



بسم الله وبعد: تم الرفع بحمد الله من طرف بن عيسى
ق متخرج من جامعة المدية سنة 2007

للتواصل وطلب المذكرات :

بريدي الإلكتروني: benaissa.inf@gmail.com

MSN : benaissa.inf@hotmail.com

Skype :benaissa20082

هاتف : 0771087969

دعوة صالحة بظهر الغيب....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية وزارة التعليم العالي و البحث

جامعة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم علم الحيوان

مذكرة ماجستير

رقم الترتيب:

فرع بيولوجيا وفيسيولوجيا الحيوان

رقم التسلسل:

تخصص فيزيولوجيا أمراض الخلية

عنوان المذكرة

الفعل الوقائي للمستخلص الفلافونيدي من الالتهاب النفروني المحرض
بالـ Paracetamol لدى الجرذان

تقديم: عابد هاجر

تاريخ المناقشة:

أعضاء لجنة المناقشة :

جامعة منتوري قسنطينة	رئيسة	نعيمي دليلة	أستاذة التعليم العالي
جامعة منتوري قسنطينة	مقررة	أمداح سعاد	الأستاذة المحاضرة
جامعة منتوري قسنطينة	ممتحنا	سطة دليلة	أستاذ التعليم العالي
جامعة منتوري قسنطينة	ممتحنا	لعلوي قريشي	الأستاذ المحاضر
جامعة منتوري قسنطينة	ممتحنة	زعمة جميلة	الأستاذة المحاضرة

سنة 2010 / 2011

الإهداء

إلى أختي هدية وهبني الله إياها أمي الغالية التي صورت لي
الحياة شجرة حب وتحملت معي متاعب هذا المشوار بصبر جميل...
أبي العزيز الذي وفر لي سبل التعلم وجعلته شعار وجودي وعنوان
دربي...،

إلى جدتي وجدي الغاليين وإلى روح أختي أسماء، وإلى أختي
العزيز سارة على مساندتها وإلى كل إخوتي عبد الرحمن ومحمد
وإبراهيم وعبد العزيز.

إلى خالتي وأخوالي وعماتي وأعمامي وإلى كل الأهل والأحباب
أهدي ثمرة جهدي.



تشكرات

أحمد الله سبحانه جل شأنه وأشكره جزيل الشكر على إعانته الكبيرة لي في حياتي وفي إنجاز وإتمام بحثي هذا.

أتوجه بخالص تشكراقي لأستاذتي الفاضلة، الدكتورة «سعاد أمداح» على إشرافها، توجيهاتها، نصائحها، صبرها، تعاملها، حضورها، مساعدتها وتشجيعاتها المعنوية خلال مراحل إنجاز هذا البحث، وأتقدم بالشكر الجزيل للأستاذ الدكتور «أحمد مناد» على مساعدته وحضوره ودعمه خلال مراحل إنجاز هذا البحث. وأتقدم بالشكر الجزيل للأستاذ الدكتور «لعلوي قريشي» (أستاذ محاضر بجامعة قسنطينة) والدكتورة «سعاد أمداح» (أستاذة محاضرة بجامعة منتوري قسنطينة) وأستاذة التعليم العالي «سطة دليلة» على المبادرة الطيبة التي قاموا بها من خلال فتح الدراسة ما بعد التدرج وعلى صدق نيتهم في المحافظة علينا، رغم نقص الإمكانيات والضغوط التي كانت من كل الجهات، إلا أنهم أبوا أن يواصلوا الدرب بكل قوة وعزيمة من أجل إنجاز هذه الثمرة العلمية، فشكرا جزيلا لكم.

وأشكر أستاذتي الفاضلة أستاذة التعليم العالي «دليلة نعيمة» على تشريفها لي برئاسة لجنة المناقشة، وأستاذة التعليم العالي «سطة دليلة» على قبولها المشاركة في لجنة المناقشة، كما أشكر الأستاذ الدكتور «لعلوي قريشي» والأستاذة «جميلة زعمة» على قبولهما المشاركة في لجنة المناقشة فلهن مني كل التقدير والاحترام.

كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذة الدكتورة «جميلة زعمة» على المساعدة التي قدمتها لي وتعاونها. فشكرا جزيلا. كما أقدم شكري الخالص للأستاذة متيو رتبية و للأستاذة مجهود سامية و للأستاذة بن عياش فضيلة و للأستاذ بن عياش سمير على مساعدتهم لي في المستخلص النباتي

وفي الأخير أشكر جزيل الشكر كل الزملاء والأصدقاء من جامعة منتوري قسنطينة على المساعدات التي قدموها لي. كما لا يفوتني أن أعبر عن شكري وامتناني لكل الذين مدوا لي يد المساعدة من قريب أو من بعيد فشكرا لكم جزيلا.

الفهرس

1	المقدمة.....
3	2. استعراض المراجع.....
4	1.2 مفاهيم تشريحية وفيزيولوجية للكلية.....
4	1.1.2 البنية التشريحية للكلية.....
7	2.1.2 مفاهيم فيزيولوجية للكلية.....
12	2.2 السمية النفرونية الدوائية.....
12	1.2.2 الالتهاب النفروني الأنثبي.....
13	2.2.2 الالتهاب النفروني البيني الأنبوبي و الكببي.....
13	3.2.2 القصور الكلوي الوظيفي.....
13	4.2.2 الالتهاب النفروني الوعائي.....
14	5.2.2 السمية الكلوية بمضادات البكتيرية.....
14	6.2.2 السمية النفرونية بمضادات السل.....
16	7.2.2 السمية النفرونية والمضادات الفطرية.....
16	8.2.2 السمية النفرونية والمضادات الفيروسية.....
17	3.2 البراسيتامول والسمية النفرونية.....
17	1.3.2 استقلاب وأثر البراسيتامول.....

19	 آليات سمية البراسيتامول
19	 ROS توليد والبراسيتامول 1.2.3.2
20	 N-deacetylase و Prostaglandine synthase دور 2.2.3.2
21	 Cytochrome P 450 دور 3.2.3.2
23	 4. الإجهاد التأكسدي و الجهد الرودوكسي 2.
23	 الأنواع الأكسجينية النشطة 1.4.2
26	 الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة 2.4.2
26	 الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة الأنزيمية 1.2.4.2
33	 الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة غير الأنزيمية 2.2.4.2
36	 5. عديد الفينولات و الفلافونيدات 2.
36	 الخصائص العامة للفلافونيدات 1.5.2
38	 الخصائص البيولوجية للفلافونيدات 2.5.2
39	 العلاقة بين البنية والوظيفة للفلافونيدات 3.5.2
41	 Warionia sp. النبتة تحت الدراسة 6.2
43	 مواد وطرق العمل 3.
43	 نبات Warionia sp 1.3
43	 التصنيف النباتي 1.1.3

43	2.1.3 تحضير المستخلص البيتانولي
44	3.1.3 اختبارات كروماتوغرافية للمستخلص البيتانولي
44	1.3.1.3 الخريطة الفلافونيدية (ورق Whatman)
45	2.3. الحيوانات التجريبية
45	3.3. المعايير
45	1.3.3. معايرة مؤشرات السمية الكلوية
47	2.3.3. معايرة مؤشرات الإجهاد التأكسدي
47	1.2.3.3 قياس الـ TBARS
47	2.2.3.3 معايرة نشاط النظام الجلوتاثيوني
48	3.2.3.3 تقدير نشاط إنزيمات الإجهاد التأكسدي
49	3.3.3. معايرة البروتينات السيتوزولية
49	4.3. الدراسات الهيستولوجية
50	4. النتائج
51	1.4. الدراسة الكيميائية لنيات <i>Warionia sp</i>
51	1.1.4 الخريطة الفلافونيدية للمستخلص البيتانولي للـ <i>Warionia sp</i>
53	2.4. الدراسة البيولوجية للمستخلص البيتانولي للـ <i>Warionia sp</i>
	1.2.4 الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للـ <i>Warionia sp</i> على مؤشرات السمية
53	الكلوية المحرصة بالبراسيتامول لدى الجرذان

2.2.4	الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للـ <i>Warionia sp</i> على مؤشرات الإجهاد
56	التأكسدي بكلية الجرذان المعاملة بالبراسيتامول.....
56	TBARS.1.2.2.4
57	النظام الجلوتاتيوني.2.2.2.4
59	SOD و الـ CAT.3.2.2.4 نشاط الـ
60	الدراسات النسيجية.3.2.4
63	5. المناقشة.
67	6. الخلاصة.
70	7. الملخص.
74	8. المراجع.

المختصرات

γGT	γ - glutamyltranspeptidase
4-HHE	4- hydroxyhexenal
4-HNE	4-Hydroxynonénal
ADH	Antidiurétique
AGPI	Acide gras polyinsaturé
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
APAP	Acetaminophene (paracetamol)
APND	Aminopyrine N-demethyase
BSS	Balanced salt solution
CAT	Catalase
COX	Cyclooxygénase
CY 2E1	Cytochrome 2E1
CYP 1A2	Cytochrome 1A2
CYP 3A4	Cytochrome 3A4
CYP450	Cytochrome 450
DFG	Débit de filtration glomérulaire
DHA	Acide docosahexaénoïque
DMSO	Dimethyl sulfoxide
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid
EPO	Erythropoïétine
G6PD	Glutathione -6-phosphate dehydrogenase
GLD	Glutamate dehydrogenase
GPx	Glutathion peroxydase
GR	Glutathion réductase
GSH	Glutathion réduit
GSH Sase	Glutathion synthétase
GSSG	Glutathion oxydé

GST	Glutathion –S-transférase
HRP	horseradish peroxidase
JNK	cJunN-terminal protein Kinase
LDH	Lactico déshydrogénases
MDA	malondialdéhyde
MEC	Matrice extracellulaire
NAC	N-Acetylcysteine
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotidephosphate
NAPQI	N-acetyl-p-benzoquinone imine
NBT	Nitroblue tetrazolium
NO	Nitric Oxide
NO[•]	Radical oxide nitric
Nrf	NF 2related factor 2
O₂^{•-}	Anion superoxide
PGES	Prostaglandin endoperoxide synthase
PN	<i>Neutrophile</i>
PNP-H	p-nitrophenol hydroxylase
ROS	Reactive oxygene species
SD	Sprague-Dawley
SOD	Superoxyde dismutase
SRAA	Système rénine - angiotensine - aldostérone
TBA	Thiobarbuteric acid
TBARS	Espèces réactives de l'acide thiobarbiturique
TCA	Trichloroacetic acid
TNF	Tumor necrosis factor
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine

المقدمة

المقدمة

إن ترداد الإصابات الكلوية ذات المصدر الدوائي في تزايد مستمر بسبب الإقبال العالي على مختلف الأدوية خاصة منها المسكنات ، مخلفة تلف و نكرزة أنبوبية تنتهي بقصور كلوي (Mazer and Perrone 2008). يعتبر البراسيتامول (APAP (Acetaminophene أهم المسكنات المخفضة للحرارة الذي يلاقي إقبالا مهولا، لتستقلب الجرعة العلاجية إنطلاقا من الكبد عبر تفاعلات glucuronidation و sulfation لتنتج مستقلبات يتم طرحها عبر الكلية (Khandkar *et al.*, 1996) يتم بعض التحول الإستقلابي عبر النظام CYP450 لإعطاء المستقلب النشط (NAPQI) N-acetyl-p-benzoquinone imine و الذي يقترن بالـ GSH مستنفذا إياه بالجرعات العالية (السامة) (Mour *et al.*, 2005). يخل الارتباط التساهمي للمستقلبات النشطة بالجزيئات الضخمة الخلوية خلا بذلك هميوستازيا الـ nephrocyte و الجهد الرودوكسي بالعضيات و بالنظام البيروكسيزومي منعكسا بأريلة بروتينية سيتوزولية و ميتوكوندرية مساهما في تسرب الوسائط الأكسجينية النشطة (Abraham, 2005) و استنفاد للعتاد النفروني .

لقد بذلت جهودا معتبرة خلال 40 سنة السابقة لتقصي آليات السمية الكبدية وأسهمت في بحوث مستفيضة على نماذج حيوانية مختلفة، إلا أن الدراسات حول السمية الكلوية للبراسيتامول لا زالت تعرض حقائق يكتنفها الكثير من الغموض حول آليات هذه السمية التي قد تعود للخصوصية الإستقلابية لهذا العضو (Von Mach *et al.*, 2005) و تمت الإشارة من خلال هذه الدراسات إلى مسارات استقلابية أخرى تحدث على مستوى الكلية كالـ deacetylation للبراسيتامول إلى P- aminophenol بالسيتوزول الخلية النفرونية و كذا تدخل PGES Prostaglandin endoperoxide synthase (Newton *et al.*, 1985). كل هذه الآليات قد تساهم في الإلتلاف النفروني و النكرزة و تنتهي بالقصور الكلوي (Mazer and Perrone, 2008). و للحد من هذه الآثار الجانبية للإصابات الدوائية النفرونية بالـ APAP ، انصب الإهتمام على تعزيز النظام الدوائي بمركبات كيميائية مصنعة أو طبيعية مثل Vit E و Vit C ، الشاي الأخضر، Melatonin،Sylimarin ، Taurine ، وكذا N-Acetylcysteine (Özlem *et al.*, 2009) و تصدر N-Acetylcysteine هذه المركبات من حيث السمية الكبدية بالـ APAP لكونه طليعة الجلوتاثيون GSH (Blakely and McDonald, 1995) . و يبدو أن الدراسات حول وقائية الإصابات الكلوية من الـ APAP متضاربة حول الدور المضاد لسمية الـ APAP مما يجعل ترشيح دوره الوقائي على مستوى الإصابات الكلوية مقارنة بدوره على مستوى الكبد يبقى محدودا (Kheradpezhrouh *et al.*, 2010) و اتجهت كثير من الدراسات إلى البحث عن بدائل طبيعية للـ NAC للإقلال من سمية الـ APAP مثل: acide α -lipoique ، و avicular و polygonun في تعزيز معدلات الـ GSH بالخلايا الكلوية (Sohn *et al.*, 2009) و acide acrylique مضاد للـ NO^o (Somani *et al.*, 2000) و الـ Curcumin منتج من Curcumilonga كمضاد للأكسدة

و المستخلص المائي Harungana madagascariensis في تحسين الوظائف الكلوية (Adeneye et al., 2008). ومن خلال الدراسات المرجعية التي أحصيناها فقد لوحظ أن العديد من النباتات ولما تحتويه من هذه المركبات فإنها تتميز بالقابلية الوقائية و العلاجية للسمية الناتجة عن دواء الـ APAP . ومن بين النباتات التي تستوطن بعض مناطق الصحراء الجزائرية و التي تستخدم عل المستوى الشعبي في الاستشفاء من مختلف الالتهابات نبات الـ Warionia sp والذي يشتهر بالاسم كبار سيد الشيخ. لذا تهدف هذه الدراسة إلى اختبار الفعل الوقائي لأول مرة لنبات الـ Warionia sp من الالتهاب الكلوي المحرض بالبراسيتامول لدى الجرذان اعتمادا على :

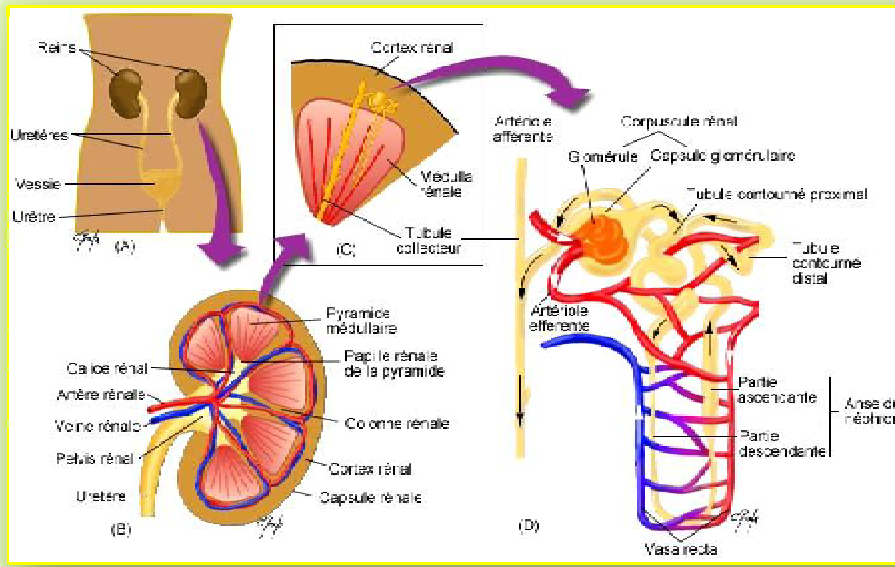
- ترشيح أحد مستخلصات الـ Warionia sp بناء على مدى غناه بالفلافونيدات.
- اختبار الفعل الوقائي على مؤشرات السمية الكلوية المحرض بالبراسيتامول.
- اختبار الفعل الوقائي على الإجهاد التأكسدي المحرض بالبراسيتامول.
- تأكيد الفعل الوقائي بالدراسات النسيجية

2 - استعراض المراجع

1.2 مفاهيم تشريحية وفيزيولوجية للكلية:

1.1.2 البنية التشريحية للكلية

تقع الكليتان على جانبي العمود الفقري أسفل الحجاب الحاجز ومشكلة الجهاز البولي مع الحجاب والمثانة (شكل A1) يعتبر النفرون الوحدة البنوية والوظيفية للكلية وتشكل العديد من النفرونات أهرامات مالبيجي ويوجد ما بين الأهرامات أعمدة كلوية أينما تصب الأوعية الدموية والأعصاب (شكل 1 B). وتتكون الكلى من منطقتين متميزتين: القشرة وهي المنطقة السطحية ذات لون بني محمر والنخاع وهو أكثر عمقا وأكثر شحوبا (شكل 1 C).

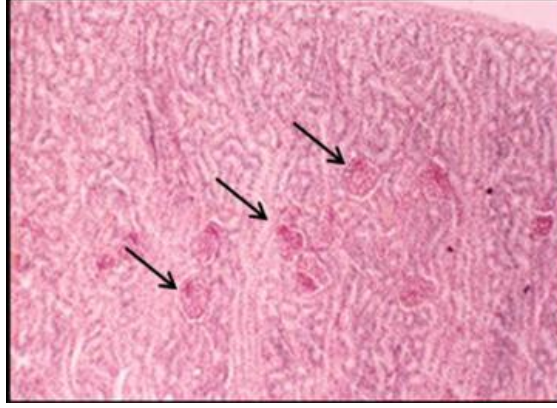


شكل (1) البنية التشريحية للكلية : (A) التوضع الكلوي ، (B) مقطع طولي للكلية، (C) أهرامات نخاعية ونيفرون، (D) نيفرون (Bonsib,2007)

- **النفرون:** تحتوي كل كلية على حوالي مليون من النفرونات لدى الإنسان، ترتبط فيما بينها بالأوعية الدموية، الأعصاب والشعيرات اللمفاوية ليتكون كل نفرون من الكبة والأنبوب الكلوي ويتكون الأنبوب من أنبوب قريب يضم قسمين: أحدهما ملتو والآخر مستقيم نازل، انحناء هنلي، وأنبوب بعيد يضم قسمين: أحدهما ملتو على مستوى القاعدة أينما توجد المنطقة الكثيفة والآخر مستقيم وهو الأنبوب الموصل والقناة المجمعة (شكل 1 D) (Noël, 2008) وتتمثل الوظائف الرئيسية الثلاث للنفرون فيما يلي:

- 1- الإرتشاح الكببي للبلازما من الشعيرات الدموية الكببية نحو لمعة الأنبوب.
- 2- إعادة امتصاص السائل الأنبوبي اتجاه لمعة الشعيرات الدموية الحول أنبوبية.
- 3- الإفراز الأنبوبي لبلازما الشعيرات الدموية الحول أنبوبية باتجاه لمعة الأنبوب.

- **الكبة الكلوية:** تقع الكبة بمنطقة القشرة (شكل 2) ، وهي عبارة عن كرة كبيبية من حزمة مدمجة من الشعيرات الدموية المرتبطة فيما بينها تعرف بالشعيرات الكبيبية (شكل 3). تملك هذه الأخيرة قطبا من الأوعية الدموية المقابلة لمنطقة اتصال الشرايين الواردة والصادرة مع الكبة والقطب البولي المقابل للمنطقة التي ينطلق فيها الأنبوب الملتنوي القريب.



شكل 2: المقطع الطولي : القشرة والنخاع الخارجي (Gougoux, 1999).

تحاط الكبة بمحفظة بومان التي تتكون من طبقتين من الخلايا: رقيقة حشوية أو داخلية، خلايا جدارية أو خارجية. وتتكون الطبقة الجدارية لمحفظة بومان من صفيحة قاعدية جدارية وطلائية جدارية، المسافة بين محفظة بومان والبنية الداخلية للكبة تشكل الغرفة الكبيبية (الغرفة البولية) تحتوي على المرتشح الفوقي الكبيبي أو البولة الابتدائية، وطبقة من الأرجل الكاذبة تعرف بالـ Podocyte تحيط بالشعيرات الدموية الكبيبية بفضل امتداداتها السيتوبلازمية و لها دور مهم في تأمين الارتشاح الكبيبي، يدخل الدم الكليتين عبر الشريان ليقسم إلى فروع أصغر فأصغر لتشكيل الشعيرات الدموية الكبيبية ويتم ترشيح البولة الابتدائية عبر الجدار الشعيري الرقيق وهي الخطوة الأولى في تكوين البول، أما الـ *mésangium* فهو عبارة عن النسيج الذي يقع مركز الشعيرات الدموية الكبيبية، وهو يتكون أساسا من الخلايا *mésangiales* محاطة بالحشوة الميزنجيمية تملك الخلايا *mésangiales* خصائص التقلص، البلعمة ويمكن أن تصنع في الحشوة خارج خلوية. تراقب الخلايا الميزنجيمية التدفق الدموي الشعيري من خلال تقلصها و تؤثر على الارتشاح الكبيبي (Gougoux, 1999).

- الأنابيب الكلوية:

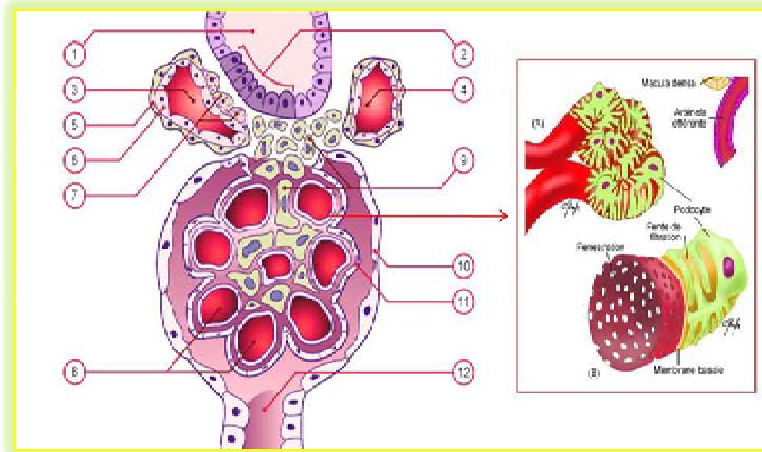
- **الأنبوب القريب:** يعتبر الأنبوب القريب أطول جزء، ويشمل الأنبوب الملتنوي القريب الذي يقع بالقشرة وجزء مستقيم يقع بالنخاع (شكل 1 D). ويتميز الغشاء القمي لخلايا الأنبوب القريب بزغبات مجهرية التي تعطي مظهرا فرشائيا ذات أثر في زيادة سطح التبادل بين اللمعة والخلايا، يتميز الغشاء الجانب قاعدي بالعديد من الطيات أينما تتكثف الميتوكوندري، يؤمن الأنبوب القريب إعادة امتصاص 75 % من الماء والشوارد وفي الشروط الفيزيولوجية العادية، يعاد امتصاص الجلوكوز والأحماض الأمينية والبيكاربونات كلية.

- **انحناء هنلي:** هو امتداد للأنبوب القريب. يشمل الفرع النازل الضيق الذي ينزل للنخاع وفرع صاعد عريض يعود نحو النخاع والخلايا تعلوها الزغابات ، هذا الجزء من النفرون يلعب دورا مهما في تخفيف وتركيز البولة وإعادة امتصاص حوالي 25 % من Na^+ المرتشح.

- **الأنبوب البعيد:** يصب الأنبوب البعيد كلية بالنخاع ليتضمن جزئين: قطعة مستقيمة وقطعة ملتوية، خلايا هذا الأنبوب غير متجانسة وتخلو من الزوائد الفرشائية وتكون الميتوكوندري أقل عددا مما هي عليه بالأنبوب القريب، يزود الأنبوب الملتوي البعيد بنشاط مضخة $Na^+/K^+ATPase$ بشكل معتبر وهو مسؤول عن إعادة امتصاص Na^+ ، Cl^- وأيونات Ca^{+2} .

