

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث

جامعة منتوري- قسنطينة -

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم بيولوجيا الحيوان

رقم الترتيب:

رقم التسلسل:

رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في بيولوجيا و فسيولوجيا الحيوان
فرع فسيولوجيا أمراض الخلية

تحت عنوان

دراسة الدور الوقائي لكل من الفيتامين E وبعض المستخلصات النباتية اتجاه
سمية المبيد كلوروبيريفوس

من إعداد : لطرش عائشة

تاريخ المناقشة :

لجنة المناقشة :

رئيسا	جامعة-منتوري- قسنطينة	أستاذ محاضر	الدكتور : لعلاوي قريشي
مقرا	جامعة-منتوري- قسنطينة	أستاذ محاضر	الدكتورة : زعمة جميلة
ممتحنا	جامعة-منتوري- قسنطينة	أستاذ محاضر	الدكتورة : أمداح سعاد
ممتحنا	جامعة-فرحات عباس - سطيف	أستاذ محاضر	الدكتورة : بوريش حمادة

السنة الجامعية: 2010-2011

شكرات

الحمد لله حمدا كثيرا الذي أعانني على انجاز هذا العمل وأهمني صبرا وأعطاني قوة

و وفقني إلى إتمام هذا العمل المتواضع .

الشكر وكامل الشكر لأسرتي التي أعانتي وتحملتني طيلة انجازي هذا العمل على رأسها والدي الكريمين

وخاصة أخي رمزي الذي لم يدخر جهدا في مساعدتي.

كما أوجه شكرا خاصا للأستاذة الدكتورة زعمة جميلة الأستاذة التي أشرفت على انجاز هذا العمل، على

مجهودها ، ونصائحها القيمة وتوجيهاتها السديدة.

كما أتوجه بشكري الجزيل وكامل امتناني لمن ساعدتني ورافقني في هذا العمل بن جدو ريمة

وكل من أعانني....رمزي..... فضيلة سعاد.....

كما أوجه تحية خاصة للأستاذة بن عياش و الآنسة كوثر من قسم الكيمياء ، تقديرا لمجهودهما الخاص .

كما أتوجه بشكري للأستاذة بوبكري نسيمة على مساعدتها ونصائحها القيمة

وكامل احترامي وتشكراتي للأستاذة لعلاوي قريشي ، أمداح سعاد ، بوريش حمامة على قبولهم مناقشة هذه

المذكرة ، وتشريفي في لجنة المناقشة وإثراء هذا العمل بوجودهم.

شكر خاص لجميع الأساتذة المؤطرين والمشرفين على دفعة فسيولوجيا أمراض الخلية.

شكرا لكن من ساعدني ولو بكلمة طيبة.

الهداء

إلى من أحمل اسمه بكل فخر

إلى من علمني كيف أكون ومن أكون

..... إليك أنت **أبي**

إلى سندي وقوتي وملاذي..

..... إلى دنيائي وبهجتي و فؤادي

إلى بسمتي الغالية... **أمي**

إلى من كانوا ملاذي وملجئي

..... إلى من آثروني على أنفسهم

إلى من قاسموني كل لحظة من حياتي **صابرينة.. سميرة.. مونية**

رمزي

المحتويات

الصفحة

العنوان

قائمة المختصرات
قائمة الأشكال

1.....المقدمة

الجزء النظري الفصل الأول :

المبيدات الفسفورية العضوية

4..... I- تعريف المبيدات

5..... II- تقسيمها

5..... أ- نوع الكائن الحي المستهدف

5..... ب- تقسيمها على أساس التركيب الكيميائي

6..... II-المبيدات الفسفورية العضوية (OPIs) Organophosphorus

6..... III-1- تركيبها الكيميائي

7..... القسم I أو X

7..... القسم II : X= F

7..... القسم III : X=CN,OCN,SCN

7..... القسم IV : X = مركبات أخرى

8..... III-2- آلية عملها و الخاصية السمية

9..... III-3- الميتابولزم العام للمبيدات

9..... III-3-أ ميتابولزم تنشيطي

9..... III-3-ب-ميتابولزم تحطيمي

10..... III-4- الحركية العامة للمبيدات الفسفورية

10..... III-5- ميكانيزم التأثير السام للمبيدات العضوية الفسفورية

10..... III-5-أ- فعلها على المشابك العصبية الخاصة بالأسيتيل كولين

10..... III-5-ب -فعلها أو تأثيرها على أجهزة إنزيمية أخرى

11..... III-6- المظاهر السريرية للتسمية الحادة للمبيدات الفسفورية العضوية

12 La Crise cholinergique

12 Le syndrome intermédiaire

12 La neuropathie retardée

12..... III-7- لعلاج

12 1- معالجة الأعراض

12 2- معالجة خاصة

الفصل الثاني:

المبيدات الفسفو عضوية والتوتر التأكسدي

- 15.....I-اختلال المعايير الدموية.
- 17.....II-الأضرار النسيجية.
- 18.....II-1-الأضرار الكبدية.
- 20.....II-2-الأضرار الكلوية.
- 20.....II-3- الأضرار الميتوكوندرية.
- 20.....II-4- الاضطرابات في مستوى الكالسيوم.
- 21.....III-السمية الخلوية و الجينية.
- 23.....IV-تأثير المبيدات الفسفو عضوية (OPIs) على الإنزيمات المضادة للأكسدة.
- 26.....V-السمية العصبية.
- 28.....V-1-السمية العصبية في الدماغ النامي: أو السمية العصبية للنمو.
- 30.....VI-تأثير المبيدات الفسفو عضوية على الخصوبة.

الفصل الثالث :

دور مضادات الأكسدة في الحماية من التوتر التأكسدي الناتج عن المبيدات الفسفو عضوية

أولا الفيتامين E

- 33.....I-1- تعريف الفيتامين E.
- 32.....I-2-النشاط المضاد للأكسدة للفيتامين E.
- 37.....I-3-النشاط البيوكيميائي و الجزئي للفيتامين E.
- 38.....I-4- دور الفيتامين E في التخلص من سمية المبيدات الفسفورية العضوية.
- 39.....I-5- القوة المضادة للأكسدة فيتامين E فيتامين C.

ثانيا عديدات الفينول

- 41.....II-1- تعريف عديدات الفينول.
- 41.....II-2- مصدرها.
- 41.....II-3-استهلاكها اليومي.
- 43.....II-4- التواجد البيولوجي الحيوي لعديدات الفينول.

43II-5 - لمحة عن الفلافونويدات.....
44II-5-1 التركيب الكيميائي للفلافونويدات.....
45II-5-2 مصدرها.....
45II-5-3 استهلاكها.....
46II-5-4 الامتصاص و التواجد الحيوي.....
47II-5-5 خواص الفلافونويدات.....
47II-5-6 النشاط المضاد للأكسدة.....
49II-5-7 آلية عملها.....
49II-5-7-1' الاقتناص المباشر للجذور الحرة.....
49II-5-7-2' الاتحاد مع الأيونات المعدنية (Fe^{2+}, Cu^{+}).....
50II-5-7-3' تثبيط الانزيمات.....
50II-5-7-4' تجديد مضادات الأكسدة المرتبطة بالغشاء مثل α -tocopherol.....
50II-5-8- العلاقة بين التركيب الكيميائي و النشاط المضاد للأكسدة.....
50II-5-8-1 وجود الوظيفة Catéchol في الحلقة B.....
50II-5-8-2 وجود Enone في الحلقة C.....
50II-5-8-3 وجود مجموعة هيدروكسيل في الوضعية 3.....
	الجزء العملي
52المواد و الطرق المستخدمة.....
52I- المواد المستخدمة.....
521- المادة النباتية.....
522- المادة الحيوانية.....
523- الكيماويات المستعملة.....
55II-الطرق.....
55II-1 طريقة الاستخلاص.....
56II-2 الخريطة الفينولية.....

56	1- الفصل الكروماتوغرافي باستعمال ورق wattman
56	2- الفصل الكروماتوغرافي على الطبقة الملساء (CCM)
56	II 3- تشريح الحيوانات و أخذ العينات
56	II 3- 1- أخذ الدم
57	II 3- 2- الحصول على المجنس النسيجي
57	II 4- إجراء القياسات البيولوجية
57	القسم الأول
57	II 1-1-1- قياس المؤشرات
57	II 1-1-1-1- قياس MDA في مجنس الأعضاء
58	II 1-1-1-2- قياس MDA في بلازما الدم
58	II 1-1-1-1- قياس المؤشرات الانزيمية
58	II 1-1-1-1- معايرة TGO, TGP
58	II 2-1-1-1- معايرة الانزيم الفوسفاتاز القلوي Phosphatase alcaline
58	II 2-1-1-2- قياس المؤشرات البيوكيميائية
58	II 1-2-1-1- معايرة Albumine
59	II 2-2-1-1- معايرة bilirubine
59	II 3-2-1-1- معايرة Cholesterol
59	II 4-2-1-1- معايرة Creatinine
59	II 5-2-1-1- معايرة Urée
59	II 5-2-1-1- معايرة Acide Urique
60	II 6-2-1-1- معايرة البروتينات
60	II 7-2-1-1- معايرة الشوارد Na^+ , K^+
60	II 8-2-1-1- معايرة الجلوسريدات الثلاثية

القسم الثاني

60..... II-2- الدراسة المخبرية *In vitro*

60 II 1-2-1 اختبار DPPH

62..... III التحاليل الاحصائية.....

النتائج

63..... I- الخريطة الفينولية.....

64 أ- دراسة الخريطة الفينولية على ورق Wattman

65..... ب- الخريطة الفينولية المنجزة على الطبقة الرقيقة من متعدد الأמיד.....

II- دراسة تأثير المبيد والدور الوقائي للمستخلص النباتي على الحالة

65 الفسيولوجية للجرذان البيضاء.....

65 II 1- تأثير المبيد والمستخلص النباتي على وزن الجرذان البيضاء.....

66..... II 2- تأثير المبيد والمستخلص النباتي على نسبة الاستهلاك اليومي للغذاء.....

II- قياس التوتر التأكسدي الناتج عن المبيد الفسفورعضوي CPF والنشاط

67 المضاد للأكسدة للمستخلص النباتي

67..... II 1- قياس MDA في المصل و مختلف الأعضاء

IV - دراسة تأثير المبيد والدور الوقائي للمستخلص النباتي على المؤشرات البيوكيميائية

73 المصلية.....

73..... IV 1- تقدير الأنزيمات المصلية

73 IV 1- تقدير الأنزيم المصلي TGO

73..... IV 1- تقدير الأنزيم المصلي TGP

73..... IV 1- تقدير الأنزيم المصلي Phosphatase alcaline

74..... IV 2- تقدير البروتينات المصلية

74 IV 1-2- تقدير Albumine

74 IV 2-2- تقدير البروتينات

75..... IV 3- تقدير Cholestérol

75..... IV 4- تقدير الجلسريدات الثلاثية.....

76..... IV 5- تقدير Créatinine

77 Urée 5-IV تقدير

77..... Acide urique 6-IV تقدير

78..... k^+ و Na^+ تقدير 7-IV

78..... IV - دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص النباتي

المناقشة

81 I- تأثير المبيد على فيسيولوجية حيوانات التجارب

81..... 1- الوزن

83..... II- تأثير CPF على التكامل الوظيفي للكبد

83..... 1- تأثيره على الانزيمات السيتوزولية الكبدية

83 2- تأثيره على البروتينات

84..... 1-2 - تأثيره على Albumine

84 III- تأثير CPF على التكامل الوظيفي للكلى

85 تأثير CPF على الكلسترول والجلسريدات الثلاثية

85..... تأثير CPF على الأعضاء المختلفة

86..... III- الدور الوقائي للمستخلص النباتي ضد سمية CPF

90..... الخلاصة

91..... التوصيات

92..... الملخصات

95..... المراجع

قائمة المختصرات

Ach	: Acétylcholine	
AchE	: Acétylcholinestérase	
Alb	: Albumin	
ALP	: Alkaline phosphatase	
ALAT	: Alanine aminotransferase	
ASAT	: Aspartate aminotransferase	
CAT	: Catalase	
CNS	: Central nervous system	الجهاز العصبي المركزي
CPF	: Chlorbyrifos	
CPOs	: Protein carbonyl	
DZ	: Diazinone	
FAO	: Food and Agriculture Organization	منظمة الغذاء العالمية
GPx	: glutathione peroxidase	
GR	: glutathione reductase;	
GSH	: Glutathion	
GSSG	: glutathione disulfide	
GST	: glutathione S-transferase	
H₂O₂	: hydrogen peroxide	بيروكسيد الهيدروجين
LDL	: Low density lipoproteins	
HDL	: High- density lipoproteins	
LOO[•]	: lipid peroxides	
LPO	: lipid peroxidation	
m	: Muscarinique Receptors	
MD	: Methidation	
MT	: Methomyl	
MDA	: malondialdehyde	
n	: Nicotinique Receptors	

NADPH	: Nicotinamine Adenine Dinucleotide Phosphate	
NO	: Nitric oxide	أكسيد النترريك
NO₂	: Nitrit	
NO₃	: Nitrate	
NOS	: Nitric oxide synthase	
O₂⁻	: superoxide anion	
OD	: Optical density	الكثافة الضوئية
OH[·]	: hydroxyl radical	
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé	منظمة الصحة العالمية
ONOO⁻	: Peroxynitrite	
OPI_s	: Organophosphorus Insecticides	المبيدات الفسفورية العضوية
OP_s	: Organophosphorus compounds	المركبات الفسفورية العضوية
PUFA_s	: Polyunsaturated fatty acids	الأحماض الدهنية عديدة عديمة التشبع
RNS	: reactive nitrogen species	الجزئيات النيتروجينية النشطة
ROO[·]	: Organic peroxy radical	
ROS	: reactive oxygen species	الجزئيات الأوكسجينية النشطة
SEM	: Spherocytosis	
SOD	: Superoxide dismutase	
TBA	: thiobarbituric acid	
TBARS	: thiobarbituric acid reactive oxygen species	
TCA	: trichloro acetic acid	
TLC	: Total Leukocytes Counts	
TGO	: Transaminas glutamo-oxaloacétique	
TGP	: Transaminas glutamopyruvique	
TNF	: Tumor Necrosis Factor	
VLDL	: Very low-density lipoproteins	
WBC	: كريات الدم البيضاء	

قائمة الأشكال

الشكل	الصفحة
شكل 1: الصيغة العامة للمركبات الفسفورية العضوية.....	6
شكل 2: جدول يوضح المظاهر السريرية للسمية الحادة للمبيدات الفسفورية العضوية	11
شكل 3: التركيب الكيميائي لمختلف أنواع tocopherols.....	34
شكل 4: شكل مقارنة بين النوعين tocopherol و tocotrienol.....	35
شكل 5: أقسام عديدات الفينول.....	42
شكل 6: الهيكل القاعدي للفلافونويدات.....	44
شكل 7: المركبات التي تشارك في التفاعل المضاد للأكسدة.....	51
شكل 8: تفاعل مضاد أكسدة مع الجذر الثابت DPPH.....	61
شكل 9: الخريطة الفينولية للمستخلص النباتي من جنس Genista على ورق wattman.....	63
شكل 10: الخريطة الفينولية للمستخلص النباتي من جنس Genista على ورق Polyamide.....	64
شكل 11: تغير الوزن للمجموعات الأربعة خلال فترة المعاملة (عشرة أيام).....	66
شكل 12: النسبة المئوية للاستهلاك اليومي للغذاء للمجموعات الأربعة خلال فترة المعاملة (عشرة أيام).....	66
شكل 13: قيم MDA المصلية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد.....	67
شكل 14: قيم MDA القلبية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد.....	69
شكل 15: قيم MDA الخصيتين بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد.....	70
شكل 16: قيم MDA الكبدية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد.....	70

شكل17: قيم MDA الكلية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر ب20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر ب100ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص

+المبيد.....71

شكل18: قيم MDA الطحال بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر ب20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر ب100ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص +المبيد

.....71

شكل19: قيم MDA الدماغية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر ب20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر ب100ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص

+المبيد.....72

شكل20: قيم MDA الرئوية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر ب20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر ب100ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص

+المبيد.....72

شكل21: تغيرات مستوى الإنزيمين البلازميين TGO و TGP بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر ب20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر ب100ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص +المبيد

.....73

شكل22: تغيرات مستوى Phosphatase alkaline البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر ب20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر ب100ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص +المبيد

.....74

شكل23: تغيرات مستوى Albumine البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر ب20 ملغ/كغ

.....74

شكل24: تغيرات مستوى البروتينات البلازمية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر ب20 ملغ/كغ

.....75

شكل 25: تغيرات مستوى Cholesterole البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد

75.....

شكل 26: تغيرات مستوى الجلسريدات الثلاثية البلازمية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة تقدر بـ 100 ملغ/كغ من المستخلص النباتي بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد

76.....

شكل 27: تغيرات مستوى Créatinine البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد

76.....

شكل 28: تغيرات مستوى Urée البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ.

77.....

شكل 29: تغيرات مستوى Acide urique البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ.

77.....

شكل 30: تغيرات مستوى الشوارد K^+ و Na^+ البلازمية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ.

78.....

شكل 31: المنحنى الخطي للامتصاصية الضوئية للـ Myrcetine بدلالة تراكيز مختلفة.....

79.....

شكل 32: المنحنى الخطي لنسبة تثبيط DPPH بواسطة Myrcetine بدلالة تراكيز مختلفة.....

79.....

شكل 33 : المنحنى الخطي للامتصاصية الضوئية للمستخلص النباتي بدلالة تراكيز مختلفة.....

80.....

شكل 34 : المنحنى الخطي لنسبة تثبيط DPPH بواسطة المستخلص النباتي بدلالة تراكيز مختلفة.....

80.....

المقدمة

يعد استعمال المبيدات جزءاً مهماً من النظام الزراعي الحديث، وتعتبر المبيدات الفسفورية Organophosphorus من أكثر المبيدات استعمالاً في المجال الزراعي والمنزلي حول العالم كافة (Anugya et al., 2009)، حيث تمثل أكثر من نصف عدد المبيدات المستعملة.

غير أن لاستعمال المكثف وغير الواعي لهذه المبيدات، أدى إلى ظهور عدة انعكاسات بيئية وصحية اثر تراكم بواقي هذه المبيدات في التربة والمحيط مع مرور الوقت، إضافة إلى حالات التسمم الناتجة عن التعرض المباشر وغير المباشر للمبيدات، حيث يسجل سنوياً أكثر من 3 ملايين حالة تسمم و 200.000 وفات حول العالم (Ballesterosa et al., 2009).

يعد مبيد Chlorpyrifos (CPF)، من أكثر المبيدات الفسفورية Organophosphorus استعمالاً ويشمل استعماله المجال الزراعي والمنزلي والصحة العمومية، تعتمد الآلية السمية لهذا المبيد على تثبيط أنزيم Acetylcholinesterase (AchE) الأنزيم المحلل للناقل العصبي Acetylcholine (Cindy et al., 2008)، مما يؤدي إلى تراكم هذا الأخير في النهايات والمشابك العصبية، مؤدياً إلى فرط في التنبيه المسبب للإجهاد العصبي الذي قد يؤدي إلى الموت في حالات متقدمة.

إن ظهور الجزيئات الأوكسوجينية النشطة (ROS) أي الجذور الحرة ومركبات أكسيجينية أخرى، قد أعاد في الحسبان تفسير معظم الآليات الفسيولوجية و البيوكيميائية التي تحدث داخل الخلية، حيث تتركب تلك الجزيئات في الخلية خلال عمليات الأيض العادية التي تتطلب الأوكسجين، وتنتحرر خلال عمليات التركيب الحيوي، تحليل وتحويل Xenobiotic وعند تنشيط البالعات الكبيرة. غير أن مستوى هذه الجذور قد يرتفع عند التعرض لمختلف المواد السامة ومنها المبيدات، قد يقود تفاعل الجذور الحرة مع الجزيئات الخلوية (اللبيدات، البروتينات، DNA) إلى أضرار جسيمة (Santosh et al., 2010).

لقد أثبتت الدراسات أن سمية المبيدات الفسفورية تكون مصحوبة بزيادة في تركيب الجذور الحرة المختلفة ، H_2O_2 ، O_2^{\cdot} ، OH^{\cdot} ... الخ (Nagat et al., 2010) ، مع تسجيل تفاقم في التوتّر التأكسدي وظهور عدة أضرار نسيجية تتزامن مع ارتفاع نسبة الأكسدة الفوقية الليبيدية، كما قد تصيب سمية المبيدات الفسفورية أجهزة أخرى كالجهاز المناعي، الجهاز التكاثري، الكبد، البنكرياس... كما تتسبب في تغيرات في المعايير الدموية (Mustafa et al., 2010) ، اضطراب على مستوى الإنزيمات المصلية وكذلك زيادة في نشاط معظم الإنزيمات المضادة للأكسدة واستنفاد البعض الآخر (GSH)، إن هذه المظاهر بعيدة كل البعد عن مظاهر السمية العصبية الناتجة عن تثبيط (AChE) وترتبط أكثر بالتوتّر التأكسدي ويظهر هذا من خلال تحفيز الجهاز الأنزيمي وتغير نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة المتدخلة في هذا النوع من العمليات الدفاعية، إضافة إلى مختلف الأضرار النسيجية التي تدل على الضرر الحاصل في الأغشية الخلوية والذي قد يرجع إلى تغير ميوعتها ونفاذيتها والناتج عن أكسدة الجزيئات الخلوية خاصة الليبيدية ، وهو ما يطرح إشكالية تدخل آلية خلوية أخرى لهذه المبيدات تتسبب في جميع هذه الأضرار النسيجية والإنزيمية ، ترتبط أكثر بالتوتّر التأكسدي ، تتمثل في الأكسدة الفوقية الليبيدية (LPO).

ومن هذا المنطلق اتجه البحث نحو المركبات التي لها القدرة على منع حدوث أو التخفيف من التوتّر التأكسدي والمتمثلة في مضادات الأكسدة الطبيعية كالفيتامينات A،C،E... وغيرها من المركبات الفعالة الموجودة في الأغذية و النباتات الطبيعية كعديدات الفينول (Polyphenols) و خاصة الفلافونويدات Flavonoids، لما لها من خواص مضادة للأكسدة وقدرة على التخلص من الجذور الحرة وتعديل بعض المركبات الجذرية الناتجة عن أيض المواد السامة ، أو من خلال ادخار وتجديد بقية مضادات الأكسدة الموجودة في العضوية .

فبالرغم من الخواص المضادة للأكسدة لهذه المركبات ونشاطها الأسر والمانع للعديد من التفاعلات الجذرية والنتائج المشجعة المسجلة في العديد من الدراسات، تبقى إمكانية كفاءتها في التخلص من التوتّر التأكسدي الناتج عن المركبات المختلفة ، وتحسين بعض الأضرار الناتجة عنه والوقاية منه في الظروف الفسيولوجية الحيوية، موضوع نسبي يستدعي الدراسة والتجريب لمحاولة فهم مدى ممارسة هذه المركبات نشاطها المضاد للأكسدة بنفس الكفاءة تحت كل الظروف ومع مختلف المركبات .

وعلى ضوء هذا اتجهنا في بحثنا هذا للتحقيق أولا من إمكانية إحداث Chlorpyrifos (CPF) للتوتر التاكسدي بجرعة تجريبية تقدر ب (20ملغ/كغ)، ودراسة تأثيره على المؤشرات البيولوجية الحيوية والإنزيمات المختلفة وتقدير مستوى الأكسدة الليدية الحاصلة ، في المصل و المجنس النسيجي لجميع الأعضاء ومقارنة حساسية كل عضو نحو سمية المبيد، ثم دراسة دور المستخلص النباتي الجزائري في التخلص أو التخفيف من مظاهر السمية المدروسة وتقدير فعاليته سواء في الحماية أو الوقاية من سمية المبيدات الفسفورية، بفضل نشاطه المضاد للأكسدة ونشاطه الأسر للجذور الحرة، هذا الأخير المقاسهو كذلك بواسطة اختبارات خارج العضوية لإثبات وإسناد الدور الوقائي لهذا المستخلص للنشاط المضاد للأكسدة.

I- تعريف المبيدات:

يعود أصل كلمة مبيدات " pesticide " إلى الكلمة الإنجليزية " pest " و التي تعني مخرب أو كائن ضار، وتحديدًا تعني كلمة "pesticide": "pest": الآفة، cide: القتل ومنه يمكن تعريفها على أنها كل مادة طبيعية أو كيميائية أو خلائط تستعمل من أجل إبادة الآفات بمختلف أنواعها.

وقد عرفت كل من منظمتي الصحة و الغذاء العالميتين (OMS/FAO) سنة 1994 المبيدات على أنها كل مادة موجهة للوقاية ، تخريب، ردع أو محاربة كل العناصر الضارة سواء كانت نباتات أو حشرات خلال تركيب ،تخزين ، نقل ، توزيع وحتى تحويل المواد الغذائية الزراعية أو الأعلاف. إن النجاح الهائل للمبيدات في الاستعمال الزراعي وتسببها في زيادة الإنتاجية وتحسين جودة المحاصيل الزراعية أدى إلى تكثيف تصنيعها و سرعة انتشارها (Dalal, 2006).

ولا يقتصر استعمال المبيدات في المجال الزراعي و عدة استخدامات منزلية فحسب، بل تلقى رواجًا واسعًا في معالجة الحقائق المنزلية والأماكن العامة، كما تستعمل في مجال الصحة العمومية لمحاربة بعض الأمراض والأوبئة المتنقلة عبر الحشرات و الحيوانات مثل الملاريا.....إلخ.

وتوجد المبيدات في صورة مساحيق ، أقراص مستحلبات ومحاليل مذابة في عدة مذيبات منها

(Robert et al., 2006) Ether deglycols , Xylène , Kérosène.

لكن نظرًا لخواصها السامة و بقائها في المحيط، ووجودها و تركيزها في السلسلة الغذائية أصبحت تشكل خطرًا كبيرًا واعتبرت من ملوثات المحيط الأساسية بسبب بقاياها السامة في كل من الماء، التراب، الهواء حيث أن استعمالها المكثف في المجال الزراعي، الصناعي، الطبي يشكل تهديدًا عالميًا حقيقيًا.

II - تقسيمها :

بسبب التنوع الكيميائي الكبير والعدد الهائل للمبيدات ، وضعت عدت تقسيمات مختلفة ، يعتمد كل واحد منها على الخواص الكيميائية ، التركيبية ، السمية ، آلية العمل ... الخ .
ويعد ايسطها وأكثرها شيوعا الذي يعتمد على :

أ- نوع الكائن الحي المستهدف :

يعد من ايسط التقسيمات حيث تقسم المبيدات إلى مجموعات تختلف كيميائيا ولكنها تشترك في الكائن الحي المستهدف، فتسمى المجموعة باسمه، وهي تضم خمس مجموعات كبرى هي:

- Insecticides	موجهة للقضاء على الحشرات
- Les rodencides	موجهة للقضاء على القوارض
- Les Herbicides	موجهة للقضاء على النباتات الضارة
- Les Fongicides	موجهة للقضاء على الفطريات
- Les Helicides (molluscides)	موجهة للقضاء على الرخويات

ب- تقسيمها على أساس التركيب الكيميائي :

يعتمد هذا التقسيم على التركيب الكيميائي والمادة الفعالة لكل نوع ، حيث تشترك مركبات كل مجموعة في التركيب الكيميائي وآلية العمل رغم اختلاف مجال الاستعمال و النوع المستهدف وهو يضم سبعة مجموعات :

Organochlorés, Organophostanique, Triazoles, Pyrethrinoides, Benzimidazole, Carbamates, Organophosphorés

وهو نوع المبيدات التي سوف نهتم بدراسته وتحديدا دراسة خواصها السمية وتأثيرها على الإنسان.

III - المبيدات الفسفورية العضوية (OPIs) : Organophosphorus

تمثل المبيدات الفسفورية العضوية (OPIs) 90% من كمية المبيدات الحشرية المستخدمة في أنحاء العالم وترجع الزيادة في استخدام هذه المبيدات للتقليل من استخدام الهيدروكربونات الكلورية ، التي اعتبرت ملوثات بيئية خطيرة ، بسبب مدة مكثها الطويل في البيئة وتجمعها في الأنسجة الدهنية للحيوانات وانتقالها من كائن لآخر عبر السلسلة الغذائية (خالد م ومولود، ع 1979).

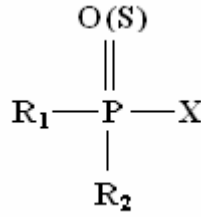
ورغم خواصها المشجعة على استعمالها والتمثلة في سرعة تحللها في البيئة وعدم بقائها مدة طويلة في المحيط إلا أن هذه المركبات قادرة على التسبب في الوفاة في حالة السمية الحادة ، حيث ارتفع معدل الوفيات والتسمم الإرادي بواسطة المبيدات خاصة في البلدان النامية ، ويسجل ما يقارب 3 ملايين حالة تسمم حول العالم بينما تتراوح حالات الوفيات ما يقارب 200 000 شخص كل عام (Thabet et al ., 2007).

تعتبر المبيدات الفسفورية العضوية (OPIs) من المركبات المثبطة للإنزيم أستيل كولين استراز "Anticholinesterasique" ويعتبر Acétylcholinestéras (AChE) الجزئية الأولى المستهدفة لهذه المركبات ، حيث ترتبط به وتتسبب في تثبيطه .

إن تثبيط Acétylcholinestéras (AChE) يؤدي إلى تراكم " Acétylcholine " (Ach) في المشابك العصبية مسببا تنبئها فائقا لمستقبلات الأستيل كولين بنوعيهما , Muscarinique(m) و Nicotinique(n) (Gennaro et al ., 2007) وهي الآلية التي تمارس بها هذه المبيدات سميتها على الحشرات وتتسبب في قتلها ، وترجع خطورة هذه المركبات إلى أنها تؤثر بنفس الطريقة على الثدييات مما يعرض الإنسان لخطر كبير .

III -1- تركيبها الكيميائي :

تمتلك المركبات الفسفورية العضوية تركيبا كيميائيا مشتركا حيث تم تحديد صيغتها العامة من طرف العالم Schrader



شكل 1: الصيغة العامة للمركبات الفسفورية العضوية (Thabet et al.,2009) .

وهي عبارة عن أسترات لحامض الفسفوريك ومشتقاته (خالد.م ومولود، ع 1979).

R₁ R₂ تكون غالبا مجاميع Diamino, Dialkoxy, Trithroalkyl, Dimethoxy, Diéthoxy,

Triphényl

- القسم I أو X :

يحتوى على أمونيوم رباعي (Ammonium quaternaire) وتعتبر المركبات التابعة لهذه

المجموعة سامة ولكنها غير مستعملة في المجال الزراعي .

- القسم II : X= F

مركباتها أكثر سمية من المجموعة الأولى ، لها قدرة عالية على التبخر ووجود هاتين الصفتين

يفسر استعمالها كغاز في الحروب (Tabun) ، غير ان البعض منها يستعمل في الزراعة مثل

Diméthoate Fenthion المسؤولان عن أغلبية حالات الوفيات ، Dichlorvos مسؤول عن

التسمم الحاد.

- القسم III : X=CN,OCN,SCN

تملك مركبات هذه المجموعة سمية وسطية بين سمية القسم II و IV ويستعمل العديد منها ، مثل

(Sarin) كغاز في الحروب .

- القسم IV : X = مركبات أخرى

تضم هذه المجموعة أغلبية المركبات المستعملة في الزراعة

بصفة عامة إن المبيدات الفسفورية العضوية التي تملك الوظيفة P=O هي مثبطات مباشرة و سريعة

للإنزيمات ، أما التي تملك الوظيفة P=S هي مثبطات غير مباشرة و التي تتحول بيولوجيا (بعد

هدمها في الجسم) إلى صيغتها الفعالة P=O مثل parathion الذي يتحول إلى paraoxon .

III-2- آية عملها و الخاصية السمية:

تتميز هذه المركبات بخاصية الذوبان في الدهون و الجاذبية العالية نحو الأنسجة خاصة على مستوى الجهاز العصبي المركزي، الأمر الذي يساهم في تدعيم الآلية السمية لهذه المركبات و المتمثلة في تثبيط AchE.

تختلف القدرة السمية للمبيدات الفسفورية العضوية من جزيئه لأخرى ، حيث يعتقد أن تثبيط AchE بواسطة مركب عضوي فسفوري مرتبط بعاملين:

* **جاذبيته نحو الإنزيم** : كلما كان المركب يملك جاذبية عالية ، كلما كان التثبيط قوي .

* **قدرته على فسفرة AchE**: يفترض أن سرعة حدوث الفسفرة مرتبطة بالشحنة الموجبة لذرة الفسفور، وتزداد هذه السرعة مع نقصان حجم الجزيئة (Gaètan et al ., 2005).

إن الدور الحيوي للـ Acétylcholinestérases هو تحليل Acétylcholine بعد الانتهاء من وظيفته إلى choline و acide acétique حيث يملك AchE موقعين inionique و asterasique فبينما يعمل الأول (inionique) على جذب Ach بفضل الشحنة الموجبة للـ AchE المحمولة على الأزوت الرباعي يعمل الثاني على تحليله.

أما في حالة المركبات العضوية الفسفورية (OPs) فإنها ترتبط مع AchE في الموقع esterasique أين تتحلل (OPs) ويتم عندها فسفرة الإنزيم ، فتحول الإنزيم في هذه الحالة تجعل منه إنزيما أكثر استقرارا (غير قابل للتفكك) و تكون إزالة هذه الفسفرة جد بطيئة ، إلى أن تحدث عملية نزع مجاميع الألكيل dealkylation (بعد 24 - 48سا) فتجعل الرابطة بين المركب السام (OPs) و الـ AchE غير معكوسة وهو ما يعرف بظاهرة شيخوخة الإنزيم "aging" وهي ناتجة عن أخذ مجموعة ألكيل alkyl من المركز المنشط للإنزيم الشيء الذي يسبب ظهور شحنة سالبة (-) تمنع تفاعل إزالة الفسفرة (Gaètan et al ., 2005) و في هذه الحالة وحده تركيب إنزيم AchE جديد قادر على إعادة حالة النشاط الوظيفي العادي (Thabet et al.,2009) .

III-3- الميتابولزم العام للمبيدات:

يقصد بميتابولزم المبيد الكيميائي جميع التحولات، البيوكيميائية التي تحصل له داخل أنسجة الحيوان و النباتات أو في الأحياء الدقيقة بفعل الإنزيمات غالباً، أو نتيجة لاحتواء الأنسجة على بعض المركبات الكيميائية النادرة، وتتم عملية ميتابولزم المركبات الكيميائية الغريبة في الكبد وفي الأجسام الدهنية و القناة الهضمية وجدار الجسم بالنسبة للحشرات وبمختلف أنسجة النباتات.

ويختلف التحول البيوكيميائي للمبيدات من كائن حي لآخر، مما يسبب اختلافاً في تأثير المبيدات على مختلف الكائنات فبينما يستطيع أحدهما تحويل المبيد إلى مادة أقل سمية أو غير سامة، يعجز الآخر عن ذلك بسبب عدم توفر الإنزيم اللازم أو حتى يسبب أيضاً التنشيط الذي يتسبب في تحويل المبيدات إلى مركبات أكثر سمية، كما هو الحال مع malathion فبينما تستطيع الثدييات تحويله إلى مركب أقل سمية تعجز الحشرات عن هذا وهو ما يسبب سمية عالية اتجاهها.

