. Soci. Trans., 35: 1147-1150.

Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C. (2015). Free radicals in biology and medicine. Oxford Univ. Press, USA.

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 hepato-protective 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.

Hamit, U., Uslu, G. A., Adali, Y., Makav, M., and Gelen, V. (2019). Protective effects of melatonin against chronic sodium nitrite exposure in rats. F.U. Veter. J. Health Sci., 33(3): 139-145.

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 Egyp. 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 Ouhtit, 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, H. A., Hafez, H. S., and Zeghebar, F. E. (2010). Garlic oil as a modulating agent for oxidative stress and neurotoxicity induced by sodium nitrite in male albino rats. Food Chem. Toxicol., 48(7): 1980-1985.

Hassan, I., and Gilbert, D. (2011). Acide urique et function rénale,Revue du Rhumatisme, 78: 134-S14.

Hassan, S. M., Zaglool, 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., Elsaghayer, 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.*) 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.

Hord, N. G., Tang, Y., and Bryan, N. S. (2009). Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. The Am. J. Clin.l Nutr., 90(1): 1-10.

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.

I.O.C. (2015). International Olive Council.https://www.scoop.it/topic/olive-news.

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.

Ismaeil, N. H., Osman, A. A., Ali, E. H., Rashed, L. A., and Saleh, M. A. (2017). The potential role of mesenchymal stem cells in a hypoxia model induced by sodium nitrite in testes of male albino rats. Biomed. Res. Ther., 4(02): 1128-1146.

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., Rasoulian, 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. (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.

Jan, R., Roy, R., Bhor, R., Pai, K., and Satsangi, P. G. (2020). Toxicological screening of airborne particulate matter in atmosphere of Pune: Reactive oxygen species and cellular toxicity. Environ. Pollu., 261: 113724.

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., Feryéni, 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.

Jerman, T. K. (2014). Olive fruit phenols in olive oil processing the fat and antioxidant potential. Univ. Nova Gorica, 55: 22-32.

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'-methoxybezylidineaminophenyl)] 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.

Kaur, J., Kaur, R., and Kaur, A. (2018). Dietary antioxidants and infectious diseases. Infectious diseases and your health, Springer, Singapore, 307-316.

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.

Khoobchandani, M., Ojeswi, B. K., Ganesh, N., Srivastava, M. M., Gabbanini, S., Matera, R., ... and Valgimigli, L. (2010). Antimicrobial properties and analytical profile of traditional *Eruca sativa* seed oil: Comparison with various aerial and root plant extracts. Food Chem., 120(1): 217-224.

Kiani, A., Yousefsani, B. S., Doroudian, P., Seydi, E., and Pourahmad, J. (2017). The mechanism of hepatotoxic effects of sodium nitrite on isolated rat hepatocytes. Toxicol. Environ. Heal. Sci., 9(3): 244-250.

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.

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-Tekkeşin, 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., Ghoumari, 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.

Lakache, Z., Tigrine, C., Aliboudhar, H., and Kameli, A. (2019). Composition chimique, activités anti-inflammatoire, antalgique et cytotoxique in vivo de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea*. Phytothérapie, 19(2): 83-92.

Lapi, D., Di Maro, M., Mastantuono, T., Battiloro, L., Sabatino, L., Muscariello, E., and Colantuoni, A. (2015). Effects of oleuropein and pinoresino on microvascular damage induced by hypoperfusion and reperfusion in rat . Pial Circulation Microcirculation, 22: 79-90.

Lawson, M., Jomova, K., Poprac, P., Kuča, K., Musílek, K., and Valko, M. (2017). Free radicals and antioxidants in human disease. In Nutritional Antioxidant Therapies: Treatments and Perspectives (pp. 283-305). Springer, Cham.

Lide, D. (2005). Handbook of chemistry and physics, 86th edn. CRC. Taylor and Francis.

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.

Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. Chem. Bio. Intera., 224: 164-175.

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.

Ma, L., Hu, L., Feng, X., and Wang, S. (2018). Nitrate and nitrite in health and disease. Aging and Disease, 9(5): 938-945.

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.

Mack, A. K., McGowan II, V. R., Tremonti, C. K., Ackah, D., Barnett, C., Machado, R. F., ... and Kato, G. J. (2008). Sodium nitrite promotes regional blood flow in patients with sickle cell disease: a phase I/II study. British J. Haematol., 142(6): 971-978.

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., Hadrich, 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-treated rats. Food & Fun., 9(6): 3220-3234.

Majumdar, A. S., Saraf, M. N., Andraves, 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.

Maruna, R. F. L., and Trinder, P. (1958). Clinica Chemica Acta., 2: 581.

Masella, R., Di Benedetto, R., Varı`, 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.

McNally, B., Griffin, J. L., and Roberts, L. D. (2016). Dietary inorganic nitrate: from villain to hero in metabolic disease? Mole. Nutr. Food Res., 60(1): 67-78.

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.