- **الأنبوب المجمع:** يتألف من نهاية الأنبوب البعيد وقناة مجمعة قشرية وقناة مجمعة نخاعية خارجية وداخلية (شكل C1) وخلايا الأنبوب المجمع صنفان: خلايا رئيسية وخلايا بينية والخلايا الرئيسية هي الأكثر تمثيلا وذات مظهر واضح بسبب السيتوبلازم الفقير من الميتوكوندري، والخلايا البينية أو القائمة هي المسؤولة عن تحميص البولة (Gougoux, 1999).

- **الجهاز الكبيبي الضابط للضغط:** هو بنية صغيرة متخصصة تقع في قطب الأوعية الدموية الكبيبية وتتشكل من نهاية الشريان الوارد والجزء الأول من الشريان الصادر والـ *mésangium* الخارج كبيبية وخلايا *Juxtaglomerulaire* و *macula densa* وتلعب دور في الحفاظ على الضغط الدموي والحجم البلازمي (شكل 3).



شكل (3) الجهاز الكبيبي الضابط للضغط الشرياني (Gougoux, 1999)

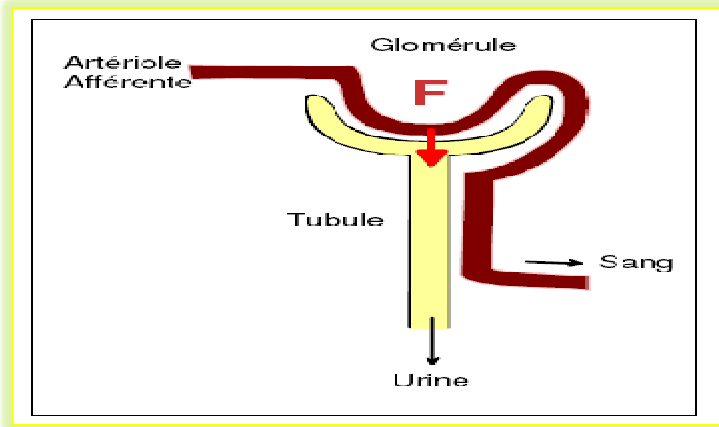
- **الأوعية الدموية:** تكون الكلية غنية بالأوعية الدموية وتحصل على حوالي 1,2 لتر من الدم كل دقيقة

شبكة شعيرية شرين-شرين وشبكة شعيرية حول أنبوبية . تروي أغلب قسم من الدم القشرة (90 %)، (10-20 %) فقط تذهب إلى النخاع. تكون هذه الأخيرة حساسة اذن لنقص O_2 ونقص التروية . قليلة هي الأوعية الدموية النخاعية التي سوف تحيط بإنحاء هنلي وتعرف بالشعيرات المستقيمة (vasa recta) (شكل 1 D).

2.1.2 مفاهيم فيزيولوجية للكلية:

تؤمن الكلى وظائف عديدة ضرورية للجسم كأن تحافظ على التوازن المائي- الألكتروليتي والحمض قاعدي، التخلص من الفضلات من مصدر أبيض (اليوريا-كرياتين-حمض اليوريك) وأيضا مركبات هدم الجزئيات ذات المصدر الداخلي أو الخارجي (السموم، الأدوية) بالإضافة لوظيفتي الإفراز والترويق، تملك الكلية وظيفة الغدد الصماء وتلعب دورا في المحافظة على ضغط الدم من خلال نظام *renine angiotensine* (Gougoux, 1999)

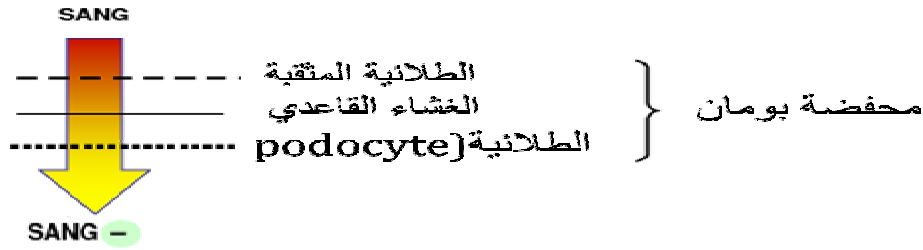
- **الإرتشاح الكبيبي:** تتمثل وظيفة الكبة في ترشيح دم الشعيرات الكبيبية وتشكيل البولة الابتدائية، يكون هنا الإرتشاح سلبيا ومرد ذلك إلى تدرج الضغط الذي يوجد بين الضغط الشرياني للشريان الوارد والضغط المنخفض للكبة نفسها، وبالتالي يحدث هنا بحرية للجزئيات الأقل وزنا جزئيا كالماء والشوارد والبيبتيدات الصغيرة إلا أن البروتينات الكبيرة الوزن الجزيئي (70 KDa) لا يتم إرتشاحها باستثناء حالات الخلل الكبيبي. يبلغ حصيل الإرتشاح الكبيبي (DFG) إلى 120 ml/min وهو حجم لمجموع الكبيبات بوحدة زمنية تقدر بـ 180 لتر من الدم ترتشح يوميا ويعاد إمتصاص البولة الابتدائية المتشكلة بنسبة 99 % في الأنابيب منتجة 1,5 لتر من البولة يوميا (Briançon, 2007) (شكل 4).



شكل (4): الإرتشاح الكبيبي (Pérez-Martin et al., 2007)

يتكون المرشح الكبيبي من:

- 1- بطانة الشرين الوارد، مع الثقوب المتوضعة بين الخلايا الطلائية .
- 2- الغشاء القاعدي.
- 3- الطلائية المتشكلة من طرف خلايا الأرجل الكاذبة (podocyte) حيث تشكل استطالاتها المتشابكة ما يشبه الشبكة. لا يسمح هذا المرشح بمرور كريات الدم والبروتينات، كذلك المواد المرتبطة بالبروتينات



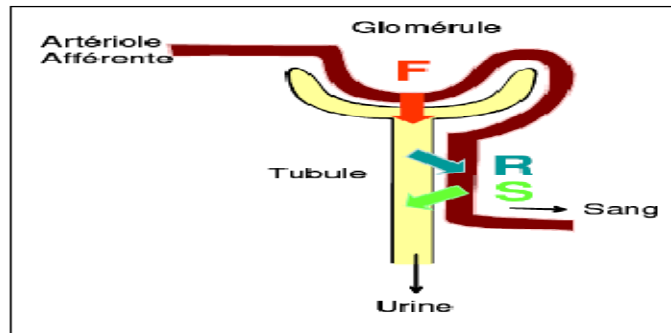
شكل (5) : مكونات المرشح الكبيبي (Pérez-Martin *et al.*, 2007)

تقدر القوة المحركة للارتشاح الكبيبي بالتدرج في الضغط بين لمعة الشريان الكبيبي ولمعة محفظة بومان يتم تعويض جزئي للضغط الهيدروستاتيكي بواسطة الضغط oncotique الناتج عن البروتينات المحبوسة داخل الوعاء الدموي ويقدر التدرج الناتج بما يكافئ 16 مم زئبقي ويتغير هذا بدلالة حالة التقلص أو الاسترخاء النسبي للشريان الوارد والصادر للكبة وعلى سبيل المثال فإن هذا التدرج يزداد في حالة استرخاء الشريان الوارد وتقلص الشريان الصادر (Pérez-Martin *et al.*, 2007) (شكل 6).

	PRESSION		
	Hydrostatique	Oncotique	
Capillaire	60	- 29	Contrôle: Vasomotricité Artériole Afférente / Efférente 
Espace de Bowman	15	0	
delta	45	- 29	
			= 16 mm Hg

شكل (6) : آلية الارتشاح (Pérez-Martin *et al.*, 2007)

- الترويق الكلوي: يتم فيما بعد تعديل تركيب البولة الابتدائية أثناء مساره عبر الأنبوب وداخل الأنبوب المجمع، ويتم بعد هذا إعادة امتصاص بعض المواد التي تم ترشيحها في حين يتم إخراج مواد أخرى بفعالية عبر الأنبوب، كما يمكن لجدار الأنبوب تركيب بعض المواد وتحريرها داخل لمعة الأنبوب (شكل 7).



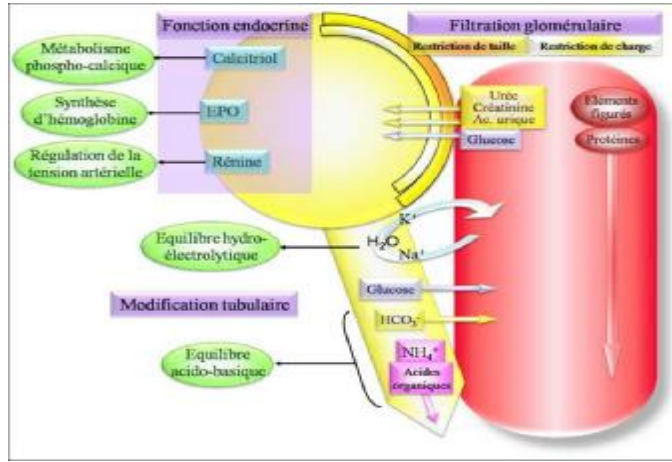
شكل (7) الترويق الكلوي (Pérez-Martin *et al.*, 2007)

وهكذا يمكننا أن نحدد من أجل كل مادة "معدل الارتشاح الكبيبي" الخاص بها ومقارنته مع معدل إطرأها البولي ويعود الفرق إلى إعادة الامتصاص و/أو الإفراز الأنبوبي. ونجد أن الماء يعاد امتصاصه بكمية كبيرة، أما الجلوكوز Glucose فمن المفروض أن يعاد امتصاصه كلياً بينما لا يعاد امتصاص الـ créatinine (Pérez-Martin *et al.*, 2007) والترويق الكلوي الناجم عن الجمع بين هذه الآليات (الارتشاح - إعادة الإمتصاص - الإفراز) والتي تعبر عن الكمية الكلية للبلازما التي تمت تصفيتها من مادة معينة خلال وحدة زمنية. عند شخص سليم، ترويق الجلوكوز معدومة (إلا أنها ليست كذلك بالنسبة لشخص مصاب بداء السكري في حالة ارتفاع نسبة السكر في الدم. عندما يظهر الجلوكوز في البول: glycosurie). يمثل الكرياتينين créatinine ناتج لهدم البروتينات العضلية ويتواجد عادة في البلازما، ويمتاز بمعامل تصفية قريب من معامل تصفية الـ inuline هي صبغة مرتشحة لكن لا يتم إعادة امتصاصها ولا إفرازها ولا حتى هدمها، والذي يمكننا حقنه في الجسم لقياس معدل الارتشاح الكبيبي، مما جعله مستعملاً بكثرة في الممارسات السريرية من أجل تقييم قدرة الارتشاح الكبيبي، بالنسبة لحمض Para-amino-hippurique (PAH) فلا يتم ارتشاحه فحسب بل يتم إفرازه أيضاً حيث يتم طرحه تقريباً كلياً من البلازما، إذن يمكن استعماله بحقنه عبر الوريد من أجل تقدير وتقييم تدفق البلازما في الكلى (التدفق البلازمي الكلوي) (Pérez-Martin *et al.*, 2007).

- إعادة الامتصاص الأنبوبي: تسمح إعادة الامتصاص الأنبوبي بالحصول على البولة النهائية حيث يتم على مستوى الأنابيب الكلوية سير عملية إعادة الامتصاص، هذه الآليات تسمح فقدان بعض المركبات المهمة لأجل المحافظة على حالة هييموستازيا في الواقع الماء والعديد من الأيونات والمواد المذابة (صوديوم، بوتاسيوم، بикаربونات، جلوكوز، أيونات الهيدروجين... إلخ) المرتشحة بالكبة يعاد امتصاصها كلية أو بنسب مختلفة بالدم، تعتمد عملية إعادة الامتصاص العديد من النواقل (قنوات أيونية، مضخات) التي هي تحت رقابة العديد من العوامل الهيموديناميكية والعصبية - الهرمونية.

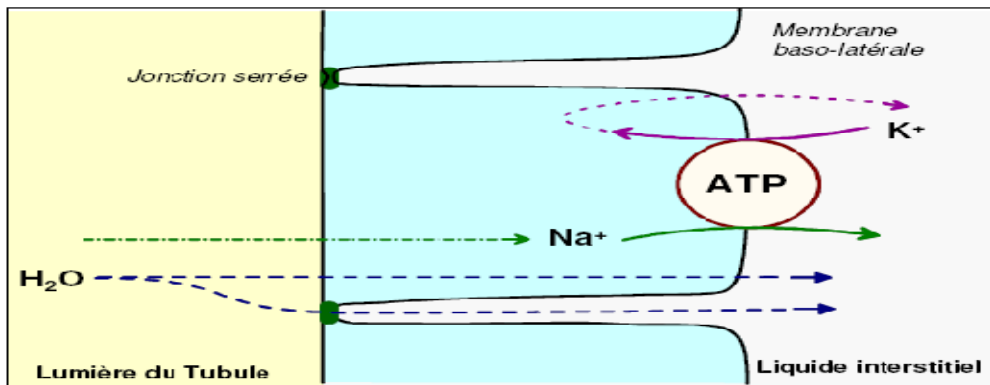
_ الإفراز الأنبوبي: يسمح الإفراز الأنبوبي بمرور جزيئات بالدم من الشعيرات المحيطة بالأنابيب اتجاه الراشح عبر خلايا الأنبوب ويسمح بإزالة المواد غير المرتشحة بالكبة في البولة. الآليات مماثلة لما هي عليه بإعادة الامتصاص الأنبوبي.

- الوظائف الغدية: تملك الكلية وظيفة غدية عن طريق تصنيع العديد من الهرمونات مثل érythropoïétine (EPO)، Calcitriol والـ rénine (شكل 8). ويلعب الـ rénine دوراً هاماً في تنظيم الضغط الشرياني، حيث يشارك في إنتاج الـ Angiotensine II (Ang II) بببتيد رئيسي، Ang II بإمكانه تنظيم إفراز aldostérone و adrénaline محفزاً بذلك تقلص الأوعية وإعادة امتصاص الصوديوم. والـ Calcitriol من الناحية الفيزيولوجية هو شكل نشط من الفيتامين D وإنتاجه ينظم بإنخفاض الكالسيوم في الدم أو بهرمون الغدة الدرقية. يعمل calcitriol على مستوى الأمعاء من خلال تحفيز امتصاص الكالسيوم والفوسفور ويعزز إعادة العظام بالتعاون مع هرمون الغدة الجاردرقية (Briançon 2007).



شكل (8) الوظائف الكلوية (Briançon 2007)

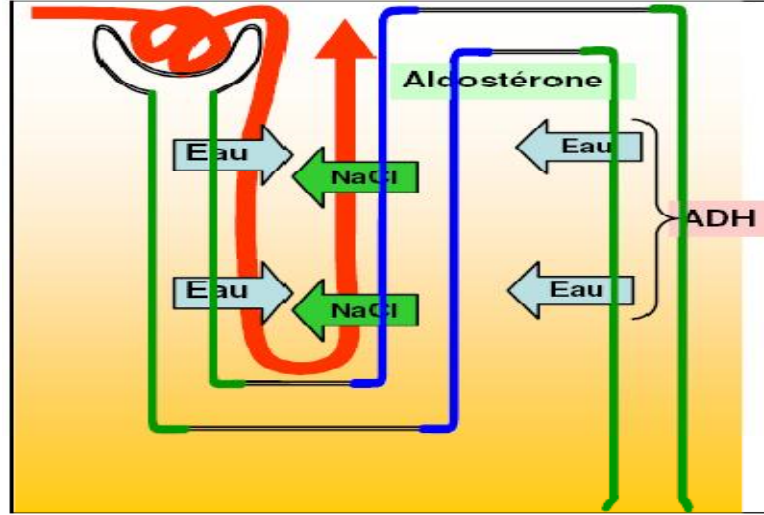
- تنظيم الأزمولية البولية: يخضع الصوديوم المرتشح إلى إعادة الامتصاص خاصة على مستوى الفرع الأنبوبي الصاعد عبر نقل نشط (والذي يمثل بهذا الخصوص الصرف الطاقوي الأساسي للكلية)، حيث يتم التعديل تحت مراقبة هرمونية (Aldostérone) والذي يعمل أساسا على مستوى الأنبوب الملتوي البعيد والمنطقة القشرية للأنبوب المجمع). يتبع الماء بسهولة انتشار حركة الصوديوم (شكل 9)، ولكن نفاذية الماء عبر الأنابيب الكلوية ليست متجانسة حيث أن جدار الفرع النازل نفوذ بشكل جيد للماء على عكس الفرع الصاعد أين يتم الجزء الأكبر من عملية إعادة امتصاص الصوديوم. تكون نفاذية الماء عبر جدار الأنبوب المجمع متغيرة وهي كذلك تخضع لرقابة هرمونية (هرمون مضاد للإدرار البولي (ADH : Antidiurétique).



شكل (9) : نفاذية الماء (Pérez-Martin et al., 2007)

يعد الشكل العرووي للأنبوب الكلوي أساس آلية مخفضة تؤدي إلى إحداث تدرج أزمولي، وفي الحقيقة يتم استنزاف الصوديوم من البول تدريجيا عند مروره عبر الفرع الصاعد وهذا بفعل النقل الفعال، وهكذا يكون البول الذي يصل إلى الأنبوب الملتوي البعيد أقل تركيزا من البول المتواجد بأطراف انحناء هنلي، في الفرع النازل لهذا الانحناء ينتشر الماء بدلالة التدرج الأسمولي الناشئ في الفراغ البيني بعد إعادة امتصاص الصوديوم، وهكذا تزداد أزمولية السائل البيني حول أطراف الانحناء (أين يمكنها أن تصل إلى 1400 ميلي

أسمول/لتر) وتتناقص تدريجيا باتجاه المنطقة القشرية (أين تكون قريبة من 300 ميلي أسمول/لتر) وبهذه الكيفية ينشأ تدرج "قشري-نخاعي" آلية مشابهة تحدث على طول الشعيرة الأنبوبية التي تتبع طريق الانحناء، أما على مستوى الأنبوب المجمع والذي يمتاز جداره بنفاذية للماء، يزداد تركيز البول تدريجيا كلما اقترب من تجاوزيف الإطارح ويتم تعديل نفاذية جدار الأنبوب المجمع للماء بواسطة الـ ADH (شكل10).



شكل (10) تنظيم الأزمولية البولية (Pérez-Martin et al., 2007)

- **ضبط التوازن الحامض – قاعدي:** تعد التهوية الرئوية والإطراح البولي لشوارد الهيدروجين العاملين الأساسيين في تنظيم الـ pH الدموي، حيث تقدر القيمة العادية بـ 7,4. تغير قيمة الـ pH يمكن أن يعود إلى أسباب عدة خاصة شدة الأيض (المنتج لحمض اللبن – *acide lactique* - بصفة أساسية)، أهمية الهدم البروتيني، وفرة الإفرازات الهضمية. وهكذا في الحالات المرضية، يؤدي القيئ الذي يخرج السائل المعدي الجد حامضي فقدان أيونات H^+ ، إذا تؤدي إلى حالة *alcalose* (يصبح الوسط قلوي). وعلى العكس يؤدي الاسهال إلى فقدان الإفرازات المعوية القاعدية مما يؤدي إلى حدوث *acidose* (أو مما يؤدي إلى تحول الوسط إلى وسط حامضي) يساهم التنفس في تعويض هذه التغيرات حيث يحدث فرط في التهوية مما يحرض هبوط في الضغط الجزئي لثاني أكسيد الكربون في الدم: *hypocapnie* إذن حدوث *alcalose*، بينما نقص التهوية تحرض حدوث *hypercapnie* مسببا حالة *acidose*.

في حالة الـ *acidose*، يمكن لأيونات الهيدروجين H^+ الفائضة أو الزائدة أن ترتبط مع أيونات أخرى عدا أيونات ثنائي الكربون ويتم إطراحها مع البول. تتمثل هذه الأيونات أساسا في أيونات الفوسفات والأمونيوم التي يتم تركيبها أثناء أيض الـ *glutamine* في الخلايا الأنبوبية. في كلتا الحالتين تكون النتيجة الواضحة هي إفراغ أيونات ثنائية الكربون جديدة إلى البلازما (شكل11).

وهي عادة ما تكون ثانوية بالنسبة للآليات التحسس المناعي وتكون مصحوبة بأعراض خارج كلوية كالحمى والحكة الجلدية والإصفرار و thiombopéme، فرط الحامضيات بكل من البول والدم، ارتشاح خلوي بالنسيج الكلوي للمفاويات (Baker and Pusey, 2004). أماالالتهاب الكبيبي: فهو ما تكون جانبية للفعاليات المناعية وتفترق عن الالتهاب المزمن، دون أعراض خارج خلوية يترجمها تسرب بروتيني بالبول أو التادر النفروني لدى البالغ و/أو تورمات، ونسجيا يصاحبها عادة الالتهاب الكبيبي الخارج غشائي. إن (anti- AINS)inflammatoires non stéroïdiens وأملاح الذهب و D-pénicillamine من أهم مسببات هذه الحالة وكذا الليثيوم lithium و rifampicine (Krummel et al., 2000).

3.2.2 النقصور الكلوي الوظيفي:

قد تصاحب ثانويا إستنفاذ الصوديوم المحرض بواسطة المدرات أو قلة التدفق الدموي الكلوي بواسطة التداخلات مع النظام (SRAA)Système rénine - angiotensine - aldostérone وغالبا ما يكون هذا النقصور عكوسا فور توقف تعاطي الدواء. وبعد إعادة التمي. ويعتبرأحد الحوادث المرتبطة بالمدرات وعملية الغسيل الكلوي (dialyse) لا تكون ضرورية إلا بشكل إستثنائي. و إن إدخال الـ AINS يؤدي إلى إصابة كلوية، وقد وجب أن هذا يتوقف على عوامل عدة: مدة التعاطي، الكمية وطريقة التعاطي (Krummel et al.,2000). كما أن مثبطات الـ cyclo-oxygénase (COX-2) تماثل في سميتها الـ AINS (Deray,2004) ، كما يتدخل كل من ciclosporine و tacrolimus بإحداث إختلالات هيموديناميكية كلوية مع تقلص بالشرابين الكبيبية مؤديا إلى اختزال التدفق الدموي الكلوي والارتشاح الكبيبي تترجم إكلينيكي بارتفاع معدل الكرياتنين الدموي والضغط الشرياني وأحيانا معدل بوتاسيوم الدم، وبالرغم من عكوسة هذه الحالة إلا أن التعاطي طويل المدى قد يؤدي إلى تحلل لا عكوس للتليف البيني.

4.2.2 الالتهاب النفروني الوعائي

إن الالتهاب النفروني الوعائي تبعا للسمية الطلائية الدوائية قد يفسر بتأذر التحلل الدموي على شاكلة microangiopathie thrombotique وظهور ارتفاع بالضغط الشرياني، ارتفاع كرياتنين الدم وأنيميا انحلالية ميكانيكية و thrombopénie محيطية، زيادة الـ LDH (lacticedéshydrogénases) والأدوية التي تتدخل هي quinine و valaciclovir و tacrolimus و ciclosporine و interférons و gemcitabine وأدوية أخرى كالـ clarithromycine قد تكون مسؤولة عن إصابات من مصدر التهابي للشرينات الصغرى ومتوسطة الأقطار (Baciewicz et al.,2003).

إصابات كلوية أخرى:

إن الالتهابات النفرونية الأخرى كمضاعفات للتعاطي الدوائي يمكن أن تأخذ صورتين إكلينيكيتين مختلفتين: كأن تترسب الأدوية على صورة بلورات داخل الحالب أو داخل الأنبيبات الداخل كلوية (مثل méthotrexate ، aciclovir) وقد تتجمع الحاليتين معا، إن إدخال الجرعات العالية وقلة التعاطي للماء وقلة ذوبانية هذا الدواء من أهم العوامل المحفزة لهذه الإصابات وبعده حالات فإن الـ pH الكلوي يتدخل بشكل أساسي، فالإختلالات الماء الإلكتروليتية ذات المصدر الدوائي عادة ما تكون واردة، فانخفاض بوتاسيوم الدم

المعرض بواسطة المدرات يكون مرتبطا بقلّة حجم الدم الذي ينشط نظام SRAA ويعزز إعادة امتصاص الصوديوم وطرح البوتاسيوم، قد يلاحظ ارتفاع في معدلات خلال تعاطي الـ AINS لاسيما لدى الأشخاص ذوي الاستعدادات المرضية (داء السكري)، كما قد ينجم عن الأثر المضاد للإدرار البولي مثل citalopram، إن الليثيوم lithium قد يحرض حالة داء السكري مقللا تحسس الأنبوب المجمع للهرمون ADH متسببا في ارتفاع معدل الصوديوم البولي، أدوية أخرى مثل: didanosine و Acide valproïque قد تكون سببا في التهاب نفروني للأنايب الملتوية القريبة (Baciewicz et al., 2003).