نظراً للتشابه الكبير في التركيب الكيميائي للمبيدات الفوسفورية، فإنها تخضع في أنسجة الكائنات الحية لطرق ميتابولزم رئيسية أهمها:

III-3-أ ميتابولزم تنشيطي :

وتتحول فيه المركبات داخل أنسجة الكائن الحي إلى مركبات أكثر سمية من المبيد الأصلي. إن معظم عملية التنشيط تتم بأكسدة المركب وتحدث هذه التحولات في النباتات و الحشرات و الثدييات بواسطة إنزيمات مؤكسدة توجد في جسيمات المايكروسومات و من أهم هذه الطرق:

Desulfuration (تعويض الكبريت بالأكسجين)، مثل تحويل parathion إلى مركب hydroxylation paraoxon (إضافة مجموعة هيدروكسيل)

Sulfoxidation (أكسدة مجموعة الكبريت): يحدث هذا التحول في المركبات الفوسفورية التي تحتوي على ذرة كبريت مرتبطة بذرتي كربون (C-S-C)

III-3-ب - ميتابولزم تدهيمي:

يتحول المركب الفسفوري بواسطته إلى مادة أقل سمية أو إلى مادة عديمة السمية ويتم ذلك بواسطة إنزيمات محللة عديدة منها

phosphatases: وتهاجم هذه الإنزيمات الأواصر P-S-C أو P-O-C و تعتبر إنزيمات محللة رئيسية لهذه المركبات في الثدييات و الحشرات ومن الإنزيمات التي تعود إلى هذه المجموعة، إنزيم Demethylase .

Carboxyesterases: تهاجم هذه الإنزيمات المبيدات الفسفورية التي تحتوي على مجموعة كربوكسيلية كما malathion ، ويكون نشاطها في الثدييات عادة أعلى منه في الحشرات ، تحول هذه الإنزيمات مبيد الملاثيون إلى مركبات ذائبة في الماء هي الملاثيون الأحادي و الثنائي الحامضي يسهل التخلص منها في الثدييات بطريقة أكفأ منها في الحشرات وهذا ما يفسر سبب الاختلاف في تسمية المبيد الحشري .

Amidases: تهاجم هذه الإنزيمات المبيدات الفسفورية الحاوية على مجاميع أميدية (C-NHR) كمبيد Dimethoate حيث تحوله إلى Dimethoate acide غير سام.

III-4- الحركة العامة للمبيدات الفسفورية:

بعد امتصاص المبيدات الفسفورية فإن الجزء الموجود في الدم يهدم بسرعة ويتحول إلى نواتج أيضية métabolites ، وفي نفس الوقت فإن جزء آخر منها يتوزع على الأنسجة ، هذه الأخيرة التي تملك مركبات (OPs) جاذبية عالية لها وخاصة الأنسجة الدهنية منها ، هذا الجزء المخزن مؤقتا يرجع تدريجيا و ببطء إلى الدم ، كل الكمية التي ترجع إلى الدم تكرر الدورة ، هدم -تخزين ثم يتم فيما بعد التخلص من الشحنة الجسدية للنواتج ، حيث أن جزءا منها يتخلص منه في البول ، والجزء الباقي يتخلص منه بطرق (عبر مسارات) أخرى.

رغم أن الحركة العامة للـ (OPs) تبدو متشابهة إلا أن كل مركب يخضع لثوابت تحويل في الجزء من الجسم الذي يتوافق وخواصه (Gaëtan et al ., 2005).

III-5- ميكانيزم التأثير السام للمبيدات العضوية الفسفورية:

III-5-أ- فعلها على المشابك العصبية الخاصة بالأسيتيل كولين :

إن (OPIs) جد محبة للذوبان في الدهون ، مما يسمح لها بالعبور بسهولة عبر كل الحواجز البيولوجية حيث تنتبث بصورة تكافئية بـ AchE المشابك العصبية وألياف الجهاز العصبي المركزي (كما سبق الإيضاح) ، كما ينتبث كذلك مع AchE لكريات الدم الحمراء (AchE -Er) acetylcholinesterases érythrocytaires و butyrylcholinesterases أو pseudocholinestérases الكبدية و البلازمية ، هذان الأخيران يعدان إنزيمان جد حساسان لكن أقل تخصصا ، وهما يشيران عموما للتعرض لمادة مثبطة للـ AchE فحتى لو اخترقت كمية قليلة الحاجز الدموي - الدماغية hématoencéphalique فهي عمليا كافية لتثبيط وفي بعض ثوان كل نشاط AchE.

III-5- ب -فعالها أو تأثيرها على أجهزة إنزيمية أخرى:

تمتلك العديد من المركبات العضوية الفسفورية القدرة على فسفرة بروتين عضبي يعرف ب Neuropathy target esterase (NTE) بروتين غشائي عصبي أساسي يوجد في كل الخلايا العصبية، كما يوجد في بعض الخلايا غير العصبية عند الفقريات ن ولكن يبقى دور ه الفسيولوجي غير معروف (Paul et al ., 1999).

III-6- المظاهر السريرية للسمية الحادة للمبيدات الفسفورية العضوية :

تختلف المظاهر السريرية للسمية الحادة لهذه المركبات باختلاف طريقة و شدة و مدة التعرض من مظاهر هضمية ، تشنج معدي، غثيان ، قيء إلى عضلية : تشنج وشلل عضلي ،اضطرابات تنفسية ،فرط في إفراز السوائل الجسدية إلى انخفاض ضغط الدم الشرياني و بطئ دقات القلبإلخ، ويمكن اختصار وتبسيط هذه المظاهر، حسب نوع مستقبلات Ach المستهدفة n/m و التابعة لها كل فئة من هذه المظاهر، وهو ما يوضحه الجدول التالي:

الأعراض السريرية	العضو	الجهاز
تضييق في حدقة	العين	الجهاز العصبي الذاتي
فرط في إفراز اللعاب	اللسان	Muscaunique - postganglionnaire (الجهاز نظير الودي)
بطئ النبض	الرئتين	-micotinique préganglionnaire (الجهاز الودي)
تقلص شعبي	القلب	-Muscaunique préganglionnaire (الجهاز الودي)
بطئ النبض		
إسهال	الجهاز المعدي-المعوي	
سلس بولي	الجهاز التناسلي-البولي	
تقلصات لإرادية،		
ضعف، شلل ، صرع،	العضلات الهيكلية	المشابك العصبية -العضلية
غيوبية ،إصابة الألياف	الدماغ	الجهاز العصبي المركزي
الجمجمة		Nicotinique /Muscarinique

شكل2: المظاهر السريرية للسمية الحادة للمبيدات الفسفورية العضوية (Rafia et al.,2007)

تتطور هذه المظاهر المختلفة (سابقة الذكر والموضحة في الجدول) وفق ثلاث (3) مراحل محددة:

La Crise cholinergique (récepteurs nicotinique/ Muscaunique)

تتطلب تكفلا خاص في مصلحة الإنعاش، و التي تظهر بعد مدة تختلف باختلاف المبيدات الفسفورية و طبيعة السمية (استنشاق ،جلدية، هضمية) تتمثل هذه المدة في بعض دقائق بعد الاستنشاق و 24 ساعة بعد التعرض للسمية عن طريق جلدي أو هضمي

:Le syndrome intermediaire

يتمثل في إصابة الألياف الجمجمية ،تعب عضلي، وشلل وصعوبة في التنفس وتكون بعد 24 إلى 96 ساعة بعد التسمم (Milan, 2010).

Organophosphate induced delayed neuropathy :La neuropathie retardé

(OPIND)

تظهر بعد ثلاثة أسابيع من التعرض للسمية وتمس غالبا المحور الحركي ، وفي بعض الحالات الحركي الحسي وناذرا الحسي فقط وتمس غالبا الجزء السفلي من الجسم (Raja et al ., 2010) إن مظاهر عصبية أخرى كـ (extrapyramidales, cérébelleuses) ممكنة الحدوث ولكنها نادرة (Rafia et al ., 2010).

III-7- العلاج:

تتطلب المراقبة الصحية في حالة السمية تدخلا سريعا ، وإمكانيات عالية وهو ما يفتقد إليه العالم الثالث مما يسبب زيادة حالة الوفيات بسبب عدم توفر العلاج الصحي المباشر و يتمثل العلاج في :

1- معالجة الأعراض:

معالجة الأعراض ضرورية و يجب توفيرها في أقرب وقت ممكن للحفاظ على سلامة الوظائف الحيوية ،ترتكز هذه المعالجة أساسا على التهوية وتحرير المجاري التنفسية وحتى استعمال تهوية جهازية مراقبة للمريض .

2- معالجة خاصة:

و تتمثل في العلاج المعتمد على الترياق و المتمثلة في :

المعالجة بـ Anticholinergique (sulfate d'atropine) ومادة مجددة للـ (les oximes) AchE ولقد أدخل هذان العلاجان حيز التطبيق سنة 1950 دون أي تجريب سريري مسبق (Thabet et al., 2009).

إن مجموعة واسعة من Xénobiotics ومن ضمنها المبيدات لها القدرة على توليد الجذور الحرة في الأجهزة البيولوجية ويعرف الجذر الحر على أنه أي ذرة أو جزيئه تمتلك واحدا أو العديد من الإلكترونات الفردية (Sameeh et al ., 2009) في مدارها الخارجي ، مما يجعلها غير مستقرة ، حيث تسعى إلى اكتساب الكثرونات عن طريق تفاعلها مع مركبات أخرى ،لتصبح هي مستقرة بينما تصبح المركبات المتفاعلة معها غير ذلك، ولقد أصبحت هذه الجزيئات وسيلة لشرح وتفسير سمية العديد من Xénobiotics وغيرها من المركبات الكيميائية.

تتفاعل بعض هذه الجذور الحرة مع الأنسجة المختلفة مما ينتج عنه عدة اختلالات وظيفية، غير أن الإنزيمات المضادة للأكسدة، Catalase (CAT) Glutathione S- transferase (GST) Superoxide dismutase (SOD) تحد من تأثير هذه الجزيئات المؤكسدة وتمارس نشاطا دفاعيا اتجاه الضرر الخلوي الناتج عن الجذور الحرة بفضل خواصها التي تسمح لها باقتناص هذه المركبات.

ويعرف التوتر التأكسدي على أنه الخلل في الاتزان بين الجذور الحرة و الجزيئات المضادة للأكسدة ،ويحدث سواء للزيادة العالية في إنتاج الجذور الحرة أو ضعف الإنزيمات المضادة للأكسدة أو لكلاهما معا .

وتعد المبيدات الفسفورية العضوية (OPIs) من أكثر Xénobiotics المثيرة للجدل حول الآلية السمية التي تمارسها خلافا عن تلك المعروفة و المتعلقة بتنشيط Acétylcholinestérase (AChE) وذلك بسبب ظهور عدة أعراض جانبية ، ذات صلة أكثر بالتوتر التأكسدي، مشيرة إلى إمكانية تدخل آلية أخرى، أهمها الزيادة في مستويات الجذور الحرة بمختلف أنواعها و الاختلال في مستويات الإنزيمات و المؤشرات الدموية و البيوكيميائية و حتى تلك التي تمس البنى التركيبية وخواصها الوظيفية خاصة الغشائية منها إضافة إلى السمية الجينية .

لقد أثبتت عدة دراسات تسبب (OPIs) في زيادة تركيب الجذور الحرة ،منها تلك الدراسة التي تثبت تسبب السمية الحادة والمزمنة CPF في ارتفاع في مستويات H_2O_2 ، النتريت NO_2^- و النترات NO_3^- في الدماغ والكبد (Anugya et al 2009).

ويعد H_2O_2 من أكثر الجذور قياسا بسبب ثباته مقارنة مع O_2 أو OH وهو من أكثر نواتج الأوكسجين خطورة بسبب قدرته على اختراق الأغشية الحيوية (Anugya et al., 2009) ومشاركته في بناء جذور هيدروكسيلية أخرى، إضافة إلى الجذور الأوكسجينية، تتسبب المبيدات في زيادة تركيب الجذور النيتروجينية Reactive Nitric Species (RNS) والتي لا تقل خطورة عن بقية المركبات الجذرية حيث تسبب سمية جينية خطيرة .

تتفاعل الجذور الحرة مع المكونات الخلوية ومن أهم الجزيئات المستهدفة هي الأحماض الدهنية عديدة عديمة التشبع ، حيث يؤدي تفاعل الجذور الحرة معها إلى أكسبتها وتشكيل مركبات الدهيدية سامة ك Malondialdehyde (MDA) ، حيث يعد هذا الأخير المركب النهائي الناتج عن الأكسدة الليبيدية ويستعمل هذا المركب في قياس وتحديد التوتر التأكسدي ومدى تقدم مراحلها ، ولا يتوقف نشاط الجذور الحرة على هذه المركبات فقط بل يتسبب كذلك في أكسدة البروتينات سواء بالتفاعل المباشر معها أو من خلال تفاعل المركبات الناتجة عن الأكسدة الليبيدية (الليبيدات المؤكسدة) مع البروتينات مؤدية إلى تشكل مشتقات Protein carbonyl (CPOs) وهي مركبات سريعة التشكل و أكثر استقرارا ، يتم تحريرها في الدورة الدموية .

وقد ينتج عن هذا التداخل للجذور الحرة مع مختلف الجزيئات الخلوية عدة اضطرابات وظيفية انطلاقا من التغيرات الشاذة في التركيب المورفولوجي والوظيفي ،تغير مستويات الإنزيمات المعلمة و المعايير الدموية والبيوكيميائية الضرورية لثبات الوسط الداخلي، حيث يتسبب

Diazinone (DZ) مثلا في تغيرات في مستوى الإنزيمات الكبدية والمؤشرات البيوكيميائية ، كما يتسبب في انتفاخ ميتوكوندريا الخلايا الكبدية و القلبية " swelling of metochondria " زيادة على التأثير السمي على الخلايا الدموية ،الطحال ،thymus والعقد اللمفاوية في الجرذان حتى بجرعات أقل من LD50 عند فئران التجارب (Yusuf et al., 2006).

و يمارس (DZ) سميته من خلال تثبيطه لنشاط AchE في البلازما ،الدم والدماغ وقد أظهرت بعض الدراسات أن معالجة فئران ب DZ أدت إلى التثبيط التام لنشاط AchE ، كما يتسبب في تثبيط نشاط ما يعرف ب pseudo- Acétylcholinestérase ،هذا الأخير يكون مشابها ل (AchE) Acétylcholinestérase في التركيب لكن تشرف عليه جينات أخرى، ويتم تركيبه أولا في الكبد

ثم يتواجد في البلازما والأنسجة الأخرى ويستعمل كمؤشر إنزيمي لسمية المبيدات بسبب بساطة تحديده .

وحسب (Yusufe et al., 2006) فان تثبيطاً في نشاط pseudo- AchE لوحظ بعد الأسبوع الأول، الرابع والسابع، من إعطاء DZ للجرذان، وكان اغلب التثبيط في نهاية الأسبوع السابع مصحوباً بزيادة في مستويات MDA ، وفي نفس الوقت لوحظ انخفاضاً محسوساً في عدد كريات الدم الحمراء (RBC)، تركيز الهيموغلوبين Hb، hematocrit parametre، إن هذا التعرض مع مرور الوقت يؤدي إلى انخفاض في ك.د.ح و Hb مؤدياً إلى حدوث الأنيميا (Ayse et al., 2006). وقد يرجع سبب الأنيميا إلى تثبيط كل من عمليتي تركيب كريات الدم الحمراء (erythropoiesis) والهيموغلوبين (hemosynthesis) و إلى زيادة هدم كريات الدم الحمراء في الأعضاء الخاصة أو إلى تأثير المبيدات على الأنسجة الدموية (Yusufe et al., 2006) كما تنتسب بواقى المبيدات في تثبيط العديد من مراحل تشكيل الهيموغلوبين ، مؤدياً إلى تفاقم الأنيميا وذلك راجع إلى التدخل في تركيب الهيموغلوبين وقصر مدة حياة كريات الدم الحمراء السابحة.

I-اختلال المعايير الدموية:

تنتسب السمية الحادة و تحت الحادة (Acute ، Sub-acute) للمبيدات في تغير مؤشرات التوتر التأكسدي، كما ينتسب في حدوث تغير في شكل و مستويات مختلف أنواع الخلايا الدموية كالزيادة في العدد الإجمالي لخلايا Leucocytes (TLC) والصفائح الدموية، عند حيوانات التجارب وكذلك عند الإنسان (Yusufe et al., 2006).

تتميز كرات الدم الحمراء بشكلها الوظيفي ثنائي التقعير و يعتبر التغير في شكل وحجم Erythrocytes من أكثر التغيرات المورفولوجية المرضية المشتركة في اغلب الأمراض، حيث أسفرت المراقبة المجهرية الإلكترونية لكريات الدم الحمراء لجرذان خاضعة لسمية تحت حادة للـ Methomyl (MT) عن ظهور أشكال غير طبيعية تدعى بـ Spherocytosis SEM (حيث تتخذ ك. د. ح شكلاً كروي) و poikilocytosis (شكل شائك) Acanthocytes .

وفي دراسة مماثلة لوحظ حدوث انتفاخ في كريات الدم الحمراء عند الحيوانات المعالجة بـDZ، ويعد التغير في الليبيدات الغشائية احد العوامل المفتاحية في التثوهات الخلوية، ويؤكد هذا من خلال الزيادة المعتمدة في الأوكسدة الفوقية الليبيدية (LPO) في كريات الدم الحمراء المقاسة في مختلف التجارب ، مثل تلك الملاحظة أثناء المعاملة بـ Methomyl (MT) حيث سجل انخفاض محسوس في Glutathione كريات الدم الحمراء وكما هو معروف فان الارتفاع في مستويات الأوكسدة الليبيدية ناتج عن العوز في مخزون GSH (Dharm et al., 2009)، وكذلك هو الحال بالنسبة Chlorpyrifos-ethyl المتسبب في زيادة الأوكسدة الليبيدية في Erythrocytes "In vitro" و "In vivo".

وتعرف عملية الأوكسدة الليبيدية على أنها عملية الهدم التأكسدي للأحماض الدهنية عديدة عديمة التشبع (PUFA) وتحدث بواسطة الجذور الحرة وتكون على مستوى الأغشية الخلوية وتسبب عدة تغيرات في التركيب والوظيفة وتؤدي إلى انخفاض ميوعة الغشاء وتعطيل العديد من الإنزيمات والمستقبلات الغشائية وأخيرا تؤدي إلى تغيير طبيعة الخلية (Dharm et al.,2009).

كما تتسبب المبيدات الفسفورية في ارتفاع ملحوظ في عدد الصفائح الدموية ويرجع هذا الارتفاع إلى هيمنة حالة التوتير التأكسدي في الحيوان أو إلى التغير المرضي في شكل كريات الدم الحمراء مما أدى إلى تحفيز نخاع العظم و رفع عدد الصفائح الدموية لعكس حالة التوتير (والتي يمكن اعتبارها آلية تعويضية) ، الأمر الملاحظ لدى الحيوانات المعاملة بجرعة تقدر بـ4 ملغ/كغ (لمدة شهر) من Methomyl (MT)، وعلى العكس من ذلك لوحظ انخفاض في Trombocytes في الجرذان المعاملة بـ DZ مما يشير إلى كون هذا الأخير قد يكون أحبط عملية تخليقها (Thrombopoiesis).

وقد تتسبب بعض OPIs في زيادة أو نقصان كريات الدم البيضاء (WBC)، حيث لوحظ أثناء المعاملة بـ Dimethoate زيادة في (WBC) عند ذكور الأرانب، بينما لوحظ انخفاضها لدى الدجاج المعامل بـ Monocrolorphos (Yusufe et al., 2006).

وقد أظهرت قياسات العدد الإجمالي لخلايا Leukocytes (TLC) وعدد Leukocytes المتميزة (DLC) اثر المعاملة بـ (MT) تغيرا في مستوياتها، حيث عرفت زيادة معتبرة في عددها الكلي وهذا

قد يرجع إلى تركيبها تحت تأثير Neutrophils أي ما يعرف ب (Neutrophil leucocytosis) الذي يحدث بسبب زيادة مستوياتها، حيث تعد هذه الأخيرة أول خط دفاعي ضد العدوى، الأضرار النسيجية، هجوم الطفيليات و الاستجابة الالتهابية ضد الأجسام الغريبة. إضافة إلى ذلك يشير التغير المورفولوجي لكريات الدم الحمراء إلى انخفاض فترة حياة Erythrocytes، مما ينتج عنه تحفيز لنقي العظام وزيادة في عدد متعادلات الأنوية ، وهو ما أثبتته دراسة سابقة، حيث تتسبب المعالجة ب (DZ) 10مغ/كغ، في زيادة كريات الدم البيضاء ، هذه الزيادة قد تدل على تنشيط لآلية الدفاع و الجهاز المناعي عند الحيوان وقد ترجع كذلك إلى الأضرار النسيجية و الموت الموضعي (Necrosis) الناتج عن المبيدات ، حيث أثبتت الدراسات أن الزيادة في كريات الدم البيضاء الناتجة عن التسمم ب (DZ) تكون مصحوبة بحدوث تورم و التهاب في الأنسجة (Yusufe et al., 2006) مما يدل على الضرر النسيجي الناتج عن المبيدات والذي بدوره يحفز الجهاز المناعي الذي يترجم في زيادة عدد الخلايا الدموية البيضاء المتدخلة في مثل هذه الحالات وتجمعها على مستوى الأنسجة المتضررة.

كما تؤدي السمية المزمنة للمبيدات إلى زيادة محسوسة في Lymphocytes وقد يرجع هذا إلى تأقلم الحيوان لاستجابة لسمية طويلة الأمد، ويرجع ارتباط هذا النوع من الاستجابة بالخلايا للمفاوية لكون هذا النوع من الخلايا يلعب دورا هاما في التفاعلات جسم مضاد-مولد ضد (Antigen-antibody) إلا أن التركيب الفائق لهذه الخلايا هو دليل على تحفيز نقي العظام .

كما يلاحظ كذلك زيادة في وحيدات النواة Monocytes وتعتبر هذه الخلايا جزءا من الجهاز (Reticendothelial systems) في الدم وهي ذات طبيعة بالعة Phagocytic in nature ويرجع ذلك نتيجة تحفيز التوتر التأكسدي الناتج عن المبيدات (Dharm et al., 2009)، مما يدل على استنفار الجهاز المناعي كاملا للتخلص المباشر من الجذور الحرة أو للتدخل من اجل إصلاح وتخفيف الضرر النسيجي

II-الأضرار النسيجية :

زيادة على التغيرات المورفولوجية ، تتسبب المبيدات في عدة أضرار نسيجية في مختلف الأنسجة المعالجة ، أغشية كريات الدم الحمراء ، الكبد، جدران الأوعية الدموية ،عضلات القلب ،أنسجة الكبد والكلى حيث تسبب السمية الحادة ل Omethoate في إلحاق عدة أضرار نسيجية

على مستوى العضلات التنفسية (حجاب حاجز) أهمها الزيادة في النسيج الضام، تغيرات غير طبيعية في حجم وشكل العضلات، تضرر الألياف حيث عرفت انتفاخا في خلاياها وفقدان التخطيط، موت موضعي Necrosis (Mahaboob et al., 2005).

ورغم أهميتها إلى أن عددا قليلا من الدراسات أجريت حول التغيرات المرضية التي تمس الأوعية الدموية، حيث تؤدي السمية الحادة للمبيدات الفسفورية العضوية إلى حدوث تورم (Oedème) حول الأوعية الدموية وتلف الألياف الكولاجينية والمرنة

(Degeneration of collagenous and elastic fibres) في جدران الأوعية الدموية.

كما تتسبب السمية المزمنة في اضطراب في نوعية وكمية الألياف التركيبية، حيث تساهم هذه التغيرات في تسريع الشيخوخة في جدران أوعية الأبر، بينما تتسبب السمية تحت المزمنة عدم انتظام وتجزؤ في الألياف المرنة في طبقة Media مع حدوث توسع في قطر الأبر (Valérie, 2008).

II-1- الأضرار الكبدية :

بينت الدراسات أن المبيدات الفسفورية العضوية تؤثر بصفة مختلفة من عضو إلى آخر حيث يعد الكبد أول عضو مستهدف، من خلال تسبب السمية الحادة وتحت المزمنة لهذه المبيدات في انخفاض نشاط PchE الكبدية وارتفاع مستوى TBARS، زيادة إلى ارتفاع مستوى الإنزيمات الكبدية (ALT, AST) في الدم، ولا يقتصر الضرر النسيجي على السمية المزمنة والحادة فقط، حيث يسبب (DZ) مثلا أضرار بيوكيميائية وبنوية في كبد الفئران حتى بجرعات أقل من جرعة LD50 (Possamai et al., 2007) و يظهر ذلك من خلال التغير في محتوى Protein carbonyl (CPOs) (الذي يعد مؤشر لحدوث التوتر التأكسدي وأكسدة البروتينات) بينما لم تظهر باقي الأنسجة هذه الاستجابة، مما يدل على حساسية الكبد وسرعة تأثيره وتقدم مراحل التوتر على مستواه مقارنة مع بقية الأنسجة ويرجع هذا للدور الأساسي الذي يلعبه الكبد في مختلف مراحل إزالة السمية، مما يضعه في مواجهة خطر التعرض العالي للمبيدات ونواتجها.

ويبقى احتمال إصابة الأنسجة الكبدية بالتوتر التأكسدي الناتج عن التعرض للمبيدات معتمد على الاتزان الحاصل بين درجة التوتر التأكسدي والقدرة الدفاعية الإنزيمية (Sameeh et al., 2007) حيث يلاحظ من خلال نتائج الدراسات الزيادة في نشاط مختلف الإنزيمات المضادة للأكسدة وعلى العكس يلاحظ انخفاضاً محسوساً في مستوى GSH، حيث تعتبر العلاقة بين ضخامة التوتر التأكسدي

والقيم الكبدية لل GSH علاقة عكسية (Ismail and Ismail, 2008). ومن بين أهم الأضرار النسيجية الكبدية المسجلة هي التغير المرضي في شكل البرانشيم الكبدي تحديداً التحلل البؤري للسيتوبلازم The focal degeneration of the cytoplasm المتمثل في افتقار السيتوبلازم للعضيات الخلوية العادية مع زيادة عدد التجاويف الليديية ، فال تفسير المعقول لهذا التحلل هو التسرب الحاد في غشاء الخلايا الكبدية مسبباً خروج K^+ ودخول Na^+ يصاحب ذلك تدفقاً للماء في الخلايا مسبباً تورماً يسبب سمية خلوية (Cytotoxic edema) (Raja et al., 2008).

تستعمل الإنزيمات المصلية مثل ALP,ALT,AST,LDH كوسيلة لتقييم الأضرار الكبدية ، وتعد ALT,AST) Transaminase (إنزيمات مهمة وضرورية في العمليات البيولوجية حيث توجد بنسب عالية في الكبد و الزيادة في مستوياتها خارج هذا العضو وخاصة في المصل الدموي يدل على حدوث ضرر نسيجي ينتج عنه تسرب هذه الإنزيمات في الدورة الدموية، أما ALP و LDH فهي لا تقل أهمية عن سابقتها باعتبارها مسئولة عن إزالة السمية ، العمليات الأيضية وكذا التركيب الطاقوي لمختلف الوظائف الأساسية (Ismail and Huseyin , 2008) .

حيث تشير الدراسات أن المبيدات الفسفورية تسبب ارتفاعاً في نشاط هذه الإنزيمات في مصل فئران التجربة مصحوباً بزيادة مستوى الأوكسدة الفوقية الليديية (LPO) مع انخفاض في مستوى الإنزيمات المضادة للأوكسدة ، وترجع زيادة النشاط إلى الخلل الوظيفي الكبدي والاضطرابات في التركيب البيولوجي لهذه الإنزيمات مع تغير في نفاذية الغشاء الكبدي، يكون الارتفاع في مستوى هذه الإنزيمات مصحوباً دوماً بأضرار نسيجية وفوق تركيبية تؤكد الدراسات النسيجية ، حيث أن حدوث هذا الضرر الخلوي يشير إلى وجود علاقة بالتسرب الإنزيمي ، كذلك إن زيادة نشاط LDH المصلي قد يرجع إلى الموت الموضعي Necrosis للخلايا الكبدية المؤدي إلى تسرب الإنزيمات إلى الدورة الدموية كما لوحظ خلال الضرر الكبدي نقص في كفاءة الجهاز المضاد للأوكسدة (Sameeh and Abdel-Tawab,2009) ، تؤكد هذه النتائج أن التغير في البناء النسيجي للكبد هو عبارة عن استجابة للمبيدات الفسفورية الراجع للأثر السمي للجذور الحرة المتسببة في أضرار لمختلف مكونات الغشاء .

II-2- الأضرار الكلوية :

تسبب المبيدات في إحداث عدة أضرار نسيجية على مستوى الكلى ،مثل تلك التي تسببها السمية المزمنة للـ Methidation (MD) والمتمثلة في تصلب كبيبي ،احتقان وتليف للأوعية الدموية (Glomerular sclerosis) ، موت موضعي بؤري أنبوبي (Focal tubular necrosis) ،

Sever interstitial mononuclear cells infiltration

Hydrodegeneration of tubular epithelial, المقاسة *in vivo* و *in vitro*

(Osman et al., 2005).

II-3- الأضرار الميتوكوندرية :

لقد حددت الميتوكوندريا على أنها أول عضيه تصاب بسمية المبيدات، وقد يرجع هذا إلي دورها الأساسي في العمليات الأيضية، حيث أن فقدانها لوظيفتها يكون مصحوبا بالعديد من الاضطرابات المرضية العصبية بسبب اعتماد الدماغ على طاقة الميتوكوندريا للحفاظ على فسيولوجيته السليمة (Mariana et al., 2009) ومن أهم الأضرار التي تسببها المبيدات هي حالة التشوه المورفولوجي للميتوكوندريا حيث يتسبب (DZ) و Dimmethoate في انتفاخ الميتوكوندريا وأخذها للشكل الفجوي Vacuoles and swelling metochondria في كل من الخلايا الكبدية والنسيج القلبي للجرذان ، إضافة إلى تثبيط أنزيماتها (Ayse et al ., 2006, Yusuf et al., 2006) ،وقد يرجع هذا التغير المورفولوجي إلى زيادة الطلب الطاقوي الضروري للخلية،وهنا يجدر بنا التساؤل عن إذا ما كانت الزيادة في تركيب الجذور الحرة ،ناجمة فقط عن المبيدات أو عن هذا التنشيط الفائق للميتوكوندريا .

II-4- الاضطرابات في مستوى الكالسيوم :

يولد التوتر التأكسدي الناتج عن المبيدات الفسفورية عدة اضطرابات في مستويات الكالسيوم خاصة داخل الخوي مما ينتج عنه العديد من الاختلالات الوظيفية نظرا للدور الأساسي الذي يلعبه الكالسيوم في مختلف الوظائف الحيوية.

حيث يسبب التعرض لل CPF ارتفاعا في مستويات Ca^{++} داخل خوي لخلايا شبكية العين ، عند فئران التجارب (Fu et al., 2008) ومختلف خلايا الجسم.

وقد يرجع هذا الارتفاع إلى ضعف الحاجز الخلوي الغشائي الناتج عن عطب أو تضرر الليبيدات الغشائية بسبب الأكسدة الليبيدية وفقدانها لوظيفتها، إضافة إلى هذا قد يؤدي تفاقم الأضرار التأكسدية لليبيدات الغشائية إلى تضرر نفاذية الغشاء مما يؤدي إلى ارتفاع مستويات الكالسيوم Ca^{++} داخل خلوي مؤديا إلى زيادة تركيب أكسيد النترريك NO (لأن الكالسيوم هو المسئول عن تنظيم الإنزيمات المشرفة على تخليق NO المعروفة بـ Nitric oxide synthase (NOS) ، مما يؤدي إلى تفاعلها مع الجذور الحرة المتوفرة بكم هائل تحت ظروف التوتر التأكسدي، مؤدية لحدوث سلسلة من التفاعلات ينتج عنها مجموعة من المركبات تسبب عدة أضرار جزيئية مسببة سمية خلوية وجينية خطيرة مؤدية إلى الموت المبرمج Apoptosis cells.

وقد تتخطى سمية المبيدات المعايير البيوكيميائية و الأضرار النسيجية لأخطر من ذلك وصولا إلى مستويات جزيئية بل جينية

III- السمية الخلوية و الجينية :

تتسبب الجذور الحرة ROS و MDA في حدوث وتقدم حالات التسرطن ، فالزيادة في تركيبها قد تؤدي إلى عدة أضرار خلوية وجزيئية ، مسببة الأكسدة الليبيدية ، طفرات في الجينات المثبطة للأورام Tumor supressor gene أو الجينات المتحكمة في الإنزيمات المضادة للأكسدة (Anugya et al.,2009).

وتمارس المبيدات سميتها الجينية سواء بطريقة مباشرة من خلال تنشيط أيضي ينتج عنه وسائط - محبة للإلكترونات- Electrophiles قادرة على التداخل مع الأحماض النووية، أو بواسطة آليات أخرى غير مباشرة مثل التوتر التأكسدي ، تثبيط الإتصال بين الخلوي ، تشكيل مستقبيلات نشطة وغيرها ، وفي تحقيقات أجريت على أشخاص تعرضوا للمبيدات بسبب نمط المعيشة، اعتبرت

الإضافات Adduits على DNA احد معالم السمية الجينية ، حيث لوحظت إضافات في DNA الخلايا الدموية عند الأشخاص العاملين في المجال الزراعي المعرضين لمزيج من المبيدات، بمعدل 8,5 إضافة لكل 10⁹ نيكليوتيدة، كما أظهرت عدة مبيدات (Methyl parthion, Malathion) قدرتها على إحداث الطفرات في الفئران وذلك من خلال قدرتها على التسبب في تغيير

تتابع DNA ، كسر في DNA إضافة إلى إحداث انحرافات في الكروموزومات -خلايا نقي العظام-

وقد يرجع هذا النشاط التطفيري لوجود مواقع محبة للإلكترونات Electrophilic sites في الجزيئة الأم أو النواتج الأيضية والقادرة على الارتباط مع Nucleophilic sites للعديد من المركبات (Ismail and Huseyin , 2008) (Possamai et al.,2010).

وتعد النواتج الأوكسيجينية للمبيدات أكثر سمية ب2-8 مرات من المركبات الأم (Gennaro et al.,2007) ومن أهم الصور التنشيطية للمبيدات هي Paraxon, oxon القادرة على بناء روابط مع القواعد الأزوتية والتسبب في طفرات جينية كما قد تتسبب الجذور الحرة هي كذلك في هذه الأضرار عن طريق اتصالها المباشر بالأحماض والقواعد الأزوتية وتسببها في تشوهات مورفولوجية علي مستوى DNA (تشكيل جسور، إضافات Adduits ، كسر في الـضفيرة.. الخ) أو عن طريق تدخلها في مختلف المسارات الأيضية الضرورية في ثبات وعمل الجزيئات الجينية، من بينها أكسيد النتريك .