Mericli, F., and Yilmaz, F. (1993). Halk arasinda tansiyon dusurucu olarak kullanilan zeytin (*Olea europaea L.*) yapraklari uzerinde bir calisma. 10. Bitkisel Ilac hammaddeleri toplantisi bildiri oÈzetleri, 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-Baqui, 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.

Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., and Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. Adv. Med. Sci., 63(1): 68-78.

Mittal, G., Brar, A. P. S., and Soni, G. (2006). Impact of hypercholesterolemia on toxicity of N-nitrosodiethylamine: Biochemical and histopathological effects. Pharma. Repor., 58(3): 413-419.

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.

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.

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.

Naithani, V., Singhal, A. K., and Chaudhary, M. (2011). Comparative evaluation of metal chelating, antioxidant and free radical scavenging activity of TROIS and six products commonly used to control pain and inflammation associated with Arthritis. Int. J. Drug Dev. Res., 3: 208-216.

Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., and Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. Europe. J. Med. Chem., 178: 687-704.

Nekooeian, A., Dehghani, G., Mostafavi, H., and Khalili, A. (2011). "The effect of hydroalcoholic extract of olive leaves on blood pressure in rat model of two-kidney, one-clip goldblatt hypertension". Iran. Cardiovasc. Res. J., 5(1): 1-6.

Newton, D. E. (2007). Forensic chemistry. Infobase Publishing.

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, F. R., Ojinejad, D., and Ranjbary, A. G. (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.

Nujic, M., and Habuda-Stanic, M. (2017). Nitrates and nitrites, metabolism and toxicity. Food Health. Dis., 6(2): 48-89.

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., Alsalame, H. A. A. A., and Abdulshahed, R. H. (2021). The role of *Moringa oleifrera* seed extract in amelioration of kidney injury induced by sodium nitrite in male rats. Anna. the Romanian Soc. Cell Bio., 25(2): 2392-2402.

Oikeh, E. I., Omoregie, E. S., Oviasogie, F. E., and Oriakhi, K. (2016). Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. Food sci. nutr., 4(1): 103-109.

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 hepatoxicity and oxidative stress in rats. Ind. J. Bioch. 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 leave species cultivated in Aljouf Region, Saudi Arabia. The Egypt. J. Hosp. Med., 69(8): 3083-3091.

Ozdemir, A., and Azman, M. A. (2016). Effects of olive leaf extract and vitamin E supplementation in quail diet on some blood parameters and yolk fatty acids composition. Ankara Univ. Vet. Fak. Derg., 63: 31-37.

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. Patho., 66(8): 367-375.

Pan, B., Li, H., Lang, D., and Xing, B. (2019). Environmentally persistent free radicals: occurrence, formation mechanisms and implications. Environ. Pollu., 248: 320-331.

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., Esmaeili-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. Toxicol. Mechan. Methods, 22(8): 625-630.

Peirce, 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.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. India. J. Clin. Biochem., 30(1):11-26.

Poljsak, B., Šuput, D., and Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants. Oxida. Med. Cell. Longe., 2013, 1-11.

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.

Prakash, S. and Joshi, Y. K. (2004). Assessment of micronutrient antioxidants. Total antioxidant capacity and lipid peroxidation level in liver cirrhosis. Asia Paci. J. Clin. Nutr., 13: 110.

Prasad, K., and Lee, P. (2007). Suppression of hypercholesterolemic atherosclerosis by pentoxifylline and its mechanism. Atherosclerosis, 192(2): 313-322.

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. Biotechno., 7(8): 853-857.

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 Tlymphocytesin tumor-bearing rats. Cancer Immunol., Immunothera., 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? Free Radic. Res., 26: 381-398.

Robbins, S., and Angell, M. (1970). Basic Pathology. 2nd Ed. Philadelphia. W.B. Saunders Company.

Rochon, E. R., Missinato, M. A., Xue, J., Tejero, J., Tsang, M., Gladwin, M. T., and Corti, P. (2020). Nitrite improves heart regeneration in zebrafish. Antioxidants Redox Signal., 32(6): 363-377.

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.

Sabry, O. M. M. (2014). Review: Beneficial health effects of olive leaves extracts. J. Nat. Sci. Res., 4(19): 1-9.

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 CCl_4 induced hepatotoxicity in rats. World J. Pharm. Pharmaceut. Sci., 3(3): 3475-3486.

Sarsour, A. and Hassuneh, 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 Ca^{+2} channel antagonistic effects. J. Ethnopharmacol., 120: 233-240.

Schieber, M., and Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. Current Biol., 24(10): R453-R462.

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).

Sellimi, S., Ksouda, G., Benslima, A., Nasri, R., Rinaudo, M., Nasri, M., and Hajji, M. (2017). Enhancing colour and oxidative stabilities of reduced-nitrite turkey meat sausages during refrigerated storage using fucoxanthin purified from the Tunisian seaweed *Cystoseira barbata*. Food Chem. Toxicol., 107: 620-629.