5.2.2 السمية الكلوية بمضادات البكتيرية

تتراوح السمية الكلوية بمضادات البكتيرية الناجمة عن Aminosides ما بين 7-10% وقد تتوقف آلية هذه السمية على فعل الأثر السمي المباشر والجرعة الإستجابية الناجمة عن التراكم التدريجي للدواء بالقرشرة الكلوية ويعكس هذا بנקرة أنيبيية حادة، إلتهاب بيني أنيبيي، تتأذر Fanconi (Alexandridis et al., 2003)، داء السكري من مصدر كلوي وارتفاع بوتاسيوم الدم وقلّة الماغنييوم وتكون هذه الحالة عادة خاملة. إن فرط التبول قد يعود إلى قلّة الكفاءة التركيزية وهو كأحد الأعراض المبكرة، والإصابة الأنبيبية تكون سائدة وتكون ثانوية إثر تثبت aminosite على المستقبلات الحافة الفرشائية للخلايا الأنبيبية، حيث تدلي الدراسات النسيجية بتلف أنيبيي يتركز على مستوى الأنايب الملتوية القريبة، تفقد بذلك حافتها الفرشائية وتكون الطلائية الأنبوبية منكرزة جزئيا، وتتوسع الممع وتمتلئ بالفضلات الخلوية (Barza et al., 1996).

6.2.2 السمية النفرونية بمضادات السل:

أمكن نشر أول معطيات حول سمية مضادات السل سنة 1971 إثر الإدلاء بمضاعفات الـ Rifampicine وذلك وفقا لآلية الحساسية المناعية ويصاحبها تتأذر زكامي وتبول قليل واضطرابات هضمية وتورمات، أنيميا انحلالية، تسرب بروتيني عبر البول وكذا الكريات الحمراء...، إختلالات ماء - إلكتروليتية تعكس خلل على مستوى الأنايب الملتوية القريبة (Muthukumar et al., 2002) وأهم ما يميز الإصابة الكلوية هو الإلتهاب نفروني بيني حاد مع/ أو نكرزة أنبوبية حادة، إصابة كبيبية من النمط الإلتهاب الكبيبي سريع التطور (Wen et al., 2006) ويمكن للـ isoniazide أن يكون مسؤولا عن الإلتهاب الكبيبي الخارج شعيري (Brik et al., 1998). أما سمية ethambutol فتكون نادرة ويصاحبها ارتفاع في كرياتين الدم وندرة بولية وتسرب بروتيني بالبول وللسكر أيضا، ارتشاح للمفاويات بالتشعب الكلوي وتحلل أنيبيي. وأظهرت الـ Pyrazinamide بدورها التهاب كلوي يتمثل بإصابة الفراغ البيني الأنبيبي. وقد أظهرت الدراسات أن تعاطي الـ céfotaxime بعد 7 أيام (500 ملغ يوميا) حالة التهاب بيني يصاحبها تسرب بروتيني وتسرب للكريات البيضاء بالبول، وندرة بالبول، وارتشاح أنيبيي بيني دون أو توضع الأجسام المناعية وارتبط الـ ceftriaxone بالإلتهاب الحسوي (Al Shohaib et al., 1996). كما أظهرت دراسات تم إنجازها على مستوى الجرذان بأن سمية teicoplanine (داء المفاصل) لم تكن معنوية مقارنة بـ vancomycine (Marre et al., 1987). بينما

أظهرت الدراسات على الإنسان بأنها ذات سمية (14 %) وهي أقل مما هي عليه بالـ vancomycine (22 %). وقد رجح إلى سبب الجرعة 1800 ملغ يوميا (Wood , 2000) ، تتمثل الإصابات الكلوية في ارتفاع معدل الكرياتينين بالدم وتسرب للكريات الحمراء بالبولة (Logan et al.,2005) ، وقد يتسبب الـ vancomycine في التهاب أنيبي حاد ناجم عن التحسس المناعي وسمية نفرونية مباشرة بواسطة نكرزة أنيبيبية حادة (Zuliani et al., 2005). وقد بلغت نسبة الإصابة 5% أما الـ gentamicine بنسبة 11 % لترتفع هذه النسبة عند إدخال الدوائيين معا إلى 22-35 % (Rybak et al.,1990 ; Goetz and Sayers,1993). وعند تعاطي 726 حالة مصابة بالسرطان للـ vancomycine تبلغ الإصابة 17 % (Elting et al.,1998).

إن تعاطي الـ amoxicilline يصاحبها مضاعفات الإصابة الكلوية تتمثل في شكل بلورات والتهابات بينية نفرونية حادة وقد تكون هذه البلورات سببا في قصور كلوي حاد ناجم عن الأثر الانسدادي، ندرة بالتبول. الـ cloxacilline يمكنه أيضا أن يتسبب في التهاب نفروني بيني حاد ناجم عن التحسس المناعي ، ويصاحب هذه الحالة ارتفاع معدلات كرياتينين الدم والبوتاسيوم والحمضية الاستقلابية وارتفاع تسرب الحامضيات بالبولة بعد شهر من التداء (Garcia-ortiz et al.,1992).

و الـ sulfaméthoxazole الذي يثير للتحسس يكون مسؤولا عن حالة التهاب نفروني بيني حاد يصاحبها حالة نكرزة أنيبيبية حادة (Hayman et al., 2003) وقد يكون سبب هذا تشكل حصيات كلوية حيث أن المستقلب N4 acétylsulfaméthoxazole أقل ذوبانية من الجزئية الأم وترداد إمكانية الترسيب مع الجرعات العليا وعند اشتراك هذا الدواء مع triméthoprim يكون مدعاة لارتفاع معدل الكرياتينين بالدم (Floris-Moore et al ., 2003) ومعدلات البوتاسيوم أيضا إثر تثبيط الإفراز البوتاسي بالأنبوب المجمع القشري (Johnson et al .,2002) .

7.2.2 السمية النفرونية والمضادات الفطرية:

تتمثل أهمية تعاطي الصورة الليبوزومية للـ Amphotéricine B في إمكانية الإقلال من السمية النفرونية حيث تعرف الصورة المجردة بـ Fungizone. فقد وجد أن أشخاص يعانون الإصابة بـ (Virus de l'immunodéficience humaine) VIH) نقص المناعة عند تعاطيهم هذا الدواء 0,7 ملغ/كغ خلال أسبوعين (Johnson et al.,2002)، قد ظهرت لديهم أعراض السمية النفرونية وآلية ذلك غاية في التعقيد. ويبدو أن القصور الكلوي يصاحبه مظهر وظيفي مرتبط بالتقلص الوعائي النفروني ومظهر عضوي إثر التداخل المباشر بين الجزئية والخلايا الأنبيبية ويكون هذا سببا في اختلال تراكيز البولة والحمضية الأنبوبية وحالة داء سكري في مصدر خلوي فقد مفرط للصوديوم، البوتاسيوم والماغنيزيوم، قلة بوتاسيوم الدم (da Silva et al.,2007). كما أظهر fluconazole أنه مسؤول عن إصابة كبيبية خارج غشائية (Shin et al.,2007) .

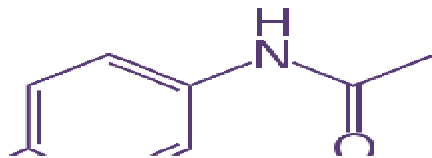
8.2.2 السمية النفرونية والمضادات الفيروسية:

يطرح الـ aciclovir أساسا عبر الكلية (< 80%) بشكل غير مستبدل عبر الارتشاح الكبيبي والإفراز الأنبوبي وهو مركب متبلور يصعب ذوبانه بالبولة وبالضبط على مستوى الأنبوب البعيد أينما يقل التدفق البولي. ويكون هذا سببا في حدوث القصور الكلوي (Bean and Aeppli, 1985) وقد وجد أن هذه الإصابة يحكمها مفهوم الجرعة. كما قد لا يكون سبب القصور الكلوي الترسيب البلوري بل حدوث الالتهابات البينية الأنبوبية وقلة فوسفور الدم عندما تبلغ الجرعة 15 ملغ/كغ يوميا (Andrade *et al.*, 2004). بينما وجد أن المضاد الفيروسي cidofovir والذي يطرح كلية عبر الكلية وبشكل استثنائي، يحدث ترويقه عبر الارتشاح الكبيبي وأيضا عبر الإفراز الأنبوبي عبر الأنبوب الملتوي القريب أينما يتم إدخال هذا الدواء إلى الداخل خلوي عبر الناقل النشط OAT1 الذي يتوضع على الغشاء القاعد جانبي بالخلية الأنبوبية فيبدو أن دورة أقل أهمية (Cihlar *et al.*, 1999) ، وخروج هذا الدواء من الخلية الأنبوبية يكون بطيئا مما يجعل أن التراكيز العالية منه تستعجل الإصابة وقد وجد أن هذه التراكيز تكون أعلى بـ 100 مرة بالكلية مقارنة بباقي الأنسجة وتؤدي الإصابة إلى التحلل الأنبوبي والالتهاب النفروني البيني (Meier *et al.*, 2002) . ولدى 25-30 % من الحالات المصابة يظهر تسرب بروتيني بالبولة إثر الجرعة 3 ملغ/كغ وظهر ارتفاع بمعدلات الكرياتينين (Ortiz *et al.*, 2005) يطرح الـ adéfovir أساسا عبر المسرى البولي عبر الارتشاح الكبيبي والإفراز الأنبوبي الذي يحدث على مستوى خلايا الأنبوب الملتوي القريب عبر النواقل OAT1 وMRP2 (Servais *et al.*, 2005) ، فإثر التعاطي بهذا الدواء عند الجرعة 60-120 ملغ/ يوميا إثر معالجة الإصابات بواسطة VIH، لوحظت حالة سمية نفرونية مظهرها عبارة عن الالتهاب الأنبيبي للأنبوب القريب وارتفاع معدلات الكرياتينين الدم وفقدان للحواف الفرشائية للخلايا الأنبوبية، وتجاويف سيتوبلازمية وتعدد نووي يؤدي إلى حالة موت مبرمج وتراكم للفضلات الخلوية داخل اللعة الأنبوبية وارتشاح للمفويات (Tanji *et al.*, 2001). أما الـ interférons فقد ظهر أن حوالي 15-20 % ممن يتعاطونه تظهر لديهم تسرب بروتيني بولي والالتهاب الكبيبي وحالة الهلالية البؤري العقلي. والتهاب نفروني ناجم عن الالتهاب الكبيبي الخارج غشائي وكرزة أنيبيية حادة. والالتهاب النفروني الأنبيبي (Miranda-guardiola *et al.*, 1995 ; Nishimura *et al.*, 2002).

3.2. البراسيتامول والسمية النفرونية :

1.3.2. استقلال وأثر البراسيتامول:

يؤخذ البراسيتامول كمسكن للألم و مخفض للحرارة وهو الأكثر تداولاً في العالم، إن أخذ البراسيتامول بجرعات علاجية يعطي نتائج حميدة، غير أن الجرعات المفرطة منه تحدث التسمم الكبدي (Sumioka *et al.*, 2004). والاسم الكيميائي للبراسيتامول $N\text{-Acetyl-}p\text{-Aminophenol}$ ($C_8H_9NO_2$) وصيغته الكيميائية المفصلة فهي :



شكل 12: الصيغة الكيميائية للبراسيتامول

ويتميز بالخواص التالية :

- الوزن الجزيئي : 151.169 غرام /مول .
- نصف العمر الحيوي : 1-3 ساعات.
- التصنيف الكيميائي : Acétanilide .
- التصنيف الصيدلاني : Analgésique ،Antipyrétique .
- للبراسيتامول بعض التسميات الأخرى منها : Acétaminophene ، Para-acétamidophénol و Hydroxyl 4-acétanilide .

يستخدم البراسيتامول كمضاد للحرارة و الألم، دون أن يبدي تأثيرا ضد الالتهاب و التخثر، وفعله ضد الحمى يكون من خلال تأثيره على المراكز التحكم في حرارة الجسم بتحت المهاد البصري، وهو نفس ما يحدث مع الأسبرين في خفض حرارة الجسم، كما أنه غير سام لمخاطية المعدة . وبعد قرن من إدخاله في العلاج ، تبقى طريقة عمله غير مؤكدة تماما (Bonnetfont et al., 2003)، غير أن البراسيتامول يعتبر مثبط لدورة إنزيمات السيكلوجيناز ، ومن خلال تثبيط عمل هذه الإنزيمات على الجهاز العصبي (Flower et al., 1972). وقد أكدت دراسات حديثة أن البراسيتامول يثبط بشكل خاص إنزيم مشابه لـ Cyclooxygenase (Cox) يسمى Cox₃ وهو بديل لـ Cox₁ الموجود بالجهاز العصبي الذي يعد مستهدفا لعمل البراسيتامول (Chandrasekharan et al., 2002)، لكن وجود Cox₃ عند الإنسان يبقى غير مؤكد (Warner et al., 2004). كما دلت دراسات أخرى على وجود نشاط مركزي يسمح للبراسيتامول بالعمل على الأعصاب مؤديا إلى تثبيط المسارات الناقلة للألم على مستوى النخاع الشوكي (Tjolsen et al., 1991)، و للبراسيتامول خصائص مضادة للأكسدة تسمح بالتقليل من أكسدة LDL وكذا تقليل الخطر على القلب والأوعية، كما أنها تحمي من داء بياض العين (Prescott et al., 2003). ويكون امتصاص البراسيتامول سريعا عندما يأخذ على شكل مشروب (عن طريق الفم) أين يصل أعلى تركيز بالدم عند الأطفال بين 20 و 30 دقيقة ، يتأخر هذا الامتصاص بالتغذية فتتقصص من امتصاصه ، وأما مركب فهو Métoclopramide يزيد من امتصاصه (Aujard et al., 1992). يمتص البراسيتامول من طرف المعى الدقيق ليصل إلى الدورة الدموية بعد 15 دقيقة إلى ساعتين (Bannwarth et al., 2003). وكون الامتصاص الشرجي أو المستقيمي جيد وإلا أنه بطيء على عكس الامتصاص المعوي، عندما يؤخذ عن طريق الفم، وقدرت نسبة الامتصاص الشرجي بـ 10% إلى 20% (Bannwarth et al., 2003).

يحقق البراسيتامول في الأوردة سواءا بشكله الأصلي براسيتامول، أو بشكل براسيتامول الطليعة ، أين يتحول هذا الأخير بفعل تأثير إنزيم الإستراز إلى براسيتامول، حيث أن 1 غرام من طليعة البراسيتامول، تعطي

لنا 500ملغ من البراسيتامول ، والتركيز الأقصى للبراسيتامول الوريدي هو ضعف كمية حبة واحدة من البراسيتامول المأخوذ عن طرق الفم بعد 1 ساعة، إن أخذ البراسيتامول عن طريق الفم ،أو عن طريق الحقن في الوريد يعطي تراكيز بلازمية متساوية (Bannwarth et al., 2003).

لا تزيد نسبة ارتباط البراسيتامول بالبروتينات البلازمية عن 20%، حيث يتوزع بسرعة باختراق الحاجز الدموي الدماغي ، له تركيز متقارب بين المادة السائلة للنخاع الشوكي والدم (Moreau et al., 1993)، حجم توزيعه متقارب بين الأطفال والكبار، ويقدر بـ 0.9 إلى 1.2 لتر/كغ (Aujard et al., 1992). يخترق البراسيتامول الحاجز المشيمي وجدار الرحم كما يصل إلى حليب الأم بكميات أقل من 2% من الكمية المأخوذة من طرف الأم (Moreau et al., 1993). و تتم عملية أيض البراسيتامول بواسطة CYP 450 الموجود في الميكروزومات الكبدية ، وقد وجد أن 2% من البراسيتامول تطرح بولا دون إستقلاب و 94 % تستقلب إلى نواتج أيضية غير سامة لتطرح على شكل مركبات مقترنة بالجليكوكول أو الكبريت و 4 % يتحول بتدخل CYP450 (CYP 3A4 ، CY 2E1، CYP 1A2) إلى نواتج أيضية نشطة بصورة (NAPQI) N-Acetyl-P-benzoQuinone imine الذي يمكن من تعديل سميته بواسطة الغليثاتيون (GSH) ويطرح في البول مرتبطا مع السيستين (Aujard et al., 1992).

ترجع السمية الكبدية للبراسيتامول لإنتاجه الجذور الحرة السامة في شكل NAPQI ، ففي حالة زيادة معدل هذا الأخير يعمل على أكسدة الجزيئات الضخمة للأنسجة ، مثل الليبيدات أو مجاميع Thiol (SH) للبروتينات ومن ثم اختلال توازن الكالسيوم بعد اختزال محتوى النسيج من GSH (Johen et al., 2004) . حيث يعد GSH أهم الببتيدات الثلاثية المستعملة كمضادات للأكسدة غير الإنزيمية في الكلية، دوره يتمثل في الحد من الجذور الحرة مثل بروكسيد الهيدروجين، حفظ مجاميع الـ Thiol للبروتينات الغشائية، يلعب دورا كمادة تفاعل الإنزيم جليثاتيون بيروكسيداز وجليثاتيون ترانسفيراز ، انخفاض معدل GSH من جراء السمية بالبراسيتامول، ويكون مرفوق بزيادة معدل الأكسدة الليبية (Johen et al., 2004). و يتراوح نصف العمر من 1 ساعة و 3 ساعات و الاختلافات الفردية طفيفة . يمكن للشخص البالغ من تعاطي 500 ملغ - 1 غ قابلة للتجدد كل 4 ساعات على الأقل دون تجاوز 3 غ يوميا . و قد تصل الجرعة القصوى يوميا 4 غ بينما تقدر هذه الجرعة بـ 60 ملغ /كغ يوميا (15 ملغ/كغ كل 6 ساعات). وتزيد الجرعة السامة النظرية بواسطة جرعة وحيدة عن 125 ملغ/كغ لدى الشخص البالغ و 100 ملغ/كغ لدى الأطفال (Danel, 2004). يطرح البراسيتامول مبدئيا عن طريق الكلية ، بأشكال ميتابوليزمية في صورة جلكورو أو مقترنات كبريتية، أقل من 10% من الجرعة الدوائية تطرح عبر البول تحت أشكال غير متغيرة (Jallom, 1973) .

2.3.2. آليات سمية البراسيتامول

1.2.3.2 البراسيتامول وتوليد الـ ROS:

إن السمية الكلوية الناتجة عن الـ APAP يمكن أن تعزي إلى NAPQI وهو مادة ايضية نشطة تتكون خلال ايض الـ APAP بواسطة السييتوكروم CYP وفي البداية بواسطة المشابه (الايزومورف) CYP2E1

(Dahlim *et al.*, 1984). والـ NAPQI جزيئه شديدة التفاعل تكون روابط تساهمية مع المجاميع الكبريتية و الثيولات البروتينية و غير البروتينية (Hinson *et al.*, 2004). وبالخلية الكلوية تزال سمية الـ NAPQI أساسا عن طريق الـ GSH الذي يمثل اكبر مضاد اكسدة، في حالة جرعات الـ APAP التي تسبب سمية للخلية الكلوية فإن الـ GSH يغمر الخلية و يستنفذ بقوة من السيتوبلازم و الميتوكوندريا التي تحتوي بدورها على كمية منفصلة من الـ GSH (James *et al.*, 2003). تستنزف جرعات الـ APAP المسببة للسمية الكلوية (≤ 250 مع/كغ المجربة على الفئران) أكثر من 90% من GSH بكل من السيتوبلازم و الميتوكوندريا (Hanawa *et al.*, 2008). إن استنفاد الـ GSH الميتوكوندري بواسطة الـ NAPQI له تأثير كبير على توليد الـ ROS بالميتوكوندري، فالـ GSH يلعب دورا هاما في ازالة سمية H_2O_2 بحشوة الميتوكوندريا و السيتوبلازم حيث يستخدم انزيم GSH peroxidase القوة الاختزالية للـ GSH لاختزال H_2O_2 إلى ماء (Han *et al.*, 2003). فقد لوحظ ارتفاع في انتاج الـ H_2O_2 الميتوكوندري لدى الميتوكوندريا المعزولة ساعة بعد معاملتها بالـ APAP (Hanawa *et al.*, 2008). و ارتفاع الـ ROS قد يكون نتيجة مباشرة لفقد الـ GSH و الذي يسمح بذلك للـ NAPQI بإتلاف سلسلة النقل الالكتروني مما يزيد في انتاج توليد الـ ROS (Han *et al.*, 2003). وتوجد مؤشرات توحى بان الـ NAPQI يمكن أن يحفز حلقة الـ Redox في توليد الـ ROS بالخلية الكلوية. إضافة إلى ارتفاع توليد الـ ROS فقد اتضح أن المعاملة بواسطة APAP تسبب ارتفاعا في توليد اوكسيد النتريك (NO°) بالكلية عن طريق خلخلة تنظيم انزيم NO synthase المحرض وكذا إنزيم NO synthase المتواجد على مستوى الخلايا الطلائية (Ito *et al.*, 2004) ان جزءا من الـ NO° المتكون عقب المعاملة بـ APAP يتفاعل مع فوق الاكسيد O_2° لتكوين بيروكسي نتريت ($ONOO^-$) وهو مؤكسد قوي يقوم باكسدة البروتينات وجزيئات ضخمة أخرى (Jaeschke, 2003)، وبالتالي فإن السمية الكلوية بالـ APAP تكون مرفقة بإجهاد تأكسدي مرده استنفاد الـ GSH وارتفاع توليد الـ ROS وكذلك ارتفاع اجهاد الـ Nitrosative سببه ارتفاع NO وتوليد $ONOO^-$ بالكلية.

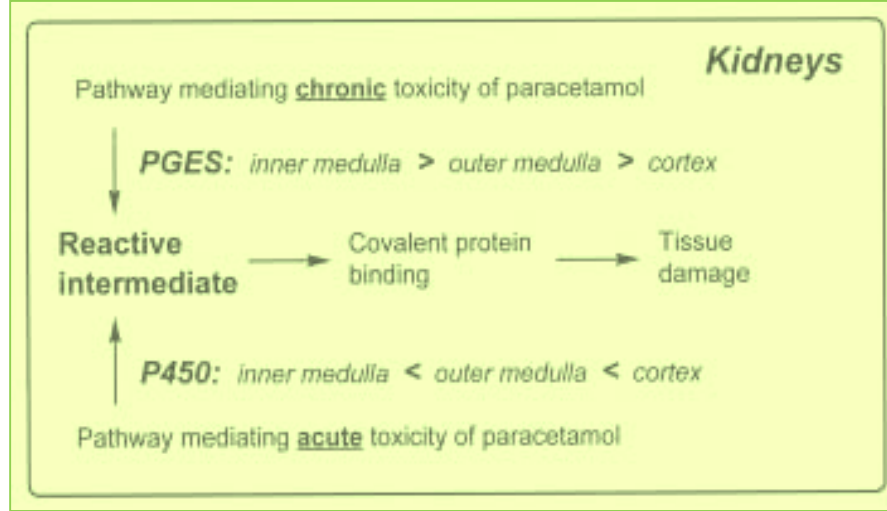
2.2.3.2 - دور Prostaglandine synthase و N-deacetylase

على الرغم من أن السمية الكبدية بالـ APAP عادة ما تسبق بتشكيل NAPQI وهومستقلب يتشكل خلال أكسدة APAP المحفزة بالسيتوكروم P450 (Albano *et al.*, 1985; Van de Straat *et al.*, 1988b)، فإن أسباب السمية الكلوية لا زال يكتنفها الغموض. إن Prostaglandin endoperoxide synthase (PGES) و N-deacetylase بالإضافة إلى إنزيمات P450 تساهم في سمية البراسيتامول عندما تم اختبارها تجريبيا لدى أنواع عدة. وينجم عن الجرعات العالية من الـ APAP نكرزة القشرة الكلوية لدى الإنسان وعند الفئران F344. تنحصر الإصابات الخلوية بالدرجة الأولى بالأنبوب الملئوي القريب وانخفاض معتبر في معدل الارتشاح الكبيبي (Trumper, *et al.*, 1996) ومثل نظيراتها في الكبد، تقوم الميكروزومات الكلوية أيضا بأكسدة الـ APAP إلى وسيط مؤرل عبر الآلية المتوقفة على P450. وبالتالي على الاقل يعتبر بأنه جزء من التلف الكلوي الحاد الناجم عن سمية الـ APAP وهذا راجع إلى آلية كيميائية حيوية شبيهة بتلك التي تتواجد

في الكبد. بالإضافة إلى ذلك، فإن الـ APAP تحدث له إزالة أستلة إلى *P-aminophenol* في كلى الجرذان وسيتوزول الكبد والميكروزومات هذه الجرذان. (Newton *et al.*, 1983). وتشمل العوامل التي قد تؤثر على السمية الكلوية الأمراض الكبدية المزمنة وطبيعة الجنس والشروط التي تتحكم الأنظمة الأيضية الإنزيمية للـ P450 (Blantz, 1996). على عكس القصور الكلوي الحاد المرتبط بتناول جرعة عالية من APAP، وفان نتائج الدراسات متضاربة حول ما إذا كان تناول المزمّن للـ APAP من طرف الإنسان يساهم في إحداث إصابة مرض الكلى المزمنة وكذا دور مسكنات الإلتهاب النفرونية. ويلخص التقرير الوبائي بشأن هذا الموضوع إلى أنّ الإستعمال المزمّن للـ APAP يكون مرتبطاً بأمراض الكلى المزمنة (Sandler *et al.*, 1989)، إلا أنّ Blantz (1996) عجز عن إثبات وجود نسبة معتبرة من أمراض الكلى المزمنة لدى الأفراد المعاطين اللذين يستعملون مسكنات مثل APAP بشكل مفرط. ويصعب الوصول إلى إستنتاجات جازمة لعدم توفر آلية واضحة لإثبات مسكنات الإلتهاب النفرونية. وقد يعود سبب ذلك لعدم توفر النماذج الحيوانية التي تعاني من نفس الأمراض التي تصيب الإنسان وحيث لا تعتبر حيوانات القوارض نموذجاً مناسباً (Schnellmann, 1998). وقد ينتج عن الجرعات العالية الحادة من الـ APAP نكرزة على مستوى المركز الفصي الكبدى و والقشرة الكلوية لدى الإنسان وجرذان (Newton *et al.*, 1983) F344 ومع ذلك التعرض المزمّن يرتبط بشكل قوي بالسمية الكلوية وقد يعتمد على prostaglandin endoperoxide synthase (PGES)، كما يتضح مع النتائج المحصل عليها من ميكروزومات كلى الأرانب. حيث ترتبط بروابط تساهمية بشكل واضح مع المنطقة التي أعدت منها الميكروزومات (شكل 13) (Mohandas *et al.*, 1981). قيمة PGES الجد عالية ذات صلة وثيقة بالـ APAP تشير على أنه حتى على مستوى الجرعات علاجية يمكن أن يحدث التنشيط الأيضي لمستقلبات الكلوية السامة (يفترض NAPQI و/أو NAPSQI (N-acetyl-p-semiquinone imine) (Larsson *et al.*, 1985).