يعد أكسيد النتريك Nitric oxide (NO) أحد أهم الجذور الحرة نظرا للدور الأساسي الذي يلعبه في العديد من العمليات الحيوية، خاصة العصبية وهو كغيره من الجذور له استعداد كبير للتفاعل مع غيره من المركبات من أخطرها O_2 و H_2O_2 (خاصة لدى زيادة مستوياتها نتيجة التعرض للـ OPIs) لينتج عنه على التوالي Nitrate, (NO_3^-) Nitrite (NO_2^-) Peroxynitrite ($ONOO^-$) حيث يتسبب هذا الأخير في أكسدة مجاميع Sulfhydryl، الليبيدات، الإنزيمات، DNA و نترجة البواقى العطرية للبروتينات في الظروف الفسيولوجية مؤديا كل هذا إلى أضرار وسمية خلوية، كما قد تتسبب مركبات أخرى مشتقة من أكسيد النتريك مثل nitrotyrosine في التدخل في عمليات الفسفرة /إزالة الفسفرة احد أهم العمليات المنظمة لمختلف المسارات أو التغيير في وظيفة البروتينات (Anugya et al.,2009).

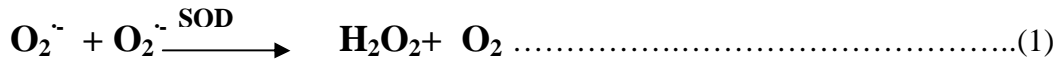
يعد الموت الخلوي المبرمج من أحد مظاهر السمية الخلوية والجينية للمبيدات والنواتج خاصة عن السمية الحادة والمزمنة، والنواتج عن إما الأثر المباشر للصيغ الفعالة مثل Paraxon الذي أثبتت الدراسات in vitro تسببه في الموت المبرمج من خلال إحداث خلل وظيفي في الميتوكوندريا مسببا تنشيط Caspase-3 (Baha et al.,2009)، أو من خلال التركيب الفائق لأكسيد النتريك (NO) تحت تأثير المبيدات المحفز للموت المبرمج، حيث أن التركيز العالي للـ NO

يحفز Cytochrome C الذي ينشط Caspase3/9 (أحد مظاهر الموت المبرمج)، أو من خلال تثبيط نشاط مختلف أنواع الإنزيمات المضادة للأكسدة (Baha et al.,2009) ورغم اختلاف مظاهر السمية من عضو لآخر إلى أن جميع النتائج تشير إلى اشتراك الجذور الحرة في هذه الأضرار وأن الآلية الخلوية المعتمدة من طرف هذه المبيدات هي الأكسدة الليبية .

IV- تأثير المبيدات الفسفورية العضوية (OPIs) على الإنزيمات المضادة للأكسدة:

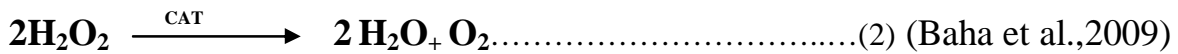
تمتلك الخلية مجموعة متطورة من الآليات الدفاعية المضادة للأكسدة التي تؤمن لها الحماية ضد الجذور الحرة و المتمثلة في جهاز دفاعي متكامل، حيث تتصافر جزيئاته الإنزيمية منها و غير الإنزيمية في التخلص من الجذور الحرة.

ويعتبر إنزيم superoxide dismutase (SOD)، أول إنزيم يتدخل لتعديل سلسلة التفاعلات الجذرية من خلال تحفيزه لعملية Dismutation للجذر فوق الأكسيد O_2^- إلى بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 وفق المعادلة التالية:



ويتواجد إنزيم (SOD) في خلايا النباتات والحيوانات الهوائية تحديدا في Peroxisome (Valko et al.,2006).

و يتنافس كل من Catalase (CAT) و Glutathione peroxidase (GP_x) لتحويل بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 إلى ماء وأكسجين وفق المعادلة التالية :



إضافة إلى هذا يوجد خط دفاعي آخر غير إنزيمي تعمل جزيئاته على اقتناص الجذور الأوكسجينية و النتروجينية النشطة (RNS) (ROS) والمتمثلة في Glutathione و α -toopherol وهي أهم المركبات الحامية للجزيئات المحبة للذوبان في الماء والدهون على التوالي.

ويتضح من خلال هذا التنوع الكبير في صيغ الإنزيمية وغير الإنزيمية للـ Glutathione ، الدور الأساسي الذي يلعبه من خلال تدخله في مختلف عمليات إزالة الأكسدة ، اقتناص وتعديل المركبات الجذرية... الخ.

إن أي خلل في نشاط أحد أفراد هذا الجهاز الإنزيمي قد يؤدي إلى هيمنة النتوتير التأكسدي مسببا خلا في وظيفة وثبات الخلية.

تتسبب المبيدات الفسفورية بواسطة زيادة تركيب الجذور الحرة في إحداث تغيرات على مستوى الإنزيمات المضادة للأكسدة، أما الانخفاض في مستوياتها مما ينتج عنه ضعف القدرة الدفاعية العامة ، رغم ارتفاع النشاط الإنزيمي.

حيث تتسبب العديد من المبيدات، منها Malathion ، Diazinone (DZ) ، Chlorpyrifos في تغيرات في مستوى الإنزيمات SOD ، GP_x ، CAT تحت تأثير سمية تحت مزمنة (Fu et al.,2007) (Possamai et al.,2007) بينما تؤدي السمية تحت الحادة للـ Chlorpyrifos إلى انخفاض مستوى

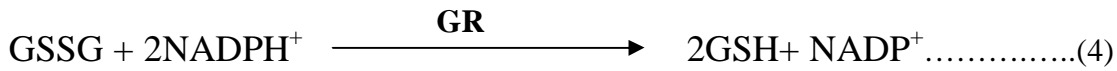
هذه الإنزيمات، مصحوبة بارتفاع (TBARS) thiobarbituric acid reactive oxygen species في الكبد الكلى ، الطحال (Sameeh and Abdel-Tawab, 2009). كما قد يتسبب نفس المبيد في اضطراب في النشاط الإنزيمي، كما هو الحال بالنسبة Malathion القادر على خفض نشاط SOD أو زيادته في حالات أخرى.

وقد يرجع زيادة نشاط مختلف الإنزيمات الدفاعية إلى تحفيزها من طرف النتوتير التأكسدي ، وتعتبر هذه الزيادة كاستجابة فسيولوجية لعكس وتخفيف النتوتير التأكسدي ، أما الانخفاض في قيمها فقد يعزى إلى استهلاكها أو استنزافها اثر تدخلها في مختلف عمليات إزالة الأكسدة فقد يعود انخفاض مستوى SOD إلى استنفاده خلال عملية تحويل O_2 إلى H_2O_2 و CAT خلال تحويل H_2O_2 إلى ماء مع زيادة نسبة تركيب الجذور الحرة ، أما انخفاض GST فيدل على عدم استنفاء إزالة السمية .

ومن أهم المركبات المعنية بهذه الاضطرابات Glutathione ، الذي يلعب دورا أساسيا في الدفاع عن الخلية في حالة النتوتير التأكسدي من خلال تدخله للتخلص منها أو عن طريق استعماله من طرف GP_x أو GST في تحديد مستويات عدة مركبات أدهيدية و بيروكسيدية داخل الخلية (Gennaro et al.,2007)، إضافة إلى دوره كمساعد إنزيمي، و حمايته لمجاميع Thiol البروتينية

من الأكسدة ، إزالة السمية واقتناص OH ، $ONOO^-$ ، ROO ، RO ، O_2 .

وعموما تسبب المبيدات الفسفورية ك CPF انخفاضاً في قيم GSH وارتفاعاً في صورته المؤكسدة GSSG في كل من كرات الدم الحمراء، الكبد الطحال ، الكلى، الدماغ (Radhey et al.,2007) (Sameeh and Abdel-Tawab, 2009)، إن هذا الاضطراب يؤدي إلى انخفاض في النسبة GSH/ GSSG التي تعتبر كمؤشر للحالة التأكسدية للخلية، رغم هذا يلاحظ ثبات هذه النسبة في العديد من الحالات، وذلك ناتج عن التأثير المزدوج للمبيدات الفسفورية على صورتي Glutathione (المؤكسدة والمرجعة) ف CPF مثلاً يعمل على خفض الصورتين. كما قد تستعمل الخلية احد الصورتين لتجديد الأخرى كآلية تعويضية مثل ما هو موضح في المعادلة التالية :



قد تؤثر المبيدات الفسفورية على تجديد Glutathione من خلال تثبيط G6PDH (باعتباره الإنزيم الأساسي لتجديد NADPH⁺)، رغم هذا تلجأ الخلية إلى آليات تعويضية أخرى تحت هذه الظروف، مثل الزيادة في تركيب GSH الكبدي من خلال زيادة تركيب الإنزيم 8-glutamyl-systeine synthétase (الإنزيم المسؤول عن مراقبة و تركيب Glutathione) ، حيث بينت العديد من التجارب أن الخلايا الكبدية قادرة على تركيب GSH وخفض قيم GSSG (Mariana et al., 2009).

إن GP_x حساس لتراكم الجزيئات النشطة الأوكسجينية والنيتروجينية ROS / RNS وقد تتسبب الاضطرابات في السلسلة التأكسدية في إصابة ذرة السيلينيوم المتوضعة في الموقع النشط له (Mariana et al., 2009) مسببة عجزه عن أداء وظائفه وبالتالي الانخفاض في نشاطه، كما يمكن لل-ONOO⁻ و O₂⁻ أن يثبط نشاط CAT عند إصابة مجموعة الهيم (Heme group) الموجودة في الموقع النشط، أما الزيادة في مستويات H₂O₂ الناتجة عن هذا التثبيط يمكنها أن تتسبب في تثبيط نشاط SOD (Astiz et al., 2009) (Sameeh and Abdel-Tawab, 2009).

يعد أكثر إنزيمين عرضة للتضارب في مستويات نشاطهما، مجاميع Glutathione و CAT وقد يرجع التضارب في مستوى Glutathione بسبب تشعب دوره في مختلف العمليات المضادة للأكسدة ، أما CAT فقد شذ عن القاعدة العامة في بعض الحالات ، حيث لوحظ عدم تأثر مستوياته أو نشاطه بعد المعالجة بمبيدات مختلفة.

حيث بين (Possamai et al., 2007) أن حزن كريات الدم الحمراء في Diazinone (DZ) أدى إلى زيادة نشاط SOD و GP_x دون ملاحظة أي تغيير في نشاط CAT مع مختلف تراكيز DZ وفي مختلف مراحل الحزن. بينما تشير دراسة أخرى أن CAT لم يحفز إلا بعد التعرض لجرعات ضعيفة من Malathione (من 25-50 مغ/كغ) في السمية الحادة أو المزمنة.

إذن يخضع CAT لمعايير خاصة لتحفيزه وبداية تنشيطه، على عكس باقي الإنزيمات، حيث يظهر استجابة مماثلة لاستجابة باقي الإنزيمات في السمية تحت المزمنة لل Malathione في كل من الكبد، الرئتين، الحجاب الحاجز، عضلات الفخذ..... فقط عند وصول الجرعة إلى 25 مغ/كغ (Possamai et al., 2007).

ومن خلال نتائج مختلف التجارب والدراسات يتجلى بوضوح أن معايير التوتر التأكسدي الناتجة عن سمية المبيدات تختلف حسب مدة التعرض أي حسب نوع السمية، حيث أن التعرض المزمن للمبيدات الفسفورية يجعل الجذور الحرة تستنزف الجزيئات المضادة للأكسدة الموجودة في الجسم وهذا ما يفسر ضعف قدرة الإنزيمات المضادة للأكسدة في حالة السمية المزمنة وعلى العكس فإنه في حالة التعرض تحت المزمن (40-45 يوم) يلاحظ زيادة في قدرة الإنزيمات المضادة للأكسدة مع ارتفاع مستويات الأكسدة الليبيدية، وهذا ما يعني أن الجسم يمكنه الدفاع عن نفسه في حالة التعرض تحت المزمن بزيادة إنتاج الإنزيمات المضادة للأكسدة، هذه القدرة الدفاعية تقشل في الوقوف ضد تراكم الجذور الحرة في حالة طول مدة التعرض، أما في حالة التسمم الحاد فيتسبب التشكيل الفائق والسريع للجذور الحرة في زيادة الأكسدة الليبيدية واستنزاف الجزيئات المضادة للأكسدة، فلا يستطيع الجسم تعويضها (أو تجديدها) في فترة وجيزة، لذا من الطبيعي أن يلاحظ ضعف في القدرة الدفاعية العامة وزيادة مستويات الأكسدة الفوقية الليبيدية .

V- السمية العصبية:

لقد أجريت عدة دراسات حول السمية العصبية الناتجة عن التعرض الحاد و المزمن للمبيدات الفسفورية، شملت عدة مناطق من الدماغ، القشرة، الحصين، جذع الدماغ، المخيخ كما اعتمدت بعض الدراسات إلى تقسيم الدماغ إلى ثلاث مناطق، أمامي، أوسط وخلفي وذلك لتحديد الضرر التأكسدي ومدى تأثر واستجابة كل جزء منه.

وحسب (Radhey et al., 2009) فإن التعرض المزمن ل CPF و MPT يؤدي إلى توليد النتوتير التأكسدي في مناطق الدماغ الثلاثة ، كما يؤدي إلى تراكم أهم مركبين ناتجين عن الأكسدة الليبيدية هما MDA و 4HNE وارتفاع مستويات GSSG (Osman et al., 2005).

ترجع حساسية الجهاز العصبي للأثر السمي للجذور الحرة إلى انخفاض مستوى الإنزيمات المضادة للأكسدة و مجاميع Thiol و التركيز العالي للمعادن - خاصة الحديد- و المركبات سريعة التأكسد مثل Catecholamine و التركيز العالي لسلاسل الأحماض الدهنية عديدة عديمة التشبع (PUFAs) (مثل 22:6 و 22:5) ووجود العديد من النواقل العصبية ذاتية التأكسد مثل Dopamine إضافة إلى معدل الأيض العالي (Mariana et al., 2009) (Anugya et al., 2009) .

تتسبب الجذور الحرة في أكسدة الليبيدات الغشائية خاصة الأحماض الدهنية عديدة عديمة التشبع (PUFAs) ، تغير وظيفة و تركيب المستقبلات و الإنزيمات الغشائية مؤدية إلى تغيير في نفاذية و ميوعة الغشاء مما ينتج عنه تدفق الأيونات و فقدان الغشاء لوظائفه و ضعف النشاط الخلوي إضافة إلى إمكانية تفاعل نواتج الأكسدة الفوقية الليبيدية مع غيرها من المركبات و القدرة على إلحاق الضرر بالجزيئات الكبرى (Osman et al., 2005) كما سجلت حالات فقدان في الخلايا العصبية تحت الظروف التأكسدية تزامنا مع زيادة الأكسدة الفوقية الليبيدية و ارتفاع مستوى المركبات الناتجة عنها 4HNE و لقد لوحظ في تجارب أخرى أن السمية الحادة للمبيدات الفسفورية تسبب ارتفاع مستوى المركبات الناتجة عن الأكسدة الفوقية الليبيدية و أكسيد النتريك في أدمغة الفأران (Osman et al., 2005)

إن زيادة تركيب الجذور الحرة مع الضعف النسبي للقدرة الدفاعية لمضادات الأكسدة في الجهاز العصبي المركزي CNS تعتبر الأسباب الأساسية في زيادة النتوتير التأكسدي في الخلايا العصبية. لقد أثبتت نتائج دراسة تهدف إلى لتحديد استجابة بعض مناطق الدماغ للنتوتير التأكسدي ، أن التعرض الحاد أو المزمن للـ Malathion يتسبب في انخفاض مستويات GST,GR في قشرة الدماغ بينما لم تسجل أي إصابة في الحصين ، كما لم يلاحظ أي تغيرات في مستويات GP_x و GSH_T (الكلي) سواء في قشرة الدماغ أو الحصين ، بينما تم تسجيل ارتفاعا طفيفا لكنه معنوي في مستوى G6PDH في قشرة الدماغ و يدل الانخفاض في GR أن محتوى GSH لم يسترجع المستويات الحقيقية بسرعة،

بينما يدل انخفاض GST في قشرة الدماغ دون الحصين عن عجزه في إزالة السمية في هذه المنطقة و ضعفها مقارنة مع الأخرى (Patricia et al., 2005)، غير أن هناك تضارب في نتائج الدراسات حول انخفاض أو زيادة مستوى GST في الأنسجة العصبية حيث لوحظ في بعض الحالات ارتفاع مستوى GST في الدماغ ، ورغم هذا إلا أن أغلبية الدراسات تجمع على عدم حدوث تغير في مستوى GSH_T وكذا مجاميع Thiol غير البروتينية تحت تأثير السمية الحادة ، وقد يرجع هذا إلى الآلية التعويضية التي تعتمد عليها الخلية و ذلك من خلال زيادة مستويات الإنزيم G6PDH الذي يلعب دورا مكافئا لدور GR ، حيث يعمل هذا الأخير على توفير الشكل المختزل لـ Glutathione (GSH) إنطلاقا من الشكل المؤكسد GSSG من أجل الحفاظ على المعدل الحيوي لمجاميع Glutathione وهذا ما يفسر كذلك ثبات النسبة GSH/GSSG في مستوياتها.

إن Chlorbyrifos (CPF) هو من أكثر المبيدات الفسفورية المسببة للسمية الخلوية على مستوى الجهاز العصبي المركزي حيث ينتج عنه سمية عصبية من خلال تدخله في التضاعف و التمايز الخلوي، كما يتسبب في سمية إتجاه Oligodendrocyte progenitor مؤديا إلى موتها، إن هذه الخلايا مثل العصبونات جد حساسة للنتوت التأكسدي و يرجع ضعف هذه الخلايا إلى احتوائها على تراكيز عالية للحديد والمعادن الضرورية لعملية تشكيل المايلين ، إضافة إلى محدودية جهازها المناعي.

إن الموت الخلوي الملاحظ في هذه الخلايا كان مرفوقا بتجزؤ النوية و تكثفها، إضافة إلى تنشيط Caspase 3/7 و يعتقد أن موت الخلوي الناتج عن CPF يحدث بسبب الموت المبرمج (Marilyn et al., 2009).

1-V- السمية العصبية في الدماغ النامي: أو السمية العصبية للنمو

(Developmental neurotoxicity)

يختلف تأثير السمية العصبية الناتجة عن Chlorbyrifos من فئة عمرية لأخرى حيث أثبتت الدراسات أن صغار السن سواء في الإنسان أو الحيوان تكون أكثر حساسية لل CPF من كبار السن (Marilyn et al., 2009).

و لقد أجريت عدة دراسات على إناث جرذان حوامل ، وكذلك جرذان حديثي الولادة لتقييم الضرر الناتج عن المبيدات الفسفورية، ودراسة استجابة الجهاز الدفاعي عند الجنين ومدى تأثر جهازه العصبي.

حيث أظهرت الدراسات أن إعطاء CPF لحوامل (الجرذان) في اليوم 17-20 من الحمل أو جرذان حديثي الولادة بعد اليوم 1-4 لم يتسبب في ارتفاع مستوى (TBARS) في مختلف مناطق دماغ الأجنة حتى جرعات تعدت عتبة السمية الجهازية Systemic toxicity ،على عكس ذلك فإن استهلاك CPF في الأسبوع الثاني بعد الولادة - وهي مرحلة ذروة بتمايز الخلايا العصبية و تكوين المشابك- .
Neuronal cells differentiation and synaptogenesis ، تسبب في زيادة مستوى TBARS حتى عند جرعات غير محدثة للسمية الجهازية (Theodore et al., 2005) .

من المستغرب أنه بالرغم من المحدودية النسبية للآليات الدفاعية - المضادة للأكسدة- وارتفاع معد النمو ، لم يظهر دماغ الجنين أي مؤشر على حدوث الأكسدة الليبيدية بعد التعرض للـ CPF حتى بعد أن تعدت الجرعة 40ملغ/كغ، وهي جرعة أعلى بكثير من الحد الأدنى للعتبة المسببة للسمية الجهازية عند الأم و الجنين ، رغم إثبات أن CPF يتغلغل إلى دماغ الجنين و تسبب في تثبيط AchE بنسبة 40% عند الجرعة 5ملغ/كغ، كما سجلت أضرار تأكسدية على مستوى الكبد عند جرعات مماثلة ،وأعلى من هذه الجرعة ،مما يدل أن CPF يمكن أن يحدث التوتر التأكسدي في مناطق مختلفة من الجنين وفي دراسات مماثلة سجل أثر ضئيل للتوتر التأكسدي في الدماغ عند الاستهلاك المباشر لحديثي الولادة للمبيد (1-4 بعد الولادة) و عند التعرض مرة أخرى ، وحده الكبد أصيب عند جرعات سامة. إن ارتفاع مستويات TBARS الكبدي ، يلغي احتمال فشل وصول CPF إلى دماغ الجنين وتجنبه التوتر التأكسدي بفضل هدم الأم له.

على عكس النتائج السلبية للأجنة و حديثي الولادة ، أظهرت أدمغة الجرذان (المعاملة في الأسبوع الثاني) تضررا ، حيث كان التأثير في الدماغ كبيرا جدا و يفوق التأثير في الكبد ، إن المناطق المستهدفة تنير بوضوح أن التحفيز الفائق للمستقبلات النوعية للـ Ach ليس هو المسؤول عن الأضرار التأكسدية حيث تضرر المخيخ أكثر من جذع الدماغ.

إن هذا التباين في النتائج في هذه المرحلة العمرية المتقاربة يثير إشكالية حدوث تغير في الدماغ في هذه المرحلة من النمو و تسببه في زيادة حساسيته اتجاه التوتر التأكسدي .

لقد استطاعت دراسة مخبرية تحديد مرحلة حاسمة للضعف الخلوي ، للخلايا العصبية تتعلق بذروة مرحلة التمايز أين يصبح الأيض ج د عال ، حيث سجل ارتفاع حاد للـ TBARS في كل من جذع الدماغ والجزء الخلفي للدماغ خلال أسبوع الثاني بعد الولادة وهي مرحلة التمايز السريع

period of rapid differentiation المصحوبة بتشكيل المشابك Synaptogenesis، كذلك إن الحساسية العالية لقسم الدماغ الخلفي forbrain (مقارنة مع جذع الدماغ) إتجاه CPF تطابق مرحلة التمايز الخلوي، وقد يرجع سبب تقادي جذع الدماغ للأكسدة الفوقية الليبيدية إلى النمو المبكر لهذه المنطقة، مما يسمح له باكتساب خلايا glia التي تؤمن له الحماية ضد التوتر التأكسدي (Theodore et al., 2005).

VI- تأثير المبيدات الفسفورية العضوية على الخصوبة:

لقد سجل العديد من العلماء في دراسات جديدة انخفاض نسبة الإنجاب في المجتمع البشري وارتفاع نسبة ضعف الخصوبة Infertility من 50 إلى 60% منذ سنة 1960 حتى يومنا الحالي، الناتجة عن تعرض الإنسان لمختلف أنواع الملوثات البيئية، المواد الصناعية، بقايا المبيدات، Xénobiotics وغيرها في حياته اليومية.

إن الأضرار الناتجة عن الجذور الحرة المحر بواسطة المبيدات تساهم مباشرة في ضعف الخصوبة الذكرية حيث أن الزيادة العالية في تركيب الجذور الحرة قد تؤدي إلى ضعف في تركيب الهرمونات الستيرويدية و تخليق النطاق بآليات مختلفة تضم إتلاف DNA، الأكسدة الليبيدية وأكسدة البروتينات (Astiz et al., 2009).

حيث أظهرت نتائج فحص عينات حيوانات معرضة لسمية مزمنة لمزيج من المبيدات و لكن بجرعات ضئيلة عدم اتران بين تركيب الجذور الحرة و الإنزيمات المضادة للأكسدة، وتغير في مستويات الإنزيمات حيث سجل ارتفاعا في نشاط GPx وبالمثل سجل ارتفاع جد عال لمستوى Glutathione في البلازما و الخصية وقد يعتبر هذا الأخير كآلية تعويضية خلوية لمحاولة إحداث اتران خلال التوتر التأكسدي، كما لوحظ ضعفا في وظائف الغدة الجنسية والذي قد يرجع إلى زيادة مستوى الجزيئات النتروجينية النشطة (RNS) وخاصة Nitrite (NO_2^-) وأكد هذا من خلال إدخال مثبطات لتركيب أكسيد النتريك (NO) المؤدي إلى انخفاض حالات الموت المبرمج و التغيرات النسيجية المرضية المصحوبة بسمية خلوية لخلايا الخصية.

تعتبر أكسدة الليبيدية لأغشية النطاق الآلية المفتاح في الأضرار التي تصيبها و الناتجة عن الجذور الحرة، استنادا إلى ارتفاع مستويات malondialdehyde (MDA)، خاصة عند الحيوانات

المعرضة لأكثر من مبيد ، مشيرة إلى أضرار تأكسدية خطيرة في أغشية الخلايا، كما لوحظ كذلك نفس المستوى من الضرر البروتيني ، المقاس بواسطة Protein carbonyl (CPOs) المشكل، إضافة إلى هذا تسبب الأكسدة الفوقية الليبيدية في إلحاق أضرار بقواعد DNA. وتختلف قدرة الخلايا التناسلية في تعديل الجذور المختلفة RNS/ROS على سبيل المثال تمتلك خلايا " Sertoli " أقوى جهاز مناعي دفاعي و هذا راجع لدورها في حماية عمليات تخليق النطاف ويظهر هذا من خلال زيادة نشاط GR و GSH_T في كل من خلايا Sertoli وحتى في خلايا Peritubular التي تمتلك نفس الصفات .

وتتمتع خلايا النطاف الجرثومية "germ cells" بحماية من خلايا " Sertoli " بسبب ضعف جهازها الدفاعي حيث تمتلك مستوى نشاط جد ضعيف لل GP_X و GST و تكون النطاف الناضجة أكثر عرضة لهجوم الجذور الحرة لأنها غير محمية من طرف خلايا " Sertoli " على عكس الخلايا الجرثومية، كما أن غشائها غني بالأحماض الدهنية عديدة عديمة التشبع إضافة إلى عدم قدرتها على إصلاح ضرر DNA.

ولا يقتصر الضرر الناتج عن المزيج من المبيدات على ضخامة و تقاوم نتائج التوتير التأكسدي ، بل يتسبب كذلك في حدوث اضطرابات في الهرمونات ، حيث لوحظ انخفاض في Testosterone و انخفاض في تركيب Estradiol حيث يدل انخفاضه في الخلايا المعالجة على تضرر ميتابولزم هذا الأخير بشدة بسبب المبيدات، حتى أن تحفيز المحور الغدي -النخامي (gonadal-pituitary) غير قادر على إصلاح هذه الاضطرابات، كما تتسبب السمية تحت الحادة أو تحت المزمنة ل Methyl parathion في زيادة نسبة النطاف الشاذة وانخفاض في العدد الإجمالي للنطاف عند الفئران المعالجة (Ismail and Huseyin , 2008).

من الطبيعي أن يكون DNA مقاوما لشتى الأخطار بسبب تركيبه المكثف، لكنه يكون مستهدف من طرف بعض المركبات مثل المبيدات الفسفورية ،حيث سبق وأوضحت الدراسات أنها تتسبب في الإضرار بكروماتينات النطاف و لكن بألية تبقى غير واضحة (Elsa et al ., 2008)، حيث أظهرت دراسة وبائية تضرر النسبة Chromatine/DNA في نطاف أشخاص تعرضوا لمختلف أنواع المبيدات الفسفورية وذلك من خلال قياس مؤشر للتعرض للأكسدة الفوقية الليبيدية في البول (dialkylphosphates).

وفي دراسة مماثلة أجريت على عمال في موسم رش المبيدات لوحظت تراكيز ضعيفة بالميكرومول (μM) للمركبات الفسفورية في المنى غير أنها وجدت بتراكيز عالية في المسالك التناسلية بسبب التعرض الهائل للمبيدات أثناء الرش (Elsa et al., 2008)، ومن أكثر المناطق التي كانت بها المركبات الفسفورية عالية التركيز هي المسالك التناسلية خاصة البربخ و لكن هذا التركيز لم يظهر بالضرورة في المنى.

إن من أهم مظاهر السمية الجينية للمبيدات الفسفورية هي زيادة مستويات تجزئ DNA وقد يكون هذا التجزؤ في النطاف الناضجة بعد التعرض لمختلف المبيدات الفسفورية و نواتجها الأكسجينية مماثلا للتعرض الحاد العالي خلال موسم الرش.

إن سلامة Chromatine/DNA في النطاف ضروري لنقل الصفات الوراثية لذا فإن شكل الكروماتين مهم للخصوبة، حيث لوحظ مخبريا أن النطاف التي حدث فيها تجزئ عالي للـ DNA تكون مصحوبة بانخفاض في معدل الخصوبة و الحمل، وقد يتعلق إتلاف الكروماتين بعوامل أخرى، خلال مرحلة تشكيل النطاف أثناء التوتير التأكسدي، وأحدها هو النصح في البربخ حيث يلاحظ زيادة في تجزئ DNA النطاف خلال انتقالها عبر البربخ وذلك من خلال التعرض لجرعة أحادية لأحد أنواع المبيدات الفسفورية مثلا، ويكون خطر الأضرار الجينية جد عالي خلال مراحل تشكيل النطاف (تكتف الكروماتين) بسبب نقص ميكانيزمات الدفاع و ضعف القدرة على إصلاح DNA و الإنزيمات المضادة للأكسدة.

لا أحد يمكنه أن ينكر فضل استهلاك الأطعمة الطبيعية علي الصحة، حيث أن استهلاك الخضر والفواكه بكميات كافية 600غ/يوم يساهم في الوقاية من العديد من الأمراض :السرطان الأمراض القلبية الوعائية ، السمنةالخ

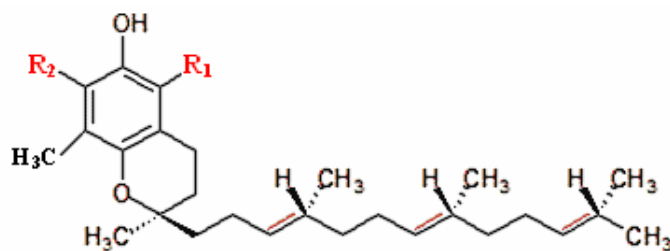
ترجع الفائدة الصحية للخضر والفواكه لاحتوائها على حريرات قليلة وغناها بالألياف ، المعادن الفيتامينات والمغذيات الدقيقة ، حيث تعتبر جد مهمة لحماية الجسم وتوفير الطاقة اللازمة لمختلف العمليات الحيوية ، كما هو الحال بالنسبة لمضادات الأكسدة الموجودة في مختلف الأغذية النباتية و التي تعد المصدر الأساسي لغذائنا و الغنية بالفيتامينات أهمها الفيتامين E ، الفيتامين C إضافة إلى ما يعرف بعديدات الفينول Polyphenols

أولا الفيتامين E :

اكتشف الفيتامين E سنة 1922 من طرف الباحثان Herbert Evans و Khathrine Bishop ، أثناء إجراء تجارب على الجرذان ، حيث لوحظ وجود مادة هامة في الخضروات الورقية والبنور الزيتية حيث ارتبط وجودها في هذه الأغذية بزيادة خصوبة هذه الحيوانات . وفي سنة 1936 تمكن Evans و Emmerson من عزله من زيت طلائع القمح وتحديد تركيبه الكيميائي ، ونجح P.Karrer سنة 1938 في تركيبه وأطلق عليه الاسم العلمي " tocopherol " المشتق من الاسم اليوناني " tocos " الذي يعني " نسل و ذرية " و " pherein " الذي يعني " جالب " أي جالب النسل " إن صح القول.

I-1- تعريف الفيتامين E :

الفيتامين E مصطلح يدل على مجموعة من المركبات الفينولية تدعى " tocopherols " (tocol) ومجموعة tocotrienol . وتتكون tocol من أربعة أنواع (β ، α ، δ ، γ) تختلف عن بعضها البعض حسب توضع مجموعة الميثيل على الحلقة العطرية (شكل 3) .

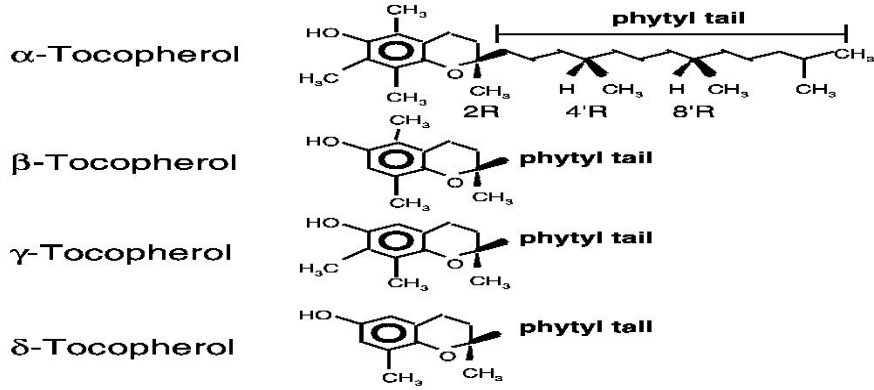


	R1	R2
α -tocopherol	CH3	CH3
β -tocopherol	CH3	H
γ -tocotrienol	H	CH3
δ -tocopherol	H	H

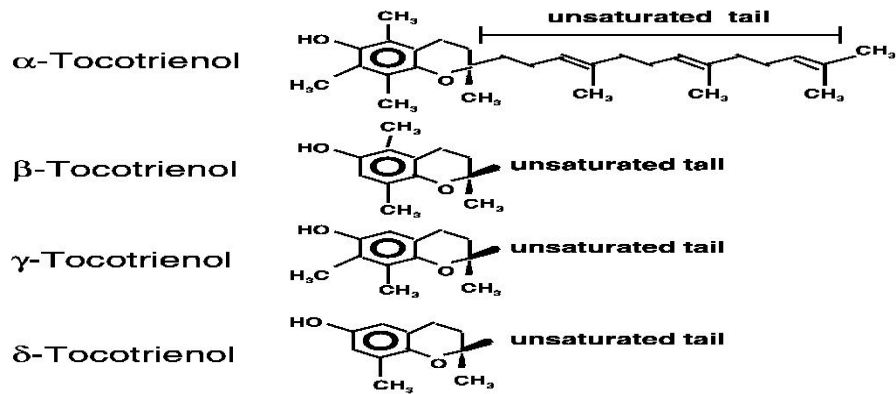
شكل 3: التركيب الكيميائي لمختلف أنواع tocopherols

وتعد tocotrienol أقل أهمية وفعالية من tocol بسبب تركيبها الكيميائي ، حيث تمتلك ذيلاً يتكون من سلسلة من الأحماض الدهنية غير المشبعة ، على عكس tocopherols التي تمتلك ذيلاً يدعى " phytyl tail " (شكل 4) .

A



B



شكل 4 : شكل مقارنة بين النوعين tocopherol و tocotrienol

A : مجموعة tocopherol كلها في شكل RRR-form

B : مجموعة tocotrienol تمتلك ذبلا غير مشبع

ويلبي الجسم حاجياته البيولوجية من الفيتامين E من الإضافات الغذائية، ويوجد خاصة في الخضروات الورقية، البذور الزيتية، المكسرات و الزيوت النباتية .

ويتم دخول الفيتامين E إلى الدورة الدموية بواسطة الجهاز اللمفاوي ، حيث يوجد في البلازما الدموية بصورة مرتبطة (α -TTP) مع النواقل الكبدية " Hepatic α -tocopherol transfer protein " التي تكون مسئولة عن تحديد مستوياته البلازمية (Maret et al., 2007) .