Selvaraju, V., Joshi, M., Suresh, S., Sanchez, J. A., Maulik, N., and Maulik, G. (2012). Diabetes, oxidative stress, molecular mechanism, and cardiovascular disease–an overview. Toxicol. Mechan. Methods, 22(5): 330-335.

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.

Shani, E. H. (2019). Evaluation of the protective effect of *Eruca sativa* seeds powder against oxidative stress and some physiological, histological and productive performance in Broilers. Master degree, College of Veter. Med., Physiol., Biochem. Pharmacol. Depart., Univ. of Karbala, Iraq.

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.

Shih, C., Wu, Y. and Lin, W. (2002). Antihyperglycaemic and antioxidant properties of *Anoectochilus formosanus* in diabetic rats. J. Clin. Experim. Pharmacol. Physiol., 29: 684-688.

Shimizu, S., Eguchi, Y., Kamiike, W., Waguri, S., Uchiyama, Y., Matsuda, H., Tsshimizu, S., and Ujimoto, Y. (1996). "Retardation of chemical hypoxiainduced necrotic cell death by Bcl-2 and ICE iInhibitors: Possible involvement of common mediators in apoptotic and necrotic signal." Transductions. Oncogene, 12(91): 2045-2050.

Shinde, A., Ganu, J. and Naik, P. (2012). Effect of free radicals and antioxidants on oxidative stress. J. Dent. Alli. Sci., 1: 63-66.

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.

Sierra-Campos, E., Valdez-Solana, M. A., Campos-Almazán, M. I., Avitia-Domínguez, C., Hernández-Rivera, J. L., Garcia-Arena, G., and Téllez-Valencia, A. (2018). Nitrate and nitrite in drinking water affect antioxidant enzymes in erythrocytes of rats. The Ukrainia. Biochem. J., 90(4): 90-101.

Sies, H. (2020). Oxidative stress: Concept and some practical aspects. Antioxidants, 9(9): 852.

Sindelar, J. J., and Milkowski, A. L. (2012). Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. Nitric oxide, 26(4): 259-266.

Singh, P., Kesharwani, R. K., and Keservani, R. K. (2018). Antioxidants and vitamins: Roles in cellular function and metabolism. In sustained energy for enhanced human functions and activity, pp. 385-407.

Soliman, M. M., Aldhahrani, 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.

Suleman, M., Khan, A., Baqi, A., Kakar, M. S., and Ayub, M. (2019). 2. Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body. Pure Appl. Biol. (PAB), 8(1): 380-388.

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 CCl_4-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 Nω-Nitro-Larginine 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 hydroalcohlic 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-nitros-amines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. Mutation Res., 259: 277-289.

Tunez, L., Munoz, M. C., Ferjoo-Lopez, A. L., Valdvira, E., Bujalance-Arenas, L., and Montilla, P. (2003). Effect of melatonin on hyper lipidemic nephropathology under constant light exposure. J. 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.

Venkataramana, G., Indira, P., and Rao, D. V. M. (2013). Changes of plasma total proteins, albumin and fibrinogen in Type 2 diabetes mellitus- A pilot study. India. J. Basic Appl. Med. Res., 7(2): 679-685.

Vickers, N. J. (2017). Animal communication: when I'm calling you, will you answer too? Curre. Biol., 27(14): R713-R715.

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.

Wahlqvist, M. L. (2013). Antioxidant relevance to human health. Asia Paci. J. Clin. Nutr., 22(2): 171-176.

Wahyuningsih, S. P. A., Sajidah, E. S., Atika, B. N. D., Winarni, 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.

Wang, Y., Chen, W., Zhou, J., Wang, Y., Wang, H., and Wang, Y. (2022). Nitrate metabolism and ischemic cerebrovascular disease: A narrative Review. Front. Neurol., 13: 735181.

Waugh, A., and Grant, A. (2010). Ross and Wilson's anatomy and physiology in health and illness, Edinburgh: Churchill Livingstone.

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.

Zahkouk, 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 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.

Zhang, R., Kang, K. A., Kang, S. S., Park, J. W., and Hyun, J. W. (2011). Morin (2′, 3, 4′, 5, 7-Pentahydroxyflavone) protected cells against γ-Radiation-induced oxidative stress. Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., 108(1): 63-72.

Zhang, Y., Zhao, G., Cheng, P., Yan, X., Li, Y., Cheng, D., Wang, R., Chen, J., and Shen, W. (2019). Nitrite accumulation during storage of tomato fruit as prevented by hydrogen gas. Int. J. Food Propert., 22(1): 1425-1438.

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.

Žukovec Topalović, D., Živković, L., Čabarkapa, A., Djelić, N., Bajić, V., Dekanski, D., and Spremo-Potparević, B. (2015). Dry olive leaf extract counteracts L-thyroxine-induced genotoxicity in human peripheral blood leukocytes in vitro. Oxid. Med. Cell. Longe., 2015.

Zurovsky, Y., and Haber, C. (1995). Antioxidants attenuate endotoxin-generation induced acute renal failure in rats. Scand. J. Urol. Nephrol., 29: 147-154.