تحفز ميكروزومات النخاع الكلوي لدى الإنسان التنشيط الأيضي للـ PGES بالبراسيتامول بنسب شبيهة لتلك التي وجدت في كلى الأرانب (Larsson *et al.*, 1985). و مماثلة لأريلة البروتين بالكبد، و حدوث روابط تساهمية لبروتين ذو وزن 58 KDa تسبق السمية الكلوية في الفئران (Hoivik *et al.*, 1996a). وأمكن ملاحظة اختلافات بالاستجابة للسمية الكلوية تكمن في اختلاف الأنواع و السلالات و أنواع الـ APAP المصنع (Hoivik *et al.*, 1995). إنّ أكسدة *p-aminophenol* ربما عبر PGES إلى جذر حر *p-aminophenoxy* قد يحفز بواسطة PGES. إنّ أكسدة أو تحول هذا الجذر سيتشكل 1,4-benzoquinoneimine (Fowler *et al.*, 1991). وقد تبين أن NAPQI يمكن تحويله إلى جذر حر *p-aminophenoxy* إثر تحضين الميكروزوم بواسطة الجمع بين تحفيز نشاط *N-deacetylase* وخفض نشاط نظام الأكسدة الميكروزمي المزدوج الوظيفة (Fischer *et al.*, 1985). والإختزال التالي للجذر الحر *p-aminophenoxy* إلى *p-aminophenol* و يبدو أنه المفهوم المنطقي وبالتالي توفير آلية لتفسير وجود *p-aminophenol* كمستقلب بولي للـ APAP في البولة. وعلاوة على ذلك، في جرذان F344، لوحظ أنّ *deacetylation* الـ APAP إلى *p-aminophenol* يعتبر شرطاً أساسياً للسمية النفرونية (Newton *et al.*, 1985b) على الرغم من أنه تم الاقتراح هنا أنه ليس الـ APAP بل NAPQI هو الركيزة الأصلية للـ *N-deacetylase*. وعلى عكس جرذان F344 وجرذان

Sprague-Dawley (SD) كانا عرضة للسمية الكلوية للـ APAP دون تدخل الـ *N*-deacetylase (Mugford and Tarloff, 1995). ومن المثير للاهتمام، أنه في صفراء جرذان Wistar تم الكشف عن مستقلب جلوكوروني (APAP-GLUC) إضافة إلى مستقلب (APAP-SG) بعد تعاطي الـ *p*-aminophenol، ودعم هذا العلاقة الأيضية بين الـ APAP و *p*-aminophenol (Klos *et al.*, 1992).

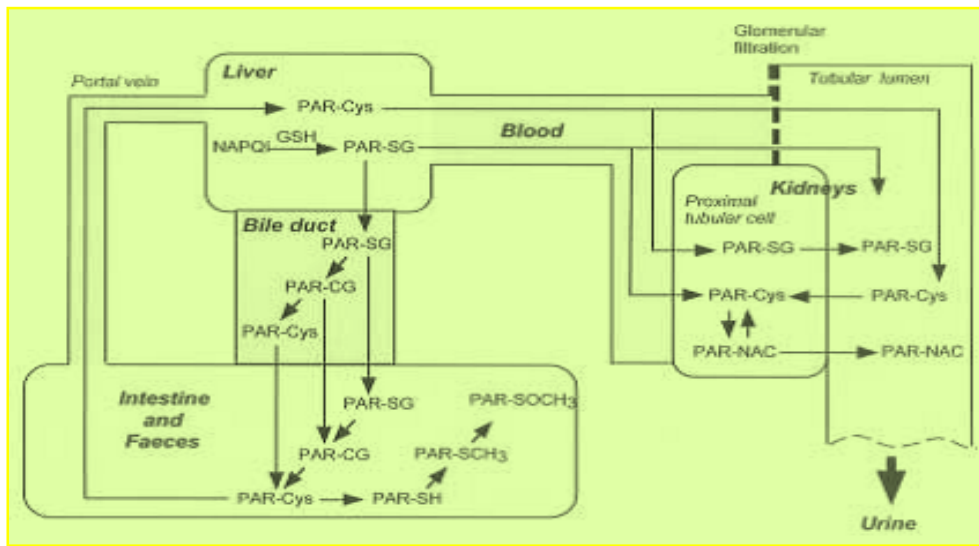


شكل (13): مسارات APAP المختلفة بكلية الأرناب (Mohandas *et al.*, 1981)

3.2.3.2 دور الـ Cytochrome P 450

على الرغم من أن إنزيمات السيتوكروم P450 تختلف إلى حد ما في الكبد عنها في الكلى، غير أن نتائج الأكسدة التامة للـ APAP إلى NAPQI المحفزة بالسيتوكروم P450 تكاد تكون نفسها في كلا العضوين ، (استنفاد الثيول البروتيني والغير بروتيني متبوعا بخلل وظيفي خلوي وقصور عضوي). السمية النفرونية الناجمة عن الـ APAP بفأر CD-1 تختلف بشكل واضح عن تلك التي وصفت بالنسبة لجرذان Fischer (F344) وآلية النشاط الحيوي في فئران CD-1 هي أكثر مماثلة لتلك التي في جرذان SD وتشمل على الأرجح نشاط السيتوكروم P450 الكلوي والروابط التساهمية اللاحقة للأيضات النشطة لـ deacetylation المسبقة (Emeigh Hart *et al.*, 1991a). كما وجدت في الكبد بروتينات متشابهة من حيث الحجم (58 KDa، 44) أصبحت مؤربة بالكلى الفئران بعد تعاطي البراسيتامول . إضافة إلى أريلة بروتين 33-kDa . انّ التلف الكلوي وكمية adducts (الاضافات) الموجودة يمكن أن تخفض بشكل ملحوظ باستعمال مثبط P 450 وهذا المثبط هو piperonyl butoxide (Bartolone *et al.*, 1989) وقد أشير إلى أنّ تطور سمية شرائح الكلى في الفئران بالـ APAP إلى وجود نظام تنشيطي موقعي (Hoivik *et al.*, 1996a). وعلاوة على ذلك لم يتم العثور على اختلافات في التلف الكلوي بين جرذان ذات القنوات الصفراوية وجرذان عديمة القنوات الصفراوية مشيراً بذلك إلى كون السمية الكلوية مستقلة عن التحول الحيوي في الكبد (Trumper *et al.*, 1996). والعكس صحيح، فالتلف الكبدي لم يتغير عندما عولجت الفئران مسبقاً بالـ acivicin (AT-125) وهو مثبط لـ γ -glutamyltranspeptidase (γ GT) (Trumper *et al.*, 1996). وفي الواقع عملية أريلة البروتين المعتمد

السمية الكلوية الناجمة عن APAP عند أنثى فئران CD-1 و C3H/HeJ بواسطة العلاج المسبق بـ testosterone يرتبط بشكل جيد بتحريض للـ CYP2E1 الكلوي بواسطة testosterone (Hu et al., 1995; Hoivik et al., 1993). و الاختلاف الكبير المتعلق بالجنس والذي يمكن ملاحظته في النشاط الحيوي المعتمد على NADPH المتوقف على النشاط الحيوي للـ APAP في الميكروزومات الكلوية المأخوذة من فئران C3H/HeJ تدعم أهمية دور الـ CYP2E1. بالإضافة إلى ذلك، فهو يؤكد على أهمية الاختلافات الجنسية و علاقتها بالنشاط الحيوي للـ APAP (Hu et al., 1993). نستخلص من هذا ، أن الآليات المساهمة في السمية الكلوية والكبدية لدى فئران CD-1 و C3H/HeJ هي متشابهة، على الرغم من استقلاليتها ، وتدخل النشاط الحيوي للـ APAP المرتبط بـ P 450. على عكس النشاط الحيوي في الكبد، فإن اختلافات النوع مهمة تمت ملاحظتها في النشاط الحيوي والسمية في الكلى المعتمدة على CYP2E1 (Hu et al., 1993). و يوضح الشكل 14 لمحة عامة عن تفاعل التحول الحيوي في الكبد والكلية عبر نقل الـ APAP والمستقلبات ما بين الأعضاء.



شكل (14) نقل Glutathione المقترن بالبراسيتامول بين الاعضاء (Commandeur et al., 1995)

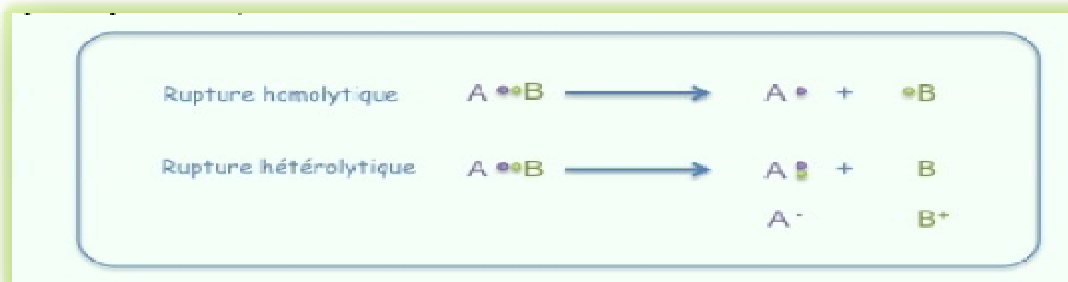
2.4. الإجهاد التأكسدي و الجهد الرودوكسي :

ينجم التوازن الرودوكسي الداخل خلوي أو الجهد الرودوكسي من الحالة الرودوكسية للثنائيات (أكسدة إرجاع). ويطابق هذا مفهوم الحموضة الداخل خلوية أي الـ pH المرتبط بالثنائيات (حمض-قاعدة). إذن يوجد داخل الخلية جزئيات مؤكسدة التي تغزو الجزئيات الخلوية لأجل الحصول على إلكترون (تفاعل أكسدة) (Cadenas and Davies, 2000 ; Dawson et al., 1993). يعد كل من الأكسجين والأنواع المؤكسدة الناجمة عن الأكسجين (ROS) والأنواع الجذرية (التي يمكن أن تكون بدورها مشتقة من الأكسجين) ذات قدرة فائقة على غزو الجزئيات الخلوية ولإنتاجها الوفير بكميات معتبرة تتفاقم الأضرار بالخلية ، و قد وجدت جزئيات مضادة للأكسدة (glutathion، فيتامين E) (Cadenas and Davies, 2000 ; Dawson et al.,)

(1993). لتلعب دروا معدلا للتأكسد (على غرار معدل حمضي قاعدي) وذلك باختزال هذه الأنواع الأكسجينية النشطة (ROS) أو الأنواع الجذرية . إضافة إلى أن الخلايا تمتلك أنظمة دفاعية إنزيمية مضادة للأكسدة قادرة على مواجهة هذه الـ ROS . حيث هذا التوازن بين إنتاج ROS ومضادات الأكسدة الدفاعية يحدد قانون الأكسدة الخلوية. في حالة اختلال هذا التوازن، أثناء زيادة إنتاج ROS أو فشل مضادات الأكسدة تجد الخلية نفسها أمام حالة إجهاد تأكسدي (Cadenas and Davies, 2000 ; Dawson *et al.*, 1993).

1.4.2 الأنواع الأكسجينية النشطة :

تحتوي الذرة على عدد محدد من الإلكترونات في مدارها الخارجي. عندما تفقد هذه الذرة أو تكتسب إلكترونات على مدارها الخارجي فإنها تصبح في حالة تأين تصبح الإلكترونات بالمدار الخارجي كلها زوجية مما يمنح لهذه الذرات استقرارا تتشكل الجذور بكسر متجانس للروابط الكيميائية (شكل 15) هي عبارة عن ذرات (أو مجموعة ذرات) تحتوي إلكترونات غير مزدوج فردي على مدارها الخارجي مما يمنحها خصائص غير مستقرة للغاية لأن هذه الإلكترونات ستتفاعل مع جزيئات أخرى لنزع إلكترون (تفاعل أكسدة) ويرمز لهذا الإلكترون المنفرد (غير المزدوج) بنقطة. يمكن أن تكون الجذور متعادلة أو مشحونة إما إيجابا أو سلبا (جذر الهيدروكسيل $^{\circ}\text{OH}$).



الشكل (15) تشكيل الأنواع الجذرية (Cadenas and Davies, 2000 ; Dawson *et al.*, 1993)

- الأنيون $\text{O}_2^{-\bullet}$ و ROS:

تخضع أغلبية جزيئات الأكسجين داخل الخلايا إلى الاختزال رباعي التكافؤ (إضافة 4 إلكترونات) مما يؤدي إلى إنتاج جزيئات الماء، يتم هذا التفاعل بتدخل إنزيم Cytochrome oxydase وهو المستقبل النهائي للإلكترونات والمتواجدة على مستوى المعقد الرابع بسلسلة نقل الإلكترونات المتواجدة على مستوى الغشاء الداخلي للميتوكوندري (Cadenas and Davies, 2000 ; Dawson *et al.*, 1993).



ومع ذلك فإن هذه السلسلة يمكن أن تسمح بتسرب نسبة معينة من الإلكترونات (e^{-}) التي تقوم باختزال الأكسجين، ولكن، حائذا فقط (شكل 16) . هكذا يخضع حوالي 2 % من الأكسجين (O_2) إلى تفاعل اختزال.

أحادي الـ e^- (إضافة إلكترون واحد) مؤديا إلى تشكيل جذر Superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) على مستوى الـ ubiquinone أو مرافق الإنزيم Q (Cadenas and Davies, 2000 ; Dawson *et al.*, 1993).



تحدث ظاهرة التسرب الإلكتروني لأن الإنزيمين (المعقد I و II) اللذين يموانان السلسلة التنفسية بالطاقة (إلكترونات وبروتونات H) ويتميزان بجهد نشاط مشترك أعلى من ذلك الخاص بإعادة استعمال الـ e^- : هو cytochrome oxydase (المعقد IV) يرفع معدل إنتاج الجذور الحرة على مستوى السلسلة التنفسية بزيادة نشاط هذه الأخيرة بعد تناول أغذية غنية بالطاقة (Boveris and Chance, 1973) أو بعد استهلاك المزيد من الأكسجين (Cadenas *et al.*, 1977) وبالمثل يمكن أن يؤدي إنزيم NADPH deshydrogénase المتواجد بالغشاء الداخلي للميتوكوندري أو إنزيم NADPH oxydase للخلايا الطلائية (Griendling *et al.*, 2000) إلى تشكيل جذور الـ $O_2^{\cdot-}$.



إضافة إلى هذا يمكن أن تنتج جذور $O_2^{\cdot-}$ superoxydes عن إزالة سمية المواد الخارج إحيائية (xénobiotique) بواسطة cytochromes P 450:

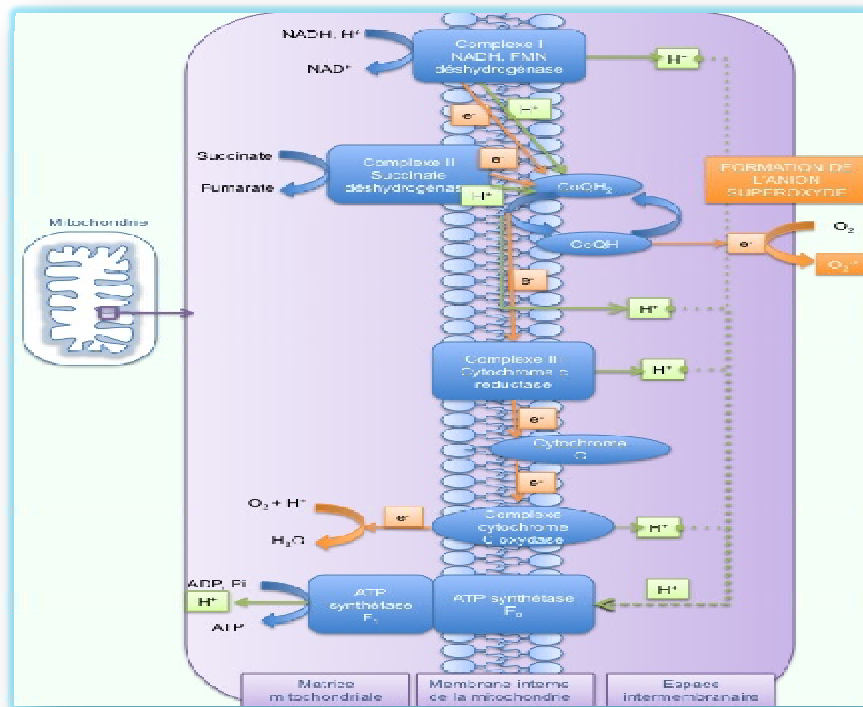


ويمكن لمركبات أخرى كـ glycéraldéhyde والثيول (بالسيستيين)، $FMNH_2$ ، الـ $FADH_2$ القابلة للتأكسد بسهولة في وجود الـ O_2 وذلك بنقل إلكترون في وقت واحد إلى جزئية O_2 مؤدية إلى تشكل أنيون Superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003).

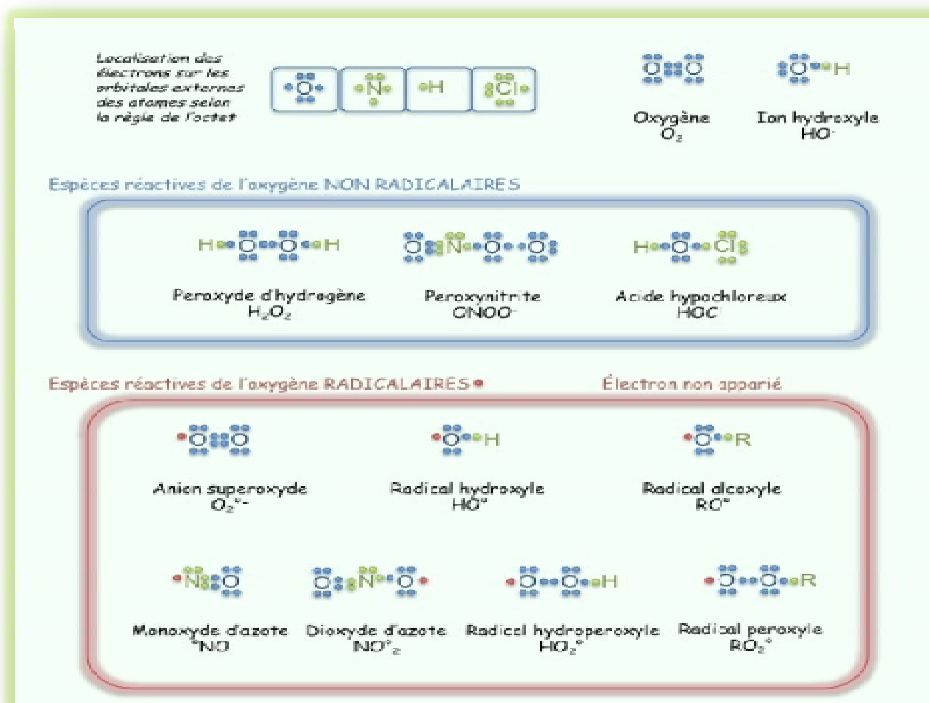
و يكون أنيون Superoxyde أقل نشاطا في حد ذاته، إذ أن سميته تعود إلى كونه مصدر تشكل الأنواع الأكسجينية النشطة الأخرى (ROS) (شكل 17) والتي يمكن تصنيفها إلى مجموعتين:

1- الأنواع الجذرية: وهي جذر hydroxyle ($OH^\cdot$) وجذر hydroperoxyle ($HO_2^\cdot$) جذر peroxy ($RO_2^\cdot$) وجذر alcoxyle ($RO^\cdot$).

2- الأنواع غير الجذرية: وهي بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، هيبوكلوريد ($HOCl$)، الأكسجين الفردي: ($1O_2$) (وهي الحالة المثيعة للجزئية) و peroxynitrite ($ONOO^-$).



الشكل (16) انتاج انيون superoxyde تحت الشروط الفيزيولوجية عن طريق تسرب الكترون من السلسلة التنفسية الميتوكوندرية (Aurousseau , 2002)



(Esterbauer *et al.*, 1991)

تغزو هذه الأنواع الأكسجينية النشطة (ROS) بفعل بنيتها الإلكترونية غير المستقرة المركبات الخلوية كالأحماض الدهنية غير المشبعة مثل: DHA (Acide docosaheptaénoïque) بوجود ستة روابط ثنائية مما يجعلها عالية التأكسد. أكسدة الدهون أمر غاية في الخطورة لاسيما بالنسبة للخلية وهذا راجع إلى آلية التفجير المعتمدة في رفع الجذور وتشكيل مواد عالية السمية ابتداء من AGPI (Acide gras polyinsaturé) مثل: (4-HNE) 4-hydroxynonénal و (MDA) Malondialdéhyde، (4-HHE) 4-hydroxyhexenal، (Esterbauer *et al.*, 1991). و بالإضافة إلى هذا يمكن للـ ROS الانتشار داخل سيتوبلازم وعبر الأغشية بالنسبة للأنواع الغير مشحونة، وهكذا تقوم بمهاجمة المكونات الخلوية بعيدا عن مقر إنتاجها أو للوصول إلى خلايا أخرى (Boveris *et al.*, 1972).