ولقد وجد أن الأنواع الأخرى خلافا عن α -tocopherol تلقى صعوبة في تعرف النواقل عليها (Maret et al., 2007) ، مما يحد من مستوياتها البلازمية وهو ما يؤكد كفاءة وفعالية النوع α -tocopherol عن غيره من الأنواع.

ويتم توزيع الفيتامين E على كامل الأنسجة (بعد ارتباطه)، و يتم تخزينه في الأنسجة الدهنية ، العضلات وكذلك في الكبد و عدة غدد إفرازية.

ينتشر الفيتامين E في العديد من البروتينات الدهنية البلازمية (Plasmic lipoprotein)، حيث يعتبر من أكثر مضادات الأكسدة تواجدا في جزيء LDL (Low density lipoproteins) (تقريبا ستة جزيئات من α -tocopherol في كل وحدة LDL) (Lesley and Manohar, 2003)، أي ما يعادل 65% ، و 24% في HDL (High- density lipoproteins) و 8% في VLDL

(Verry low-density lipoproteins)

إضافة إلى أن 50% يوجد في الأنسجة الدهنية (في صورة Triglycerides بتركيز 300 μ g/g).

I-2 - النشاط المضاد للأكسدة للفيتامين E :

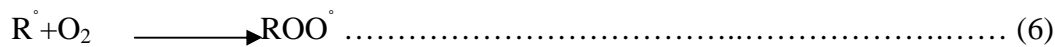
يعرف الفيتامين أنه مضاد الأكسدة القاطع لسلسلة التفاعلات (Chain- breaking antioxidant) الذي يمنع فوق الأكسدة الليبيدية بواسطة منع انتشار سلسلة تفاعلات الجذور الحرة (Swaran et al; 2003)، ويتمثل دوره المضاد للأكسدة في الأسر المباشر للجذور الحرة وحماية الأحماض الدهنية عديدة عديمة التشبع (PUFAS) ، الفسفوليبيدات الغشائية وكذلك اللبوبروتينات البلازمية ، وترتبط خواصه المضادة للأكسدة بقدرته على منح ذرة الهيدروجين (Maret et al., 2007).

ومن أهم الجذور المتفاعلة مع الفيتامين E الجذر البيروكسيلي (ROO \cdot) حيث يتفاعل هذا الأخير مع الفيتامين E ، 1000 مرة أسرع من تفاعله مع الأحماض الدهنية عديدة عديمة التشبع (PUFAS).

تتفاعل مجموعة الهيدروكسيل الفينولي (The phenolic hydroxyl group) للتوكوفرول مع الجذر العضوي ROO \cdot (Organic peroxy radical) ليشكل organic hydroperoxide و الصورة الجذرية Tocopheroxy radical (Vit E-O \cdot).

ويمكن توضيح ذلك وفق المعادلات التالية :

1- في حالة غياب الفيتامين E :



2- في حالة وجود الفيتامين E :



ويعد الجذر Tocopheroxy radical الناتج، جذرا مستقرا نسبيا ويمكن أن:

- 1- يختزل بواسطة مضادات أكسدة أخرى إلى tocopherol
 - 2- يتفاعل مع جذر Tocopheroxyl آخر ليشكل مركب غير متفاعل مثل tocopherol dimers
 - 3- يتأكسد إلى Tocopheroxyl quinone
 - 4- يتفاعل بصفته مؤكسد ويؤكسد لبيدات أخرى
- طبعاً مع وجود الفيتامين ومضادات الأكسدة الأخرى المرجعة فان إمكانية حدوث 3-4 يبقى ضئيلاً وبنسب محدودة.

I-3- النشاط البيوكيميائي و الجزئي للفيتامين E :

إن الخاصية المحبة للذوبان في الدهون للفيتامين E تسمح له بالتواجد في الأغشية الخلوية مؤمناً الحماية لمكوناتها من الأضرار التأكسدية وبالتالي الحفاظ على خواصها البيولوجية ، إضافة إلى دوره الهام في حماية الأحماض الدهنية يعمل الفيتامين E على حماية LDL من الأكسدة وبالتالي يقي من الأمراض الوعائية القلبية ، إضافة إلى دوره الأساسي في مختلف العمليات البيولوجية :

- * تشكيل وحماية كرات الدم الحمراء.

- * ضروري لتطور الخلايا الجنسية وخلال الحمل لأنه ضروري و هام جداً لتطور الأنسجة المولدة للدم بصفة سليمة عند الجنين.
- * تأخير الشيخوخة.

إضافة إلى مختلف تدخلاته الجزيئية :

- * تنشيط Protein kinase C (المسئول عن التوالد، التمايزو الموت الخلوي)

- * تنشيط Interleukin-1 المحرر من طرف الخلايا المناعية من خلال تنشيط 5-lipoxygenase وبالتالي يلعب دوراً مضاداً للالتهاب.

- * زيادة تركيب PGI_2 , PGI_2 .

- * مراقبة تعبير Cytosolic phospholipase A_2 , Cyclooxygenase-1

I-4- دو الفيتامين E في التخلص من سمية المبيدات الفسفورية العضوية:

لقد أثبتت عدة دراسات فضل الفيتامين E في التخلص و التخفيف من سمية المبيدات الفسفورية العضوية ، الناتجة عن التوتر التأكسدي، وذلك من خلال دوره المعروف بقطع سلسلة التفاعل الجذري الغشائي و الاقتناص المباشر للجذور الحرة مما يؤمن حماية للمركبات الغشائية خاصة PUFAS و الفوسفوليبيدات من الأكسدة وبالتالي الحفاظ علي حيوية الغشاء الخلوي ، وهو ما يفسر دوره في تحسين بعض الأضرار المورفولوجية الناتجة عن سمية المبيدات الفسفورية العضوية سابقة الذكر ، مثل دوره في تحسين الشكل المورفولوجي والوظيفي لكريات الدم الحمراء (Dharm et al., 2009) وكذا مساعدة أنسجة الكبد وبعض الأنسجة الأخرى المتضررة بفعل التوتر التأكسدي الناتج عن المبيدات الفسفورية العضوية في التحسن .

لقد أثبتت الدراسات أن العوز في الفيتامين E يتسبب في ارتفاع ملحوظ في تركيب H_2O_2 في ميتوكوندري العضلات الهيكلية ، وعلى العكس فإن إضافته كمكمل غذائي قد تساهم في انخفاض تركيب (H_2O_2 في الميتوكوندري الكبدي) مما يدل على أن الفيتامين E قادر على مراقبة توليد O_2 وجذور حرة أخرى (Yusuf et al., 2006) .

إن الفيتامين E بفضل خفض توليد الجذور الحرة الميتوكوندرية لا يخفف التوتر التأكسدي فحسب بل يتدخل في تعديل مسارات إشارة أخرى وعمليات تأكسدية حساسة ، وهذا ما قد يؤدي إلى تأخر انطلاق أمراض خطيرة أو خفض التوتر التأكسدي الناتج عن المبيدات أو مركبات أخرى (Radhey et al., 2009) .

واختلفت نتائج الدراسات الحديثة حول نجاعة الفيتامين E في التخلص من التوتر التأكسدي الناتج عن المبيدات الفسفورية العضوية، فحسب (Dharm et al 2009) فإن إدخال الفيتامين E كمكمل غذائي يؤدي إلى انخفاض الأكسدة الليبيدية وارتفاع في مستوى GSH كما أدى إلى زيادة نشاط CAT,GSHPx الذي ينتج عنه تعديل نشاط SOD (الذي كان يعاني ارتفاعا) ويظهر كذلك دوره الفعال من خلال رفع العدد الإجمالي لخلايا Leucocytes المتمايزة (TLC) و اللمفاويات وتعديل عدد الصفائح ،
nutrophile, Monocytes, lymphocyte لدى جرذان التجارب المتضررة بسبب المبيدات الفسفورية العضوية .

في حين تؤكد (Nahla et al., 2009) أن المعالجة الفيتامين E تعيد حالة النشاط العادي لبعض الإنزيمات المضادة للأكسدة المفقودة بسبب المبيدات الفسفورية (DZ) ، غير أن الارتفاع في نشاط، SOD, CAT, GSHP_x, GST, غير كافي لاختزال قيم MDA أو لرفع نسب GSH لنفس مستوياته القياسية (مجموعة الشاهد)، رغم ذلك فإن المعالجة ب الفيتامين E قد تكون ناجحة في خفض سمية المبيد بواسطة إخماد (قمع) التوتر التأكسدي الناتج عنه، كما بينت بعض الدراسات الدور المباشر للفيتامين E في التخلص من سمية المبيدات من خلال إعادة نشاط AchE إلى مستواه العادي.

يتداخل الفيتامين E مع مختلف الأنواع الجذرية الأوكسجينية منها والنتروجينية ، حيث لوحظ أثناء المعاملة بالفيتامين E ارتفاع في مستوى NO_2^- , NO_3^- (التي يعتقد أنها تلعب دورا لقطع سلسلة تفاعلات فوق الأكسدة الليبية بتداخلها مع ROO^\bullet الناتج عن سمية Fenthion -مبيد فسفوري-) إما بواسطة تنشيط الإنزيمات NOS المسؤولة عن تركيب NO أو بواسطة تثبيط هدمه .

I -5- القوة المضادة للأكسدة للمزيج فيتامين E فيتامين C :

يعتبر الفيتامين C من أهم مضادات الأكسدة القابلة للذوبان في الماء، وهو أهم مقتنص للجذور الحرة في الجزء الخارج خلوي (الجزء القابل للذوبان في الماء). حيث بفضل نشاطه الخارج خلوي يوفر حماية للغشاء وذلك بالتخلص من الجذور الحرة قبل وصولها إلى الغشاء وبالتالي يقيه من الأضرار التأكسدية ، إضافة إلى دوره كمضاد أكسدة يعمل على تجديد الفيتامين E من صورته الجذرية (Tocopheroxyl) إلى صورته النشطة (α -Tocopherol) ، زيادة إلى دوره كمرافق للفيتامين E (Co-antioxydant) حيث يمكن للفيتامينين التداخل مع بعضهما . حسب (Osman et al., 2005) فإن المعالجة المسبقة لفئران بمزيج الفيتامينين C و E بجرعات متكررة (لمدة ستة أيام متتالية) قبل التعرض للمبيد CE تعمل على خفض الأكسدة الليبية الناتجة عنه، كما أدت المعاملة بالمزيج بعد 30 دقيقة من المعاملة ب fenthion و MD إلى انخفاض في الأكسدة الليبية .

ورغم أن المزيج يتسبب في زيادة نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة CAT, GST,SOD ومستوى كريات الدم الحمراء ، إلا أنه يلاحظ انه لم يسجل أي إضافة في التخلص من الأكسدة الليبيدية ، بل أن نشاطه التثبيطي كان مماثلا لنشاط الفيتامين E ، لذا يظهر أن هذا الأخير أول خط دفاعي ضد الأكسدة الليبيدية .

وكما هو معروف فإن الآلية السمية الأولى للمبيدات الفسفورية تتمثل في تثبيط AchE غير أن المعاملة بمزيج الفيتامينين C و E بعد 30 دقيقة من المعاملة بالمبيد ،تتسبب في زيادة ملحوظة في نشاط AchE ومنه يمكن الاستنتاج أن المزيج يعمل على تجديد نشاط AchE (Osman et al., 2005) وكما هو الحال بالنسبة للفيتامين E ، يعمل المزيج على إصلاح بعض الأضرار خاصة الكبدية منها الناتجة عن المبيدات ، غير أن عدم قدرة المزيج على إصلاح وترميم كافة التغيرات النسيجية المرضية يدل على تدخل آليات أخرى.

كما يساهم المزيج في محاربة السمية الناتجة عن المبيدات في خصية جردان التجربة من خلال تحسين عدد وحركية ومورفولوجية النطاف، غير أن هذا المزيج لا يستطيع استرجاع نسب FSH LH, Testostérone , ورفعا إلى مستواها الطبيعي .

ويمتلك هذا المزيج وظائف بيولوجية أخرى ، منها تحفيز الجهاز المناعي ،تخريب النواتج الأيضية المسرطنة.

إذن يبقى دور الفيتامين E لوحده أو ممزوجا مع غيره من الفيتامينات يقتصر على الوقاية والحماية النسبية من سمية المبيدات الفسفورية ،ولا يمكن أن يوفر حماية كلية ضد المبيدات.

ثانيا عديدات الفينول

II-1- تعريف عديدات الفينول :

تمثل عديدات الفينول قسما واسعا من المركبات النباتية الكيميائية (Phytochemical) ، وهي مركبات أيضية ثانوية ناتجة عن عدة مسارات ، تتكون من واحد أو العديد من أنواع الفينولات ، وهي من أكثر المركبات انتشارا في المملكة النباتية، تتوزع على كامل النبتة من الجذور إلى الثمار.

II-2- مصدرها :

توجد عديدات الفينول في العديد من الأطعمة ذات المصدر النباتي وتحديدا : الفواكه ، حيث يمكن أن تصل إلي 100-500 ملغ في بعض الفواكه مثل : التفاح ، العنب ، الكرز ، المشروبات (الشاي ، القهوة ، النبيذ) والشوكولاتة ، بينما توجد بصورة أقل في الخضر والحبوب ، حيث تحتوي الخضر على ما يقارب 25-100ملغ/غ .

II-3-استهلاكها اليومي:

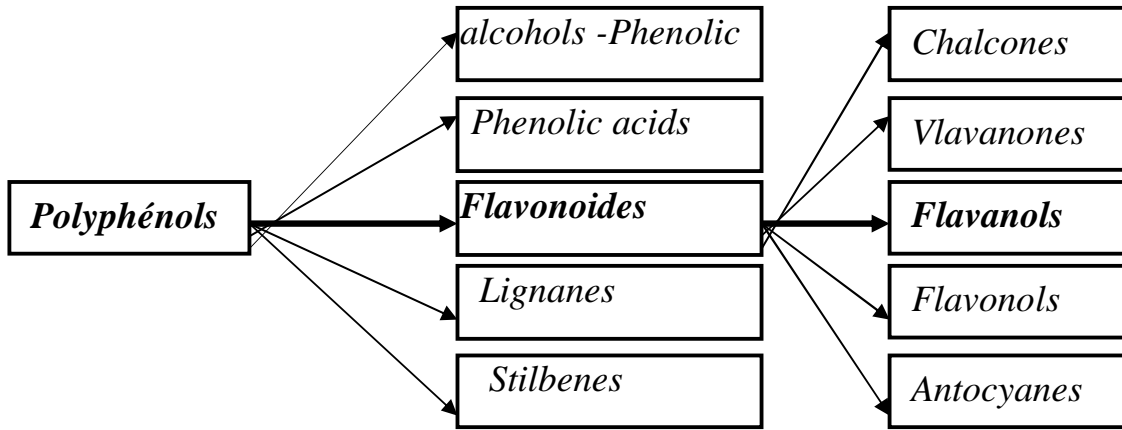
تعتبر عديدات الفينول من أكثر مضادات الأكسدة الموجودة في الغذاء ، حيث يستهلك الفرد حوالي 1 غ يوميا (Dilip and Arjan, 2008) أي ما يعادل 10مرات أضعاف الفيتامين C و100مرة أضعاف الفيتامين E و Caroténoides .

تعتبر هذه المركبات نواتج أيضية ثانوية ، وهي عبارة عن أصبغة ومركبات عطرية ، تمنح النباتات اللون والرائحة كما تساهم في الدفاع عن النبات عن الأخطار الخارجية وحمايتها من الأمراض خاصة الجرثومية و الأشعة فوق البنفسجية .

تمتلك عديدات الفينول (مثل الفيتامينات E , C , Carotenoids) خواصا مضادة للأكسدة ، من خلال الاقتناص المباشر للجذور الحرة، كما تعمل على تعزيز الدفاع الذاتي ضد التوتر التأكسدي من خلال حمايتها للمركبات النسيجية (اللبيدات والمركبات الأخرى) كما تتميز بقدرتها على خفض نسبة الأيونات المعدنية (Fe^{+} , Cu^{+}) وذلك بفضل قوة الارتباط العالية التي تمتلكها اتجاه هذه المعادن (Ruchi et al., 2007) وتساهم بدرجة كبيرة في توفير الفيتامينات الأخرى خاصة الفيتامين E

كما تتميز عديدات الفينول بامتلاكها صفات خاصة ، كجاذبيتها للمستقبلات الخلوية مثل مستقبلات Estrogène و تدخلها في مختلف مسارات نقل الإشارة ، وهذا ما يترجم مجموع التأثيرات الايجابية لهذه المركبات ،(المثبتة على حيوانات التجربة) ويرجع التأخر في اكتشاف خواصها (خاصة المضادة للأكسدة وغيرها التي مازالت محل دراسة لحد الساعة) إلى التنوع الكبير في تركيبها الكيميائي حيث تم تحديد حتى الآن حوالي 8000 مركب وهي مركبات سريعة التأكسد ، يمكن تقسيمها إلى عدة أقسام حسب عدد حلقات الفينول ومكوناتها الكيميائية إلى الفلافونويدات Flavonoids الأحماض الفينولية Phenolic acids، الكحولات الفينولية alcohols- Phenolic ، Stilbenes و .
(Massimo et al., 2007) lignans (شكل 5)

وتختلف عديدات الفينول من نبتة لأخرى وذلك تبعا لنوع وعدد العمليات الأيضية التي تخضع لها ، فمثلا تشبه Epicatechine ,Catéchine الموجودة في الكاكاو تلك الموجودة في الشاي ولكنها تختلف عنها في الخواص والتركيب، وذلك لخضوعها لعمليات أيضية أخرى (2-5 مراحل بلمرة polypheresation) ، وتعد أسرع امتصاصا ،هدما وطرحا من نظيراتها ، بينما تجد مماكباتها صعوبة في التنقل في الأغشية الخلوية وفي امتصاصها .



شكل 5: أقسام عديدات الفينول

II -4- التواجد البيولوجي لعديدات الفينول :

لا تعتمد التأثيرات الصحية لعديدات الفينول على الكمية المستهلكة فقط بل تتوقف على تواجدها الحيوي في العضوية .

لقد أثبتت الدراسات المخبرية *In vitro* أن لعديدات الفينول قدرة مضادة للأكسدة تفوق قدرة الفيتامين C و E ، إذ تم امتصاصها بطريقة مماثلة لهذه الأخيرة ولكن الحقيقة الفسيولوجية غير ذلك، حيث أن عديدات الفينول لا توجد أبدا بصورتها النباتية الأولية، داخل العضوية بل تكون منزوعة السكر -Deglycosilés- ومرتبطة مع مجموعات مختلفة (glucuronide,sulfate,méthyle) ، فيغير هذا لارتباط من تفاعلاتها ويسهل التخلص منها عن طريق الصفراء أو البول.

ويتم ارتباطها قبل عبورها إلى الدم البابي ويتم امتصاص وكذا إفراز بعض من هذه المركبات المرتبطة في لمعة الأمعاء مباشرة من طرف الخلايا المعوية، وعلى عكس الفيتامينين E و Carotenoids التي تتراكم في الأنسجة الدهنية ، فان عديدات الفينول لا يمكن تخزينها ، كما أنه لا يوجد نظام يساعد على الحفاظ على نسبة عديدات الفينول السابحة في الدم (آلية تخفض الاستتباب الداخلي لعديدات الفينول) .

وهي نقاط جديرة بالاهتمام لتثمين قدرة هذه المركبات في أداء دورها الدفاعي على أحسن وجه (علما أن هذه المركبات يمكنها أن تمارس نشاطات بيولوجية أخرى مثل دورها في حماية الأيض العظمي) .

II - 5 - لمحة عن الفلافونويدات :

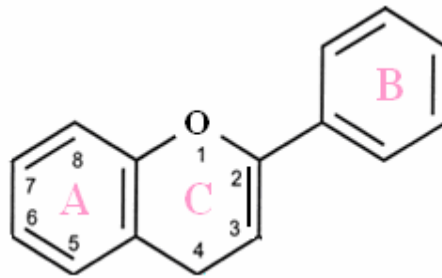
إن أول دراسة أجريت حول النشاط البيولوجي للفلافونويدات نشرت سنة 1936 من طرف Szent-Gyorgyi و Rusznyàk اللذان اعتقدا أنها فيتامين وسميها بالفيتامين P، ثم تم التخلي عن هذه الفكرة بسبب عدم وجود أي صفات مشتركة بين الفلافونويدات وتعريف الفيتامينات، ومنذ ذلك الوقت والفلافونويدات تسترعي اهتمام الباحثين ، بسبب تنوع تركيبها وخاصة بسبب منافعها الصحية (Valérie , 2008) .

ولقد أدخل مصطلح فلافونويدات Flavonoids سنة 1952 من طرف Geissman et Hinreiner لوصف أي صباغ يملك هيكلًا $C_6-C_3-C_6$ (مماكب لـ Flanones) والمشتق من الكلمة اللاتينية Flavus والتي تعني أصفر (Moudir, 2004)، أي أصبغة صفراء، وعموماً تمثل الفلافونويدات القسم الأكبر من عديدات الفينول (حوالي 60٪) ولقد تم تحديد 9000 مركب لحد الآن، تتدخل الفلافونويدات في نقل الإلكترونات خلال التركيب الضوئي وحماية النبات من الأشعة فوق البنفسجية وغيرها من الخواص، وتوجد الفلافونويدات في الفواكه، الخضراوات، الزيوت، الحشائش، التوابل الأزهار والمشروبات والعصائر.

II-5-1 التركيب الكيميائي للفلافونويدات :

تمتلك الفلافونويدات مصدرا تركيبيا حيويا مشتركا، ناتج عن تداخل مسارين «Shikimate» و «Acetate malonate» لذا تمتلك جميعها هيكلًا قاعديًا مشتركًا يتمثل في نواة الفلافون (2- phenyl-benzo- γ -byrane)، مكونا من 15 ذرة كربون متمثلة في حلقتي بانزان A, B (benzen rings) مرتبطة بواسطة ذرات كربون، كما هو موضح في الشكل 6 (Massimo et al., 2007).

ويمكن للفلافونويدات أن تنقسم هي الأخرى إلى ستة تحت أقسام حسب درجة أكسدتها إلى : Flavonols, Flavones, isoflavones, Anthocyanes, flavanols, proanthocyanidines (Estany et al., 2007).



شكل 6 : الهيكل القاعدي للفلافونويدات (Valérie , 2008).

II-2-5-2- مصدرها :

إضافة إلى وجودها في الخضر والفواكه، توجد الفلافونويدات في النباتات العليا وتحديدًا عند بعض العائلات Polygonaceae ,Rutaceae, Legumineuses, Ombellifères ,Composeae (Moudir, 2004) و نحصل على أغليبيتها من المستخلصات النباتية كالشاي ، النبيذ ، الككاو (Valérie , 2008) ، كما توجد كذلك في العسل ، الحشائش والتوابل مثل البقدونس (Persil) و الزعتر (Thym) فنجد l'apigenine يتواجد خاصة في البقدونس و Lutéoline في الزعتر ، بينما تحتوي العشبة العطرية l'aneth على أكبر نسبة من Myricetine ، ويتميز الشاي الأخضر عن بقية أنواع الشاي باحتوائه على أكثر من نوع من الفلافونويدات .

توجد الفلافونويدات في القسم الهوائي من النباتات وتتراكم الأنواع المحبة للماء منها في الحويصلات وتتركز في بشرة الأوراق أو تنتشر بين البشرة و الطبقة الوسطى (mésophile) حسب النوع النباتي ، كما تتركز في خلايا البشرة بالنسبة للأزهار ، وقد يمثل مزيج الفلافونويدات عند بعض الفواكه ما يقارب 1% من الفاكهة الطازجة كما هو الحال بالنسبة للليمون ، وتكون الفلافونويدات ذات الوزن الجزيئي الصغير مسؤولة عن المرارة و الذوق الحامض (اللاذع) .

II-3-5-3- استهلاكها :

قد يتراوح الاستهلاك اليومي للفلافونويدات تقريبا بضع عشرات الميغرامات أغلبها في صورة Quercétine وذلك لكثرة انتشاره، كما قدر استهلاك Flavons و Flavonols بحوالي 20-28 ملغ يوما غير انه من الصعب تحديد كمية الفلافونويدات المستهلكة يوما وذلك راجع لتداخل عدة عوامل قد تؤثر على نوعية وكمية الفلافونويدات الموجودة في النباتات ، حيث قد يتأثر تركيبها بعدة عوامل منها اختلاف مدة التعرض للإضاءة ، التركيب الوراثي للنباتة ... كما قد يختلف المحتوى الفلافونويدي من ثمرة إلى أخرى حتى لو كانت من نفس المصدر (الشجرة) ، ومن جزء لآخر وذلك حسب درجة التعرض للشمس .

إضافة إلى أن طريقة تناول الأغذية تؤثر بصفة عالية على المحتوى الفلافونويدي على سبيل المثال يتسبب تقشير الفواكه و الخضر في فقدان جزء كبير من الفلافونويدات لأن أغلبها يتواجد في الطبقات الخارجية (طبقة البشرة) ، كما يتسبب طهوها في سلب مكوناتها الأساسية، حيث أظهرت

الدراسات أن الخضر تفقد ما يقارب 80% من محتواها الأصلي من الفلافونويدات بعد طهوها لمدة 15د و 65% بعد طبخها في الفرن الكهربائي .
كما تتسبب الصناعات الغذائية في تخريب هذه المكونات بسبب طريقة إعدادها من تقشير وتزيين مما يتسبب في أكسدة الجزيئات المهمة (Valérie , 2008).

II-5-4- الامتصاص و التواجد الحيوي:

لقد أصبح أيض وحركية عديدات الفينول عموما والفلافونويدات خصوصا محور اهتمام العديد من الباحثين في العشرية الأخيرة وقد نال الفلافونول حصة الأسد وذلك لوجوده في معظم النباتات حيث أظهرت الدراسات سرعة امتصاص الفلافونويدات وقدرتها على اختراق الجدار المعوي ووصولها إلى الدورة البلازمية ، حيث تقدر مستوياتها بالميكرومول (وهي تراكيز أظهرت فعاليتها (In vitro) كما أنها تمتص بصورة أعلى من الفيتامين E و Caroténoids .

حيث أظهرت الدراسات أن امتصاص Lutéoline في المعى الدقيق قد تصل حتى 60% من الكمية المستهلكة وأن نصف عمره يقدر ب2 حتى 28 ساعة ، ويتم طرح الفلافونويدات في الصفراء و الاثنا عشر ثم يعاد امتصاصها في الدورة المعوية-الكبدية وهو ما يفسر طول نصف عمرها (Valérie , 2008).

توجد أغلبية الفلافونويدات في العضوية كبقية عديدات الفينول بصورة تختلف عن صورها الأولية ، حيث يظهر Lutéoline في أحد صوره monoglucuronique أو aglycone في بلازما الدم ، أما Proanthocyanidines (عبارة عن tanins مكثف) فيعتمد وجوده الحيوي على درجة بلمرته (التي تختلف من 2 إلى 10مرات) حيث أن عديدة المماكبات غير الممتصة على مستوى المعى الدقيق يتم هدمها إلى جزيئات أبسط (أحماض عطرية فينولية أم لا) ، ويتم امتصاصها عن طريق القولون ، أين تلعب الفلولا دورا أساسيا، حيث أظهرت الدراسات مؤخرا أن موقع وفعالية الأمتصاص يعتمد على طبيعة الفلافونويدات .

وتوجد الفلافونويدات بصورة مرتبطة مما يسهل عملية طرحها ، غير أن هذا الارتباط يؤثر على نشاطها خاصة المضاد للأكسدة ، حيث أظهرت الدراسات أن وجود Quercétine في صورته المرتبطة يؤدي إلى انخفاض كبير في قدرته على حماية LDL من الأكسدة .

II-5-5- خواص الفلافونويدات :

إضافة إلى الدور المعروف للفلافونويدات في إعطاء اللون والرائحة للنبات ، تعمل على مراقبة نمو وتطور النبات من خلال التداخل بطريقة معقدة مع هرمونات النمو النباتية إضافة إلى دورها الأساسي في حماية النباتات من الإصابة البكتيرية و الفطرية . تمتلك الفلافونويدات قدرة على التدخل في العديد من النشاطات البيولوجية لدرجة تسميتها بالمعدلات الطبيعية للاستجابة البيولوجية *Modificateur naturels des réponses biologique* من خلال: تثبيط واختزال مختلف الأنزيمات (*Lipoxygenase ,telomerase ,cyclooxygenase*) ،التداخل مع مسارات نقل الإشارة الخلوية ،تنظيم الدورة الخلوية (Massimo et al., 2007) ، خفض السيتوكينات (Cytokines) الالتهابية المفززة من الخلايا المناعية (Lin et al., 2006) ، الوقاية من الأمراض القلبية الوعائية وقدرتها على تحفيز الموت المبرمج وتثبيط انسلال (توالد) الخلايا السرطانية (Hirota et al., 2005) ، مضادة للالتهاب ، مضادة الحساسية (Enomoto et al., 2008) مضادة الأورام ، مضادة للفيروسات (Estany et al., 2007).

II-6-5- النشاط المضاد للأكسدة :

لقد أثبتت الدراسات الوبائية أن الغذاء الغني بالخضر والفواكه يساعد في تأخر والوقاية من بعض الأمراض ، خاصة القلبية الوعائية وبعض أنواع السرطان (Ordonez et al.,2006) ، ويرجع هذا إلى مكوناتها المضادة للأكسدة (Yong et al.,2006) ، خاصة المركبات الفينولية التي تحمي مكونات الخلية من التوتر التأكسدي (Undeger et al.,2009). يرتكز النشاط المضاد للأكسدة لهذه المركبات على نشاطها الأسر للجذور الحرة (Murat et al ., 2009) $O_2^{\cdot-}$, ROO^{\cdot} , RO^{\cdot} , OH , H_2O_2 , $H_2O_2^{\cdot-}$, $O_2^{\cdot-}$ الناتجة عن الميتابولزم التنشيطي الاعتيادي أو الناتجة عن التوتر التأكسدي ، وذلك بفضل الهيدروكسيل النشط ، إضافة إلى قدرتها على تثبيط الأكسدة الليبيدية في LDL و بالتالي الوقاية من الأمراض الوعائية القلبية ، زيادة على توفيرها للعديد من مضادات الأكسدة الأخرى خاصة الفيتامين E وذلك بواسطة تجديدها أو التفاعل بدلها وبالتالي تساهم في الحفاظ على مستوياتها الحيوية .

حيث اثبت (Choi and Hwang, 2005) أن إدخال نباتات طبية في غذاء جرذان التجارب أدى إلى رفع نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة و HDL وانخفاض مستوى MDA مما يؤدي إلى خفض الالتهاب و الأمراض القلبية ، أما حسب (Miller et al 2004) فإن التغذية بواسطة ثلاثة أنواع من الأعشاب أدت إلى تغير ايض الكولسترول وزيادة نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة عند العجول (Zenon et al., 2007) .

تتميز المركبات الفينولية بخاصية أسرها للجذور الحرة ، لكن تختلف القدرة المضادة للأكسدة من مركب لآخر ويرجع ذلك إلى الاختلاف في التركيب الكيميائي (Undeger et al.,2009) ، فمثلا عديدات الفينول الموجودة في الشاي الأخضر و الأسود تظهر نشاطا اختياريا على المرحلة I و II من عملية إزالة السمية ، حيث تؤدي إلى زيادة تركيب وطرح النواتج الأيضية المزالة سميتها الناتجة عن ايض المواد السامة (Mahaboob et al.,2005) .

تلعب المستخلصات النباتية دورا أساسيا في التخلص من سمية المبيدات الفسفورية ، حيث أثبتت الدراسات قدرت الفلافونويدات الموجودة في الشاي على أسر الجذور الحرة الأوكسجينية ، أكسيد النتريك Nitric oxide و peroxynitrite الناتجة عن الجذر فوق الاوكسيد Superoxide radical (Mahaboob et al.,2005) ، كما أن استهلاك الشاي الأسود يحسن من الأضرار الكبدية الناتجة عن المبيدات ، من خلال تحسين مستوى مضادات الأكسدة GSH ، Total thiol و نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة GPx, GST, GR ، كما أن المعالجة المسبقة بالمستخلص تؤدي إلى انخفاض واضح في الأكسدة الفوقية الليبيدية ، ويعد GSH المكون الأساسي للمرحلة II ، حيث يلعب دورا أساسيا في إزالة السمية عن طريق ارتباطه بالمركبات Electrophiles مما يسهل التخلص من المركبات السامة وطرحها خارج الجسم (Mahaboob et al.,2005) ، وفي دراسة مماثلة بينت أن المعالجة بمستخلص مائي للشاي الأسود تساهم في حماية النسيج الكبدي من الأضرار التأكسدية الناتجة عن مزيج من المبيدات ، إضافة إلى تخفيف التوتر التأكسدي (Saida et al.,2008).

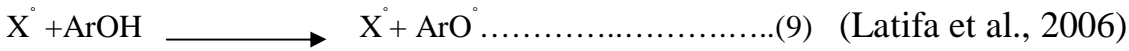
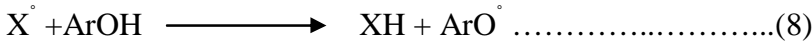
كما أثبتت مستخلصات نباتية عدة غنية بالفلافونويدات قدرتها على التخلص من مختلف مظاهر سمية المبيدات الفسفورية مثل تجربة (Vasudeva et al., 2008) التي أثبتت دور مستخلص قشرة الكاجو في خفض التوتر التأكسدي وتخليق الجذور الحرة و الأكسدة الفوقية الليبيدية في البنكرياس، الناتج عن سمية Dimethoate كما ساعد في تعديل الإنزيمات البنكرياسية، خاصة تلك التي تتدخل في أيض المواد السامة (Xenobiotics)، خفض نسبة Lipase , Amylase المصلي في الجرذان كما تمكن من عكس ارتفاع مستوى السكر في الدم الناتج عن المعالجة بالمبيد ، غير أن المستخلص لم يتمكن من عكس تثبيط AchE في البنكرياس.

II-7-5-7- آليّة عملها :

لقد حددت عدة آليات وخواص تركيبية تعتبر العوامل المفتاحية للنشاط المضاد للأكسدة للفلافونويدات من أهمها :

II-7-5-1- الاقتناص المباشر للجذور الحرة :

تستطيع الفلافونويدات اقتناص (أسر) الجذور الحرة الأوكسيجينية (X) من خلال نقل إلكترون أو هيدروجين (H)



يمكن للالكترونات غير المترابطة أن تنتقل إلى الحلقة العطرية أو تكمل دورتها من خلال عدة عمليات، سواء بالتداخل جذور حرة أو مضادات أكسدة أخرى .

II-7-5-2- الاتحاد مع الأيونات المعدنية (Fe²⁺, Cu⁺) : (تشكيل معقد مع الأيونات المعدنية)

من المعروف أن المعادن مثل Fe²⁺, Cu⁺ تساهم في عملية تركيب الجذور الحرة ، غير أن الفلافونويدات يمكنها أن تتحد مع هذه المعادن وتشكل معقد مستقر وبالتالي تساهم في خفض نسبة الجذور الحرة من خلال تثبيط تفاعل Fenton .