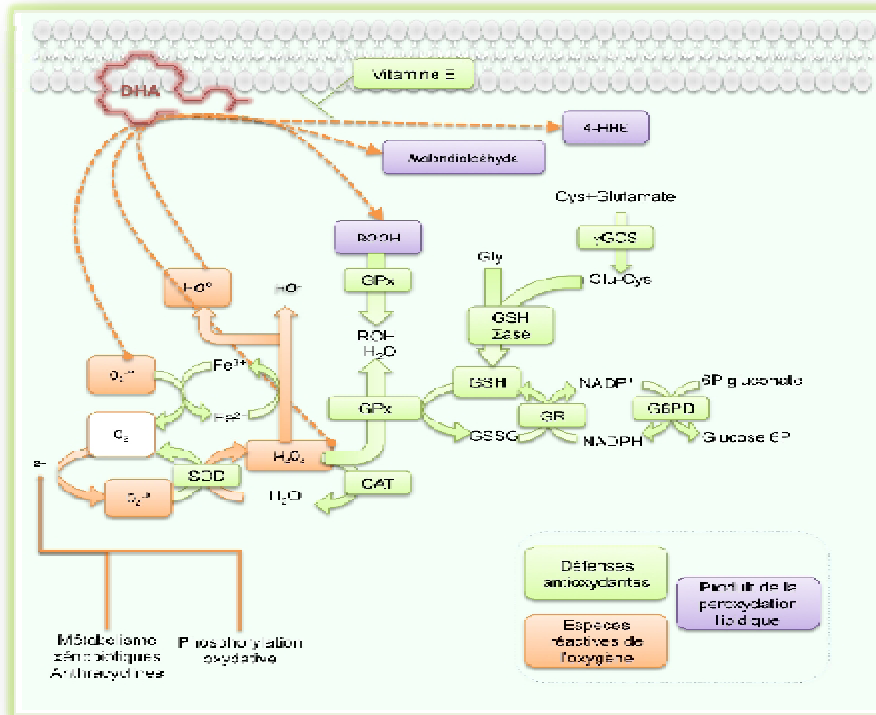
2.4.2 الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة :

1.2.4.2 الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة الأنزيمية

تتضمن أنظمة الدفاع المضادة للتأكسد :

- إنزيمات مثل Superoxyde dismutase ، Catalase ، peroxylase قادرة على إزالة الجذور الحرة وأنواع نشطة أخرى.
- بروتينات مثل: (haptoglobine ، albumine، Transferrine) تعمل على الحد من توفر بادئات الأكسدة كالشوارد: (Fe^{+3} / Fe^{+2}) و (Cu^{+} / Cu^{+2}) .
- بروتينات مثل: بروتينات الصدمة الحرارية التي تحمي الجزيئات الحيوية ضد أي هجوم بما في ذلك الأكسدة.

مركبات ذات وزن جزيئي منخفض مثل (GSH، alpha-Tocophérol، حمض ascorbique ، bilirubine، acide urique) القادرة على أسر الجذور الحرة المشتقة من O_2 والازوت شكل (18).



شكل (18) توازن ثنائية التأكسد الداخل خلوي (Liou et al., 1993)

• Superoxide dismutase

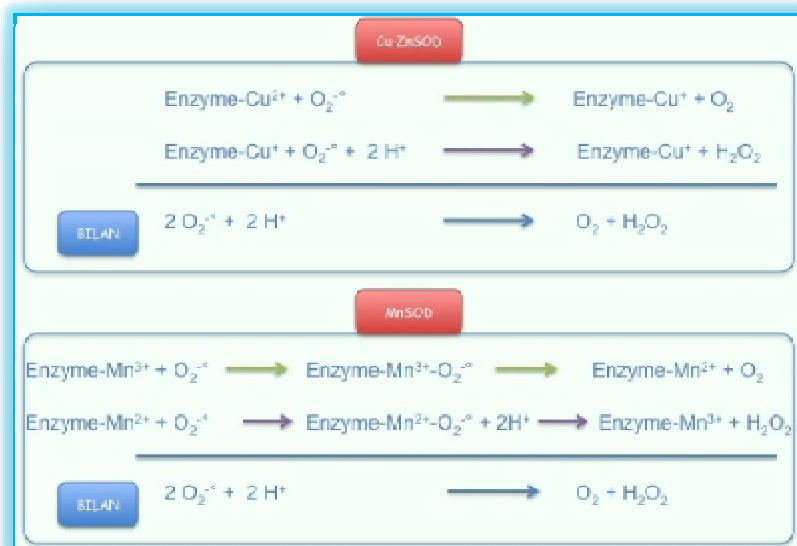
تقوم إنزيمات الـ SOD بإزالة أنيون Superoxyde بآلية التطاير (Dismutation) وهو أول نوع سام يتم تشكيله ابتداء من الأكسجين وهذا حسب التفاعل التالي:



وهكذا تشكل هذه الإنزيمات خط الدفاع الأول ضد الإجهاد التأكسدي وهي متوفرة في كل مكان وتستعمل بشكل صحيح فهي تتطلب بعض العناصر كالزنك والنحاس. وبالنسبة للـ SOD-Cu/Zn أو SOD1 فهو يتواجد داخل سيتوزول، الأنوية والجسيمات الحالة للخلايا (lysosome) (Liou et al, 1993). ويبلغ وزنها الجزيئي 32 KDa (Zelko et al., 2002) وتتكون من تحت وحدتين بروتينيتين، كل واحدة تتضمن ذرة نحاس وذرة زنك.

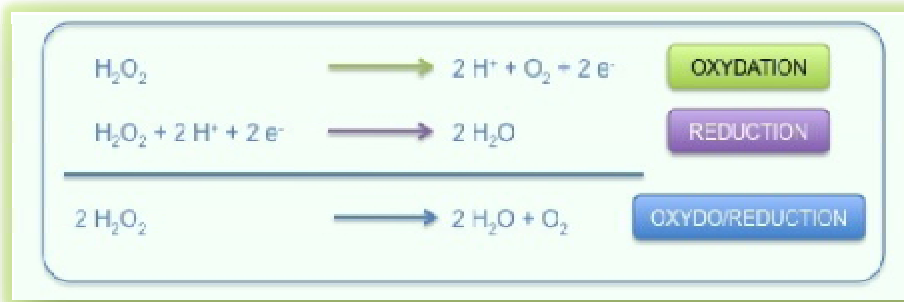
بالنسبة للـ EC-SOD أو SOD الخارج خلوي يتواجد بالملف، البلازما وسوائل الانتفاخ البطني والسوائل المخية الشوكية (marklund et al., 1982 ; marklund et al., 1986). وهي عبارة عن glycoprotéine رباعي الوحدات ذو وزن جزيئي 135 KDa والتي لها جاذبية قوية تجاه الهيبارين (marklund et al., 1982)، تحمل كل وحدة بروتينية ذرة نحاس وزنك وهي متواجدة بعدة أشكال A، B، C حيث يرتبط B و C بالهيبارين.

تعد أيونات النحاس ضرورية لنشاط الـ SOD في حين أن أيونات الزنك (التي لا تملك إلا حالة تكافؤ واحد ممكنة) لا تساهم في حلقة التفاعل ولكنها تمنح استقراراً لبنية الإنزيم (شكل 19). يرتبط النحاس بالموقع الفعال بتفاعله مع ذرات الآزوت بأنوية الإيميدازول لأربع أحماض أمينية من نوع الهستيدين (118، 61، 46، His 44) بينما يرتبط الزنك بالنحاس عن طريق التفاعل مع نوات إيميدازول imidazole لحمض الهستيدين رقم 61، كذلك الهستيدين رقم 69، 78 و Asp 81. بتفاعل التطافر. يثبط نشاط إنزيم Cu/Zn-SOD بواسطة Cyanure وبالأـ diéthylldithiocarbamate (الذي يرتبط بالنحاس وينزعه من الموقع الفعال أو النشط) (على عكس Mn-SOD يسمح بتحديد مميز لهذه النشاطات).



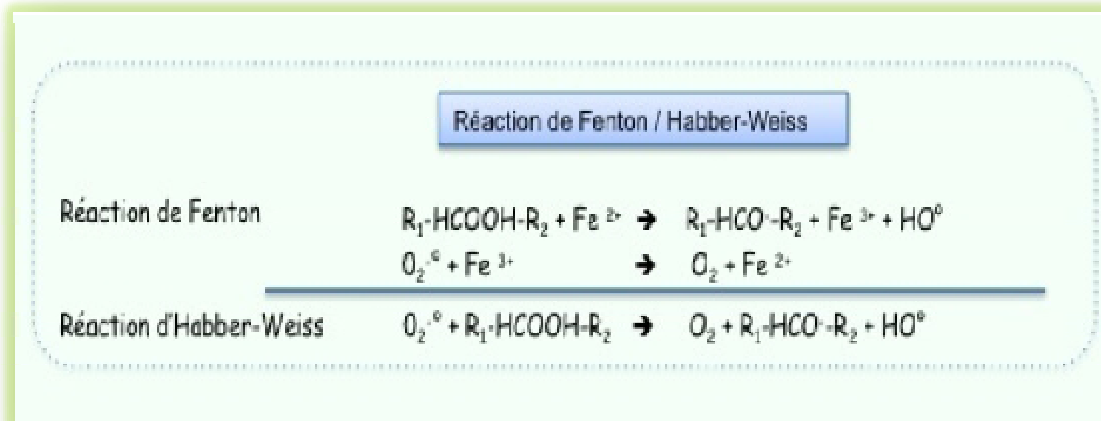
شكل (19) هدم أنيون Superoxyde بواسطة Cu/Zn-SOD السيتوزولي أو الميتوكوندري Mn-SOD (Oberley and Oberley, 1984)

و بالنسبة لـ Mn-SOD أو SOD2 المتواجد بالميتوكوندري، فهو عبارة عن إنزيم رباعي الوحدات ذو 92 KDa وقد أثبت أن نشاطه يتناقص بالخلايا السرطانية (Oberley and Oberley, 1984)، وقد يكون هذا سببا في ظهور نمط ظاهري خبيث، بالإضافة إلى هذا يمكن لهذا الإنزيم أن يلعب دورا في الحساسية ضد المضادات السرطانية المنتجة الـ ERO. إن إدخال (plasmide SOD2) يمكن من القضاء على النمط الظاهري السرطاني بخلايا سرطان الجلد (Church *et al.*, 1993). وتؤدي إزالة أنيون superoxyde عبر SOD إلى إنتاج H_2O_2 وهو عبارة عن نوع آخر من ERO، كما هو الحال في B-Oxydation حيث تؤدي أيضا إلى إنتاج H_2H_2 (Osumi and Hashimoto, 1978). يمكن للـ H_2O_2 أن يسلك أو يتفاعل كمؤكسد أكثر مرجع أثناء عملية التطافر (شكل 20) ويتطلب هذا التفاعل تطافرا مؤقتا.



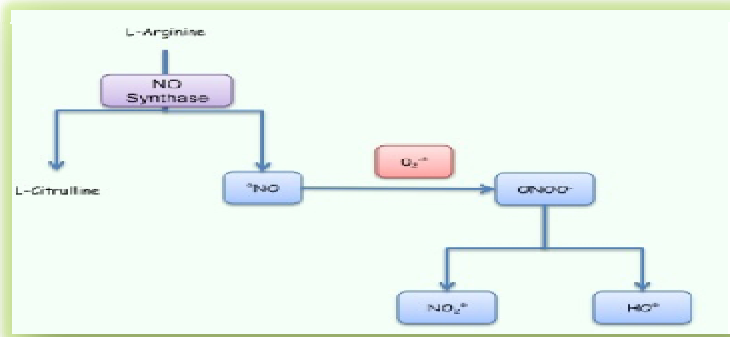
شكل (20) تحويل peroxyde d'hydrogène (Jefferies *et al.*, 2003)

في وجود أيونات معدنية مثل الحديدوز (Fe^{+2})، يمكن أن يؤدي H_2O_2 عن طريق تفاعل إرجاع إلى تشكيل جذر هيدروكسيل $^{\circ}\text{OH}$ ذو سمية خلوية مرتفعة (تفاعل Fenton / Haber-Weiss، شكل 21).



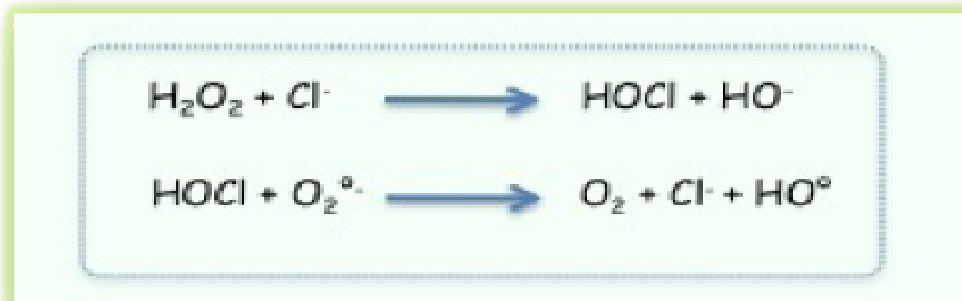
شكل (21) تفاعل Fenton/Haber-Weiss (Jefferies *et al.*, 2003)

أثناء هذا التفاعل يتم تعديل أو إزالة سمية أنيون Superoxyde. ومصدر آخر لجذر hydroxyle وهو التفاعل ما بين المعادن والبيروكسيدات العضوية الدهنية أو البروتينية، ومن هنا يمكن أن تنشأ سلاسل جذرية نشطة للغاية. ويهاجم جذر الهيدروكسيل الليبيدات والبروتينات بكثير من الفعالية ويؤدي إلى آثار ضارة جسيمة. يمكن هدم H_2O_2 بإنزيم Catalase أو الإنزيمات التي تزيل سمية البيروكسيدات بصفة عامة والـ H_2O_2 بصفة خاصة وهي GPx وthiorédoxines ويمكن أيضا للأنواع الأكسجينية النشطة ERO مثل أحادي أكسيد الآزوت هو جذر حر نجده ينتشر بوفرة ، يتم تركيبه انطلاقا من الـ arginine بفعل إنزيمات تدعى NO synthases (شكل 22).



شكل (22) تركيب أحادي أكسيد الآزوت: NO° ، $\text{peroxynitrite (ONOO}^-)$ وثنائي أكسيد الآزوت (NO_2°)
(*Jefferies et al., 2003*).

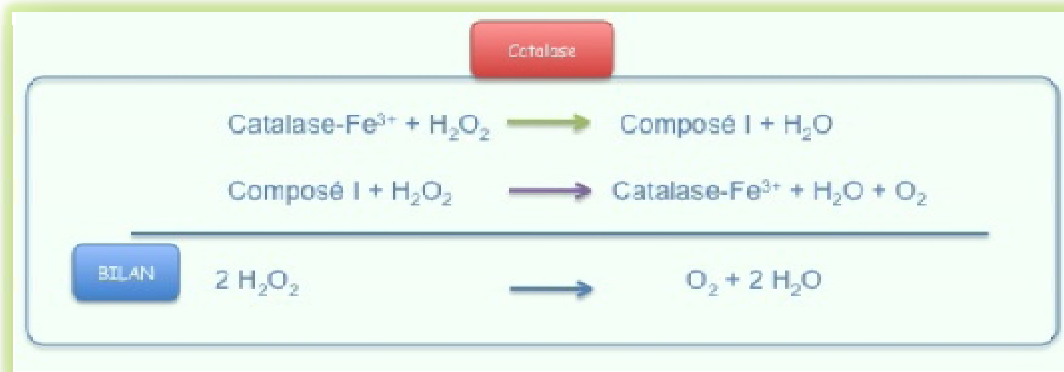
يعتبر الـ NO° مسؤولاً عن تمدد الأوعية الدموية، كما يمكنه التفاعل مع جذور حرة أخرى لتشكيل أنواع مؤكسدة أخرى مثل تشكيل الـ $\text{peroxynitrite (ONOO}^-)$ هو المؤكسد القوي للعديد من الجزيئات. هذا يؤدي إلى الحد من تواجد NO° ومنه الحد من ارتخاء الأوعية بالإضافة إلى هذا، يمكن لـ peroxynitrite أن يتفكك بشكل ثانوي إلى مؤكسدات أخرى مثل: $^\circ\text{OH}$. كما يشكل تفاعل perchloreux المتشكل خلال عملية البلعمة مصدراً آخر لجذر hydroxyle (بفعل myéloperoxydase) مع أنيون Superoxide (شكل 23).



شكل (23): تشكل حمض hypochloreux وجذر الهيدروكسيل (*Jefferies et al., 2003*)

• Catalase

هو عبارة عن إنزيم هيميني بإمكانه تحويل بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 إلى جزيئات ماء وأكسجين جزيئي. ويتواجد بشكل أساسي في peroxysomes وفي الكريات الحمراء، والتفاعل الذي يتم بهذا الإنزيم هو تفاعل تطافر للـ H_2O_2 (شكل 24). وهو يتكون من 4 تحت وحدات بروتينية تحوي كل واحدة مجموعة هيم مع Fe^{+3} مرتبط بالموقع الفعال، ولكل جزيئة عادة جزيئة NADPH التي ترتبط معها لحمايتها بذلك من أي تثبيط ممكن بواسطة H_2O_2 ويؤدي تفكك تحت الوحدات إلى فقدان الإنزيم لنشاطه (*Jefferies et al., 2003*).



شكل (24): إزالة H_2O_2 بواسطة إنزيم Catalase (Jefferies *et al.*, 2003)

إنزيمات الـ peroxylase

و هي إنزيمات بإمكانها القضاء على H_2O_2 و هيدروبيروكسيدات أخرى بالاقتران الارجاعي للهيدروبيروكسيد مع أكسدة مادة مرجعة. تختلف تسمية إنزيمات بيروكسيدات peroxylase باختلاف المادة المرجعة التي يختص بها كل أنزيم وهكذا يمكن أن نميز بين إنزيمات الجلوتاثيون بيروكسيداز glutathion peroxylases، cytochrome C peroxylases، NADPH peroxylases ولكننا هنا نقتصر على خصائص glutathion peroxylase (GPx) فقط.

- **Glutathion peroxylases** من الناحية الوظيفية يحفز إنزيم GPx بتفاعل إرجاع الهيدروبيروكسيدات إلى كحولات أقل نشاطا بينما يتم تحويل المختزل إلى Glutathion مؤكسد (GSSG)



و يمكن أن يكون ROOH هيدروبيروكسيد لحمض دهني، كولسترول Cholestérol (مؤستر أو غير مؤستر) أو هيدروبيروكسيد مصنع. يوجد 4 أنواع من GPx (جدول 1).

الجدول 1 : إنزيمات GPx عند الثدييات (Jefferies *et al.*, 2003)

	Protéine	Localisation tissulaire	Site d'action	Substrats
GPx-1	Tétramère (sous unité de 22-23 kDa)	Ubiquitaire	cytosol	H ₂ O ₂ , peroxydes d'acides gras, autres peroxydes organiques, peroxyxanthine*
GPx-2	Tétramère (sous unité de 24 kDa)	Foie, gros intestin	cytosol	idem à GPx-1
GPx-3	Tétramère (sous unité de 25 kDa)	Reins, autres...	extracellulaire	idem à GPx-1; hydroperoxydes des phospholipides
GPx-4	Monomère, 19 kDa	Testicule, autres...	cytosol, mitochondrie	hydroperoxydes des phospholipides

▼ إنزيم GPx-1 أو c-GPx السيتوزولي المنتشر بوفرة نجده بنسبة 90 % وبنسبة 10% في الميتوكوندري. (Meyer *et al.*, 1983)

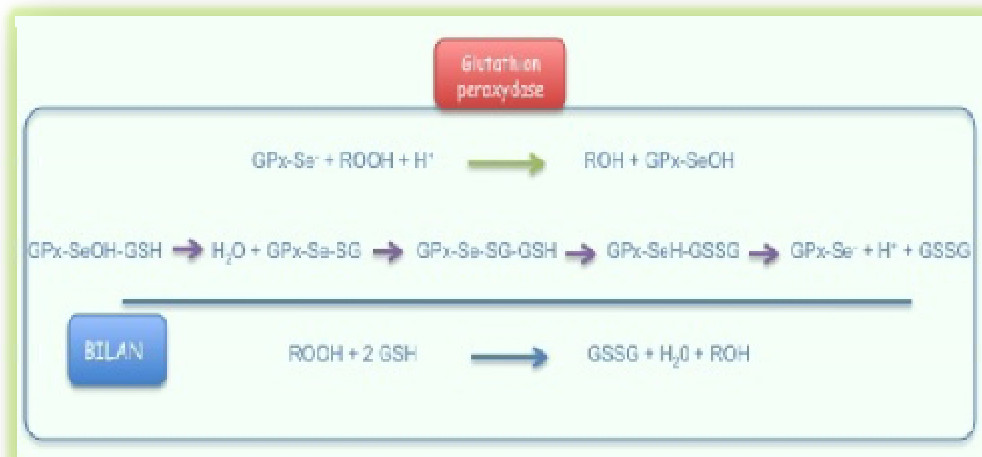
▼ إنزيم GPx-2 أو GI-GPx الخاص بالجهاز الهضمي، وهو مهم لإزالة سمية بيروكسيدات الهيدروجين بالأمعاء والناجمة عن أيض المواد الخارج إحيائية المهضومة وقد أظهرت دراسة أن GPx-2 متواجد في الخلايا الطلائية خاصة الخلايا الطلائية الثديية بالإنسان (Chu *et al.*, 1999).

▼ إنزيم GPx-3 البلازمي.

▼ إنزيم GPx-4 الذي يزيل سمية الهيدروكسيدات الليبيدية تفاضليا على عكس إنزيم GPx-1 فإن إنزيم GPx-4 قادر على اختزال هيدروبيكسيدات الفوسفوليبيدات والكوليسترول المندمجة في الأغشية (Thomas *et al.*, 1990).

كما لا يمكن لإنزيم GPx-1 هدم البيروكسيدات العضوية إلا إذا تحررت هذه الأخيرة من الفوسفوليبيدات الغشائية بفعل إنزيمات phospholipases (Grossmann and Wendel, 1983) أو تلك التي موجودة في السيتوبلازم. ويعد GSH المادة المرافقة الوحيدة المستعملة من طرف إنزيم GPx-1 ، بينما GPx-4 يمكنه استعمال ثيولات أخرى منها: mercapthoéthanol، dithioérythritol و cysteine كمعطي لـ SH (Takebe *et al.*, 2002). الجزئيات ثنائية الثيول dithiols مثل acide lipoïque و dithiothréitol تنشط إنزيم GPx-4 في حين أنها ليست مواد تفاعل لإنزيم GPx1 (Ursini *et al.*, 1995). و بالإضافة إلى هذا فإن إنزيم GPx عبارة عن إنزيم سيلينيومي (Sélénenzyme) حيث أن السيلينيوم مندمج على شكل سيلينوسيسنتيين Sélénocystéine ضمن السلسلة الببتيدية في مرحلة الإستطالة أثناء عملية الترجمة ARN الرسول إلى بروتينات (Brigélius-Flohé, 1999). تتوضع Sélénocystéine بمركز جيب متكون من

وتشكل روابط هيدروجينية مع السيلينيوم، هذه الأفراد الثلاث تشكل الثلاثية التحفيزية الأساسية والمميزة للـ GPx (Maiorino et al 1995) (شكل 25).



شكل (25) دور إنزيم glutathione peroxydase (Epp et al., 1983)

- **Thioredoxine**: يتدخل في هدم البيروكسيدات وهو عبارة عن بروتين به مجموعة ثيول (-SH)، ويتم استرجاعه وتجديده بواسطة إنزيم Thioredoxine réductase في وجود NADPH.

2.2.4.2 الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة غير الأنزيمية

- مضادات الأكسدة غير الإنزيمية القابلة للذوبان في الماء:

- **حمض الـ ascorbique**: وهو مركب مرجع يعمل بالتعاون مع α -Tocophérol مما يسمح بتجديده، وبدوره يجدد فيما بعد بواسطة إنزيم NADPH réductase، ومع هذا فإن هذه الخصائص الإرجاعية ليست دائما مفيدة، لأنه وفي وجود المعادن الانتقالية يتصرف حمض ascorbique ككبداء للأكسدة pro-oxydant. كما أن بعض البيبتيديات الثنائية، البروتينات الغنية بمجاميع الثيول SH، متعددات الأمين polyamine، ubiquinol، flavonoïde، bilirubine، acide urique، و acide lipoïde هي أيضا مضادات أكسدة غير أنزيمية (Negre-Salvayre, 2005) (شكل 26).

- **Glutathion**: (glutamyl - cystéinyl-glycine) هو ثيول أساسي في الخلية (يتراوح تركيزه بين 0,5 و 10 مل مول) (Gérard-Monnier and Chaudiere, 1996) يتواجد أساسا بشكل مرجع وهو على هذه الحالة يشكل بيبتيذا ثلاثيا بالغ الأهمية في النظام الغير أنزيمي في إزالة السمية داخل الخلية تركيب هذا المركب يتطلب إنزيم γ glutamyl cystéine synthétase (γ GCS). يلعب GSH المرجع دورا هاما في إزالة سمية الهيدروبيروكسيدات وذلك بواسطة إنزيمات glutathion peroxydases زيادة على هذا إنزيمات glutathion transférases تشكل عائلة الإنزيمات التي تحفز ارتباط GSH مع العديد من مواد التفاعل. يتم هدم مقترنات الـ GSH المتشكلة فيما بعد بقطع glutamate و glycocolle وأستلة المجموعة الكبريتية الحرة (SH) على

في الخلية، GSH هو الثيول الرئيسي الذي يحمي الخلية من الأكسدة بواسطة الجذور الحرة.

لنشاط GPx تجاه البيروكسيدات العضوية و لكن دون التأثير على H_2O_2 (Van Bladeren, 2000). يتفاعل GSH أيضا مع الفيتامين C و E وإنزيمات SOD.