II-5-7-3- ' تثبيط الإنزيمات :

تعرف الفلافونويدات بقدرتها على تثبيط إنزيمات الأكسدة والإرجاع (oxydo-reductase) والتي تنتج خلال دورتها التنشيطية جزيئات جذرية ومن أهم هذه الإنزيمات :
Lipoxygénase, cyclo-oxygenase , monooxygenase, xanthine Oxydase , proteine kinase, phospholipase A₂

II-5-7-4- ' تجديد مضادات الأكسدة المرتبطة بالغشاء مثل α -tocopherol :

إضافة إلى دورها في تجديد الفيتامين E الغشائي ،تعمل الفلافونويدات على توفير الفيتامين E خاصة في LDL من خلال التأكسد بدله وتجديده بمنحه ذرة هيدروجين.

II-5-8- ' العلاقة بين التركيب الكيميائي و النشاط المضاد للأكسدة :

يرجع الفضل للدور المضاد للأكسدة للفلافونويدات إلى التركيب الكيميائي الخاص لهذه المركبات ، ولقد حددت عدة عناصر تركيبية ضرورية لضمان هذه الخاصية.

II-5-8-1- وجود الوظيفة Catéchol في الحلقة B :

إن وجود الهيدروكسيل في الحلقة B يعبر المعيار التركيبي الأكثر دلالة للنشاط المضاد للأكسدة

II-5-8-2- وجود Enone في الحلقة C :

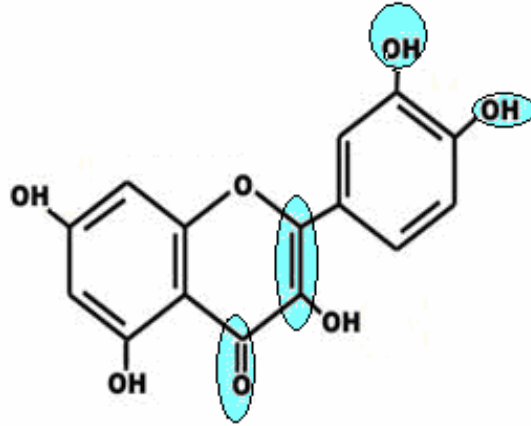
تسمح الرابطة الثنائية بين C₂ و C₃ و الوظيفة الكاربونيلية C₄ بالانتقال الإلكتروني الثابت للجذر فينوكسي Phenox .

II-5-8-3- وجود مجموعة هيدروكسيل في الوضعية 3 :

إن عملية إضافة سكر (glycosylation) أو إضافة مجموعة مثيل للهيدروكسيل رقم 3 للفلافونويدات يؤدي إلى انخفاض هام في النشاط المضاد للأكسدة (هذا الأثر يكون اقل ملاحظة عندما تستبدل بمجاميع فينولية أخرى) .

إن وجود مجموعة هيدروكسيل في الوضعية 3 يدعم الخاصية المضادة للأكسدة في حالة عدم تشبع الحلقة C، إن وجود مجموعة هيدروكسيل في الوضعية 5 يمكن أن يقود هو الآخر إلى نشاط مضاد للأكسدة في حالة Isoflavones.

ومن جهة أخرى كلما زادت درجة الهدرجة (Degré d'hydroxylation) كلما زادت القدرة المضادة للأكسدة ، كما أن عملية البلمرة يمكن أن تحسن أو توفر النشاط المضاد للجذور كما هو الحال بالنسبة لممكبات Rutine و procyanidines .



شكل 7 : المركبات التي تشارك في التفاعل المضاد للأكسدة

المواد و الطرق المستخدمة

I- المواد المستخدمة:

1- المادة النباتية :

تم استعمال نبات عشبي تابع لجنس *Genista*، ينمو في الشرق الجزائري و الصحراء خاصة. تم الحصول على المستخلص البيتانولي للنبتة الجزائرية المستعملة في هذه الدراسة من مخبر الكيمياء لجامعة منتوري قسنطينة ، من طرف متخصص حرصا على سلامة عملية الاستخلاص والتأكد من الحفاظ على جميع المكونات البيولوجية الحيوية للنبتة وكذا حفاظا على عامل الوقت

2 - الحيوانات :

استعملنا في دراستنا هذه ذكور الجرذان (23 جرد) من سلالة *Albinos wistar* يتراوح عمرها ما بين 75-90 يوم ووزنها ما بين (166غ و 229 غ) تمت تربيتها ورعايتها في مستودع الحيوانات بمعهد علوم الطبيعة و الحياة، و قدم لها غذاء خاص بالجرذان، الإضاءة كانت طبيعية في المستودع، أما درجة الحرارة فتراوحت بين (22-28 م)

3- الكيمياويات المستعملة:

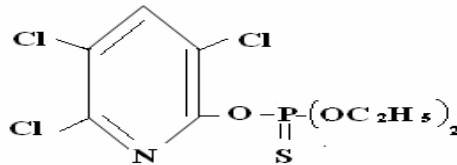
* عبارة عن ميبد من مجموعة المبيدات الفوسفو عضوية و هو الكلوربيريفوس-إيثيل

* إسمه العلمي هو *Chlorpyrifos-ethyl*

[0.0 – diethyl(3,5,6 – trichloro – 2 pyridyl) phosphothioate]

* صيغته الكيميائية هي: $C_4H_{12}O_3NCl_3PS$.

* صيغته المفصلة هي :



*يتميز هذا المبيد بسمية عالية على النحل و الحيوانات المائية خاصة الأسماك. تتراوح قيمة

LD_{50} (الجرعة القادرة على قتل 50% من حيوانات التجربة) ما بين 120-130 ملغ/كغ من وزن

الحيوان ، تقدر الجرعة المستعملة في هذه التجربة ب 20 ملغ/كغ.

I-1- تربية الحيوانات:

تم جلب الحيوانات، جردان بيضاء من سلالة Albinos wistar من معهد باستور بالجزائر العاصمة، وتم التزاوج بين ذكور وإناث المجموعة للحصول على جيل واحد، متساوي الأعمار و خاضع لنفس الظروف التجريبية، وكذا للحصول على العدد الكافي من ذكور الجرذان المطلوبة للتجربة.

ولقد تمت تربيتها في مستودع الحيوان لجامعة منتوري قسنطينة، حيث تتوفر الظروف المثلى من حرارة ورطوبة والإضاءة اللازمة للنمو.

وتمت تربيتها في أقفاص من البلاستيك وغطاء من الحديد، مع توفير الغذاء من مجموعة "La Ration" للإنتاج المحلي لبوزريعة، واستعمال رضعات من البلاستيك والمعدن محتوية على ماء الحنفية، مع المراقبة اليومية للتأكد من إضافة والاستبدال اليومي للماء و الغذاء والحفاظ على نظافة الأقفاص

I-2- معاملة الحيوانات:

من أجل دراسة الدور الوقائي للمستخلص النباتي من جنس Genista ضد سمية المبيد CPF، تم تقسيم الحيوانات إلى أربع مجموعات، متوافقة من حيث الوزن، يتراوح عددها من 5-7 جردان في كل مجموعة.

دامت فترة المعاملة مدة عشرة أيام حيث تم إعطاء جرعات المبيد و المستخلص النباتي عن طريق الفم بواسطة إبرة خاصة.

ملاحظة:

تغسل أقفاص الحيوانات بالماء و ماء جافيل، كما تغير النجارة طول مدة التجربة (كل 3 أيام) و هذا لضمان النظافة التامة و لتفادي أية عدوى.

***المجموعات:**

***المجموعة الأولى (1):** مجموعة الشاهد حيوانات شاهدة غير معاملة ، تضم 5 جرذان تراوح أوزانهم ما بين [180-229 غ] ، حيث لم تعامل هذه المجموعة بأي مادة، فقط تمت المراقبة اليومية وأخذ قياسات الوزن والغذاء المستهلك ، نرملها بالرمز (T).

***المجموعة الثانية (2):** المجموعة المعالجة بالمبيد الفسفوري CPF ، حيوانات معاملة بمادة سامة (مبيد بجرعة تقدر ب 20 ملغ/كغ)، تضم 7 جرذان تراوح أوزانهم بين [170-183 غ] ، حيث تلقت هذه المجموعة صبيحة كل يوم ولمدة عشرة أيام الجرعة المذكورة أعلاه من CPF ، عن طريق الفم ، نرملها بالرمز (CPF).

***المجموعة الثالثة (3):** المجموعة المعالجة بالمستخلص النباتي

تتكون هذه المجموعة من 5 جرذان تراوح أوزانهم ما بين [166-177 غ] حيث تتلقى هذه المجموعة جرعة تقدر ب 100 ملغ/كغ من وزن الجرذ ، صبيحة كل يوم ولمدة عشرة أيام (10) من المستخلص النباتي عن طريق الفم نرملها بالرمز (EXT).

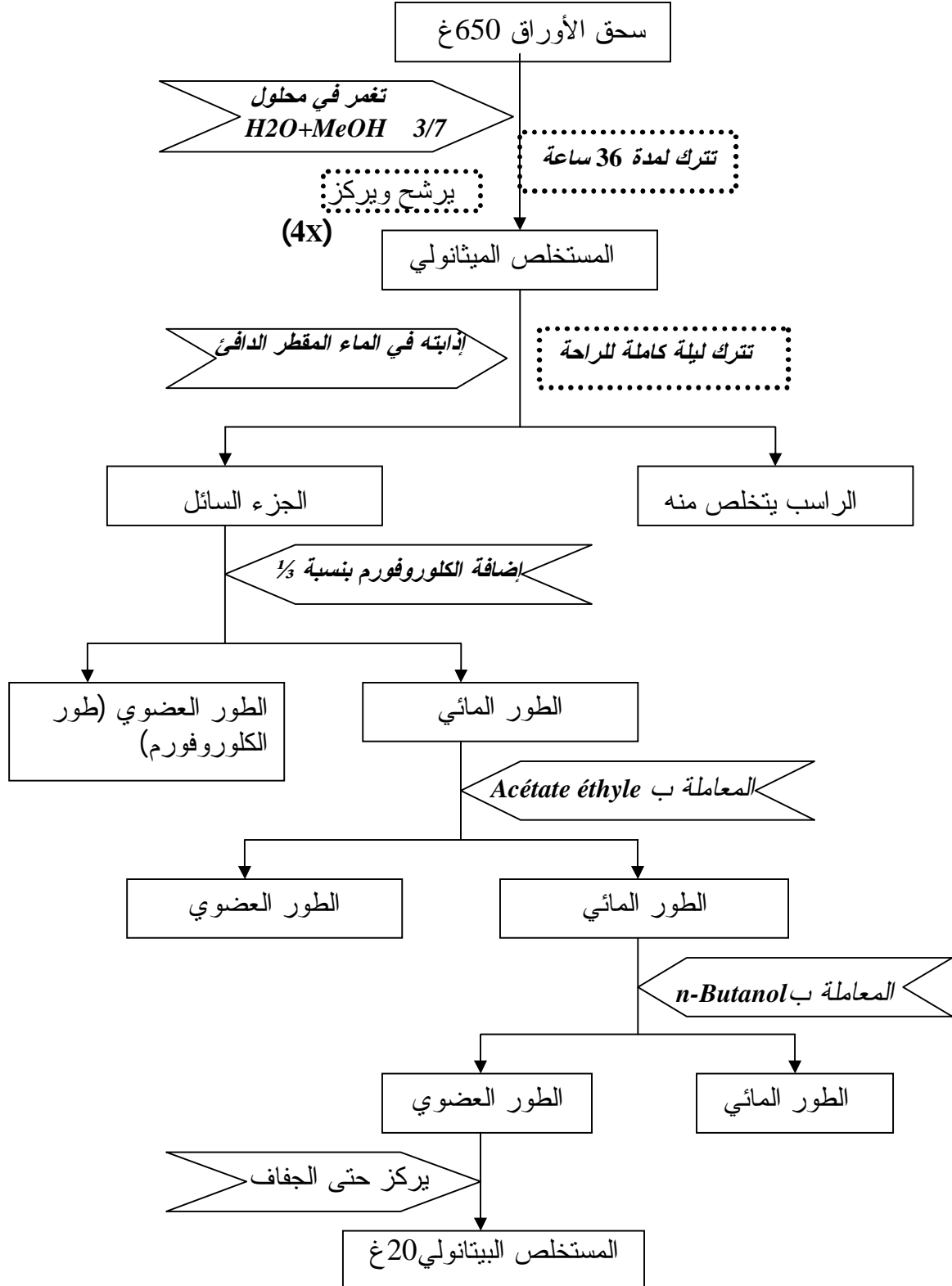
***المجموعة الرابعة (4):** حيوانات معاملة بمادة سامة (مبيد تركيزه 20 ملغ/كغ) و المستخلص البيثانولي النباتي المستعمل، تتكون هذه المجموعة من 6 جرذان تراوح أوزانهم ما بين [173-196 غ] تتلقى هذه المجموعة هي كذلك ،كل صباح جرعة من المستخلص النباتي تقدر ب 100 ملغ/كغ وبعد 35-40 دقيقة تتم المعاملة ب CPF بجرعة تقدر ب 20 ملغ/كغ ، عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام، نرملها ب (EXCP).

تكون معاملة الجرذان مصحوبة بمراقبة يومية لأي تغير في السلوك ، وزن أو تغذية الحيوان لرصد أي تغيرات قد تكون ذات دلالات فسيولوجية مرضية.

II- الطرق :

II-1 طريقة الاستخلاص:

بعد تجفيف الجزء الهوائي للنبتة في الظل ، تم وضعت المادة النباتية في أواني مجهزة لهذه العملية وتتم طريقة الاستخلاص وفق المخطط التالي:



II -2 الخريطة الفينولية :

تعطي الخريطة الفينولية لمستخلص قطبي (n.butanol) معلومات جد مهمة عن مكونات المستخلص ، وتتجز عموما عن طريق كروماتوغرافيا ثنائية البعد بواسطة ورق wattman أو كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وذلك باستعمال عدد من أنظمة المذيبات . البعد الأول يخص الأنظمة العضوية والذي يسهل هجرة المركبات متوسطة القطبية، أما البعد الثاني فيخص أنظمة مائية والتي تسهل هجرة المركبات القطبية ويختلف تركيب هذه الأنظمة حسب الطور الثابت .

في إطار عملنا هذا استعملنا ورق wattman-3 و DC-6-6 Polyamide من أجل الحصول على الخريطة الفينولية للمستخلص البيتانولي للنبات من جنس Genista المستعمل في دراستنا هذه.

1- الفصل الكروماتوغرافي باستعمال ورق wattman:

استعملنا النظامين، بالنسبة للبعد الأول :

البيتانول العادي-حمض الخل-ماء مقطر (BAW) بنسبة (4-1-4) /الطور العضوي.

أما بالنسبة للبعد الثاني استعملنا حمض الخل Acide acétique 15%.

2- الفصل الكروماتوغرافي على الطبقة الملساء (CCM) : باستعمال ورق Polyamide

استعملنا كنظام للبعد الأول:

الطولين -ميثانول-ميثيل ايثيل سيتون بنسبة 3-3-4

أما بالنسبة للبعد الثاني استعملنا النظام:

ميثانول-ماء-ميثيل ايثيل سيتون و أستيل أستون بنسبة (1-3-3-13)

II-3 تشريح الحيوانات و أخذ العينات:

عند نهاية التجربة (في صبيحة اليوم الحادي عشر من المعاملة) تشرح الحيوانات وذلك بعد تخدير الجرذان بواسطة مادة الكلوروفورم.

II-3-1 أخذ الدم :

يتم عن طريق الوريد البابي بواسطة حقنة بها مادة مانعة للتخثر وتوضع كمية الدم المسحوبة في أنابيب اختبار مضادة للتخثر بعدها توضع عينات الدم في جهاز الطرد المركزي بسرعة تقدر بـ 3000 دورة /د لمدة 10 دقائق، حيث تستعمل البلازما أو المصل لمعايرة المؤشرات البيوكيميائية (كل من الكولسترول الإنزيمات المصلية، الجلوسريدات الثلاثية.....).

II-3-2 الحصول على المجنس النسيجي :

بعد الاستئصال المباشر لجميع الأعضاء (الدماغ، القلب، الرئتين، الكبد ، الطحال ،الخصي ،الكلى) ، يغسل كل عضو في المحلول الفسيولوجي NaCl 0.9% ثم يجفف ويوزن، بعد ذلك يعلق في محلول KCl المثلج ثم تسحق في ساقق كهربائي للحصول على مجنس متجانس يحفظ بعدها في أنابيب اختبار لحين إجراء القياسات البيولوجية .

II-3-3 إجراء القياسات البيولوجية :

تم قياس المعايير البيولوجية إما في مختبر الجامعة (المتاح منها) أما الباقي فتم قياسه في مختبر المستشفى بميله.

لقد قسمت هذه التجربة إلى قسمين، قسم يخص العمل *In vivo* المطبق مباشرة على جرذان التجربة ،وقسم آخر يعنى بالدراسة *In vitro* التي تدعم النظريات المطروحة في القسم النظري .

القسم الأول :

II-4- الدراسة التجريبية *In vivo*:

دراسة التوتر التأكسدي الناتج عن CPF على مستوى الأنسجة والبلازما :

II-4-1' قياس المؤشرات:

II-4-1'-1 قياس MDA في مجنس الأعضاء :

يعد تقدير Malondialdehyde (MDA) من أكثر الطرق استعمالاً وذلك لسهولة وفعايتها، حيث أن قياسها يسمح لنا بتقدير ظاهرة فوق الأكسدة الليبدية و الناتجة في دراستنا هذه عن المبيدات الفسفورية تحديدًا CPF .

وتعتبر هذه الطريقة معايرة غير مباشرة للجذور الحرة ، فهي تقدر المادة الناتجة عن الأكسدة الليبدية المتمثلة في MDA (مركب ثانوي ناتج عن الأكسدة الفوقية الليبدية -أول مركب يظهر-) التي تتفاعل مع Thiobarbituric acid (TBA) حسب طريقة (Uchiama and Mihara., 1978)

1-1- مبدأ العمل :

تتفاعل كل جزيئة MDA ناتجة مع جزيئتي Thiobarbituric acids (TBA) في وسط حامضي ودرجة حرارة تعادل 100م° ، ليشكل معقد ذو لون وردي يمكن قياسه مطيافيا على طول الموجة 532 نانومتر ، بعد استخلاص النواتج المتفاعلة بواسطة n-butanol .

II-4-1-1-1 : قياس MDA في بلازما الدم :

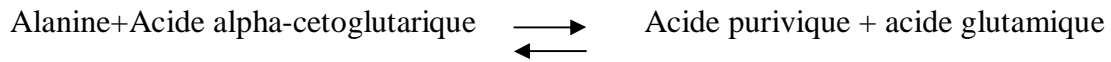
يتم قياس MDA البلازمي بنفس طريقة قياس MDA النسيجي.

II-4-1-1-2 : قياس المؤشرات الانزيمية :

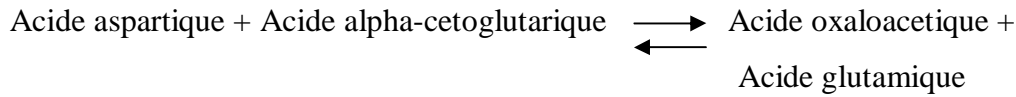
II-4-1-1-3 : TGO, TGP معايرة

تعرف TGO, TGP بإنزيمات Transaminases أو Aminotransferases وهي إنزيمات سيتوبلازمية تدخل في ميتابولزم الأحماض الأمينية من أجل تحفيز نقل الوظيفة الأمينية من حمض مانح لآخر مستقبل ، مع تحرير Ammoniaque، وفق المعادلين التاليين :

(1) Alanine aminotransferases (TGP) Transaminas glutamopyruvique (ALAT)



(2) Aspartate aminotransferases (TGO) Transaminas glutamo-oxaloacetique (ASAT)



توجد خاصة في الكبد ، القلب ، العضلات ، الطحال ، الكلى الخ ، وتشير الزيادة في تراكيزها إلى حدوث أضرار كبدية .

II-4-1-2 : معايرة الإنزيم الفوسفاتاز القلوي Phosphatase alcaline :

هو عبارة عن Phosphoric monoesterase يتواجد خاصة على مستوى الكبد ، العظام ، الكلى يوجد عموما في أغشية الخلايا وبدرجة أقل في أغشية القنيات الصفراوية ، يسمح قياسه بتحديد الاصابة الكبد-صفراوية.

II-4-2 : قياس المؤشرات البيوكيميائية :

II-4-2-1 :Albumine معايرة

هو البروتين الأساسي للدم، يمثل 50-65% من البروتينات البلازمية ، يركب على مستوى الكبد ، تتمثل مستوياته الفسيولوجية في حدود 40 غ/ل .
يلعب دورا أساسيا في الحفاظ على الضغط الأسموزي، كما يساهم في نقل العديد من المركبات، مثل الأحماض الدهنية، bilirubine ، الأدوية في الدورة الدموية.

II-4-2-2-2:Cholesterole معايرة

هو جزيئه دهنية (ليبيدية) ضروري من أجل سلامة الوظائف في العضوية ، يلعب دورا في تركيب الغشاء الخلوي ،تركيب الهرمونات (Cortisone، الهرمونات الجنسية) ،يعطي شكلا للخلاية من خلال توضعها في الغشاء ، يلعب دورا في هضم الدهون (على مستوى الصفراء) ، يدخل في تركيب العظام (فيتامينD)، يمكن أن يركب من طرف الخلايا، بينما تتم أكبر مراحل تركيبه في الكبد (2غ يوميا) . يوجد في الدم بصورة مرتبطة مع البروتينات البلازمية (البروتينات الناقلة) لأنه غير قابل للذوبان في الدم أو بصورة حرة متوضع على سطح lipoproteines أو يكون مرتبط مع حمض دهني من أجل تشكيل stérides .

II-4-2-4-3:Creatinine معايرة

هو مركب داخلي Endogène مشتق من السابق Creatinine phosphate الذي يعتبر مخزون طاقوي في العضلات ، يلعب دورا أساسيا في التقلص العضلي ،يوجد في العديد من الأنسجة إضافة إلى الأنسجة العضلية ، وهو مركب لا يخضع لإعادة امتصاص لا للطرح، حيث توجد علاقة خطية بينه وبين الوظيفة الكلوية (الترشيح) ويعتبر مؤشر هام للنشاط الكلوي(خاصة الفشل الكلوي). تتراوح مستوياته الفسيولوجية ما بين 9-12ملغ/ل ، وقد تعرف هذه القيم اضطرابا ،حيث يشير ارتفاع تركيزه البلازمي إلى حالة العجز الكلوي ، بينما يدل انخفاض تركيزه إلى انخفاض الكتلة العضلية ، كما هو الحال عند المسنين.

II-4-2-4-4:Urée معايرة

Urée هو عبارة عن مخلفات آزوتية ناتجة عن نشاط الخلايا وهو المركب النهائي لهدم المركبات البروتينية ، يركب في الكبد انطلاقا من Ammoniaque الناتج هو الآخر عن هدم البروتينات والأحماض الأمينية، تقدر نسبته في الدم ب 0.15-0.45 غ/ل ، قد يدل انخفاض هذه النسبة إلى عجز كبدي وتكمن خطورته في تراكم Ammoniaque السام للدماغ ، بينما قد يكون ارتفاع تركيزه دليل على حدوث عجز كلوي ، التهاب ... وغيرها من الأمراض.

II-4-2-4-5:Acide Urique معايرة

هو حمض ناتج عن الهدم النهائي ل purine يوجد في الدم بكميات قليلة تتراوح ما بين 20-70 ملغ/ل ، قد يؤدي ارتفاع تركيزه إلى الإصابة بداء النقرص (La goutte) المسئول عن الاعتلال المفصلي (Arthropathies) .

II-4-2-6 معايرة البروتينات:

يمكن دور البروتينات (البروتينات ، الببتيدات ، الأحماض الأمينية) في الحفاظ وتجديد الأنسجة ، كما تعد ضرورية من أجل تطور العظم ، البشرة ، العضلات والأغشية الخلوية ، كما تعد عنصرا أساسيا في الوظائف العضوية لأنه يدخل في تشكيل الهرمونات ، الانزيمات ، النواقل العصبية ، الالياف العضلية .

II-4-2-7 معايرة Na^+ K^+ :

تعد Na^+ , K^+ أحد المركبات المشحونة بالموجب المنتمة إلى مجموعة واسعة من المركبات المشحونة، والتي يضمن الاتزان في نسبتها الحفاظ على ثبات الوسط الداخلي و الحفاظ على العديد من الوظائف الحيوية .

يمكن ملاحظة اضطراب في اتزان بين هذه المركبات في حالة عدة أمراض خاصة الكلوية أو بعد تناول أدوية، ويسمح قياسها بتقدير نسبة الماء في العضوية.

II-4-2-8 الجلوسيدات الثلاثية :

عبارة عن استرات الجلوسول وثلاث أحماض دهنية ، نحصل على جزء منها من الغذاء والجزء الآخر يصنع على مستوى الكبد ، تستعمل معايرة الجلوسيدات الثلاثية في تشخيص مرض السكري ، النفرون وتخريب المسالك الصفراوية ، اضطراب أيض اللبيدات وكذا العديد من الأمراض الغدية.

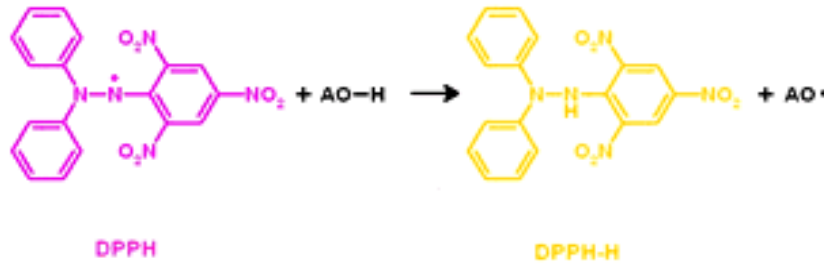
القسم الثاني**II-5-الدراسة المخبرية *In vitro*:**

إظهار الدور المضاد للأكسدة للمستخلص النباتي الميثانولي .

II-5-1' اختبار DPPH : دراسة الفعل الأسر للمستخلص النباتي للجذر الحر DPPH**1- المبدأ :**

لقد تم قياس النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص النباتي المستعمل في دراستنا هذه من خلال قدرته على منح ذرة هيدروجين أو إلكترون (Bektas et al., 2006) والمتمثل في فعله الأسر للجذر الحر DPPH (Diphenyl-2-picryl-hydrozyl , stable free radical) ويرتكز هذا الاختبار على قدرة المستخلص على أسر الجذر المستقر DPPH (Ju-Sung and Myong-Jo, 2010) ، ويظهر

ذلك من خلال التفاعل اللوني الحاصل للجذر DPPH (2-2'-diphenylpicrylhydrazyl) ذو اللون البنفسجي الذي يتحول إلى DPPH-H (2-2'-diphenylpicrylhydrazine) ذو اللون الأصفر ، ويترجم هذا التعبير في اللون بانخفاض الامتصاصية الضوئية (OD) .



شكل 8 : تفاعل مضاد أكسدة مع الجذر الثابت DPPH

2- الطريقة :

حسب (YuCao et al., 2009, Naznin et al., 2009) و تتمثل الخطوات باختصار في :

بعد تحضير تراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي للنبتة.

يؤخذ 0.1 ملل من كل تركيز ويضاف إليه 3مل من محلول DPPH الميثانولي ذو التركيز 0.004% ، ثم ترج الأنابيب جيدا ثم تحضن في الظلام لمدة 30 دقيقة ، ثم يتم تسجيل قراءات الكثافة الضوئية للتراكيز المختلفة في جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotométre عند طول الموجة 517 نانومتر .

ويتم حساب النسبة المئوية لتثبيط الجذر DPPH (I%) وفق المعادلة التالية :

$$I\% = \frac{(Ac - As)}{Ac} \times 100$$

$$\% \text{ DPPH radical-scavenging} = \frac{[(\text{Absorbance of control} - \text{Absorbance of test Sample}) / (\text{Absorbance Of control})] \times 100}$$

Ac : الكثافة الضوئية للعينة القياسية

As : الكثافة الضوئية للعينة

أما حساب التركيز المثبط ل50% من نشاط DPPH (IC_{50})، فيتم انطلاقاً من منحنى الامتصاصية الضوئية بدلالة التركيز. وتتم مقارنة النتائج مع نظيرتها بالنسبة للمرستين الذي استعمل كمضاد أكسدة مرجعي .

III- التحاليل الاحصائية :

تم تقدير جميع التجارب بواسطة (المتوسط \pm الخطأ المعياري) ($means \pm SD$) وتم هذا التحليل بواسطة النظام SPSS ، حيث تم مقارنة النتائج باستعمال طريق واحد للتباين (ANOVA) *One way analysis of variance* ، متبوعة باختبار المقارنة المتعدد لTukey .
(*Tukey-kramer multiple comparisons*) كما تم استعمال اختبار Student للمقارنة بين متوسطات المجموعات الأربعة.

ولقد اختيرت عتبة المعنوية أقل من 95% أي ($p < 0.05$) وتم التعبير عن مستواها كما يلي:

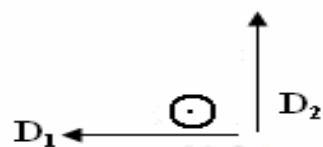
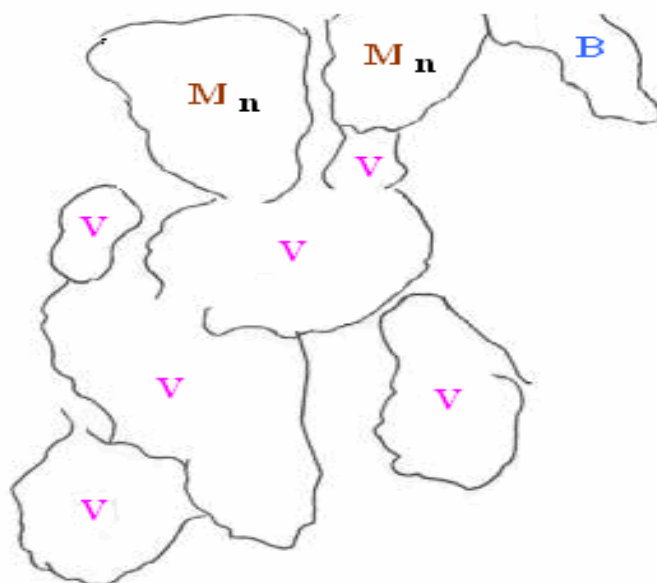
$P > 0.05$: أثرا غير معنوي ns

$0.05 > p > 0.01$: أثرا معنوي P^*

$0.01 > p > 0.001$: أثرا جد معنوي P^{**}

$P < 0.001$: أثرا عالي المعنوية P^{***}

-I الخريطة الفينولية:

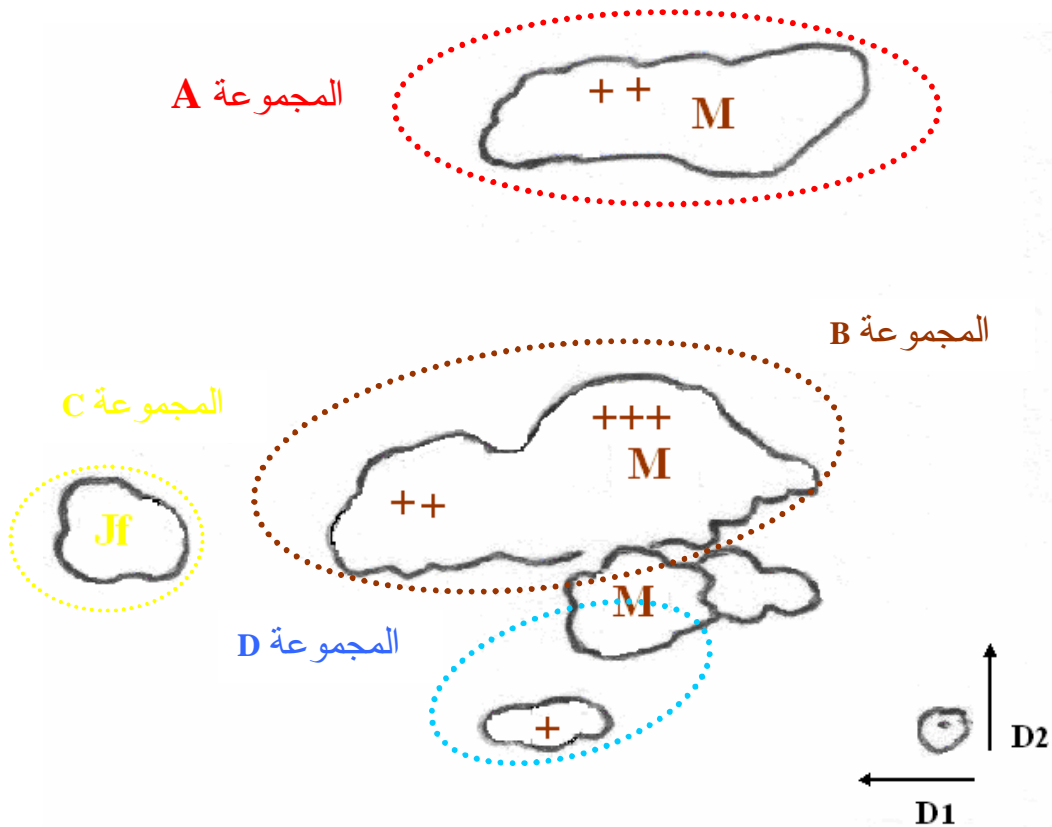


شكل 9: الخريطة الفينولية للمستخلص النباتي من جنس *Genista* النباتي على ورق Wattman

أ-دراسة الخريطة الفينولية على ورق Wattman :

تبين هذه الخريطة وجود مجموعة من المركبات جد قطبية منها:

- 1- مركب ذو إشعاع أزرق تحت أشعة Wood يمثل حمض أو أحماض فينولية
- 2 - بقعة باللون الإشعاعي البني الفاتح الناتج عن تراكم اللون الأصفر و البنفسجي أو ربما تراكم اللون البرتقالي و البنفسجي ، تخص فلافونويدات من نوع flavonol ، flavonol 3-OR أي متعدد السكر أو Isoflavone polysaccharides و أما البقعة البنية الثانية فتخص مركبات ب R_f متوسط في النظام العضوي وجد معتبر في النظام المائي تخص مركبات أقل قطبية من السابقة وبنفس الهياكل أي flavonol و Flavonol 3-OR أو Isoflavone أو Flavone أحادية السكر.
- 3-البقعة البنفسجية تمثل مركبات من نوع Flavone أو Flavonol 3-OR المستبدل ثنائي السكر في الموضع 7 أما الثلاث بقع البنفسجية فتمثل Flavone polyhydroxyle أو Flavonol 3-OR أحادي السكر.



شكل 10: الخريطة الفينولية للمستخلص النباتي من جنس Genista النباتي على ورق polyamide

ب- الخريطة الفينولية المنجزة على الطبقة الرقيقة من متعدد الأמיד:

يمكن تقسيم هذه الخريطة إلى أربع مجموعات من A إلى D :

المجموعة A : تخص بقعة بنية يمكن أن تنسب إلى وجود تراكم اللونين الأصفر و البنفسجي أو اللونين البرتقالي والبنفسجي و التي تدل على وجود flavonol أو flavonol 3-OR و Isoflavone polysaccharides نظرا لقيمة R_f .

المجموعة B : باللون البني، تخص نفس الهياكل السابقة بمستبدلات أحادية السكر أو متعدد الهيدروكسيل.

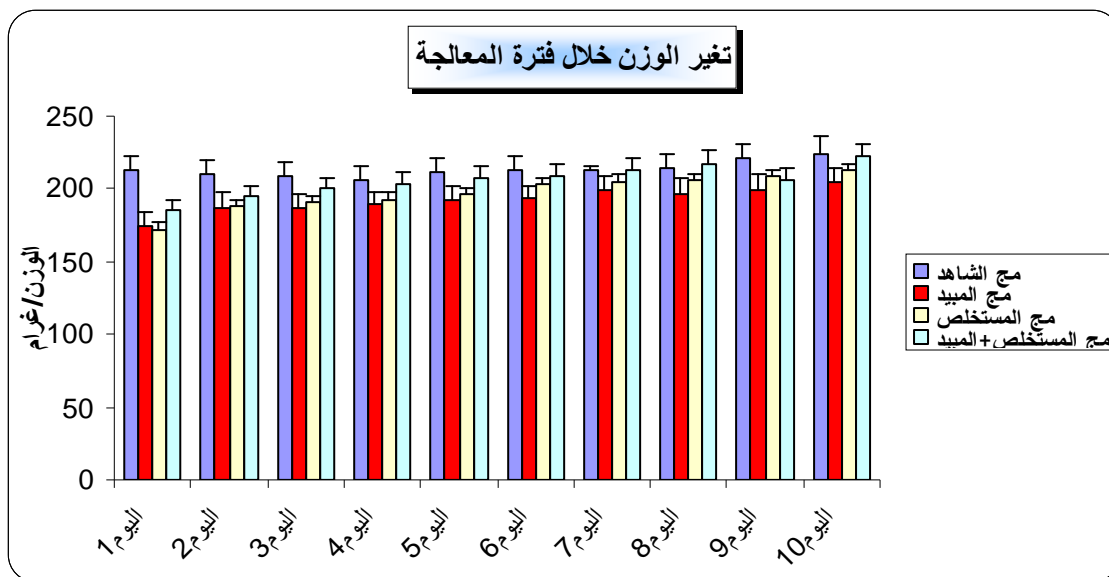
المجموعة C : بلون إشعاعي اصفر تدل على وجود Flavonol aglycone نظرا للقيمة المعتمدة لل R_f في النظام العضوي و القيمة الضعيفة لل R_f في النظام المائي.

المجموعة D : بإشعاع بني و بنفسجي تخص Flavon أو flavonal أحادي السكر أو عديد الهيدروكسيل نظرا لضعف قيمة R_f في النظامين.

II - دراسة تأثير المبيد والدور الوقائي للمستخلص النباتي على الحالة الفسيولوجية للجرذان البيضاء:

II-1- تأثير المبيد والمستخلص النباتي على وزن الجرذان البيضاء :

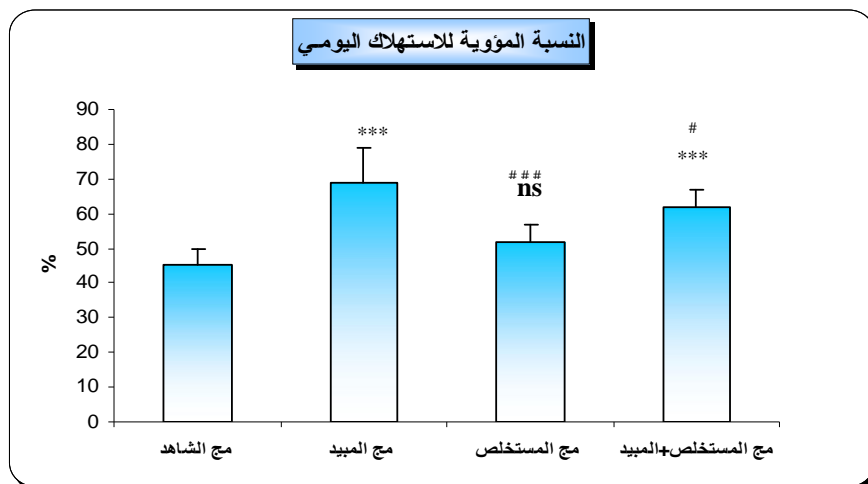
يلاحظ عموما زيادة في وزن جرذان المجموعات الأربعة، خلال لأيام العشرة من المعاملة ولكن بنسب مختلفة حيث يلاحظ أكبر نسبة زيادة ، عند مجموعة المستخلص تقدر ب 40.12 غ، تليها مجموعة المستخلص+المبيد بقيمة تقدر ب 37.07 غ ثم مجموعة المبيد ب 30.02 غ وأخيرا مجموعة الشاهد و التي قدرت ب 11.21 غ.



شكل 11 : تغير الوزن للمجموعات الأربعة خلال فترة المعاملة (عشرة أيام)

II-2- تأثير المبيد والمستخلص النباتي على نسبة الاستهلاك اليومي للغذاء :

يلاحظ من خلال قياس النسبة المئوية للمؤوية للاستهلاك اليومي للغذاء خلال فترة المعاملة (بالمبيد والمستخلص النباتي)، أن المجموعة الأكثر استهلاكاً للغذاء هي مجموعة المبيد بمعدل (69.051 ± 9.9) غ مقارنة مع مجموعة الشاهد (45.37 ± 4.3) غ، تليها مجموعة المستخلص + المبيد (61.82 ± 4.8) غ حيث تعد الزيادة في هاتين المجموعتين جد معنوية ($P < 0.001$) بينما تعتبر الزيادة في نسبة الاستهلاك اليومي لمجموعة المستخلص (51.95 ± 4.9) غ، غير معنوية ($P > 0.05$).



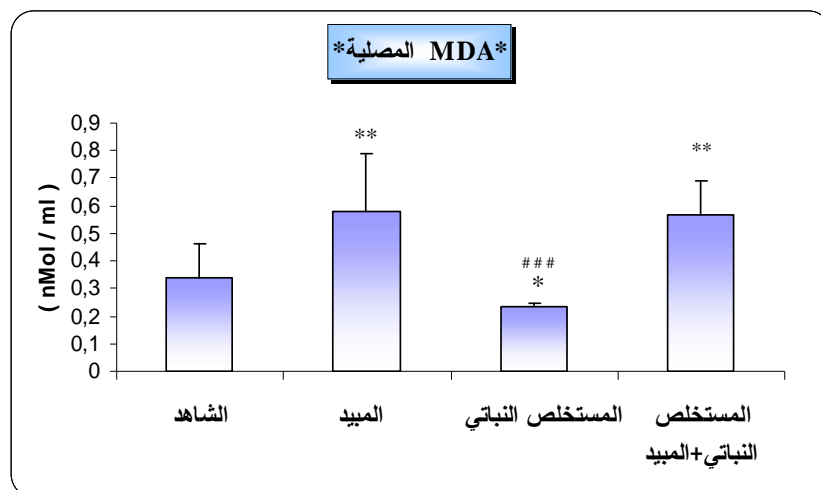
شكل 12 : النسبة المؤوية للاستهلاك اليومي للغذاء للمجموعات الأربعة خلال فترة المعاملة (عشرة أيام)

تمثل النتائج بالمتوسط لعشرة قيم \pm الانحراف المعياري (means \pm SD). تمت التحليل الاحصائية باستعمال تباين (ANOVA) متبوع باختبار المقارنة المتعدد لTukey (Tukey-kramer multiple comparisons).
 $P > 0.05$ ، $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$

III - قياس التوتر التأكسدي الناتج عن المبيد الفسفورعضوي CPF و النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص النباتي :

III-1- قياس MDA المصلية :

يتسبب CPF في زيادة مستوى MDA المصلية ، حيث يلاحظ ارتفاع جد معنوي ($P < 0.01$) في قيمها في مجموعة المبيد (0.58 ± 0.21 nMol/ml) مقارنة مع مجموعة الشاهد (0.34 ± 0.12) ، فيما يتمكن المستخلص لوحده من خفض قيمة MDA المصلية حيث يسجل انخفاض معنوي ($P < 0.05$) لدى مجموعة المستخلص (0.23 ± 0.01 nMol/ml) أما في حالة المعالجة المسبقة بالمستخلص تليها جرعة من المبيد فتسجل انخفاضا طفيفا في مجموعة المستخلص+المبيد (0.57 ± 0.12 nMol/ml) بالنسبة لمجموعة المبيد، رغم الارتفاع المسجل مقارنة مع مجموعة الشاهد.



شكل 13: قيم MDA المصلية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص +المبيد .

تمثل النتائج بالمتوسط لعشرة قيم \pm الانحراف المعياري (means \pm SD). تمت التحاليل الاحصائية باستعمال تباين

(ANOVA) متبوع باختبار المقارنة المتعدد لـ Tukey .

(Tukey-kramer multiple comparisons)

* تمثل الفرق المعنوي بالنسبة لمجموعة الشاهد

تمثل الفرق المعنوي بالنسبة لمجموعة المبيد

III -2- قياس MDA في مجنس الأعضاء :

III-2-1 قياس MDA القلب :

مقارنة مع مجموعة الشاهد (55.29±4.89) يلاحظ ارتفاع في قيمة MDA لدى مجموعة المبيد (61.88±12.9 nMol/ml) ، بينما يلاحظ انخفاض في مجموعة المستخلص ومجموعة المستخلص+المبيد (46.72±0.85 nMol/ml) (50.45±11.83 nMol/ml) على التوالي، ولكن بدون معنوية (P>0.05)، فيما يلاحظ انخفاض جد معنوي (P<0.01) في مجموعة المستخلص+المبيد مقارنة مع مجموعة المبيد ، بينما يكون هذا الارتفاع غير معنوي مقارنة مع مجموعة المستخلص.

III-2-2 قياس MDA الخصية :

يسجل ارتفاع جد معنوي (P<0.01) في قيمة MDA في الخصية في مجموعة المبيد (63.78±11.32 nMol/ml) مقارنة مع مجموعة الشاهد (45.50 ±9.17 nMol/ml) ، فيما يتمكن المستخلص من خفض هذه القيم ، حيث يسجل انخفاض جد معنوي (P<0.001) لدى مجموعة المستخلص (21.89±11.14) بينما لا يكون معنوي (P>0.05) في مجموعة المستخلص+المبيد (43.03±14.97 nMol/ml) ، بالنسبة لمجموعة الشاهد ولكنها معنوية بالمقارنة مع مجموعة المبيد.

III-2-3 قياس MDA الكبد :

مقارنة مع مجموعة الشاهد (30.06 ±9.7 nMol/ml) يلاحظ ارتفاع جد معنوي (P<0.01) في قيمة MDA الكبدية في مجموعة المبيد (69.78 ±26.71) ، فيما يتمكن المستخلص من خفض هذه القيم حيث يسجل انخفاض معنوي في قيمة MDA النسيجية في كلتا المجموعتين، مجموعة المستخلص (37.42 ±16.10) و مجموعة المستخلص+المبيد (54.41±7.15 nMol/ml) ، رغم أن الارتفاع يكون معنوي (P<0.05) في هذه المجموعة الأخيرة مقارنة مع مجموعة الشاهد.

III-2-4 قياس MDA الكلوي :

يلاحظ ارتفاع جد معنوي (P<0.01) في قيمة MDA الكلوية في مجموعة المبيد (60.15±17.71) فيما تعرف هذه القيم انخفاضا معنويا (P<0.01) في مجموعة المستخلص (36.34 ±7.83 nMol/ml) بالمقارنة مع مجموعة المبيد، بينما يسجل في مجموعة المستخلص+المبيد (79.89 ±13.91 nMol/ml) ارتفاعا أكثر معنوية (P<0.001) مقارنة مع مجموعة الشاهد (40.46±12 nMol/ml) وكذا مجموعة المبيد.

III-2-5 قياس MDA الطحال :

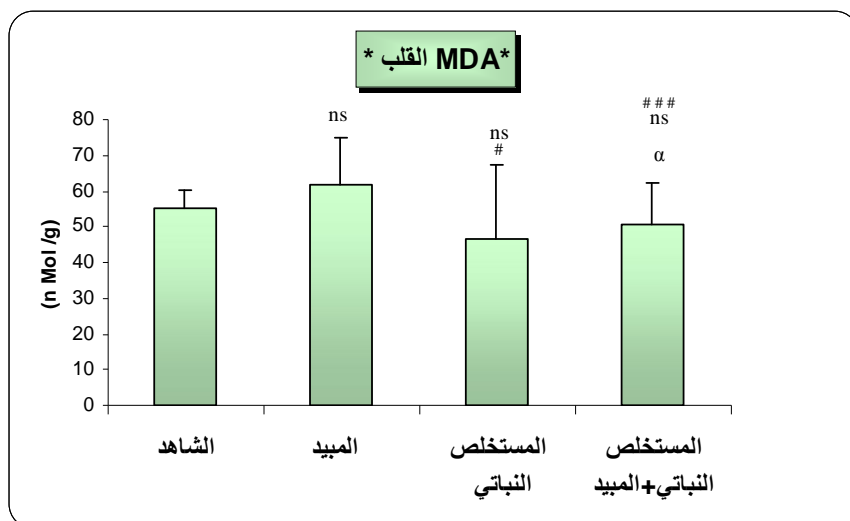
مقارنة مع مجموعة الشاهد (32.03 ±12 nMol/ml) يلاحظ ارتفاع عالي المعنوية (P<0.001) في قيمة MDA لدى مجموعة المبيد (57.73±6.56 nMol/ml) ، بينما يلاحظ انخفاض معنوي (P<0.05) في مجموعة المستخلص (27.16±7.95 nMol/ml) ، فيما يعد الارتفاع المسجل في مجموعة المستخلص+المبيد (37.38±7.01 nMol/ml) غير معنوي (P> 0.05) بالنسبة لمجموعة الشاهد بينما يكون الانخفاض في قيم MDA النسيجية معنوي بالنسبة لمجموعة المبيد .

III-2-6 قياس MDA الدماغ :

تسجل مجموعة المبيد على غرار بقية الأعضاء ارتفاعا عالي المعنوية ($P < 0.001$) في قيمة MDA النسيجية (56.65 ± 7.74)، مقارنة مع مجموعة الشاهد (29.39 ± 3.87 nMol/ml)، فيما تسجل مجموعة المستخلص (20.36 ± 4.03 nMol/ml) انخفاضا معنويا ($P < 0.01$) بالنسبة لكل من مجموعة الشاهد والمبيد، على عكس مجموعة المستخلص+المبيد (87.53 ± 5.67 nMol/ml) التي تشهد قيمها ارتفاعا معنويا ($P < 0.01$) بالنسبة لكل من مجموعة الشاهد والمبيد .

III-2-7 قياس MDA الرئتين :

يلاحظ ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مجموعة المبيد (68.44 ± 17.96)، أما مجموعة مستخلص+مبيد (97.91 ± 54.15 nMol/ml) فيسجل ارتفاع عالي المعنوية ($P < 0.001$) مقارنة مع مجموعة الشاهد (33.14 ± 4.45 nMol/ml) ، فيما يلاحظ انخفاض معنوي في مجموعة المستخلص (59.29 ± 12.29 nMol/ml) مقارنة مع مجموعة المبيد .



شكل 14: قيم MDA القلبية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد .

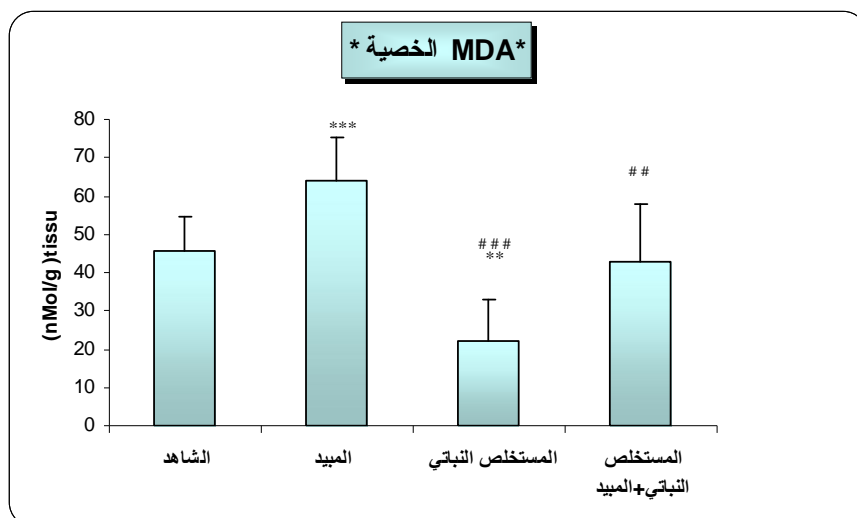
تمثل النتائج بالمتوسط لعشرة قيم \pm الانحراف المعياري (means \pm SD). تمت التحاليل الاحصائية باستعمال تباين

(ANOVA) متبوع باختبار المقارنة المتعدد لـ Tukey .

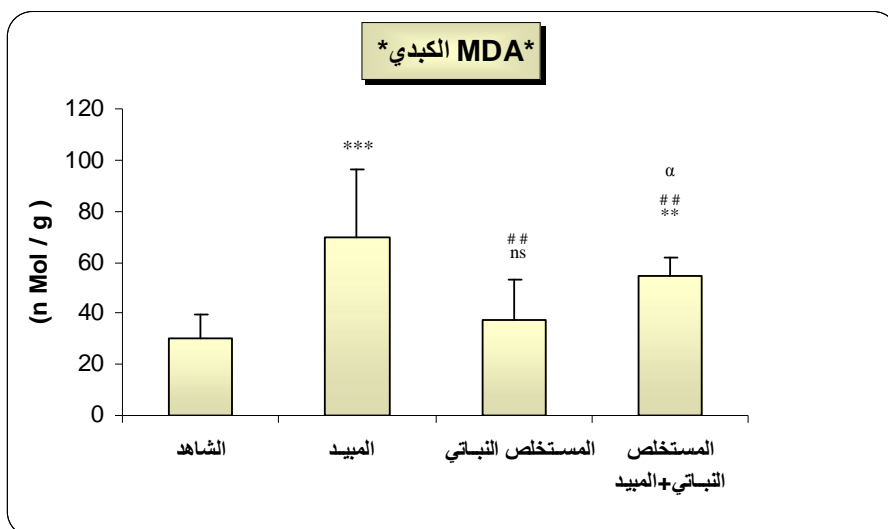
(Tukey-kramer multiple comparisons)

* تمثل الفرق المعنوي بالنسبة لمجموعة الشاهد

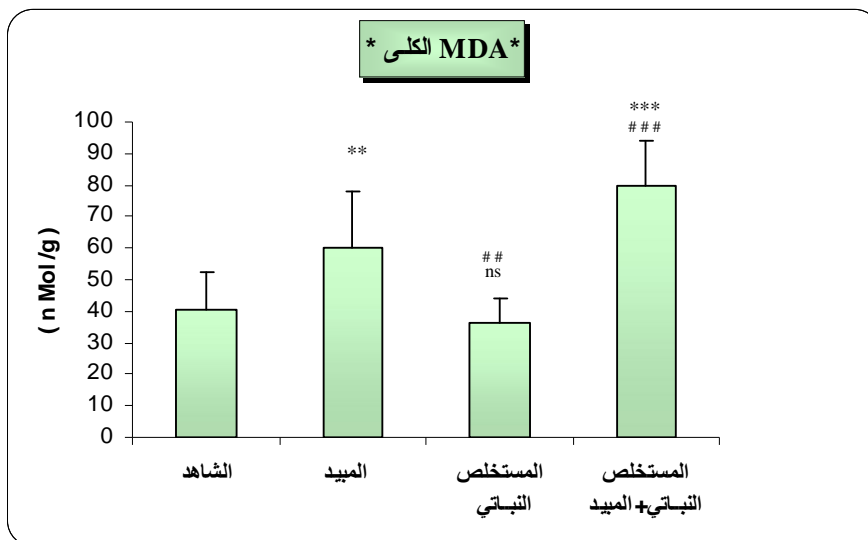
تمثل الفرق المعنوي بالنسبة لمجموعة المبيد



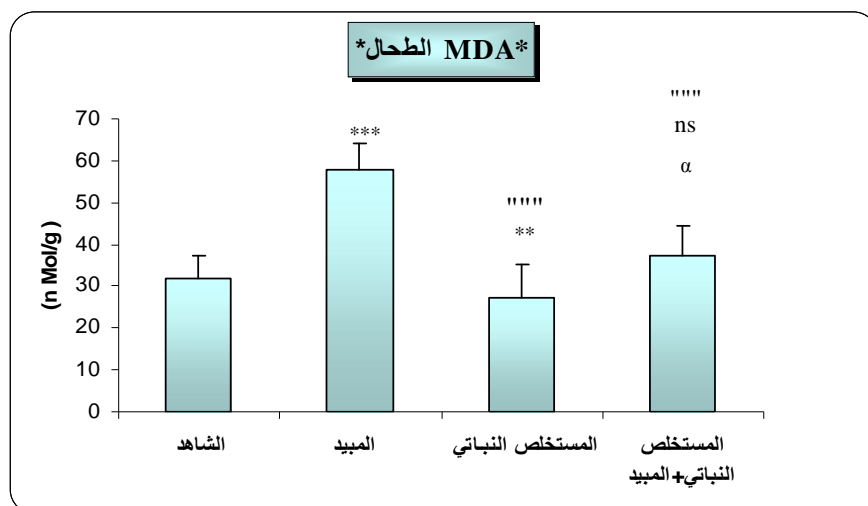
شكل 15: قيم MDA الخصيتين بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد .



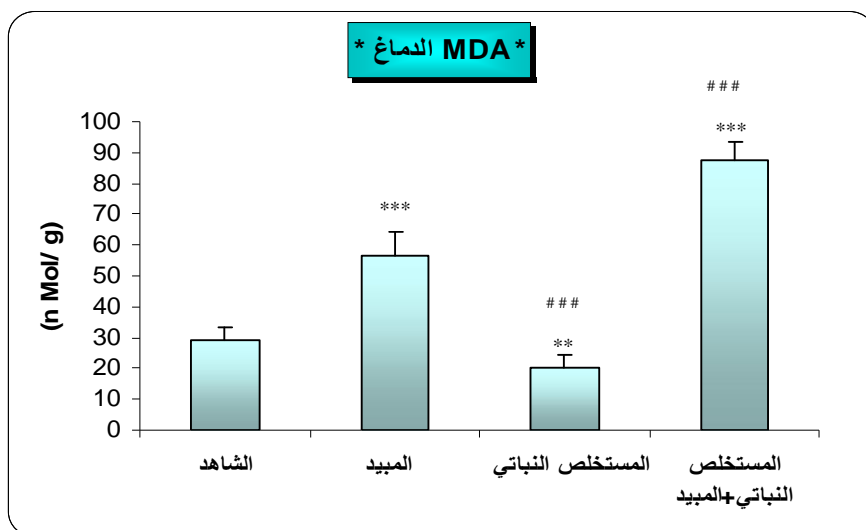
شكل 16: قيم MDA الكبدية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد .



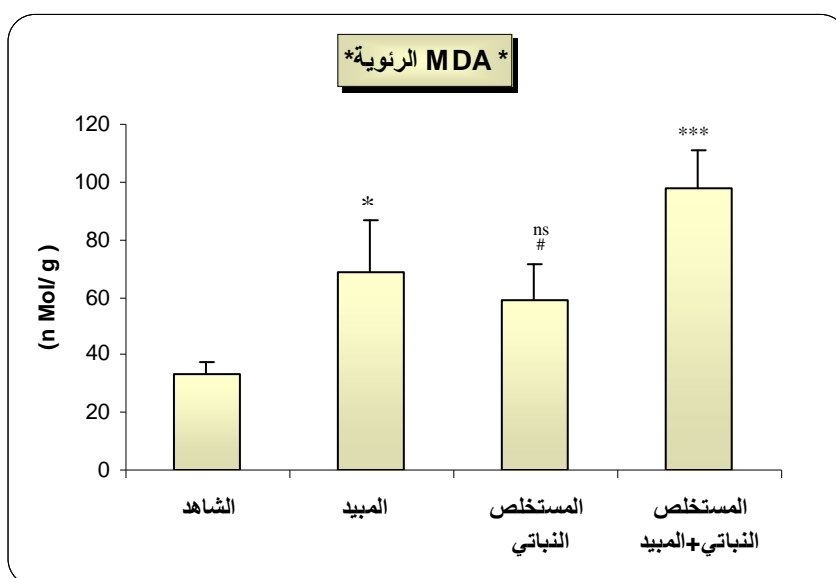
شكل 17: قيم MDA الكلية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد .



شكل 18: قيم MDA الطحال بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد .



شكل 19: قيم MDA الدماغية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد .



شكل 20: قيم MDA الرئوية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد .

IV - دراسة تأثير المبيد والدور الوقائي للمستخلص النباتي على المؤشرات البيوكيميائية المصلية:

IV-1-1- تقدير الأنزيمات المصلية :

IV-1-1-1 تقدير الأنزيم المصلي TGO:

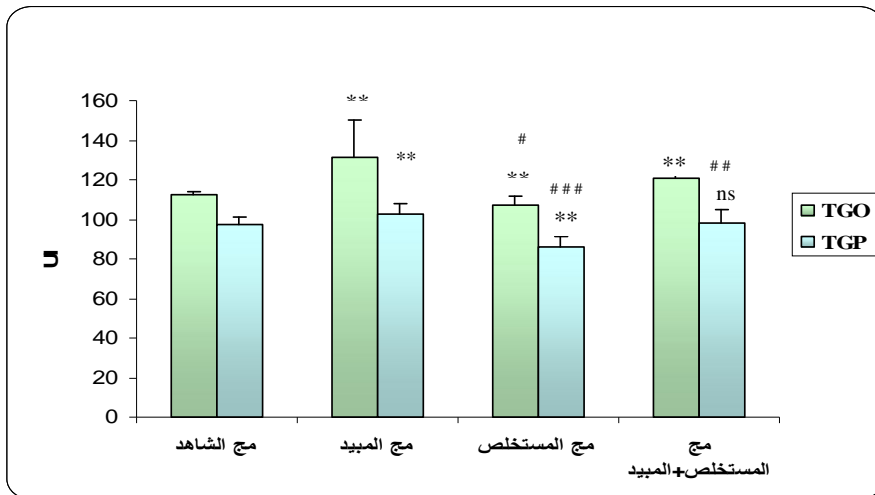
يلاحظ لدا مجموعة المبيد زيادة معنوية ($P < 0.01$) في قيمة الإنزيم البلازمي المقدر بـ (UI 131.5 ± 18.77) مقارنة مع مجموعة الشاهد (UI 112.33 ± 1.36)، بينما عرفت قيمته عند مجموعة المستخلص (UI 107.46 ± 4.13) انخفاضا معنويا ($P < 0.01$) بالنسبة لمجموعة الشاهد ومجموعة المبيد، ورغم الزيادة المعنوية ($P < 0.01$) الملاحظة في قيمة هذا الإنزيم في مجموعة المستخلص+المبيد (UI 120.5 ± 7.68) بالنسبة لمجموعة الشاهد إلا أنها تعد منخفضة معنويا بالنسبة لمجموعة المبيد .

IV-1-1-2 تقدير الأنزيم المصلي TGP :

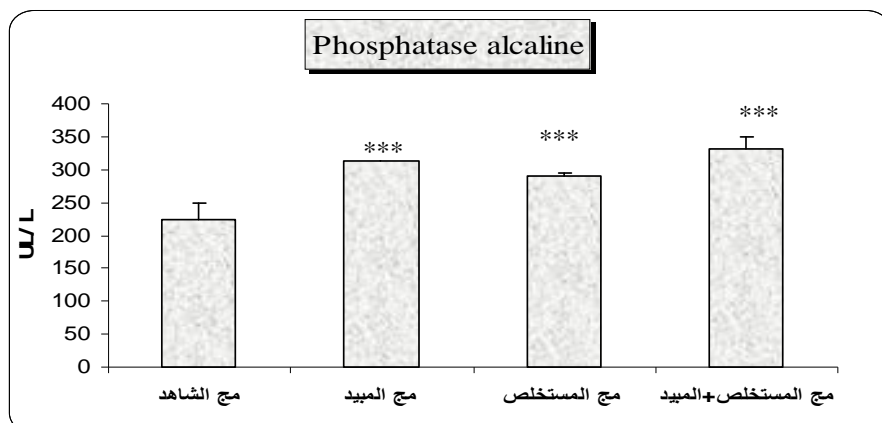
من خلال النتائج يلاحظ ارتفاع جد معنوي ($P < 0.01$) في قيمة TGP المصلي لمجموعة المبيد (UI 102.4 ± 5.52) مقارنة مع مجموعة الشاهد (UI 97.33 ± 3.53)، بينما يلاحظ انخفاض جد معنوي ($P < 0.01$) في قيمه في مجموعة المستخلص (UI 85.97 ± 5.46) مقارنة مع مجموعة الشاهد وبقية المجموعات، فيما يبقى الانخفاض المسجل في مجموعة مستخلص+مبيد (UI 98.05 ± 6.68) معنويا فقط بالنسبة لمجموعة المبيد.

IV-1-1-3 تقدير الأنزيم المصلي Phosphatase alkaline :

يسجل ارتفاع عالي المعنوية ($P < 0.001$) في قيمة Phosphatase alkaline المصلي لمجموعة المبيد (UL/L 314 ± 33.15) مقارنة مع مجموعة الشاهد (UL/L 223 ± 25.3)، كما هو الحال بالنسبة لمجموعة مستخلص+مبيد (UL/L 332.4 ± 17.6)، بينما يلاحظ انخفاض في مجموعة مستخلص (UL/L 289.26 ± 4.58) مقارنة مع مجموعة المبيد.



شكل 21: تغيرات مستوى الإنزيمين البلازميين TGO و TGP بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص+المبيد .



شكل 22: تغيرات مستوى Phosphatase alkaline البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد .

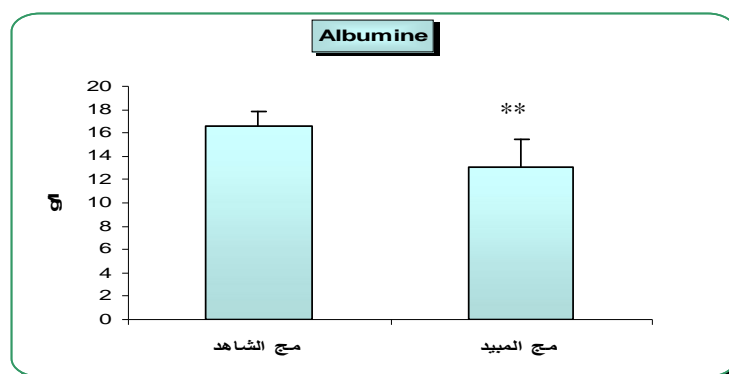
IV - 2- تقدير البروتينات المصلية :

IV - 2- 1- تقدير Albumine :

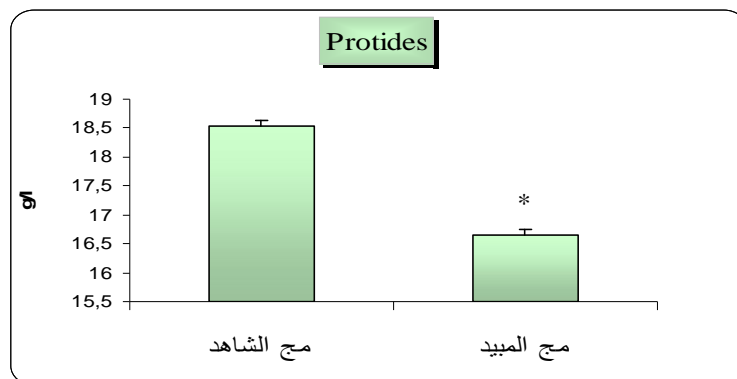
يلاحظ من خلال النتائج انخفاض جد معنوي ($P < 0.05$) في قيمة Albumine في مجموعة المبيد (13.02 ± 2.32 g/l) مقارنة مع مجموعة الشاهد (16.6 ± 1.28 g/l).

IV - 2- 2- تقدير البروتينات :

يلاحظ من خلال النتائج انخفاض معنوي ($P < 0.5$) في قيمة البروتينات في مجموعة المبيد (16.65 ± 2.17 g/l) مقارنة مع مجموعة الشاهد (18.54 ± 1.02 g/l).



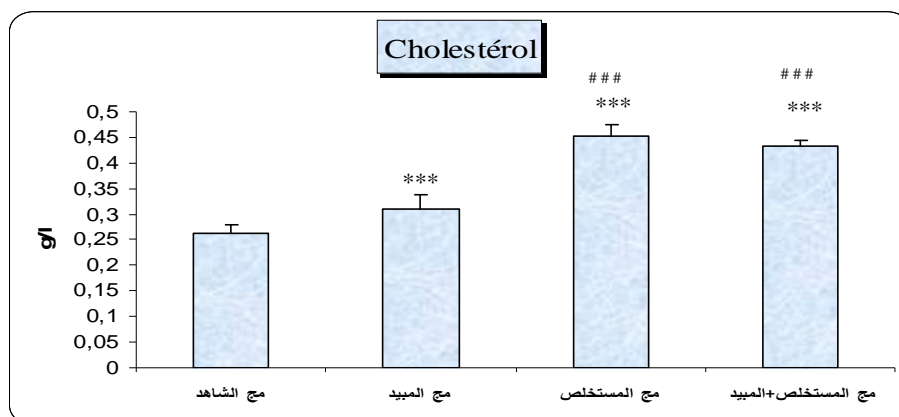
شكل 23: تغيرات مستوى Albumine البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ.



شكل 24: تغيرات مستوى البروتينات البلازمية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ.

IV-3- تقدير Cholestérol :

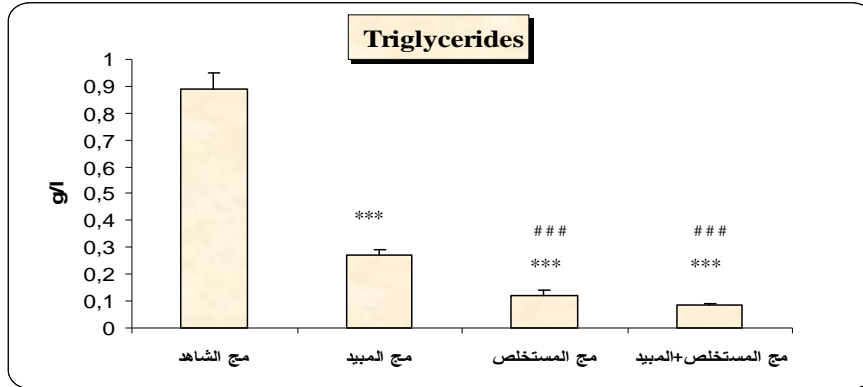
يلاحظ ارتفاع عالي المعنوية ($P < 0.001$) في قيمة Cholestérol (0.31 ± 0.02 g/l) التوالي ، مقارنة مع مجموعة الشاهد (0.26 ± 0.015 g/l) .



شكل 25: تغيرات مستوى Cholesterol البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص + المبيد .