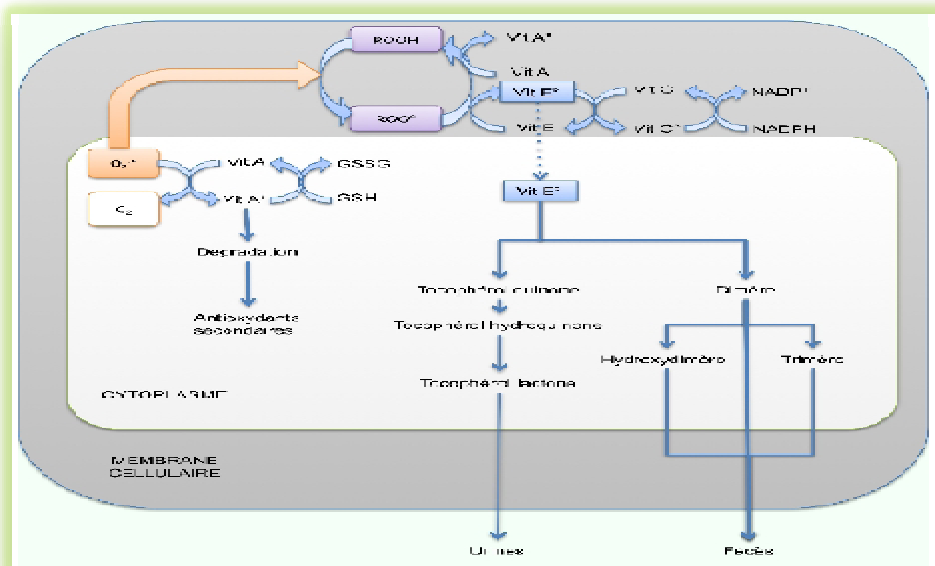
***acide urique**: يمتاز بالمثل بنشاط مضاد للأكسدة وذلك عند تراكيز فيزيولوجية لأنه يقوم بأسر جذور الـ $^{\circ}OH$.

***Polyphénols**: التي تنتمي إليها الفلافونويدات هي أيضا أسرات للجذور الحرة وممخلبات للأيونات المعدنية مما يمنحها خصائص مضادة للتأكسد ذات أهمية نسبية حسب بنيتها حيث تعمل بمنح ذرة هيدروجين إلى الجذور الناتجة أثناء الأكسدة الليبيدية مثل: جذر البيروكسيل (ROO°) أو $alcoxy^{\circ}(RO)$. لهذه البوليفينولات المتواجدة بصفة خاصة في الشاي أثر مفيد ضد أمراض القلب الوعائية.

- مضادات الأكسدة غير الأنزيمية المحبة للدهون:

- Vitamine E: حيث المركب الأساسي هو α -Tocophérol (شكل 27) الذي يقنص جذور البيروكسيل ROO° الناجمة عن أكسدة الليبيدات حيث يعمل بواسطة الوظيفة الهيدروكسيلية للنواة chromanol ، وهكذا يتم إرجاع أو اختزال جذور البيروكسيل إلى هيدروبيروكسيدات بينما يتحول α -Tocophérol إلى جذر α -tocophéroxyle . ويبدو أن Vit E يعمل بالتعاون مع أنزيم GPx-4 في حماية الأغشية ضد الـ ERO. إلا أنه وإلى جانب هذا الدور الوقائي، يمكن للـ Vit E تحت بعض الشروط الخاصة (عند تراكيز عالية وفي غياب مضادات أكسدة أخرى) أن يبادئ للتأكسد تجاه الأحماض الدهنية غير المشبعة (AGPI).

- عائلة **caroténoïdes**: تعمل عائلة caroténoïdes التي من بينها β -carotène و lycopéne على محاصرة الأكسجين الفردي بواسطة بنيتها الجد غنية بالروابط الثنائية، كما أن β -carotène قادر أيضا على اقتناص جذور البيروكسيل وبالتالي حماية الـ (LDL) التي ينقل عبرها، حيث أنها عبارة عن طلائع للفيتامين A الذي يتواجد بالجسم على شكل حمض rétinol أو rétinol، الفيتامين A أشد فعالية من الفيتامين E في حماية AGPI. (palozza et al., 1995).

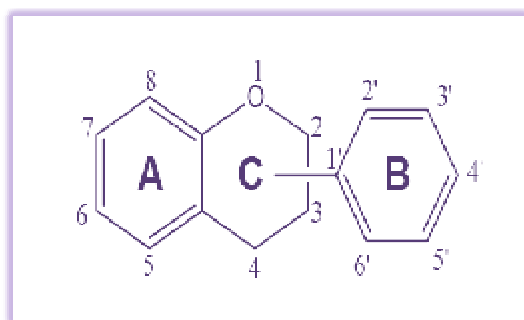


شكل (27) سبل إزالة جذور الأكسجين بواسطة الفيتامين A، E، C (Aurousseau, 2002)

2. 5. عديد الفينولات و الفلافونيدات:

1.5.2 الخصائص العامة للفلافونيدات:

تشكل الفلافونيدات قسما معتبرا من الجزيئات البوليفينولية المتنوعة، تمّ حصر منها ما يزيد عن 4674 بنية (Chen et al., 2005). وهي مركبات يتكون هيكلها من 15 ذرة كاربون، وتقسم بنيويا إلى 15 عائلة أهمها ماييلي: الفلافون، الفلافونول، الفلافانول، الأيزوفلافون، الشاكلون، الأورون، الأنثوسيان. ويمكن لهذه المركبات أن توجد بصورة حرة وتعرف بالأجليكونات و بصورة جليكوزيدات (Elliot, 1984) كما هو مدون بالجدول (2). إنّ أول من أشار إلى الفلافونيدات هو Geissman (1955) وذلك لتعريف الصبغات المهيكلّة بـ C6-C3-C6 (مماثلا للفلافون). وقد اشتق إسم الفلافونيد من الإسم الإغريقي Flavus والذي يعني اللون الأصفر (Sann and Sauvin, 1952). تنتشر الفلافونيدات بشكل مفرط على مستوى النباتات الراقية خاصة على مستوى بعض العائلات مثل المركبة والقرعية والخيمية، و يمكن أن تتواجد على مستوى كل من الأوراق، الأزهار، الجذور، القلف، البذور، حبوب الطلع (Jurd and Horowitz, 1962). وقد تكون منصهرة داخل فجوات كما هو حال Heterosides أو كمركبات بلاستيديّة. تتميز هذه النواتج الأيضية بامتلاكها نواتين بنزينيتين تعرف إحداهما بالنواة A والأخرى بالنواة B ترتبطان بسلسلة ثلاثية الكربون كما يدلي بذلك الشكل (28)



شكل (28) الهيكل الرئيسي للفلافونويدات. (Cook and Samman, 1996).

الجدول (2) المركبات الفلافونيدية (Elliot ,1984)

المشتقات	البنية	أسم العائلة	توزيع OH	الاسم
2-phenyl chromone		R = H Flavone	5, 7, 4' 5, 7, 3', 4'	Apigenin Luteolin
		R=OH Flavonol	5, 7, 4' 5, 7, 3', 4'	Kaempferol Quercetin
		R = H Flavanone (dihydroflavone)	5, 7, 4' 7, 3', 4'	Naringenin Butin
		R=OH Flavanonol (dihydroflavonol)	7, 3', 4' 5, 7, 3', 4'	Fustin Taxifolin
2-phenyl chromanes		R = H Catechin (flavonol-3)	5, 7, 3', 4', 5' 5, 7, 3', 4'	Gallocatechin Catechin
		R=OH Leucoanthocyanidin (flavandiol-3,4)	5, 7, 3', 4' 5, 7, 3', 4'	Leucocyanidin Leucodelphinidin
Flavyliums		R = H Flavylium (Anthocyan)	5, 7, 4' 5, 7, 3', 4'	Apigenidin Luteolidin
		R = OH (Anthocyanidin)		Cyanidin Delphinidin
3-phenyl chromone		Isoflavone	7, 4' 5, 7, 3', 4'	Daidzein Orobol
Chalcone		Chalcone	2', 4', 3, 4 2', 3', 4', 3, 4	Butein Okanin
Aurone		Aurone	6, 3', 4' 6, 7, 3', 4'	Sulphuretin Maritimetin

جدول (3) توزيع الفلافونويدات في الفواكه و الخضر (Rice-Evans, 1996)

العائلة	الجزئيات الرئيسية	التوزيع
flavone	apigénine, lutéoline, chrysine	التفاح ، الكرفس ، والحبوب (المحتوى=5-100ملغ/كغ) أعشاب عطرية (البقدونس، اكليل الجبل ، الزعتر)
flavanone	hespéritine, naringine, taxifoline	الحمضيات، الليمون (المحتوى=250-6000ملغ/كغ)
flavonol	quercétine, myricétine et kaempférol	التفاح و ليمون هندي و الفجل و الهندباء و القرنبيط والبصل و الملفوف والخس، والنبذ الأحمر والعنب والزيتون والشاي الأسود (المحتوى=56-250 ملغ/كغ)
isoflavones	genisteine et daidzeine	البقوليات (فول الصويا،فاصوليا سوداء،الحمص الأخضر) نبتة trèfle و luzerne و بذور عباد الشمس (المحتوى150- 1500ملغ/كغ)
flavan-3-ols	(+)-catéchine, (-)-epicatéchine, (-)-epigallocatechine et leurs esters de gallate	الشاي الأخضر و الأسود و النبيذ الأحمر (المحتوى=5-250ملغ/كغ) Vitis vinifera
anthocyanes	cyanidine, pelargonidine	الفواكه و الخضر الحمراء و البنفسجية (التفاح،العنب،التوت، مشمش اليابان، كشمش أسود) (المحتوى=100- 4000 ملغ/كغ)

2.5.2. الخصائص البيولوجية للفلافونيدات

أعتبر Halliwell ومساعدو (1986) مدرسة لخصت آليات تدخل الفلافونيدات كمضادات أكسدة بالشكل التالي:

- 1 - أسر الجذور الأوكسيجينية النشطة ROS .
 - 2 - التنشيط الأنزيمي ومخلبة الآثار المعدنية المولدة للـ ROS .
 - 3 - حماية الأنظمة المضادة للأكسدة الداخل خلوية (Halliwell et al.,1986)
- لقد أدلت العديد من الدراسات *in vivo* و *in vitro* والتي أعتمدت على الفلافونيدات ذات الدور الحيوي (Bioflavonoids) بأنّ هذه الفلافونيدات يمكنها أن تسلك مسلك المقوي الوعائي بإختزال النفاذية الغشائية عن طريق تنشيط أنزيمات : histidine decarboxylase أو elastase و hyaloruomidase للحفاظ على المادة الأساسية بالقميص الوعائي كما هو الحال بالنسبة للـ rutin (Cody et al.,1986). وييدي كل من الـ apizenol و chryzin و taxifolin دورا مضادا للإلتهاب نظرا لتداخلها مع ميتابولزم حمض الأراشيدونيك (Loguerccio وآخرون، 2003) . وأعتبرت الـ isoflavones خاصة منها الـ genistein مشابهات للـ œstrogenes وبدائل لمنع الحمل (Rice-Evans et al.,2001). بينما أعتمدت الـ quercetin و luteolin و kaempferol مضادات للتشنج ، مسكنات ، مضادات للتقرح ، مانعات للحساسية و مثبطات للـ

phosphodiesterase المضاد للتكتل الصفائحي (Lysandro *et al.*, 2006). بينما تكون الفلافونيدات الميتوكسيلية مضادات بكتيرية ومضادات فيروسية (Aruoma *et al.*, 1989) ، مضادات سرطانية ومضادات للطفور (Day *et al.*, 2000). ولم يهمل الدور الوقائي للفلافونيدات حالات الالتهابات الكلوية حيث أبدت كل من isobutrin و hispidulin و flavonolignans خاصة منها silymarin فعلا وقائيا وعلاجيا إذ اعتمد sylibin وهو أحد مقترنات dihydroflavonol وكحول coniferyl كخليط مضاد للسمية الكلوية تم إدراجه بالمستحضرات الطبية التجارية (Rice-Evans *et al.*, 2001).

3.5.2. العلاقة بين البنية والوظيفة للفلافونيدات:

✚ وجود وظيفة Catéchol في الحلقة B

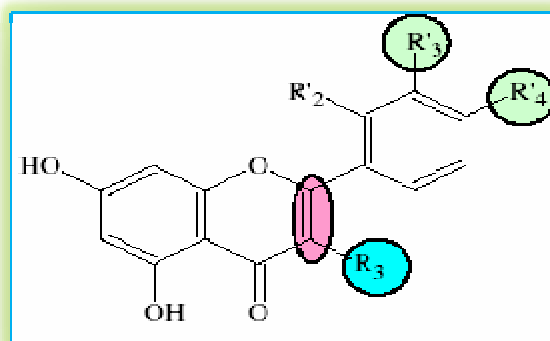
وجود hydroxyle النواة B يعتبر معيارا بنويا و الأكثر تعبيراً على نشاط مضاد الأكسدة. حيث أن جذور الـ phén oxy تستقر في وجود hydroxyle في وضع ortho مع الذي تخلى عن ذرة هيدروجين. لأن هذا الاستقرار ناتج عن تغيير موقع الإلكترون غير متزاوج وتشكيل رابطة هيدروجينية.

✚ وجود نمط énone في الحلقة C

الرابطة المزدوجة بين C2 و C3 والوظيفة الكربونيلية في C4 تسمح بتغيير موقع إلكتروني من أجل استقرار الجذر phén oxy.

✚ وجود مجموعة الـ hydroxyle في الموضع 3

تشكيل glycosylation أو méthylation عن طريق الـ hydroxyl في الموضع 3 للفلافونول يؤدي إلى الاقلال من النشاط المضاد للأكسدة. هذا التأثير يكون أقل إذا كانت المجموعات الفينولية الأخرى مستبدلة . وجود مجموعة الـ hydroxyle في الموضع 3 يقوي من الخصائص المضادة للأكسدة في حالة ما إذا كانت حلقة C غير مشبعة. وجود مجموعة الـ hydroxyle في الموضع 5 يساهم كذلك في تأثير مضادة الأكسدة في حالة isoflavones (Heim *et al.*, 2002).



شكل (29): الهيكل الفلافونيدي و النشاط المضاد للأكسدة (Cao *et al.*, 1997)

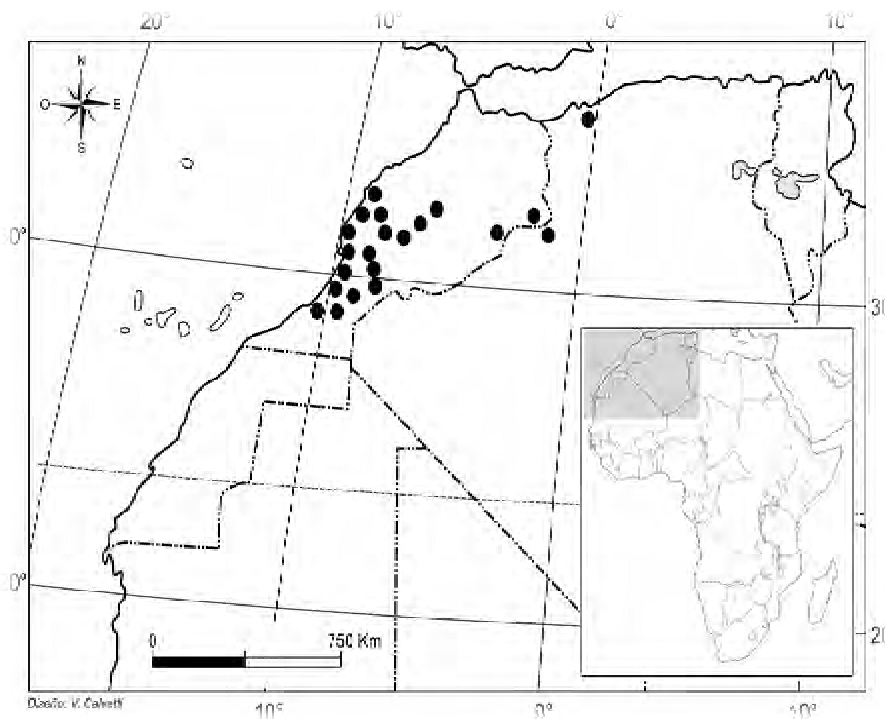
ومن جهة أخرى كلما تكون درجة الهدركسلة للفلافونويدات كبيرة كلما تكون القوة المضادة للأكسدة كبيرة (Cao *et al.*, 1997) وكذلك بلمرة الفلافونويدات تحسن كما في حالة Kurisawa polymères de rutine (Kurisawa *et al.*, 2003) أو procyanidines (Lotito *et al.*, 2000)، أو تحافظ على نشاط مضاد للجذور. فيما يخص تأثير acylation على الخصائص المضادة للأكسدة فهو يرتبط بالأسترات gallique الذي ينتمي إلى عائلة Flavanes (Miller *et al.*, 1996) وأيضا بالأستر retine وحمض Succinique (Alluis, 2000). في هذه الحالة الأخيرة، أظهرت أن التغيرات للجزء السكري للـ retine لا تؤثر على الأثر المضاد للأكسدة ماعدا في حالة succinylation المرتفعة. كذلك لاحظ Saija ومساعدوه (2003) أن acylation للـ quercétine على المجموعة الهيدروكسيلية في الموضع 3 مع مختلف السلاسل الأليفاتية (acétate، palmitate، propionate) لا تزيل نشاط أسر الجذور الحرة للجزيئة الأصلية. قد وجد أن للمشتقات الأسيلية chrysoeriol-7-O-β-D-(3''-E-p-coumaroyl)-glucopyranosidechrysoeriol والـ-O-6'''-Chrysoeriol-7-[6'''-O-acetyl-β-D-allosyl-(1→2)-β-D-glycopyranoside] تملك قدرة مضادة للمكروبات ومضادة للأكسدة أكثر من الجزيئات الأصلية (Mellou *et al.*, 2005). والجدول (4) يلخص تأثير العناصر البنوية للفلافونويدات على نشاط المضاد للجذور ومعقدات المعادن وتنشيط الأكسدة اللبيدية.

جدول (4) تأثير البنية على نشاط مضاد الأكسدة للفلافونويدات (Burda and Oleszek, 2001)

النشاط	البنية
آسر للجذور	- عدد مجموعات الـ OH المتاحة. - التأثيرات المتغيرة للميثلة ويتعذر تقديرها. - تملك البنية (الهيكل) رابطة ثنائية C2 - C3 و OH وحيد في الموضع 4'. - وظيفة Catéchol على الحلقة B.
المعقدات المعدنية	- وجود الوظيفة الكربونيلية في ذرة الكربون C4 ومجموعة الهيدروكسيل Hydroxyle في ذرة الكربون C5 و / أو C3. - وجود سكر ليس له أثر.
تنشيط الأكسدة اللبيدية	- وجود الوظيفة الـ Catéchol. - المجموعة الكربونيلية في الموضع 4 للحلقة C. - وجود مجموعة hydroxyle في الموضع C5، C7، C3'، C4'، C3.

6.2. النبتة تحت الدراسة : Warionia sp sp.

يستوطن نبات *Wariona sp*. الشمال الغربي للقارة الإفريقية بكل من المغرب وغرب الجزائر ينتشر بمنطقة بني ونيف بولاية بشار، يعود اسمه العلمي إلى الفرنسي Adrie warion (1837-1880) وهو عسكري فيزيائي ونباتي كان يهتم بجمع وتعريف نباتات المنطقة، وهو نبات شجري ذو جذع فليبي وسيقان قصيرة تشبه سيقان الخس، وأوراق متبادلة شبه جالسة جيبية ثلاثية التقصص، يتميز بنورة (زهرة) رأسية كبيرة عرضها 5-6 سم وعلو 3-4 سم ذات أزهار صفراء. الأزهار أنبوية ذات تويج منتظم يكون المتك مذنبا والقلم مغطى بشعر قصير. المناب شبه كروي يتكون من قنيبات صلبة بيضوية إلى رمحية الشكل. كرسي الزهرة مجوف ومغطى بزغب أبيض ثم يصبح بعد ذلك أملس، يمتاز هذا النبات وكذا أوراقه اللحمية باحتوائه على عصارة بيضاء اللون. ومن الخصائص المميزة لهذا النبات احتوائه على رائحة نفاذة كريهة تفرزها غدد توجد على مستوى بشرة الأوراق بمجرد اللمس الخفيف (Katinas, et al., 2008).



شكل (30) التوزيع الجغرافي لنبات *Wariona sp* بشمال غرب إفريقيا (Katinas et al., 2008)

3 - مواد وطرق العمل

3. المواد وطرق العمل

1.3. نبات الـ *Warionia sp*:

نبات الـ *Warionia sp* تمّ جلب النبتة بشهر أفريل 2006 من منطقة بشار وجففت هوائيا بعيدا عن أشعة الشمس في جو جاف ثم فصلت إلى أوراق وأزهار حيث أعطت الأولى بعد سحق 210 غرام وأعطت الثانية 650 غرام.

1.1.3 التصنيف النباتي

Plantae
compositae
Asteridae
Mutisieae
Asteraceae
Warionia sp

المملكة
طائفة
تحت الطائفة
الرتبة (القبيلة)
العائلة
الجنس

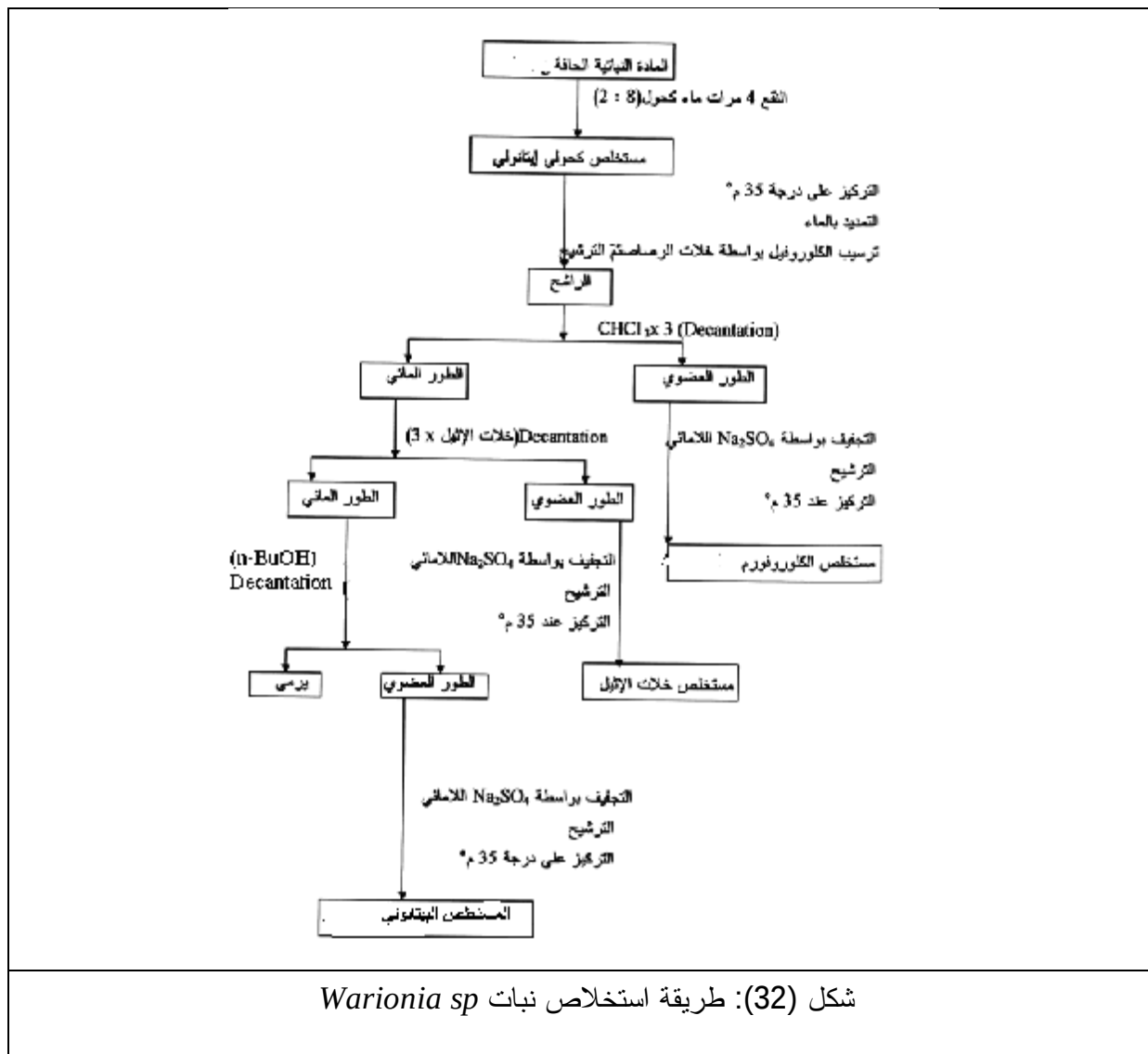


شكل (31) نبات الـ *Warionia sp* (Katinas et al., 2008)

2.1.3 تحضير المستخلص البيتانولي

تمّ قطف الأجزاء الهوائية لنبات *Warionia sp* الذي ينبت برياً بالصحراء منطقة بشار و تمّ تجفيف المادة تحت الظل في مكان جيد التهوية بعد سحق الأجزاء النباتية الجافة تمّ نقعها مع خليط الميثانول / الماء (8 v/v) : 2؛ وركّز هذا المستخلص تحت ضغط منخفض أضيف إليه كمية من الماء المقطر عند درجة الغليان (400 ml/Kg). وبعد الترشيح تمّ استخلاصها تتابعياً بمذيبات الكلوروفورم، خلات الاثيل ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$) والبيتانول (n-BuOH) (3 x 150 ml). جمعت وجففت الأطوار العضوية بـ Na_2SO_4 ثم ركزت جيداً تحت

الضغط المنخفض وأدت إلى مستخلصات الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل و n-BuOH (126.4 g) الذي يعتبر مستخلصا واعدًا بالفلافونيدات الجليكوزيدية ومتعددات الهيدروكسيل (Bronner and Beecher, 1995). تمت عملية استخلاص الأوراق على مستوى معهد الكيمياء وذلك وفق المخطط الذي يوضحه الشكل رقم (32)



3.1.3 اختبارات كروماتوغرافية للمستخلص البيتانولي

1.3.1.3 الخريطة الفلافونيدية (ورق Whatman)

إنّ الخريطة الفلافونيدية للمستخلص البيتانولي للنبذة قيد الدراسة يمكن أن تفي بمعطيات مهمة حول مكونات هذا المستخلص المحتملة لتتجزع عن الكروماتوغرافيا ثنائية البعد بواسطة ورق Whatman أوكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة اعتمادا على الأنظمة المذيبة (Harborne, 1988). تم استخدام ورق Watman رقم 3 للفحص التمهيدي وفقا للجمل الآتية :

- البعد الأول (BAW) $n\text{-BuOH} / \text{AcOH} / \text{H}_2\text{O} : (4/1/5)$.