IV-4- تقدير الجلسريدات الثلاثية :

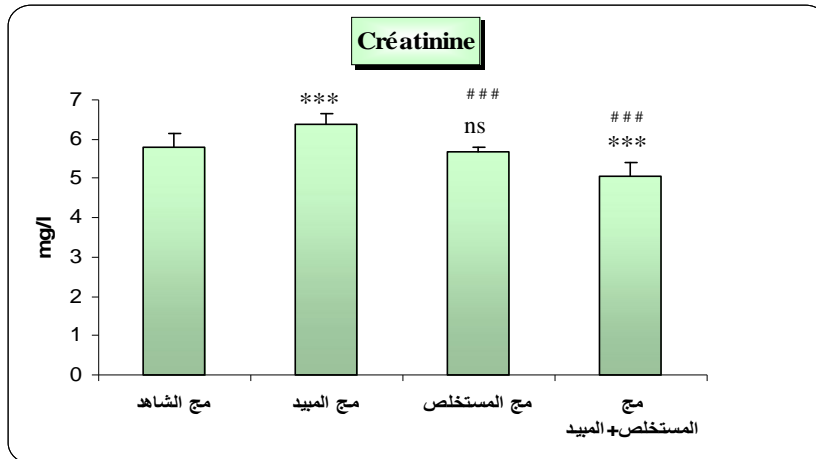
يلاحظ انخفاض عالي المعنوية ($P < 0.001$) في قيمة الجلسريدات الثلاثية (0.12 ± 0.02 g/l) التوالي ، مقارنة مع مجموعة الشاهد (0.08 ± 0.006 g/l) .



شكل 26: تغيرات مستوى الجلسريدات الثلاثية البلازمية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر ب20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة تقدر ب100ملغ/كغ من المستخلص النباتي بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص +المبيد .

IV- 5- تقدير Créatinine :

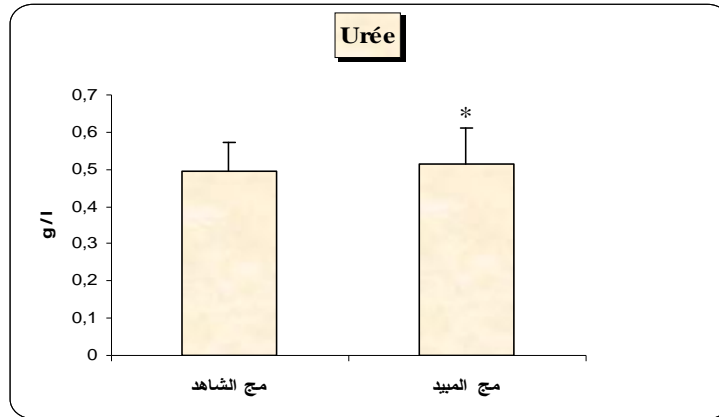
يلاحظ ارتفاع عالي المعنوية ($P < 0.001$) في قيمة Créatinine المصلي في مجموعة المبيد مقارنة مع مجموعة الشاهد (6.36 ± 0.3 mg/l) وعلى العكس يلاحظ انخفاض معنوي في مجموعة المستخلص (5.68 ± 0.12 mg/l) مقارنة مع مجموعة المبيد، بينما يكون جد معنوياً ($P < 0.001$) في مجموعة المستخلص+المبيد (5.04 ± 0.36 mg/l) مقارنة مع مجموعتي الشاهد والمبيد لكن تبقى في حدود القيم الطبيعية .



شكل 27: تغيرات مستوى Créatinine البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من: CPF تقدر ب20 ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المبيد وجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر ب100ملغ/كغ بالنسبة لمجموعة المستخلص ، وجرعة من المستخلص النباتي تليها جرعة من المبيد بعد 40 دقيقة بالنسبة لمجموعة المستخلص +المبيد .

IV- 5- تقدير Urée :

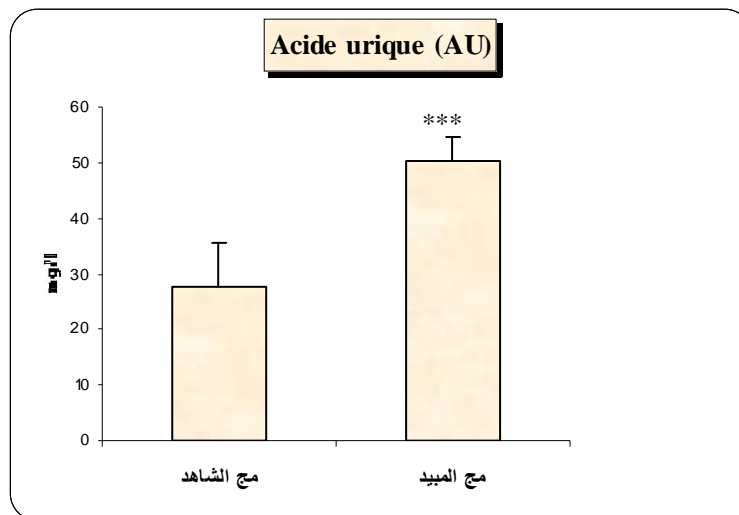
يلاحظ ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في قيمة Urée المصلي في مجموعة المبيد (0.53 ± 0.03) مقارنة مع مجموعة الشاهد (0.49 ± 0.02 mg/l) لكن تبقى في حدود القيم الطبيعية.



شكل 28: تغيرات مستوى Urée البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/ .

IV- 6- تقدير Acide urique :

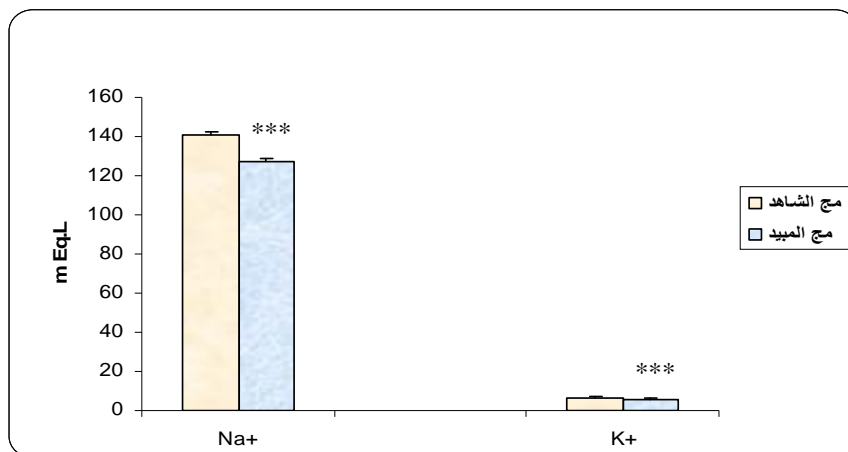
ينتسبب CPF في زيادة عالية المعنوية ($P < 0.001$) في مستوى Acide urique المصلي في مجموعة المبيد (50.25 ± 4.33 mg/l) مقارنة مع مجموعة الشاهد (27.75 ± 7.79 mg/l).



شكل 29: تغيرات مستوى Acide urique البلازمي بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ.

IV - 7 تقدير k^+ و Na^+ :

يلاحظ انخفاض عالي المعنوية ($P < 0.001$) في قيمة Na^+ و k^+ المصلية في مجموعة المبيد (126.85±2.06) (mEq.l) مقارنة مع مجموعة الشاهد (141.05±1.05) (mEq.l) على التوالي.

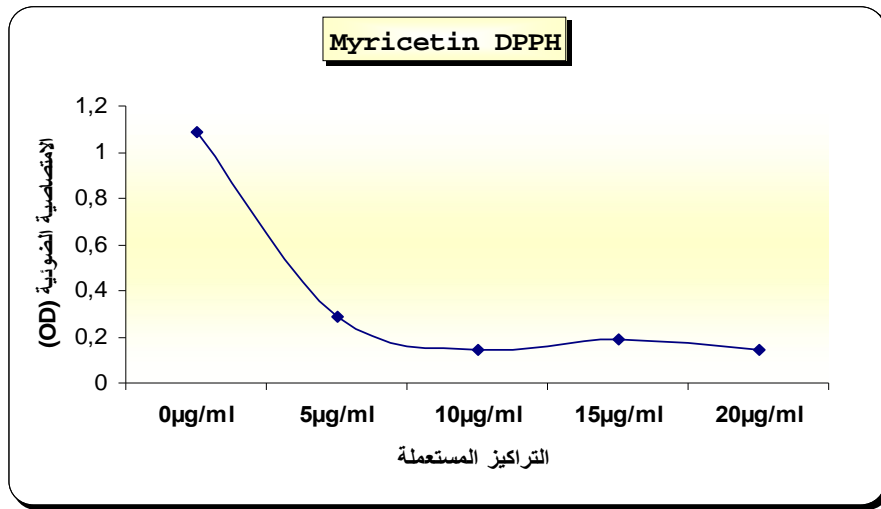


شكل 30: تغيرات مستوى الشوارد Na^+ و K^+ البلازمية بعد معاملة الجرذان البيضاء بجرعة يومية عن طريق الفم ولمدة عشرة أيام من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كلغ.

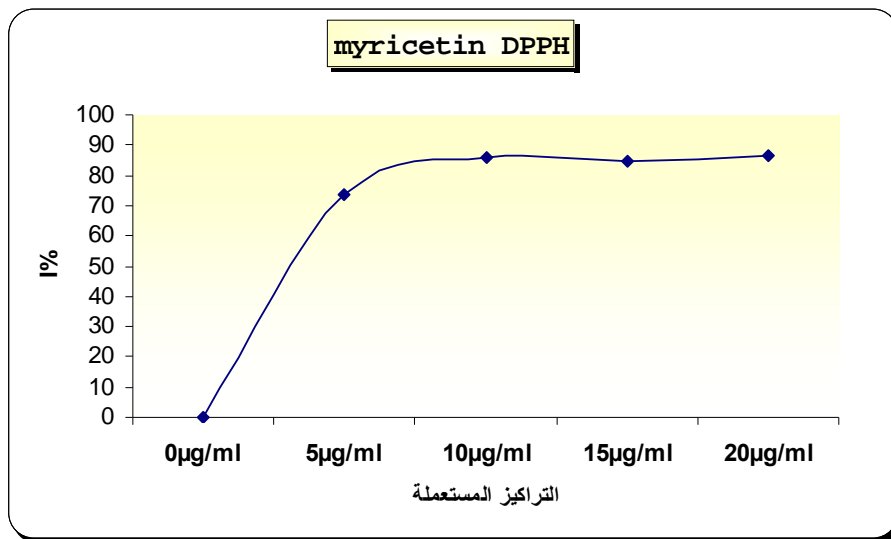
V - دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص النباتي :

من خلال النتائج المحصل عليها من اختبار DPPH تمكنا من ترجمة القراءات الضوئية في صورة منحنى خطي لكل من الامتصاصية الضوئية (OD) ونسبة تثبيط الجذر DPPH (%) أي النشاط الاقتراسي للمستخلص بدلالة تراكيز مختلفة ، حيث يتميز الأول بانخفاض الامتصاصية الضوئية مع زيادة التركيز ، على عكس منحنى تثبيط الجذر DPPH الذي يسجل زيادة في نسبة التثبيط مع زيادة التركيز، وهو ما يؤكد النتائج اللونية المتمثلة في التدرج اللوني من بنفسجي إلى اصفر مع زيادة التركيز .

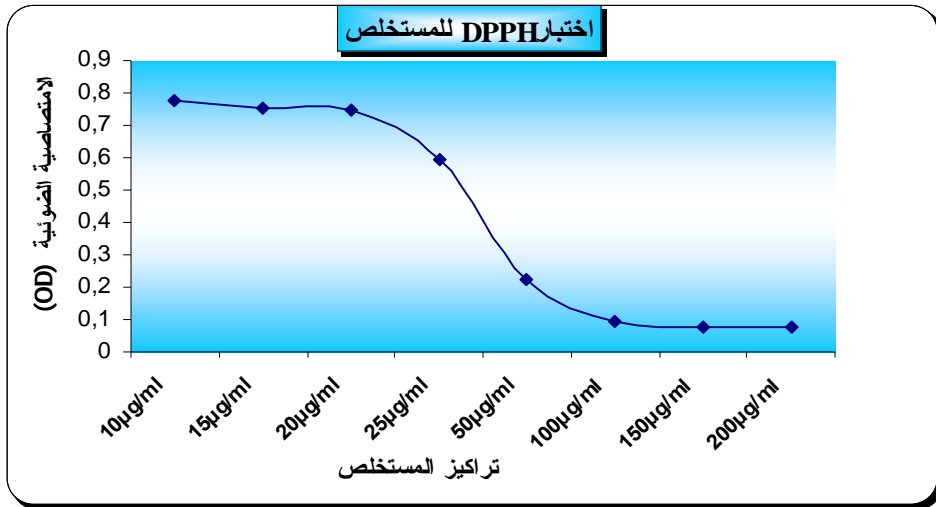
ومنه تمكنا من الحصول على نسبة تثبيط 50% من الجذر (IC50) لكل من Myrcetine الذي اعتبر كمضاد أكسدة مرجعي $IC50m = 2.11$ ومقارنته مع $IC50$ للمستخلص النباتي $IC50E = 3.64$ وذلك من خلال معادلة المنحنى الخطي لنسبة التثبيط .



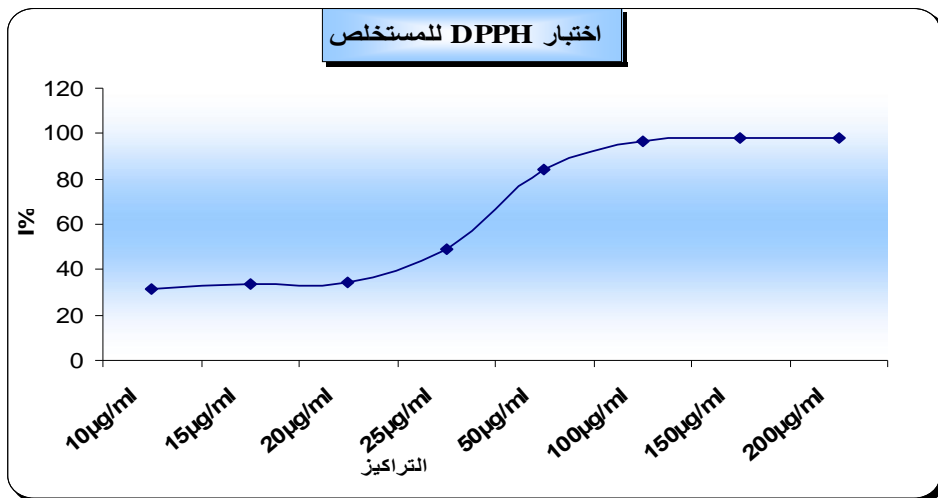
شكل 31: المنحنى الخطي للامتصاصية الضوئية للـ Myricetin بدلالة تراكيز مختلفة



شكل 32: المنحنى الخطي لنسبة تثبيط DPPH بواسطة Myricetin بدلالة تراكيز مختلفة



شكل 33: المنحنى الخطي للامتصاصية الضوئية للمستخلص النباتي بدلالة تراكيز مختلفة



شكل 34: المنحنى الخطي لنسبة تثبيط DPPH بواسطة المستخلص النباتي بدلالة تراكيز مختلفة

المناقشة :

يعرف Chlorpyrifos بقدرته على توليد الجذور الحرة التي تؤدي إلى تقاوم التوتّر التأكسدي مما ينتج عنه تراكم مركبات الأكسدة الفوقية الليبيدية في الأعضاء المختلفة لحيوانات التجارب (Radhey et al ., 2007) ، وتضمن له طبيعته المحبة للذوبان في الدهون سهولة اختراقه للغشاء الخلوي وولوجه إلى السيتوبلازم ، وتكمن خطورته في وصوله إلى داخل الخلية أين يتسبب في أضرار خطيرة .

قد يتسبب CPF في عدة تغيرات عصبية سلوكية وأخرى فيسيولوجية ، وينتج ذلك عن تداخله الوظيفي مع مختلف الأنظمة العصبية ، حيث أظهر (Cindy.S et al ., 2008) تغيرات في السلوك والاستجابات العصبية لدى الجرذان المعاملة ب(CPF) ، في حين لم يلاحظ (Yusuf et al ., 2006) أي تغير في سلوك جرذان التجربة عدا انخفاض استهلاك الغذاء، على عكس نتائجنا هذه التي لم يسجل فيها أي تغير في السلوك .

I- تأثير المبيد على فيسيولوجية حيوانات التجارب :

1- الوزن :

يعد تقدير الوزن والوزن النسبي للأعضاء والجسم معيارا مهما لتقييم لسمية العديد من المركبات . تتسبب المبيدات الفسفورية في نقصان الوزن والوزن المكتسب ووزن بعض الأعضاء ، لدى جرذان التجارب ، التي يلاحظ عندها انخفاض في استهلاك الطعام .

حيث اثبت (Yusuf et al ., 2006) نقصان وزن الحيوانات بعد 3-4 أسابيع من المعاملة بالمبيد الفسفوري Diazinone ، فيما سجل (Baha et al ., 2006) انخفاضا للوزن المكتسب للجرذان المعاملة ب CPF بعد أربعة أسابيع، وقد نسبت خسارة الوزن - في هذه التجارب - إلى انخفاض معدل الاستهلاك الذي يكون CPF سببا فيه .

على العكس من نتائج دراستنا هذه التي لم نسجل من خلالها مبدئيا أي فقدان في وزن الجرذان بعد 10 أيام من المعاملة ب جرعة تقدر ب20 ملغ/كغ ، والتي جاءت مماثلة لنتائج سابقة (Radhey et al ., 2007) ، بل لوحظ زيادة في وزن حيوانات المجموعات الأربعة، حيث سجلت أكبر نسبة في زيادة الوزن في مجموعة المستخلص ، تليها مجموعة المستخلص +المبيد ، المبيد وأخيرا مجموعة الشاهد .

من الطبيعي أن ترتبط نسبة زيادة الوزن بنسبة الاستهلاك اليومي ، غير أن هذه النتائج لا تتناسب مع الزيادة المسجلة في الاستهلاك اليومي ، حيث يلاحظ زيادة الاستهلاك اليومي للغذاء في مجموعة المبيد تليها مجموعة مستخلص+مبيد ، ما يدل على أن مجموعة المبيد رغم زيادة الاستهلاك لم تعرف زيادة في الوزن ، ويمكن تفسير ذلك بعدم اكتساب وزن زائد رغم الاستهلاك الكبير في الغذاء، أي أن CPF لم يؤثر على شهية الجرذان في دراستنا هذه ولكنه كان سببا في عدم اكتساب وزن زائد ، وقد أسندت في بعض الدراسات المماثلة خسارة وزن الجسم إلى زيادة هدم الليبيدات والبروتينات الناتج عن التأثير المباشر لل CPF (Sameeh and Abdel-Tawab , 2010) .

لقد أشارت العديد من الدراسات قدرة CPF على توليد الجذور الحرة ، المؤدية بدورها إلى تفاقم التوتر التأكسدي ، حيث تعتبر الأكسدة الفوقية الليبيدية الآلية الخلوية لسمية CPF . إن طبيعة CPF المحبة للذوبان في الدهون ، كالعديد من المبيدات الفسفورية تسمح له بالارتباط بشدة مع الأغشية الخلوية ، خاصة مع الفسفوليبيدات ثنائية الطبقة التي تؤدي إلى إحداث أضرار في الغشاء عن طريق استحداث الأكسدة الفوقية الليبيدية (Fatma et al ., 2010)، حيث تتسبب المركبات الناتجة عن الأكسدة الفوقية الليبيدية تغيرا عميقا في الهيكل التركيبي ووظيفة الغشاء ، الخلوي ، متضمنة انخفاض ميوعة الغشاء وزيادة نفاذيته ، تعطيل سلسلة الإنزيمات الغشائية وفقدان الأحماض الدهنية (Suleiman et al., 2010).

يعتبر Mlondialdehyde (MDA) المركب النهائي الناتج عن الأكسدة الفوقية الليبيدية، والناتج عن التداخل بين الجذور الحرة والجزيئات الخلوية (Fatma et al., 2010) ، وتعتبر مؤشر مهم للأكسدة الفوقية الليبيدية.

يتسبب CPF (بجرعة تقدر ب 20مغ/كغ ، لمدة عشرة أيام) في دراستنا هذه في ارتفاع مستوى MDA المصلية مقارنة مع مجموعة الشاهد ولقد جاءت هذه النتائج مطابقة لبعض الأعمال السابقة (Erdal et al ., 2002) (Baha et al ., 2006) (Ayse et al ., 2006) (Mustafa et al ., 2009)،

مما يدل على النشاط التأكسدي الذي يمارسه المبيد وقدرته على إحداث الأكسدة الفوقية الليبيدية و تعد الزيادة في مستويات Mlondialdehyde المركب الألدهيدي السام دليل على حدوث أضرار نسيجية وخلوية ناتجة عن التوتر التأكسدي ، ويمكن اعتبار الأضرار التأكسدية عبارة عن مجموعة من الأحداث المتتالية تبدأ بتركيب الجذور الحرة التي تمثل بداية سلسلة من التفاعلات تتداخل فيها الجذور مع المكونات الخلوية والتي تقود هي الأخرى إلى سلسلة جديدة من التفاعلات الجذرية تنتهي بالموت المبرمج.

II- تأثير CPF على التكامل الوظيفي للكبد :

1- تأثيره على الإنزيمات السيتوزولية الكبدية :

يلعب الكبد دورا أساسيا في إزالة سمية Xénobiotic ، مما يزيد من مدة تعرضه لمختلف المركبات الكيميائية ومشتقاتها السامة (Mahaboob and Gurjot, 2007).

تعد الإنزيمات المصلية ALT, AST Transaminases إنزيمات مهمة وضرورية في العمليات البيولوجية حيث توجد هذه الإنزيمات في سيتوزول الخلية الكبدية .

عند إصابة الغشاء الخلوي للخلايا الكبدية يتم تحرير العديد من الإنزيمات المتمركزة في السيتوزول كـ ALP, ALT, AST وكذلك LDH في الدم، وبالتالي يمكن اعتبارها كمعلمات للأضرار الكبدية.

أظهر (Suna et al., 2010) أن المبيدات الفسفورية تتسبب في زيادة نشاط الإنزيمات ALT, AST و كذلك LDH ، ولقد جاءت نتائج دراستنا مماثلة لهذه النتائج وغيرها

(Nahla et al., 2010) (Gennaro et al., 2007) (Radhey et al., 2007) ، حيث سجل ارتفاع معنوي في الإنزيمات ALP, ALT, AST في مصل الحيوانات، إضافة إلى ارتفاع قيمة

MDA في المجنس النسيجي الكبدية .

إن تزامن ارتفاع قيمة MDA النسيجية والإنزيمات المصلية الكبدية يؤكد تدخل آلية الأكسدة الفوقية الليبيدية ، المتسبب الأول في الإخلال بالتكامل الوظيفي للغشاء الخلوي ، مما يؤدي إلى عدم مراقبة النفاذية الخلوية وبالتالي تسرب الإنزيمات السيتوزولية إلى المجرى الدموي.

2- تأثيره على البروتينات :

يعتقد أن CPF ينتقل إلى الأعضاء المستهدفة بواسطة تجزئه في دهون الدم، وارتباطه مع البروتينات المصلية ، إن هذا الارتباط يتسبب في انخفاض صورته الحرة في الدم، لكنه يسهل من هدمه ويساعد في نقل نواتجه الأيضية والتخفيف من سميتها (Yang et al., 2009).

في دراسة أجراها (Yong et al., 2006) لدراسة ارتباط المبيدات مع نوعين من البروتينات Albumine و Hémoglobine لوحظ أن المبيد يرتبط مع كلا البروتينين ولكن يكون ارتباطه أقوى مع Albumine.

1-2 - تأثيره على Albumine:

يعد Albumine أهم البروتينات البلازمية وأكثرها تواجداً ، و يعد ناقلاً هاماً للعديد من المركبات الداخلية والخارجية ، حيث يمكنه الارتباط مع العديد من المركبات كالأحماض الدهنية Bilirubine ، Herbicide و Insecticide حيث يتم تركيبه على مستوى الكبد . لقد أظهرت عدة دراسات أن هذا التركيب يمكن أن يقلل تحت تأثير المبيدات الفسفورية خاصة CPF (Suna et al., 2010).

يلاحظ من خلال دراستنا هذه انخفاض ملحوظ في مستوى Albumine المصلي، مقارنة مع مجموعة الشاهد وجاءت هذه النتائج مطابقة للعديد من النتائج السابقة ل (Ayse et al.,2008) (Saida et al.,2008) ويدل هذا الانخفاض على حدوث خلل كبدى قد يكون نسيجي أو وظيفي، وهو ما يدعم ما سبق من نتائج الخاصة بالأنزيمات المصلية الكبدية ويفسر هذا الانخفاض بإمكانية تدخل المبيدات الفسفورية في ميتابولزم البروتينات و الأحماض الأمينية الحرة ، أو إلى انخفاض تركيبه في الكبد ، أو قد يعزى إلى نقص قيمه الحرة بسبب ارتباطه مع CPF. كما يتسبب CPF في خفض قيمة البروتينات المصلية مقارنة مع مجموعة الشاهد ، وقد يرجع هذا إلى الأكسدة البروتينات وتدخل في ميتابولزم العديد من المركبات البروتينية وهدمها .

III - تأثير CPF على التكامل الوظيفي للكلى:

تعد الكلى أحد الأعضاء المستهدفة في حيوانات التجارب عن طريق التعرض المزمن، الحاد، تحت المزمن للمركبات الفسفورية (Sameeh and Abdel-Tawab , 2010). يعتبر Créatinine مؤشر على سلامة الوظيفة الكلوية ، أي النشاط الكبيبي الترشيحي والإخراج الأنبوبي.

يتسبب CPF في بحثنا هذا في زيادة مستوى Créatinine المصلي ولقد جاءت هذه النتائج مماثلة لنتائج (Sameeh and Abdel-Tawab, 2009) ، وقد ترجع هذه الزيادة إلى حدوث إتلاف في الوظيفة الترشيحية أو إلى حدوث أضرار كلوية .

إن Uric acid هو المركب النهائي لهدم القواعد البيرينية و البيورينية (purine , pyrimidine)، قد ترجع الزيادة في نسبته بعد المعاملة ب CPF إلى زيادة المركبات الأكسجينية الناتجة عن أيض المبيد والتي تعتبر أكثر سمية من المركبات الأم ، حيث تكون قادرة على بناء روابط مع القواعد الأزوتية

مؤدية إلى هدمها ، أو قد يرجع هذا إلى زيادة تركيب Uric acid ونقص طرحه. كما سجل من خلال هذه الدراسة ارتفاع مستوى Urée البلازمي ، حيث يعد هذا الأخير مؤشر لهدم البروتينات وقد يرجع ارتفاع مستواه إلى زيادة هدم البروتينات ويؤكد ذلك انخفاض القيم المصلية لهذه الأخيرة تحت تأثير CPF.

يعد التوازن الشاردي عامل جد مهم لثبات الوسط الداخلي ولضمان العديد من الوظائف الحيوية ، وتتسبب المعاملة ب CPF في اضطراب في قيم الشوارد على جانبي الغشاء حيث يتسبب في انخفاض مستوى Na^+ و K^+ البلازمي ، مما يؤكد فرضية استهداف المبيدات الفسفورعضوية للعضيات الغشائية و الإخلال بالتكامل الوظيفي للغشاء وبالتالي إحداث اضطرابات خلوية باعتبار الغشاء الخلوي بوابة التبادلات الخلوية الحيوية ، وهو ما يفسر الضرر النسيجي الناتج عن هذا النوع من المبيدات في أعضاء الحيوانات .

تأثير CPF على الكولسترول والجلسريدات الثلاثية :

في بحثنا هذا يتسبب CPF في ارتفاع مستوى الكولسترول المصلي في المجموعة المعاملة بالمبيد وقد جاءت نتائج بحثنا مطابقة لنتائج سابقة (Ogutcu et al., 2008), (Lasram et al., 2009) ، قد ترجع هذه الزيادة إلى تأثير المبيد على نفاذية أغشية الخلايا الكبدية ، أو قد يرجع إلى انسداد القناة الكبدية الصفراوية ، مما يؤدي إلى تقليل أو توقيف تحرير الكولسترول في الاثنا عشر (Suna et al., 2010) .

وقد تسبب بعض أنواع المبيدات الفسفورعضوية انخفاض في VLDL و الجلسريدات الثلاثية حيث سجلنا من خلال نتائج بحثنا هذا انخفاضا معنويا في قيم هذه الأخيرة وجاءت هذه النتائج مماثلة لغيرها من النتائج (Ayse et al., 2008) (Suna et al., 2010) ، و قد يرجع هذا إلى انخفاض إلى الإصابة الكبدية وتحديد البرانشيمية ويؤكد هذا الارتفاع المسجل في قيم ALP التي غالبا ما تكون مصحوبة بتمثل هذه الإصابات .

تأثير CPF على الأعضاء المختلفة :

تختلف حساسية واستجابة الأعضاء لسمية المبيدات الفسفورعضوية من عضو لآخر ولقد أثبتت الدراسات السابقة تسببها في إلحاق الضرر في مختلف أعضاء الحيوانات المدروسة دون تحديد استهداف هذه المبيدات لعضو معين ، حيث بينت التجارب السابقة تسبب CPF في زيادة مستوى

الأكسدة الفوقية الليبيدية (MDA) في الخلايا العصبية (Dan et al., 2009) ، الكبدية ، الكلوية ، الخصيتين ... الخ، لذا قمنا في بحثنا هذا بدراسة كل الأعضاء وقياس نسبة تضرر كل عضو من خلال قياس قيم MDA النسيجية.

يتسبب CPF في بحثنا هذا بزيادة مستوى MDA النسيجية في جميع الأعضاء، كما هو الحال بالنسبة للعديد من الأعمال (Astiz et al., 2009) (Mustafa et al., 2009) (Theodore et al., 2005) .

لقد بينت النتائج المتحصل عليها في بحثنا هذا تضرر جميع الأعضاء دون استثناء ولكن بنسب مختلفة حيث يتصدر الطحال قائمة الأعضاء التي عرفت أكبر ارتفاع في مستوى MDA النسيجية يليه الكبد ثم الرئتين ، الخصيتين ، القلب ، الكلى وأخيرا الدماغ .

ويلاحظ أن الدماغ هو الأقل تضررا مقارنة مع بقية الأعضاء ، رغم حساسيته وتوفير العوامل المساعدة على هيمنة التوتر التأكسدي فيه ، وذلك بسبب تركيب ليبيداته الغشائية الغنية بالأحماض الدهنية عديدة عديمة التشبع ، وزيادة استهلاكه للأكسجين (Bhatti et al., 2010) مع نقص مضادات الأكسدة (Theodore and Frederic, 2009)، فيما تؤكد النتائج التضرر الكبير للطحال ، وقد يرجع ذلك إلى طريقة التعرض والجرعة المستعملة من CPF حيث أكدت عديد من الدراسات أن تأثير CPF يختلف باختلاف نوع التعرض أو طريقة الاستهلاك ونوع المذيبات المستعملة (Jordan et al., 2009) أي تغير ميتابولزم المبيد و اختلاف درجة سميته باختلاف المسار المتبع وعدد عمليات الأيض الخاضع لها وبالتالي اختلاف شدة السمية ونوع النواتج الأيضية التي تصل إلى كل عضو إضافة إلى الاختلاف في التركيب النسيجي والوظيفي الذي يحدد درجة التأثير بهذه المركبات .

III- الدور الوقائي للمستخلص النباتي من جنس *Genista* ضد سمية CPF:

تظهر مضادات الأكسدة قدرة على تثبيط الجذور الحرة و تعتبر عديدات الفينول المجموعة الأكبر والأوسع نشاطا وانتشارا لما لها من خواص مضادة للأكسدة (Durak et al., 2010).

ترجع الخواص المضادة للأكسدة للفلافونويدات إلى قدرتها على الاقتناص المباشر لبعض الأنواع الجذرية ، كما قد تلعب الفلافونويدات دور مضادات الأكسدة القاطعة لسلسلة التفاعلات الجذرية ، كما تكون قادرة على رسكلة بعض المركبات المضادة للأكسدة مثل α -tocopherol بواسطة قدرتها على منح ذرة الهيدروجين إلى جذر tocopheryl (Fatma et al, 2010) .

لقد أظهرت نتائج بحثنا الرامي إلى دراسة الدور الوقائي والدفاعي الذي يلعبه المستخلص النباتي الجزائري من جنس *Genista* اتجاه سمية CPF (بجرعة تقدر بـ 20 ملغ/كغ من وزن الجسم)، تمكن المستخلص النباتي بواسطة جرعة تقدر بـ 100 ملغ/كغ من وزن الجسم من خفض قيم MDA المصلية والنسجية ، وكذا تعديل قيم بعض المؤشرات الإنزيمية كـ PHA, TGO, TGP و مستوى Créatinine ، وقد يرجع هذا إلى دوره المضاد للأكسدة وقدرته على تحفيز الجهاز الإنزيمي الدفاعي والحفاظ على السلامة الوظيفية لمكوناته ، زيادة على قدرة المستخلص على الاقتران المباشر للجذور الحرة الناتجة عن مختلف العمليات الأيضية النشطة، وتثبيط عملية الأكسدة الفوقية الليبيدية سواء بقطع سلسلة التفاعلات الجذرية أو من خلال تثبيط تركيب الجزيئات الجذرية .

أما في حالة المعاملة المسبقة بالمستخلص النباتي بجرعة تقدر بـ 100 ملغ /كغ تليها بعد 35- 45 د المعاملة بجرعة من CPF تقدر بـ 20 ملغ/كغ من وزن الجسم ، فإن المستخلص النباتي تمكن من خفض قيم MDA النسجية دون المصلية مقارنة مع مجموعة المبيد دون الشاهد وقد يفسر هذا بقدرة المستخلص النباتي على كبح أو تخفيف التوتر التأكسدي الناتج عن سمية CPF وتحديد الأكسدة الفوقية الليبيدية التي تعد أخطر صور الاضطراب التوتري ، التي تستهدف التكامل البنيوي والوظيفي على حد سواء ، وذلك من خلال تعديل الصور الجذرية للمركبات الأيضية الناتجة عن ميتابولزم CPF كـ CPF-oxon الذي يعد أكثر خطورة من المركب الأصلي والأكثر نشاطا وتداخلا مع المركبات الخلوية المختلفة . غير انه قد يكون (المستخلص النباتي) عجز عن تعديلها كليا أو تدارك أضرارها بعد استفحالها في بعض الأعضاء كالكلية و الرئتين و يظهر هذا من خلال ارتفاع قيم MDA النسجية لهذه الأعضاء، مقارنة مع بقية المجاميع ، مما يبين تفاقم الضرر التأكسدي الناتج وعجز المعاملة المسبقة بالمستخلص النباتي (بجرعة تقدر بـ 100 ملغ /كغ) عن محاربة وردع الضرر النسيجي الناتج في هذان العضوان، إضافة إلى عجزه عن التدخل في ميتابولزم Cholestérol وتعديل قيمه المرتفعة واسترجاع النسب الطبيعية لمجموعة الجلسريدات الثلاثية، ويدل الاضطراب في هذه النسب، حسب الدراسات السريرية إلى الضرر البرانشيمي الكبدي والذي تأكده نسب PHA المرتفعة والتي عجز المستخلص عن تعديلها، فيما تمكن من خفض قيم Créatinine وكذا TGO, TGP مما يدل على قدرته على تثبيط أو على الأقل تخفيف الضرر النسيجي المتسبب في تسرب هذه الإنزيمات ، وقد يرجع هذا

إلى قدرة المستخلص النباتي على أسر الجذور الحرة من خلال التخلي عن ذرة الهيدروجين ، وهذا ما تؤكدته نتائج الدراسة *In vitro* المتمثلة في اختبار DPPH الذي يؤكد النشاط العالي للأسر للجذور الحرة لهذا المستخلص قياسا ب Myricetin مضاد الأكسدة المرجعي، أو قد يرجع ذلك لدوره القاطع لسلسلة التفاعلات الجذرية وكذا دوره في تجديد والحفاظ على مضادات الأكسدة الطبيعية، وقد ينسب هذان النشاطان إلى المركبات الفعالة في هذا المستخلص النباتي والمتمثلة أساسا في مجموعة عديدات الفينول المعروفة بقدرتها التفاعلية العالية و التي تم الكشف عنها من خلال عملية الفصل الكروماتوغرافي لمكونات هذا المستخلص الذي اثبت احتواءه على مركبات فينولية ، كالأحماض الفينولية وخاصة المركبات الفلافونويدية ك Flavone ، Flavonol و Isoflavone ذات التركيب الكيميائي المختلف، حيث يسمح لها هذا التنوع باختلاف وتنوع وظائفها الحيوية ، خاصة تلك التي تحتوي على مجموعة الهيدروكسيل كمستبدل في الموقع 3 والتي أثبتت الدراسات قدرتها على تثبيط الأكسدة الفوقية اللبيدية ، إضافة إلى هيكل Aglycone المثبطة هي الأخرى لإنتاج MDA .