- البعد الثاني: 15 % AcOH.

2.3. الحيوانات التجريبية :

أختيرت لهذه الدراسة جردان ذكور *Albino wistar* من معهد باستور الجزائر ،عمرها شهران ،أوزانها في حدود (233,43 غ $\pm$ 9.16). تمت التربية بمستودع الحيوانات بمعهد علوم الطبيعة والحياة ،جامعة قسنطينة تحت ظروف المستودع الحيواني ، كما أن النظام الغذائي المتبع إلى جانب ماء الشرب العادي فهو غذاء الأدلبتوم من الديوان الوطني لإنتاج أغذية الأنعام (إلا أنه تم التزويد بالخبز عند نفاذ الغذاء). وزعت الحيوانات على أقفاص معدنية إلى 04 مجموعات بمعدل 6-8 جردان بكل قفص وبعد تكيف هذه الجردان مع الظروف ،تتلقى المعاملات المبرمجة كما يلي :

- 1- مجموعة الشواهد تعامل بالمحلول الفيزيولوجي (0.9 % NaCL) يوميا لمدة عشرة أيام.
 - 2- المجموعة المسممة تعامل بالمحلول الفيزيولوجي (0.9 % NaCL) يوميا لمدة تسعة أيام وباليوم العاشر تزود بجرعة منفردة من البراسيتامول عبر المجرى الفموي (750 mg/Kg)
(Abdel-Zaher, et al., 2007).
 - 3- المجموعة الموافقة تعامل بالـ N-acetyl cystéine (NAC) بجرعة 200 mg/Kg يوميا لمدة عشرة أيام
 - 4- المجموعة المعاملة بمستخلص بيتانولي لنبات *Warionia sp* بجرعة 300 mg/Kg يوميا لمدة عشرة أيام .
- وفي اليوم العاشر وبعد ثلاث ساعات من أخذ جرعة المستخلص و جرعة الـNAC تزود هذه المجموعات بجرعة منفردة من البراسيتامول بجرعة (750 mg/Kg). وتوزن يوميا الحيوانات لتحديد الجرعة الموافقة وتعطى عبر المجرى الفموي.

3.3. المعايير :

1.3.3. معايرة مؤشرات السمية الكلوية:

تخضع الجردان لصيام ليلة كاملة قبل موعد التشريح ليأخذ الدم من الجيب الأنسي الداخلي للعين قبل التشريح وأثناءه من الوريد البابي ،ليستقبل في أنابيب هيبارينية ثم يعرض للطرء المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة عند 4°م في جهاز الطرد المركزي ، لتأخذ البلازما و المصل لتقدير مؤشرات السمية الكلوية ، أعتمد تقدير اليوريا و حمض اليوريك و الكرياتينين و الكتيونات Na^+ و K^+ اعتمادا على مشخصات الـKits.

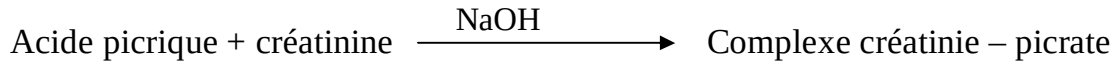
1 - اليوريا urea

يتم التقدير عن طريق المشخصات على اساس انزيمي يتم على مرحلتين في الأولى تحدث حلمة لليوريا الموجودة بالعينة إلى أمونيا و ثاني أوكسيد الكربون بواسطة أنزيم الـUrease و في الثانية يتم تحويل الأمونيا

و α -ketoglutarate بفعل أنزيم glutamate dehydrogenase (GLD) إلى glutamate و ماء ويكون هذا التفاعل مرفوقا بأكسدة NADH إلى NAD^+ . يتناسب تناقص معدل الامتصاصية الابتدائية على الطول الموجي 340 نانومتر طردا مع تركيز اليوريا في العينة.

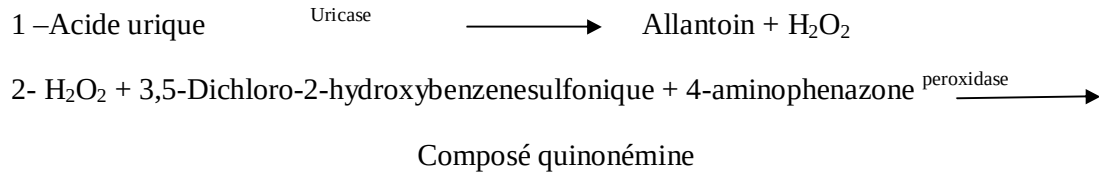
2- الكرياتينين

يتم التقدير عن طريق المشخصات على اساس أنه في الوسط القلوي يتفاعل الكرياتينين الموجود في العينة مع البيكرات مكونا معقد كرياتينين – بيكرات، إن معدل ارتفاع الإمتصاصية عند الطول الموجي 500 نانومتر يتناسب طردا مع تركيز الكرياتينين في العينة.



3 - حمض اليوريك

تم تقدير حمض اليوريك وفقا لمبدأ التفاعل الآتي :



مركب quinonémine الناتج يعطي لونا بنفسجي محمر يتم قياسه عند الطول الموجي 340 نانومتر.

4- نشاط الـLDH

تم تقدير نشاط الـLDH بالكلية وفقا لطريقة Wroblewski المبينة في التقرير التقني لـSigma رقم 500 (سبتمبر 1967). مادة التفاعل المستخدمة بيروفات الصوديوم ويتم تثبيت pH المنظم عند 7.5 على درجة حرارة 37 °م . في وجود الأنزيم يتحول حمض البيروفيك إلى حمض اللاكتيك ، إضافة إلى أن حمض البيروفيك يتفاعل مع 2,4-dinitrophenylhydrazine معطيا الـHydrazone البني اللون ذي الامتصاص العالية (OD) ما بين 400-500 نانومتر .

5 الـ Na^+ و K^+

تم تقدير أيونات Na^+ و K^+ باستخدام مشخصات الـKits

2.3.3. معايرة مؤشرات الإجهاد التأكسدي:

- تحضير المجنس الكلي:

يرفق 1 غ من القسم القشري من الكلية بثلاثة أضعاف من KCl (1.15%)، ثم يسحق بواسطة المجنس الزجاجي ويعاير TBARS بالمجنس الكلوي المتحصل عليه.

• تحضير القطفة السيتوزولية للكلية :

يخلط 1 غ من الكلية مع 9 مل من منظم (EDTA-Tris ، 0,1mM ، pH 7,6) ثم يسحق بواسطة المجنس الزجاجي (Glass teflon homogenizer) ، ليترد مركزيا (1000 دورة/دقيقة) لمدة 15 دقيقة ثم عرضت القطفة الطافية لطرء مركزي عند 9600 دورة / دقيقة لمدة 45 دقيقة عند درجة حرارة 4 م° للحصول على القطفة السيتوزولية . استعملت القطفة الطافية الكلوية المتحصل عليها لقياس مؤشرات الإجهاد التأكسدي (GSH ، GP_x ، GST ، Catalase ، Superoxide dismutase) وكذا البروتين الكلي .

1.2.3.3 قياس الـ TBARS :

إنّ معايرة الـ MDA تعتبر مؤشرا معتبرا لدراسة أثر سمية المواد ، ويعتمد مبدأ التفاعل لتقدير الـ MDA على القياس اللوني على 530 nm الذي يحصل عليه اثر التفاعل المعتمد ما بين جزيئة MDA الناجمة من الأكسدة الليبيدية مع جزيئين من Thiobarbuteric acid (TBA) وفقا لطريقة (Ohkawa et al.,1979) حيث ينطلق التفاعل بوسط حمضي (pH 2-3) ودرجة حرارة 100 م° في وجود TBA واثار الإستخلاص في وجود *n*-butanol . و تحسب بـ : نانومول MDA

2.2.3.3 معايرة نشاط النظام الجلوتاتيوني

1. الجلوتاتيون المختزل GSH

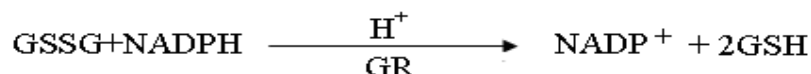
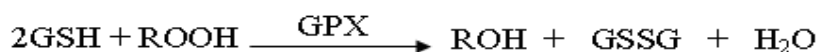
اعتمد قياس الجلوتاتيون السيتوزولي على الكاشف 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) وفقا لطريقة (Ellman,1959) ، ويعتمد المبدأ التجريبي على أكسدة الـ GSH بواسطة الـ DTNB محررا حمض thionitrobenzoic (TNB) و الذي يظهر على pH قاعدي قدرة إمتصاصية عند 412 nm وفقا للتفاعل الآتي :



تحسب بـ : نانومول لكل مغ بروتين

2. نشاط الـ GP_x

تم تقدير الـ GP_x وفقا لطريقة (Mohandas et al.,1984) واعتمد الـ H₂O₂ كمادة تفاعل . إن غياب الـ NADPH على 340 nm اعتبر قياسا للنشاط الإنزيمي و الذي عبر عنه باكسدة NADPH nmol لكل دقيقة لكل مغ من البروتين. إن الـ GP_x يحفز اكسدة الـ GSH بواسطة H₂O₂ (ROOH) و الذي يتحول إلى (ROH) في وجود GR و الـ NADPH . إن الـ GSSG عادة ما يتحول الى الصورة المختزلة مع الاكسدة المزامنة للـ NADPH الى NADP⁺ و الاختزال الناجم للـ OD على 340 nm .



3. نشاط : GST

قدر نشاط الـ GST مطيافيا وفقا لطريقة (Alin et al.,1985) إعتمادا على تحديد 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) المقترن المتشكل من التفاعل المتزاج مع الـ GSH ، ويعبر عن النشاط بـ :

nmol CDNB المقترن بالـ GST / دقيقة / مغ بروتين

3.2.3.3 تقدير نشاط إنزيمات الإجهاد التأكسدي

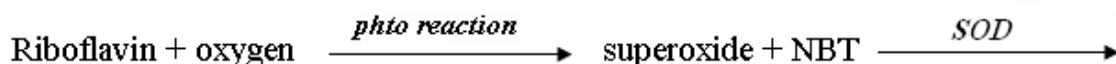
• نشاط الـ catalase (CAT)

أمكن تقدير نشاط الـ CAT وفقا لطريقة (Aebi,1974) حيث تم إضافة قدر من القطعة السيتوزولية إلى محضن من الكوارتز وانطلق التفاعل بإضافة H₂O₂ 30 mM المحضر بشكل فوري بالمنظم الفوسفاتي (pH 7) قدر معدل تفكك H₂O₂ مطيافيا على طول موجي 420 nm خلال 120 ثانية ليعبر عن النشاط للـ CAT بـ :

H₂O₂ المفكك / دقيقة / مغ

• نشاط الـ Superoxid Dismutase (SOD)

يعتمد تقدير نشاط الـ super oxide dismutase على طريقة (Beauchamp and Fridovich,1971) وهي تتوقف على مدى قابلية الإنزيم لتنشيط اختزال nitrobleue tetrazolium (NBT) بواسطة الجذر superoxide و الذي تم توليده بواسطة التفاعل الاختزالي في وجود riboflavin و الاكسجين.



Formazan formation a reduction product of NBT

الفورمازين المتشكل هو المنتج المختزل من NBT

3.3.3. معايرة البروتينات السيئوزولية

أعتمد في هذه التجربة على طريقة (Lowry et al.,1951) ، تجرى هذه التجربة ميظافيا على أن مجاميع الفينوليك لبواقي الـ tyrosine يمكنها إعطاء لونا أزرق بنفسجي ، ومبدأ هذا التفاعل يعتمد على إنتاج أيون النحاسيك الذي يختزل كاشف Folin-Ciocalteau Phenol ، ويمكن قياس هذا اللون عند 660 nm

4.3. الدراسات الهيستولوجية

تلحق باقي القطع الكلوية بمحلول الفورمالدهيد 10 % ، pH 7.4 ثم يغمر بالبرافين وتصبغ القطع (5 µm) بكل من الهيماتوكسيلين و الأيوزين لأجل دراسة البنى العامة للنفروسييت.

التحليل الاحصائي

تمّ التعبير عن النتائج بالمتوسط $\pm$ الانحراف المعياري واخضعت للتحليل الاحصائي باستخدام اختبار Student اختبار تحليل التباين (ANOVA) ($P^* < 0.05$, $P^{**} < 0.01$).

4 . النتائج

4. النتائج:

1.4. الدراسة الكيميائية لنبات *Warionia sp*

1.1.4 الخريطة الفلافونيدية للمستخلص البيتانولي لـ *Warionia sp*

في البداية استعملنا الكروماتوغرافيا التحليلية ثنائية البعد على الورق (3 Whatman) لمستخلص البيتانول العادي ، حيث كانت الجمل المستعملة كالتالي :

البعد الأول (1D):

الجملة العضوية: 5 : 1 : 4 n- BuOH / AcOH / H₂O

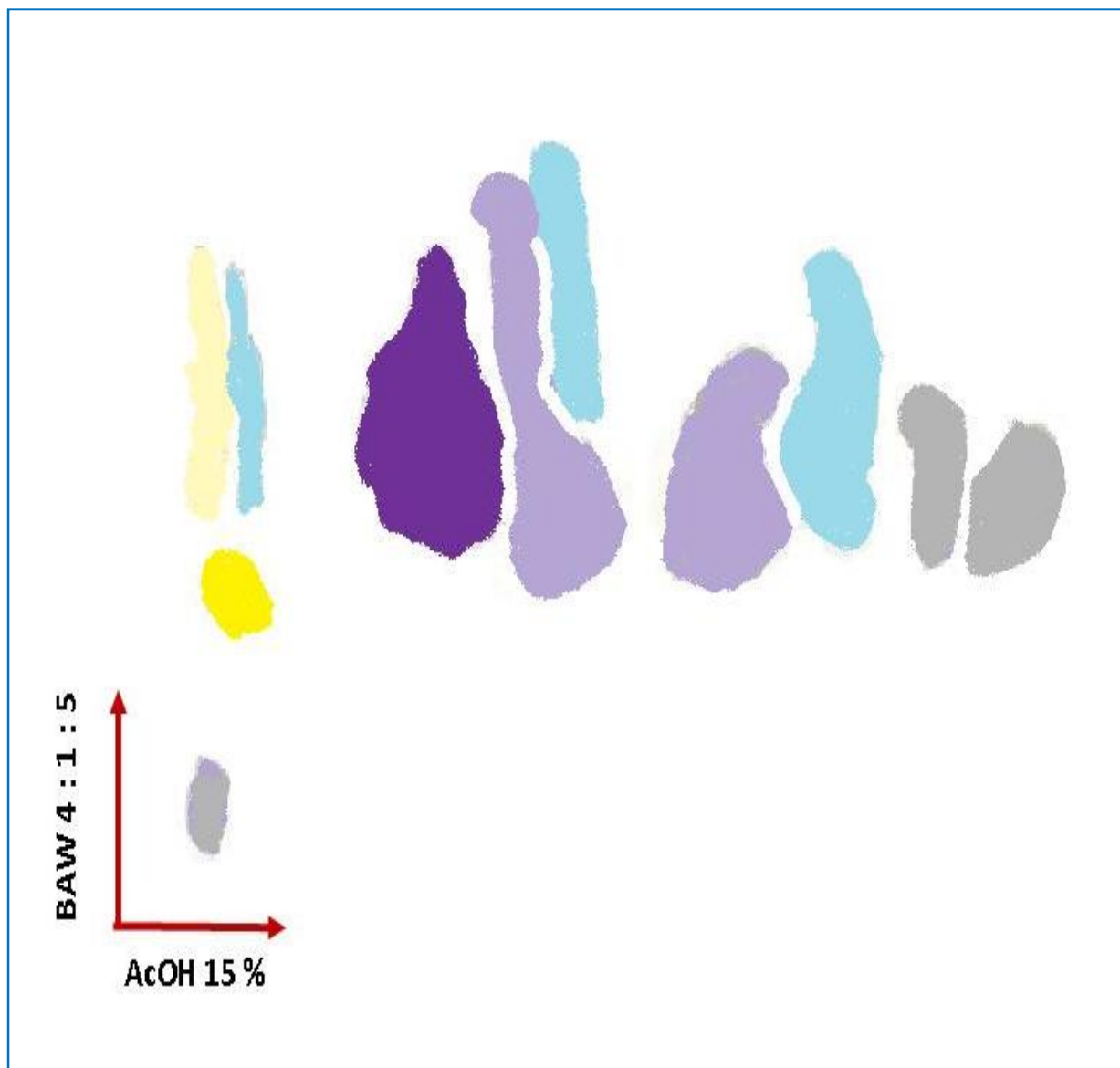
البعد الثاني (2D) :

الجملة المائية: 15% AcOH

من خلال معاينة سريعة لهذا الكروماتوغرام يظهر مستخلص البوتانول العادي للنبات *Warionia sp saharae* غنى واضح بالمكونات الفلافونيدية و بالأعتماد على قطبية الجملة العضوية و قطبية الجملة المائية يمكننا الجزم باحتواء هذا المستخلص من المركبات الفلافونيدية

فالبعد الأول (الجملة العضوية) يظهر بقع صفراء و بنفسجية متوسطة و ضعيفة التركيز مما يدل على وجود مركبات فلافونيدية من نوع الفلافونولات و الفلافونات

أما البعد الثاني (الجملة المائية) فيظهر عدد أكبر من البقع الصفراء و البنفسجية و بتركيز عالية مقارنة بما سبق و يستدل بهذا على وجود مركبات فلافونيدية قطبية من نوع الفلافونولات و الفلافونات المتعددة الهيدروكسيل و التي يمكن أن تكون أيتيروزيدية شكل (33)، جدول (5).



شكل (33) : الخريطة الفلافونيدية لنبات *Warionia sp*

الفلافونويدات بتركيز عالية +++	
الفلافونويدات بتركيز أمتوسط ++	
الفلافونويدات بتركيز أقل +	
أصفر - لامع فلافونول مستبدل بالموقع 5	
عديدات الفينول بتركيز عالية	

جدول (5): العلاقة بين طبيعة الفلافونيد و الإستشعاع تحت UV

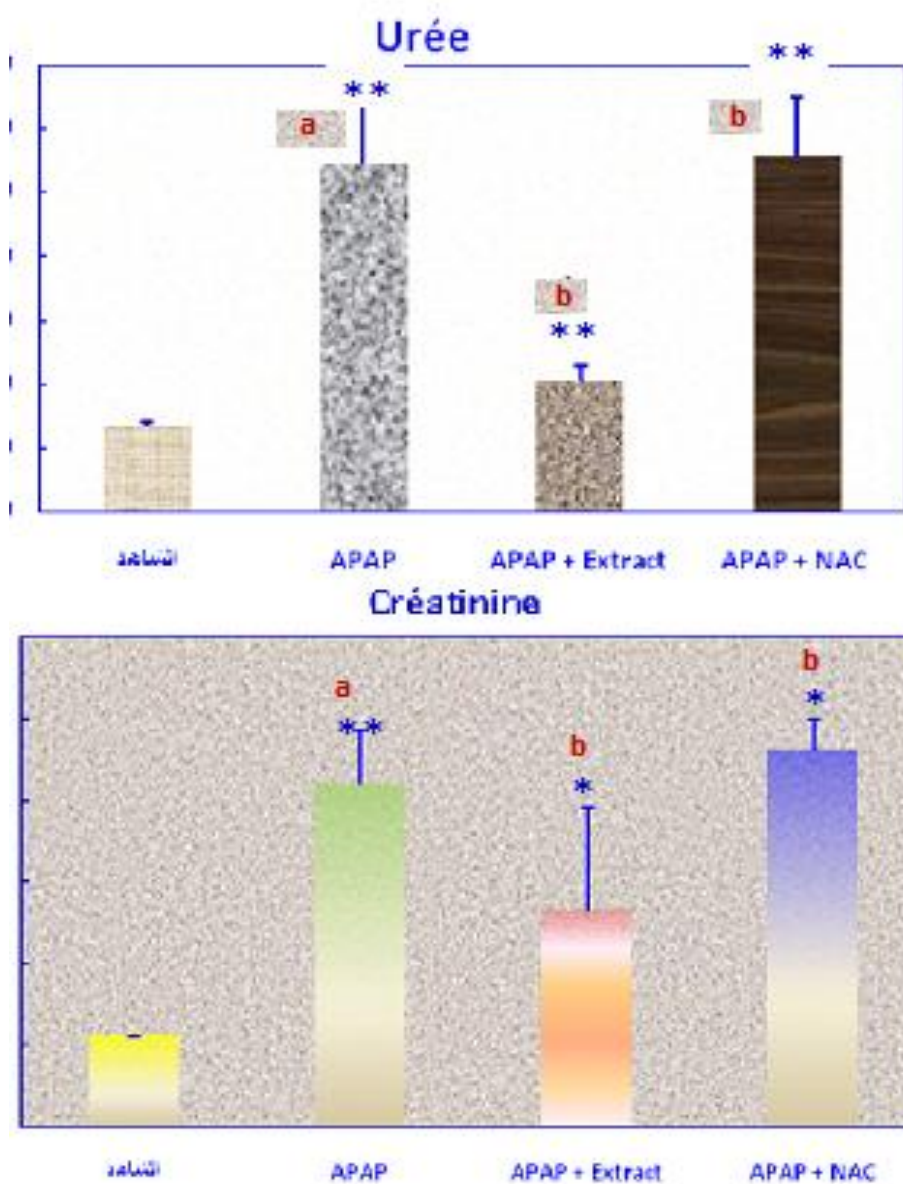
لون البقعة الفلافونيدية	نمط الفلافونيد
	فلافون 7،6،5 أو 8،7،5 ثلاثي OH
	فلافونول مستبدل بالموقع 3
	بعض الشالكونات
	فلافانول أو فلافانول يملك 3 - OH
	فلافون أو فلافانول دون OH بالموقع 5
	فلافونول مستبدل بالموقع 3 بدون OH بالموقع 5
	فلافونول مع OH بالموقع 5
	فلافونول مستبدل بالموقع 5
	أيزوفلافون
	فلافانول بدون OH بالموقع 5
	عديدات الفينول بتركيز عالية +