إن تواجد هذه المركبات ذات النشاط المضاد للأكسدة تسمح لهذا المستخلص نظريا لمحاربة صور التوتر التأكسدي والوقاية منه لكن وحسب نتائج الدراسة داخل العضوية يمكن الجزم أن هذا المستخلص النباتي الجزائري من جنس Genista له القدرة على التقليل من سمية المبيد CPF من خلال تحسين بعض المؤشرات وخفض قيم MDA ولكنه لم يتمكن من توفير الحماية الكلية من هذه السمية من خلال المعاملة المسبقة ، وقد يرجع هذا لعدة أسباب قد يكون أحدها الجرعة المستعملة (100ملغ/كغ) وعجزها أمام الجرعة المستعملة من المبيد وفشل المستخلص في تعديل النواتج الأوكسجينية النشطة كليا بسبب سرعة انتشارها في الدورة الدموية ويظهر ذلك من خلال عجزه عن تعديل قيم MDA المصلية والنسجية للكلى والرئتين ، أو قد يرجع هذا إلى التوقيت المستعمل في هذه التجربة حيث يلعب العامل الزمني دورا جد مهم في تحديد فعالية المستخلص من خلال تحديد سرعة هدم المستخلص النباتي وبالتالي استنفاد كمياته الفعالة قبل تثبيط النواتج الجذرية للمبيد ، وبالتالي هيمنة التوتر التأكسدي.

ولقد جاءت هذه النتائج مطابقة لنتائج أعمال سابقة مع مختلف أنواع المستخلصات النباتية المعروفة أو التي تم إثبات نشاطها المضاد للأكسدة مثل مستخلص قشرة الكاجو (cashew nut skin extract) فرغم قدرته على التقليل من سمية المبيد الفسفور عضوي Dimethoate إلى أن المعالجة المسبقة لم تسمح بتوفير الحماية الكلية لجميع الأعضاء مثل البنكرساس مثلا (Vasudeva et al., 2008)

كما أثبت (Mahboob et al.,2005) و (Mahaboob and Gurjot ,2007) أن المعالجة المسبقة بمستخلص الشاي الأسود و الأخضر علي التوالي لم تنجح في خفض قيم MDA مقارنة مع مجموعة الشاهد إلا انه تمكن من خفضها مقارنة مع مجموعة المبيد CPF وذلك رغم إثبات النشاط المضاد للأكسدة لهذا المستخلص وغناه بمختلف المركبات الفلافونويدية، وهو ما يطابق نتائج عملنا هذا. لذا يمكن القول أن دور هذا المستخلص النباتي وغيره من المستخلصات في التخلص أو التخفيف من سمية مثل هذه المركبات يعتمد على جملة من العوامل المتوجب توفرها والمطلوب دراستها والبحث فيها وعدم الاعتماد كلياً على القياسات خارج العضوية للنشاط المضاد للأكسدة فقط لإثبات دورها في محاربة مثل هذا النوع من السمية بل يجب الأخذ بعين الاعتبار التحول البيولوجي لهذه المركبات داخل العضوية واختلاف المسارات الخاضعة لها وبالتالي استغلال هذه الخواص من أجل التحكم في الجرعات الفعالة في التخلص من سمية هذا النوع من المبيدات وغيرها من المركبات السامة.

الخلاصة:

يتمكن المبيد الفسفورعضوي CPF بواسطة جرعة تقدر بـ 20 مغ/كغ من تحريض التوتر التأكسدي والتسبب في أضرار نسيجية مقاسه من خلال تقدير قيم MDA المصلية والنسجية وكذا من خلال قيم الإنزيمات المصلية التي تؤكد الأضرار النسيجية اللاحقة بكل الأعضاء وخاصة على مستوى الغشاء الخلوي والمؤدية إلى مجموعة من الاضطرابات الوظيفية المبينة في صورة اختلال في التوزيع الطبيعي والفعال لكافة الإنزيمات TGO, TGP, ALP... والشوارد على جانبي الغشاء (Na^+ , K^+) والاضطراب في مستوى المحتوى الليبيدي و البروتيني، مما يؤكد نظرية الآلية الخلوية للـ CPF المعتمدة على الأكسدة الفوقية الليبيدية .

وفي محاولة للتخلص أو على الأقل التخفيف من سمية هذا المبيد وخاصة التوتر التأكسدي المصاحب لجميع صور الضرر النسيجي والوظيفي المدروس تمكنا من استخدام المستخلص البيتانولي للنبذة الجزائرية من جنس Genista المستعملة في بحثنا هذا وذلك على مرحلتين :

❖ حيث أثبتت المعاملة بجرعة يومية من المستخلص النباتي تقدر بـ 100 مغ/كغ دون تحريض التوتر التأكسدي بواسطة المبيد CPF، تمكن المستخلص من خفض قيم MDA النسيجية والمصلية ، كما ساهم في تعديل مستويات بعض الإنزيمات المصلية TGO, TGP, ALP وقد يرجع ذلك لتحسينه لأداء الجهاز الدفاعي الطبيعي ، الإنزيمي أو المناعي إضافة إلى دوره الأساسي في التخلص من الجذور الحرة وتحسين بعض الأضرار النسيجية من خلال نشاطه المضاد للأكسدة الذي اثبت فعليا من خلال نتائج بحثنا *In vitro* .

❖ أما المعاملة بنفس الجرعة من المستخلص تليها بعد 35-40 دقيقة معاملة بجرعة تقدر بـ 20 ملغ/كغ من وزن الجسم من المبيد أثبتت قدرة المستخلص النباتي على خفض قيم MDA النسيجية لمختلف الأعضاء باستثناء الكلى والرئتين، والتي قد يكون التوتر التأكسدي قد استفحل فيهما ورغم أن هذا الانخفاض لم يكن معنوي بالنسبة لمجموعة الشاهد إلا أن المستخلص النباتي تمكن من خفض قيم MDA مقارنة مع مجموعة المبيد وبالتالي تمكنه من محاربة الأكسدة الفوقية والحد من انتشارها ، من خلال هذا يتضح أن المستخلص النباتي الجزائري تمكن من التخفيف من التوتر التأكسدي وتحسين بعض المؤشرات لكنه لم يتمكن من توفير الحماية الكلية من سمية المبيد الفسفورعضوي CPF الناتجة عن جرعة تقدر بـ 20 ملغ/كغ.

التوصيات :

يعد هذا البحث عملا مبدئيا ، ودراسة تجريبية لتحديد الجرعات والطرق الأمثل في دراسة الأضرار التأكسدية الناتجة عن المبيد CPF ومدى استجابة العضوية اتجاه دور الحماية الذي يمارسه المستخلص النباتي من جنس *Genista* وبالتالي فتح آفاق بحث جديد وواسع حول الدور الوقائي والفعال لمستخلصات نباتات جزائرية في إزالة سمية المبيدات الفسفورية CPF وتسليط الضوء على بقية خواصها والتي غالبا ما تكون مصاحبة للنشاط المضاد للأكسدة، ومنه خرجنا بعدة توصيات تتمثل في :

- ❖ استخلاص ودراسة المركبات الفعالة في هذا المستخلص النباتي و تحديد المركبات المسؤولة عن الوقاية من سمية المبيدات الفسفورية .
- ❖ دراسة التداخل الوظيفي لهذه المركبات مع مختلف الأنسجة وتحديد عوامل الاستجابة ومحاولة استغلال هذه النقاط في توجيه محاربة سمية مثل هذا النوع من المبيدات.
- ❖ دراسة الحركة الصيدلانية وميتابولزم هذه المركبات داخل الجسم من أجل تحديد الجرعات الفعالة .
- ❖ الدراسة الجزيئية ومعرفة مستوى التأثير الجيني .
- ❖ إيجاد إجابات للتساؤلات المطروحة في بحثنا هذا من خلال تجريب جرعات جديدة ومسارات أخرى.

تولد المبيدات الفسفورية كغيرها من Xénobiotics ، الجذور الحرة المختلفة ، O_2^{\cdot} ، H_2O_2 ، OH^{\cdot} وغيرها من النواتج الأيضية التي قد تكون أكثر سمية من المركبات الأصلية ، إذ تكون هذه الجزيئات سريعة التفاعل فتتداخل مع المركبات الخلوية كالبروتينات ،ADN، وخاصة الليبيدات الغشائية مسببة أكسدتها مؤدية إلى ما يعرف بالأكسدة الفوقية الليبيدية LPO ، التي تتسبب في عدة أضرار على مستوى الأعضاء المختلفة .

من جهة ثانية، يحرص Chlorpyrifos (CPF) بواسطة جرعة تقدر ب20 ملغ/كلغ من وزن الكائن الحي الأكسدة الفوقية الليبيدية في جميع الأعضاء و يقاس ذلك من خلال ارتفاع قيم (MDA) malondialdehyde المصلية والنسجية ، كما يتسبب في تسرب الإنزيمات المصلية الكبدية TGO,TGP,ALP ، اضطراب في الاتزان الشاردي Na^+,K^+ وكذا اختلال في المحتوى البروتيني والدهني على مستوى كافة الأعضاء دون استثناء.

لقد اظهر المستخلص البيتانولي للنبته الجزائرية من جنس Genista المستعملة في بحثنا هذا نشاطا مضادا للأكسدة من خلال نشاطه الأسر للجذور الحرة المقاس خارج العضوية ، حيث أدت المعاملة عن طريق الفم لذكور الجرذان بجرعة تقدر ب100ملغ/كلغ من دون تحريض التوتر التأكسدي بواسطة CPF إلى تحفيز الآليات الدفاعية الطبيعية وتعديل مستويات بعض الإنزيمات المصلية TGO,TGP.... وغيرها ومحاربة صور التوتر التأكسدي من خلال خفض قيم MDA المصلية و النسجية.

أما المعاملة المسبقة بهذا المستخلص فقد سمحت بالتخفيف من سمية المبيد من خلال تحسين بعض المؤشرات وخفض قيم(MDA) النسجية مقارنة مع مجموعة المبيد، مما يدل على دور المستخلص في مقاومة سمية المبيد CPF والتخفيف من أضرار.

Abstract

pesticides like other Xénobiotics, Generate a different free radicals species like $\cdot\text{O}_2$, H_2O_2 , $\cdot\text{OH}$ and other metabolites that may be more toxic than the original compounds. These molecules rapidly react with cellular constituents: proteins, DNA, especially the membrane lipids, witch culminated in the oxidation of this compound and others causing a lipids peroxidation LPO, which leads to damage at different organs.

In the other hand; Chlorpyrifos (CPF) can induced a lipids peroxidation (LPO) in all organs at a dose 20 mg / kg body weight, proved by the high values of plasma and tissues malondialdehyde (MDA), few there more CPF CPF can increased serum enzymes activities TGO, TGP, ALP, the ionic imbalance Na^+ , K^+ , as well as disruption in the protein content and fatty content at the all organs without exception

The butanolic extract of Algerian plant used in our study showed antioxidant activity through free radical scavenging activity by the In vitro test, The treatment by gavages with the extract at a dose equal 100 mg/kg only can show a significant stimulation of the natural defense mechanisms and adjusting the levels of some serum enzymes TGO, TGP... as well as fight against oxidative stress by reducing the values of Plasma and tissues MDA.

The pre-treatment of this extract has been allowed to mitigate the toxicity of the pesticide through the improvement of some indicators and reduce the values of MDA tissues compared with a pesticide groups which shows the role of the extract to decrease the damage and protect against pesticide toxicity.

Résumé

Les pesticides comme d'autres xénobiotiques, Génèrent les différents types des radicaux libres O_2^\cdot , H_2O_2 , OH^\cdot et d'autres métabolites qui peuvent être plus toxiques que les composés mère. Ces molécules rapidement interférer avec les protéines, ADN et en particulier les lipides membranaires, provoquant l'oxydation de ces composés et d'autres afin de conduire à ce qu'on appelle la peroxydation lipidique LPO, ce qui entraîne des lésions au niveau de différents organes.

Le chlorpyrifos (CPF), par une dose estimée à 20 mg / kg , Incite la peroxydation lipidique LPO dans tous les organes, et cela peut être mesurer par l'augmentation du taux de Malondialdihyd (MDA) plasmique et tissulaire, il provoque aussi l'augmentation de l'activité d'enzymes sériques TGO, TGP, ALP, un déséquilibre ionique Na^+ , K^+ , ainsi que la perturbation dans la teneur en protéines et d'acides gras au niveau de tous les organes sans exception.

l'extrait Butanolique de la plante algérienne du genre Genista utilisé dans notre travaille à montré une activité antioxydante à travers le test In vitro, de plus Le traitement avec cet extrais sans stimulation de stress oxydative par le CPF, à montrer l'efficacité de cet extrait de stimuler les mécanismes naturels de défense ,en ajustant les niveaux de certaines enzymes sérique TGO ,TGP ...et autres, et lutter contre le stress oxydative en réduisant les valeurs d'MDA.

Le prétraitement par cet extrait a été confirmé l'atténuation de la toxicité de pesticide grâce à l'amélioration de certains indicateur et de réduire les valeurs d' MDA tissulaires par rapport à groupe de pesticides, ce qui démontre le rôle de protection partiel de ce extrait vis-à-vis de la toxicité de CPF le pesticides organophosphoré.

- Ahmed, M. A ; Naqvi, S.N.H ; Arshad, A ; Aslam M.(2006).Effect of pesticide residues on health and different enzyme levels in the blood of farm workers from Gadap (rural area) Karachi-Pakistan. *Chemosphere* 64 1739-1744.
- Akram, R ; Hasan ,S ;Farideh, J .M ; Alireza S; Ali ,R ; Mohammad, A. (2005). Oxidative stress in acute human poisoning with organophosphorus insecticides; a case control study. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 20 88–91
- Anna, A. S ; Elena, R. K ; Ashley, R .M ; Olga, G ; Sivaram, A ; Vincent,C ; Shih-Hong, Y ; Fei Gao ; Yulia, Y. T ; Tim, D. O ; Valerian ,E. K. (2007). Vitamin E deficiency enhances pulmonary inflammatory response and oxidative stress induced by single-walled carbon nanotubes in C57BL/6 mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 221 339–348.
- Anugya, M ; Radhey, S. V ; Nalini, S. (2009) Chlorpyrifos induced alterations in the levels of hydrogen peroxide, nitrate and nitrite in rat brain and liver. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 94 (2009) 55–59.
- Astiz ,M; Maia, J.T.; Carlos, A M; (2009).The impact of simultaneous intoxication with agrochemicals on the antioxidant defense system in rat. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 94 93–99.
- Ayse ,O ; Meltem ,U ; Suna ,K ; Dilek, D ; Fatma ,B ; Yusuf, K. (2006) .The effects of organophosphate insecticide diazinon on malondialdehyde levels and myocardial cells in rat heart tissue and protective role of vitamin E. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 86 93–98.
- Ayse, O; Zekiye, S; Yusuf ,K.(2008). Dichlorvos- induced hepatotoxicity in rats and the protective effects of vitamins C and E. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 26 355–361.
- Baha, O ; Mehmet, G ; Hilmi, D ; Meltem, O ; Seren ,G G ; Gulnur, T ; Tamer M; Irfan A. (2006) Endometrial damage and apoptosis in rats induced by dichlorvos and ameliorating effect of antioxidant Vitamins E and C. *Reproductive Toxicology* 22 783–790.

- Ballesterosa, M .L ; Wunderlin, D .A ;Bistoni ,M.A. (2009).Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 199–205.
- Bektas , T ; Munevver,S ; Akpulat ,H.A. ; Atalay,S.(2005).In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chemistry* 92 89-92
- Bhatti, G K; Kiran, R; Sandhir, R. (2010).Modulation of ethion-induced hepatotoxicity and oxidative stress by vitamin E supplementation in male Wistar rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 98 26–32.
- Cindy, S. R ;Olga, A T ;Frederic, J. S ; Theodore, A. S ;Edward, D. Levin. (2008).Developmental diazinon neurotoxicity in rats: Later effects on emotional response. *Brain Research Bulletin* 75 166–172.
- Dalal ,j. (2006) Etude de la toxicité de pesticides vis-à-vis de deux genres de levures : approche cinétique et moléculaire (Thèse Présentée pour obtenir les titres de docteur de l' institut national polytechnique de Toulouse) (INP) : 2395.
- Dan, Q; Frederic, J. S ; Theodore, A. S. (2005) . Oxidative mechanisms contributing to the developmental neurotoxicity of nicotine and chlorpyrifos. *Toxicology and Applied Pharmacology* 206 17– 26.
- Dharm, P. G ; Anil, K. B; Anshoo , M ; Ravi, K ;. Dhawan, D.K. (2009) .Methomyl induced hematological and biochemical alterations – protection by vitamin E. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 93 127–132.
- Dilip, G; Arjan, S.(2008).A Review: Vascular action of polyphenols.*Mol. Nutr. Food Res.* 2009, 53, 322-331.
- Durak, D; Kalender ,S; Uzun, F.G; Demir, F; Kalender, Y. (2010). Mercury chloride induced oxidative stress and the protective effect of vitamins C and E in human erythrocytes in vitro. *Afr. J. Biotechnol.* 9 (4), 488–495.
- Elsa, S; Maria ,d J; Elizabeth ,R; Isabel ; Betzabet ,Q. (2008). Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. *Reproductive Toxicology* 25 455–460.

- Enomoto ,T; Nagasako-Akazome , Y; Kanda, T; Ikeda, M; Dake, Y. (2008). Original Article: Clinical Effects of Apple Polyphenols on Persistent Allergic Rhinitis: A Randomized Double-Blind Placebo- Controlled Parallel Arm Study. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2006; Vol. 16(5): 283-289.
- Erdal, K; Fatih, G; Mehmet,A; Meral, O; Alpaslan ,G.(2002) Protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on lung toxicity induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Exp Toxic Pathol* 54: 97-108.
- Estany S ; Palacio, J R ; Barnadas, R ; Sabes, M ; Iborra ,A ; Martinez,P. (2007) Antioxidant activity of *N*-acetylcysteine, flavonoids and α -tocopherol on endometrial cells in culture. *Journal of Reproductive Immunology* 75 1-10.
- Farhana ,A .R ; Mahmuda ,H. (2009). In Vitro Antimicrobial, Cytotoxic and Antioxidant Activity of Flower Extract of *Saccharum Spontaneum* Linn . *European Journal of Scientific Research* ISSN 1450-216X Vol.30 No.3, pp.478-483.
- Fatma, G. U ; Filiz ,D ; Suna, K ;Hatice, B ;Yusuf, K. (2010).Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats. *Food and Chemical Toxicology* 48 1714–1720.
- Fatma ,G .U; Suna ,K ;Dilek, D ; Filiz, D; Yusuf,K. (2009) . Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology* 47 1903–1908.
- Fu ,Y; Ziren ,W; Bao, J; Yongqiang, W; Jing ,W; Decheng, B. (2008) . Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of combination of vitamins C and E. *Experimental and Toxicologic Pathology* 59 415–423.
- Gaétan ,C; Robert ;C. B; Michèle, B; Nathalie, H. Gosselin, M .D; Yvette, B. (2005). Évaluation de l'exposition humaine aux organophosphorés et des risques associés à l'aide de biomarqueurs urinaires. R-406.
- Gennaro, G ; Zhara ,A ; Marina, G ; Annabella ,V ; Terrance ,J. K ; Lucio, G. C. (2007) . Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. *Toxicology and Applied Pharmacology* 219 181–189.

- Hirota ,F; Masami, S; Satoru, M; Kohji, M.(2005).Cancer Prevention with Green Tea Polyphenols for the General Population, and for Patients Following Cancer Treatment. *Current Cancer Therapy Reviews*, 1, 109-114.
- Ismail ,C ; Huseyin ,S. (2008) .The hematological effects of methyl parathion in rats. *Journal of Hazardous Materials* 153 1117–1121.
- Ismail ,I; Ismail, C. (2008). Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 92 38–42.
- Jordan, N .S ; James , A. C; Andrea, L. B-H ;Sookwang, L ;Toraka, S. P; Dana, B B; Charles T. (2009).Comparative chlorpyrifos pharmacokinetics via multiple routes of exposure and vehicles of administration in the adult rat.*Toxicologie* 261 47-58.
- Ju-Sung, K ; Myong-Jo, K.(2010). In vitro antioxidant activity of *Lespedeza cuneata* methanolic extracts. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(8), pp. 674-679.
- Kashif, R; Zaidi ,S.M ; Naheed ,B. (2004).Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta* 340 229–233.
- Lasram, M.M., Annabi, A.B., Elj, N., Selmi, S., Kamoun, A., El-Fazaa, S., Gharbi, N., 2009. Metabolic disorders of acute exposure to malathion in adult Wistar rats. *J. Hazard. Mater.* 163, 1052–1055.
- Latifa,C. (2006). Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : études cinétique, structurale et conformationnelle..
- Lei, L; Oliver C C.-Y; Hye-Kyung ; Soo-Muk ; Ki-Moon ; Yang C L; Jeffrey B. B; Robert M. R; Kyung-Jin Y.(2009). A fluorometric assay to determine antioxidant activity of both hydrophilic and lipophilic components in plant foods *Journal of Nutritional Biochemistry* 20 219–226.
- Lesley, K. M; Manohar, L. G. (2003).Vitamin E supplementation in the mitigation of carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 14 211-218.

- Lin, N ; Mitchell W ; David P ; Mohsen M. (2006) Mechanism by which avenanthramide-c, a polyphenol of oats, blocks cell cycle progression in vascular smooth muscle cells. *Free Radical Biology & Medicine* 41 702-708.
- Lina ,L; Fenghua F ; Tian W; Pingping H; Wenyu X; Changkun L(2009). Protective effect of reduced glutathione on the respiratory muscle injury induced by acute omethoate poisoning *Pesticide Biochemistry and Physiology* 95 135–140.
- Mahaboob, K. S ; Sobti R C ; Lincee Katariaa.(2005) .Pesticide-induced alteration in mice hepato-oxidative status and protective effects of black tea extract. *Clinica Chimica Acta* 358 (2005) 131–138.
- Mahaboob ,S. K; Gurjot K.(2007) .Subacute oral toxicity of chlorpyrifos and protective effect of green tea extract. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 89 118–123.
- Manal, E.A. E; Nashwah I Z. (2009).Comparative study on pesticide mixture of organophosphorus and pyrethroid in commercial formulation *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28 219–224.
- Maret, G. T ; Jeffrey A. (2007).Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology & Medicine* 43 4–15.
- Mariana, A ; Maria J.T.; Carlos A. (2009). Antioxidant defense system in rats simultaneously intoxicated with Agrochemicals. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28 465–473.
- Mariana ,A ;Maria ,J.T.;Carlos, A M. (2009). Effect of pesticides on cell survival in liver and brain rat tissues. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 2025–2032.
- Marilyn ,D. S ; Simone, O H; Kaiyu ,W ; Deadre, J. J. (2009) .Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. *Toxicology* 259 1-9.
- Massimo ,D; Carmela ,F; Roberta ;D.B; Raffaella; G; Claudio; G; Roberta ;M. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità* 2007 | Vol. 43, No. 4: 348-361.

- Melissa ,C. R; Frederic, J .S; Dan, Q; Charlotte, A. T; Mandy ,M. C; Theodore ,A. S. (2004) . Does pharmacotherapy for preterm labor sensitize the developing brain to environmental neurotoxicants? Cellular and synaptic effects of sequential exposure to terbutaline and chlorpyrifos in neonatal rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 195 203– 217.
- Milan, J;Melita, K; (2010)A Review :Neurotoxic effects in patients poisoned with organophosphorus pesticides: a review .*Environmental Toxicology and Pharmacology* 29 195–201 .
- Moudir; N. (2004). Les Polyphenols de la propolis (Mémoire Présenté En vue de l'obtention du Diplôme de: Magister en Chimie) .
- Murat ,K ; Gokhan, E ; Sibel, S. (2009).Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 909–915.
- Mustafa ,C ;Mehmet, E. B ;Ahmet, B ; Fatih ,A ; Levent, O. (2010).Effects of vitamin E and selenium on tissue bio-element status in organophosphate toxicity of rats Pesticide. *Biochemistry and Physiology* 98 9–18.
- Mustafa ,C; Ahmet, B; Mehmet, E; Buyukokurog, l ; Fatih, A, Lacine ,T. (2010) Protective roles of vitamin E (a-tocopherol), selenium and vitamin E plus selenium in organophosphate toxicity in vivo: A comparative study.
- Mustafa, C ;Ahmet, B ; Mehmet ,E .B ; Fatih, A ; Lacine ,T. (2009). Protective roles of vitamin E (a-tocopherol), selenium and vitamin E plus selenium in organophosphate toxicity in vivo: A comparative study. *Pesticide Biochemistry and Physiology* . 96 113–118.
- Nadia ,S. A ; Aneesa, S. M; Mosaad, A. A.(2010).Chlorpyrifos-induced oxidative stress and histological changes in retinas and kidney in rats: Protective role of ascorbic acid and alpha tocopherol.. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 98 33–38.
- Nagat, A ; Kawther, E-G ;Fatma ,M ;Abdel Khalek, E-S. (2010). Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice*Pesticide Biochemistry and Physiology* 97 7–12.
- Nahla, S. El-Shenawy. (2010) Effects of insecticides fenitrothion, endosulfan and abamectin on antioxidant parameters of isolated rat hepatocytes. *Toxicology in Vitro* 24 1148–1157.

- Nahla ,S. E-S ;Fawzia, E-S ; Rasha, A. A ; Bedor, E. (2009) Amelioratory effect of vitamin E on organophosphorus insecticide diazinon-induced oxidative stress in mice liver. *Pesticide Biochemistry and Physiology*.
- Naznin ,A and Hasan ,N. (2009). In Vitro Antioxidant Activity of Methanolic Leaves and Flowers Extracts of *Lippia Alba* *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 4(1): 107-110
- Ogutcu, A., Suludere, Z., Kalender, Y., 2008. Dichlorvos-induced hepatotoxicity in rats and the protective effects of vitamins C and E. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 26, 355–361.
- Ordonez, A. A. L ; Gomez,J .D ; Vattuone, M .A ; Isla ,M. I (2006) .Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts *Food Chemistry* 97 452–458.
- Osman ,S ;Irfan, A;Nermin ,K ;Bekir ,Y ; Onur ,A ;. Ramazan, Y .H ; Namik, D . (2005). Nephrotoxicity in rats induced by organophosphate insecticide methidathion and ameliorating effects of vitamins E and C. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 83 21–28.
- Patricia, S. B ; Pablo,M. P ; Reinaldo ,N. T ; Ana Lúcia, S. R ; Alcir, L. D(2005) .Antioxidant defenses and lipid peroxidation in the cerebral cortex and hippocampus following acute exposure to malathion and/or zinc chloride. *Toxicology* 207 283–291.
- Paul ,G.(1999).a review article: Neuropathy target esterase. *Biochem. J.* 344, 625 631 .
- Pincemail,J ; Defraigne ,J.O; Meurisse, M; Limet ,R. (1998) Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires 2ème partie: la vitamine E.
- Possamai ,F.P; Fortunato ,J.J; Feier, G; Agostinho, F.R; Quevedo, J; Wilhelm Filho, D; Dal-Pizzol, F.(2007). Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23 198–204.
- Radhey, S. V ; Anugya, M; Nalini, S.(2009).Comparative studies on chlorpyrifos and methyl parathion induced oxidative stress in different parts of rat brain: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 95 152–158.

- Radhey, S; Verma, A .M; Nalini, S.(2007) In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins Pesticide Biochemistry and Physiology 88 191–196.
- Rafai, M.A ; Boulaajaj, F.Z ; Bourezgui, M; Charra, B; Otmani, H.E ; Benslama, A ; Motaouakkil, S ; Slassi, I. (2007).Aspects cliniques et électrophysiologiques de l'intoxication aiguë aux organophosphores: Clinical and electrophysiological aspects of acute organophosphate intoxication. Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology 37, 35-39.
- Raja ,R ; Bessem ,M ; Saloua; E; Najoua, G.(2008) Biochemical evaluation of hepatic damage in subchronic exposure to malathion in rats: Effect on superoxide dismutase and catalase activities using native PAGE. C. R. Biologies 331 655–662.
- Raja, R; Bessem ,M; Saloua, E; Najoua, G.(2010).Organophosphorus pesticides as food chain contaminants and type 2 diabetes: a review. Trends in Food Science & Technology 21 345e357.
- Robert, L; Vincent, H; Perrine, H;Dominique, L.(2007).Livre:Toxicologie et intoxication professionnelles industrielle 5^{ème} édition.
- Ruchi ,G. M ; Majekodunmi, O. F ; Ramla, A; Gouri ,B. V ; Hussain, A ; Suad ,K .S.(2007) .Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. Food Chemistry 101 465–470.
- Saida ,N ; Mahmoud, B.O ;Amira, A ;Mohamed, N. K ; Lazhar, Z. (2008) Opuntia ficus indica extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. Food and Chemical Toxicology 46 797–802.
- Sameeh ,A. M ; Abdel-Tawab, H. Mossa. (2009).Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. Pesticide Biochemistry and Physiology 93 34–39.
- Sameeh, A. M ;Abdel-Tawab, H. M.(2010).Oxidative damage, biochemical and histopathological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant role of zinc. Pesticide Biochemistry and Physiology 96 14–23 .

- Santosh, K. Y ; Anupama ,O ; Satish, C. P; Vinay, L ; Nalini, S. (2010). Monocrotophos induced lipid peroxidation and oxidative DNA damage in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 97 214–222.
- Sarojini, T; Ajai, K S. (2010).Liver profile of rats after long-term ingestion of different doses of chlorpyrifos. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 97 60–65.
- Shireen, K.F. ; Pace, R.D. ; Mahboob, M. ; Khan, A.T. (2008). Effects of dietary vitamin E, C and soybean oil supplementation on antioxidant enzyme activities in liver and muscles of rats. *Food and Chemical Toxicology* 46 3290–3294.
- Suleiman, F; Ambali, J ;Olusegun, A; Samuel ,A .O; King ,A; Nelson, E.(2010). Vitamin E protects Wistar rats from chlorpyrifos-induced increase³ in erythrocyte osmotic fragility.*Food and Chemical Toxicology*.
- Suna ,K ; Ayse ,O ; Meltem, U ;Fatma ,A ; Dilek, D ; Yavuz,U ;Yusuf, K. (2005) Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes*Toxicology* 211 197–206.
- Suna ,K; Fatma, G .U; Dilek, D; Filiz ,D; Yusuf ,K. (2010).Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology* 48 633–638.
- Swaran ,J.S. F; Manisha,P; Ashish ,M. (2003) Beneficial effect of combined administration of some naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiol chelators in the treatment of chronic lead intoxication. *Chemico-Biological Interactions* 145 267-/280.
- Thabet, H ; Brahmi, N; Kouraïchi, N ; Elghord, H; Amamou, M. (2009) .Intoxications par les pesticides organophosphorés : nouveaux concepts *Organophosphorus poisoning: New concepts. Reanimation* 18, 633-639.
- Theodore ,A S ; Frederic, J. S. (2009).Oxidative stress from diverse developmental neurotoxicants: Antioxidants protect against lipid peroxidation without preventing cell loss. *Neurotoxicology and Teratology*.

- Theodore, A S; Colleen, A O; Frederic ,J. Seidler. (2005).Critical periods for the role of oxidative stress in the developmental neurotoxicity of chlorpyrifos and terbutaline, alone or in combination. *Developmental Brain Research* 157 172 – 180.
- Turhan ,Y; Namik, D; Bekir, Y; Irfan ,A;Ozden, C; Ahmet, C; Nermin,K; Erdogan, I; Ali K. (2005).Vascular wall damage in rats induced by organophosphorus insecticide methidathion *Toxicology Letters* 155 59–64.
- Uchiama, M.and Mihara ,M. (1978).Determination of malondialdehyde processor in tissues by Thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry* ., 86:271-278
- Undeger ,U ; Bas,aran A ; Degen, G. H ; Basaran, N. (2009) Antioxidant activities of major thyme ingredients and lack of (oxidative) DNA damage in V79 Chinese hamster lung fibroblast cells at low levels of carvacrol and thymol. *Food and Chemical Toxicology* 47 2037–2043.
- Valérie,B. (2008). Les propriétés antiangiogéniques des flavonoïdes (Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en chimie .
- Valko ,M ;Rhodes, C.J ;Moncol ,J ; Izakovic, M ; Mazur, M (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interaction* 160 1-40.
- Vasudeva, K; Apurva, K R.; Rajini ,PS. (2008) Dimethoate induced biochemical perturbations in rat pancreas and its attenuation by cashew nut skin extract. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 90 (2008) 58–65.
- Yair ,P; Adel ,A; EHUD, G.(2006). A Review: Inhibition of Amyloid Fibril Formation by Polyphenols: Structural Similarity and Aromatic Interactions as a Common Inhibition Mechanism. *Chem Biol Drug Des*; 67: 27–37.
- Yang ,C. L ;Jeffrey, B.B;Robert, M.R;Kyung-Jin.(2009)A fluorometric assay to determine antioxidant activity of both hydrophilic and lipophilic components in plants foods .*journal of nutritional biochemistry*20 219-22.
- Yong, C ;Jiangfeng ,G;Bujin ,X ; Ziyuan ,C. (2006) . Binding of chlorpyrifos and cypermethrin to blood proteins *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85 110–114.

Yu ,C and Isao ,I. (2009).Antioxidant activity and antitumor activity (in vitro) of xyloglucan selenious ester and sulfated xyloglucan.International Journal of Biological macromolecules 45 231-235.

Yusuf, K ;Meltem, U ; Ayse O ;Fatma A ; Suna. Kalender. (2006).Effects of diazinon on pseudochoolinesterase activity and haematological indices in rats: The protective role of Vitamin E. Environmental Toxicology and Pharmacology 22 46–51.

Zenon, j ; Oscar ,J .M; Marlen ,M. L ; Shela ,G . (2007). In vitro studies of polyphenol compounds, total antioxidant capacity and other dietary indices in a mixture of plants (Prolipid) International Journal of Food Sciences and Nutrition, November; 58(7): 531-541.

المراجع بالعربية :

خالد، م. و مولود، ك. ع. (1979). المبيدات الكيماوية في وقاية النبات