2.4. الدراسة البيولوجية للمستخلص البيتانولي للـ *Warionia sp*

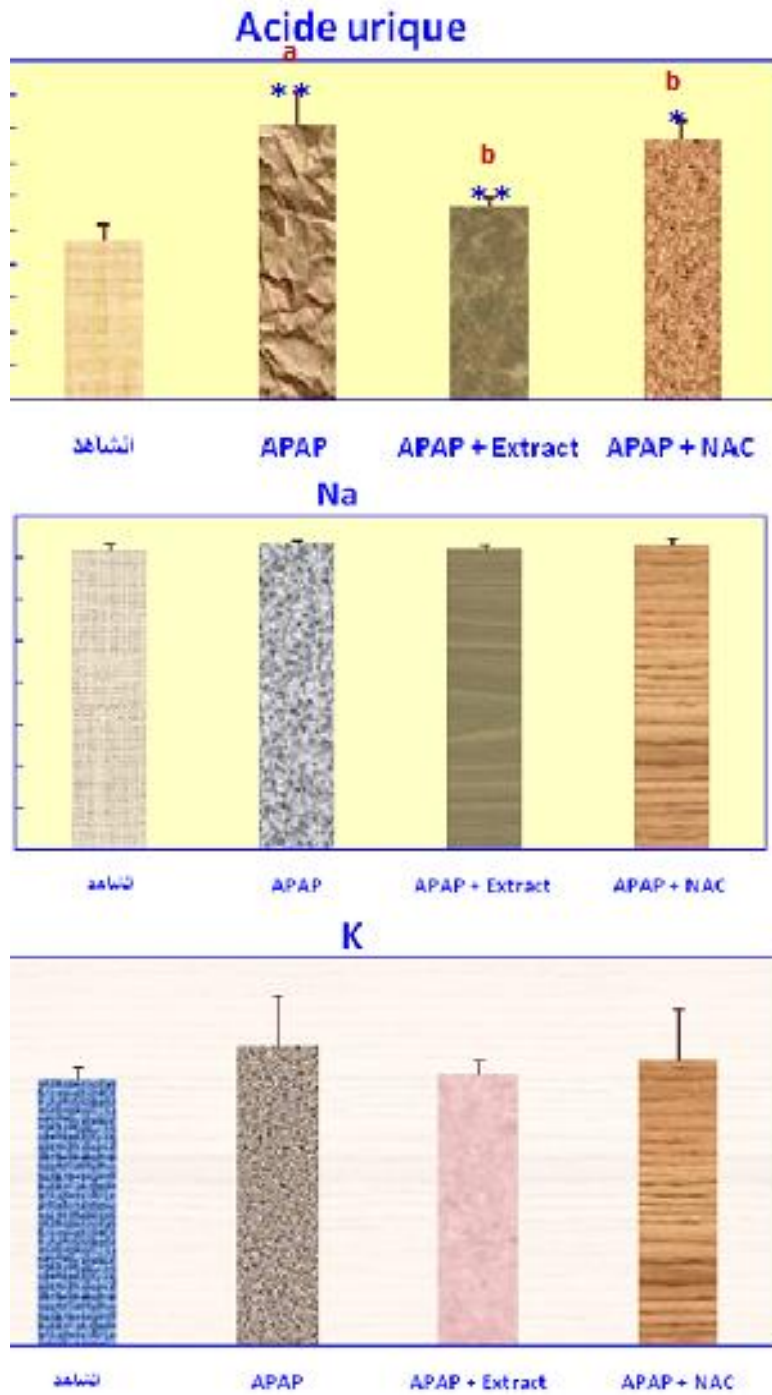
1.2.4 الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للـ *Warionia sp* على مؤشرات السمية الكلوية المحرصة

بالبراسيتامول لدى الجرذان:

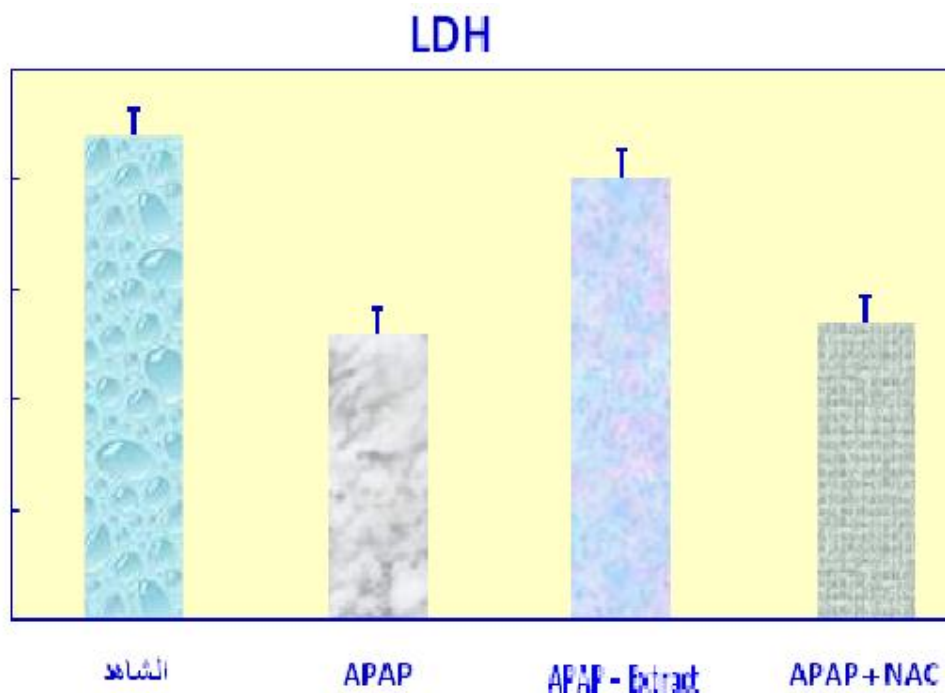
أعربت الجرذان المعاملة بجرعة منفردة من APAP (750 mg/kg) عن ارتفاع معنوي لمعدلات $U_{r\acute{e}e}$ ، $Cr\acute{e}atinine$ و $Acide\ urique$ عن المعدلات المعهودة بما يكفي 4 و 4 و 2 مرة على التوالي شكل (34) و شكل (35) مقارنة بالشواهد، وقد يفسر هذا بخلل بالوظيفة النفرونية ، كما سجل ارتفاع غير معنوي بكل من Na و K شكل (35) بينما انخفض نشاط الـ LDH النسيجي بما يقارب الضعف شكل (36) . وقد وفرت المعاملة المسبقة بالمستخلص البيتانولي للـ *Warionia sp* (300 mg/kg) لمدة 10 أيام دورا وقائيا ضد السمية بالـ APAP تتمثل في الحد من ارتفاع معدلات الـ $U_{r\acute{e}e}$ و الـ $Cr\acute{e}atinine$ بالدم بما يكفي 50 - 82 % مقارنة بالفعل الوقائي للـ NAC 2 - 13 % جدول رقم (6). كما عدل نشاط الـ LDH بما يكفي 77 % بالنسبة للمعاملة بالـ *Warionia sp* مقارنة بالـ NAC التي لم تزد عن 5 % جدول رقم (6)



شكل (34) الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي لنبات *Warionia sp* (300 mg/kg) لمدة 10 أيام على مؤشرات السمية الكلوية المحرصة بالبراسيتامول (750 mg/kg) لدى الجرذان (Urée، Créatinine). القيم معبر عنها بالمتوسط $\pm$ الانحراف المعياري، n=6، *P<0.05، **P<0.01، a: مقارنة بالشاهد و b: مقارنة بالمستخلص.



شكل (35) الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي لنبات *Warionia sp* (300 mg/kg) لمدة 10 أيام على مؤشرات السمية الكلوية المحرّضة بالبراسيتامول (750 mg/kg) لدى الجرذان (Acide urique، Na، K) القيم معبر عنها بالمتوسط $\pm$ الانحراف المعياري، $n=6$ ، $*P<0.05$ ، $**P<0.01$ ، a: مقارنة بالشاهد و b: مقارنة بالمستخلص.



شكل (36) الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي لنبات *Warionia sp* (300 mg/kg) لمدة 10 أيام على مؤشرات السمية الكلوية المحرصة بالبراسيتامول (750 mg/kg) لدى الجرذان (LDH) القيم معبر عنها بالمتوسط $\pm$ الانحراف المعياري، $n=6$ ، $*P<0.05$ ، $**P<0.01$ ، a: مقارنة بالشاهد و b: مقارنة بالمستخلص.

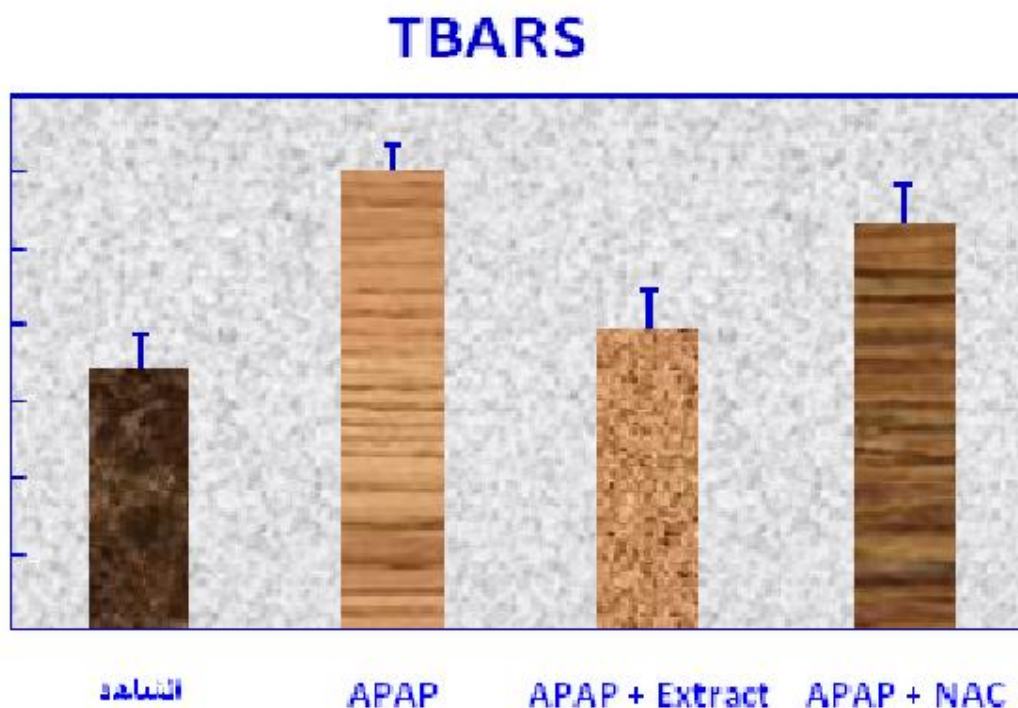
جدول (6) النسبة المئوية للدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للـ *Warionia sp* على مؤشرات السمية الكلوية بالجرذان المعاملة بالبراسيتامول

المعاملة	<i>Warionia sp</i> (%)	NAC (%)
Urée	82,29	2,59
Créatinine	50	12,99
Acide urique	70,18	13,16
Na	66,67	16,67
K	80	40
LDH	77,4	5,55

2.2.4 الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للـ *Warionia sp* على مؤشرات الإجهاد التأكسدي بكلية الجرذان المعاملة بالبراسيتامول

1.2.2.4. TBARS-

تدلي نتائج الدراسة الخاصة برصد الفعل المانع للأكسدة للمستخلص البيتانولي لنبات *Warionia sp* بأن الجرذان المعاملة بجرعة منفردة من البراسيتامول قد تولد عندها TBARS بشكل معنوي و يظهر الشكل (37) أن المعاملة المسبقة بالمستخلص البيتانولي لنبات *Warionia sp* (300mg/kg) لمدة 10 أيام دورا قائيا ضد السمية بالـ APAP تتمثل في تراجع هذه الأكسدة اللييدية بـ 80 % مقارنة بالـ NAC 27 % جدول رقم (7).

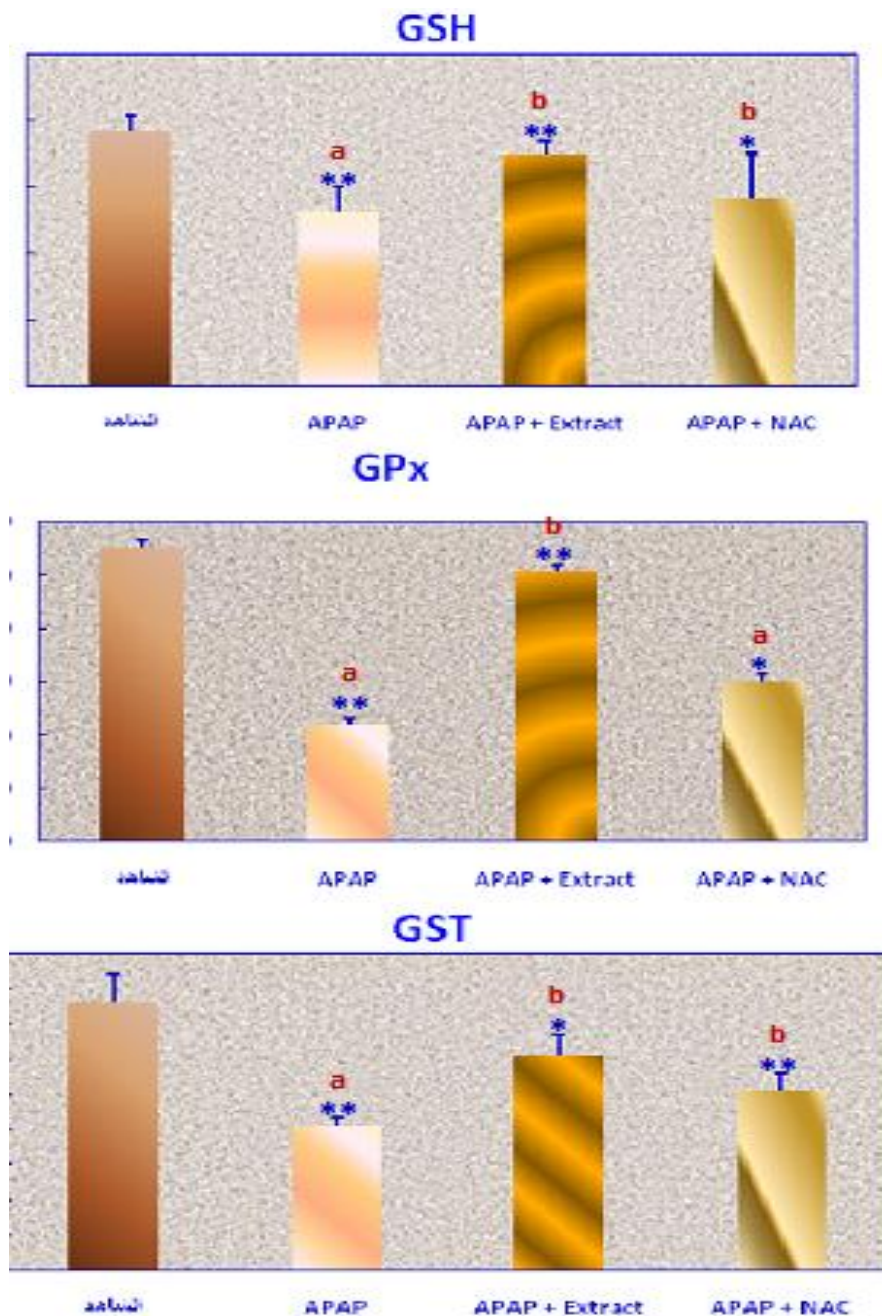


شكل (37) الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي لنبات *Warionia sp* (300 mg/kg) لمدة 10 أيام على مؤشرات الإجهاد التأكسدي (TBARS) بكلية الجرذان المعاملة بالبراسيتامول (750 mg/kg) لدى الجرذان (LDH) القيم معبر عنها بالمتوسط $\pm$ الانحراف المعياري، $n=6$ ، $P<0.01$ ، $P<0.05$:a مقارنة بالشاهد و b: مقارنة بالمستخلص.

2.2.2.4.. النظام الجلوتاتيوني

تدلي نتائج الشكل (38) و الجدول رقم (7) بأن معاملة الجرذان بجرعة منفردة من البراسيتامول قد أحدثت خلا بكافة أنظمة الدفاع المانعة للأكسدة حيث اختل نشاط النظام الجلوتاتيوني GSH و GPx نقصا. وتظهر نفس النتائج بأن المعاملة المسبقة بكل من المستخلص البيتانولي للـ *Warionia sp* (300 mg/kg) لمدة 10 أيام دورا وقائيا ضد السمية بالـ APAP تتمثل في الاحتفاظ بنشاط النظام الجلوتاتيوني بما يكفي 72 – 86 % مقارنة مقارنة بالـ NAC 16-24 % بالنسبة لكل GSH و GPx جدول رقم (7) و بما يكفي 57 %

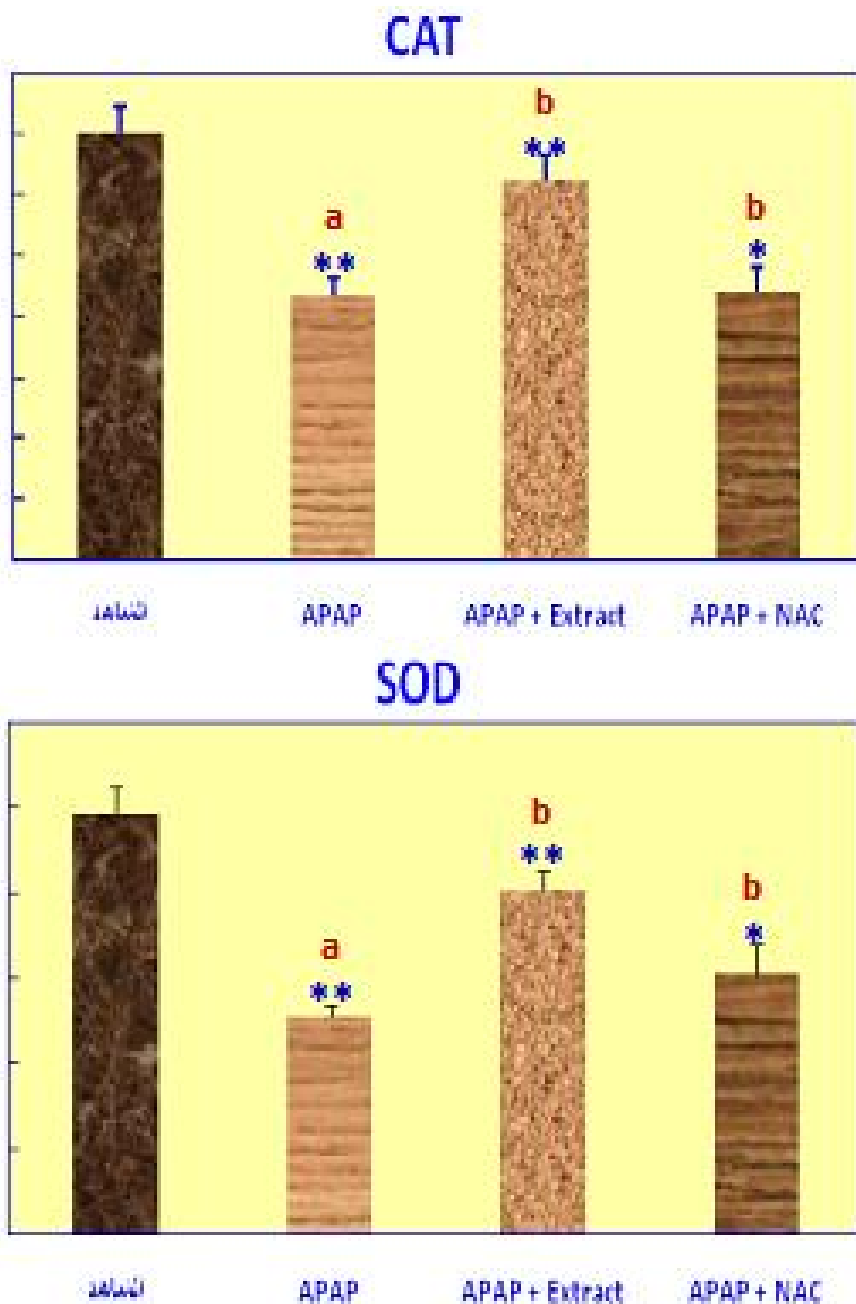
بالنسبة للمستخلص البيتانولي للـ *Warionia sp* بمقارنة ذلك بالأثر الوقائي للـ NAC (28 %) في حالة الـ GST.



شكل (38) الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي لنبات *Warionia sp* (300 mg/kg) لمدة 10 أيام على النظام الجلوتاثيوني (GSH ، GPx ، GST) بكلية الجرذان المعاملة بالبراسيتامول (750 mg/kg) لدى الجرذان (LDH)، القيم معبر عنها بالمتوسط $\pm$ الانحراف المعياري، $n=6$ ، $*P<0.05$ ، $**P<0.01$ ،
a: مقارنة بالشاهد و b: مقارنة بالمستخلص.

3.2.2.4. نشاط الـ CAT و الـ SOD

تدلي نتائج الشكل (39) و الجدول رقم (7) بأنه قد سجلت استجابة معتبرة بالإنزيمات المانعة للأكسدة والتي إنخفض نشاطها بشكل معنوي بكلية الجرذان المعاملة بالبراسيتامول حيث تم الاحتفاظ بهذا النشاط بنسبة 70 و 62 % بكل من الـ CAT و الـ SOD على التوالي في حالة المعاملة بالمستخلص البيتانولي للـ *Warionia sp* ولا تزيد عن 3 و 21 % في حالة المعاملة بالـ NAC على التوالي.



شكل (39) الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للـ *Warionia sp* على مؤشرات الإجهاد التأكسدي (CAT و SOD) بكلية الجرذان المعاملة بالبراسيتامول القيم معبر عنها بالمتوسط $\pm$ الانحراف المعياري، n=6 ، $*P<0.05$ ، $**P<0.01$ ، a: مقارنة بالشاهد و b: مقارنة بالمستخلص.

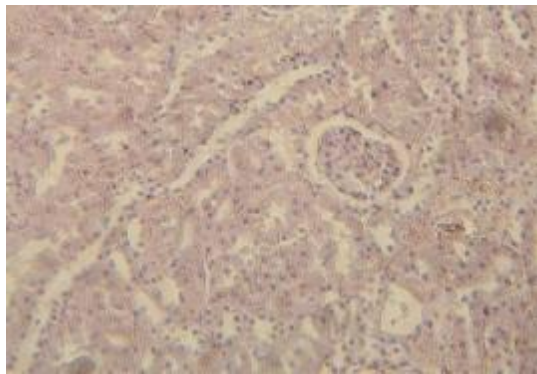
جدول (7) الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي للـ *Warionia sp* على مؤشرات الإجهاد التأكسدي بكلية الجرذان المعاملة بالبراسيتامول

المعاملة	<i>Warionia sp</i> (%)	NAC (%)
TBARS	80,69	27,41
GSH	72,58	16,13
GPx	86,36	24,24
GST	57,63	28,81
CAT	70,37	3 ;70
SOD	62,81	21,73

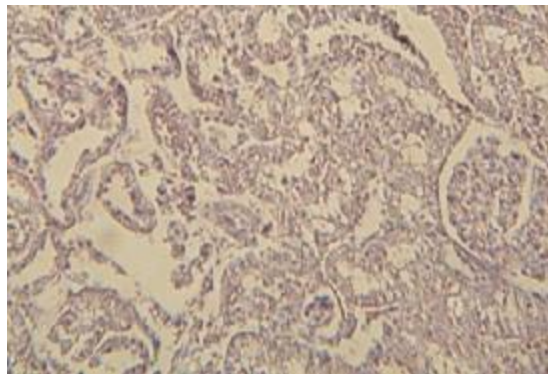
3.2.4 الدراسات النسيجية

يبدى النسيج الكلوي في الشواهد هيئة نسيجية بنوية عادية من خلال الحفاظ على البنى الهندسية للكبد و الأنابيب الملتوية القريبة و البعيدة ، بينما تظهر المقاطع النسيجية لكلية الجرذان المعاملة بالبراسيتامول اتلافا كببيا حادا يميزه تمزق جزئي لمحفظة بومان مصحوبا بنكرزة أنيبيبية على مستوى الأنبوب الملتوي القريب و الملتوي البعيد و امتلاء للمع الأنبوبية بالفضلات الخلوية مع تمدد ونكرزة أنبوبية .

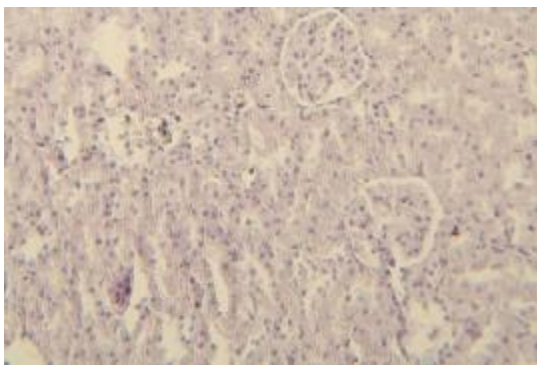
على خلاف مجموعة البراسيتامول تبدي المقاطع النسيجية لكلية المجاميع الموقاة بالمستخلص البيتانولي ، مظهرا عاما متماثلا إلى حد ما نقل به كثيرا الاختلالات السابقة ولم يسجل هذا بالنسبة للمعاملة بالـNAC شكل (40) .



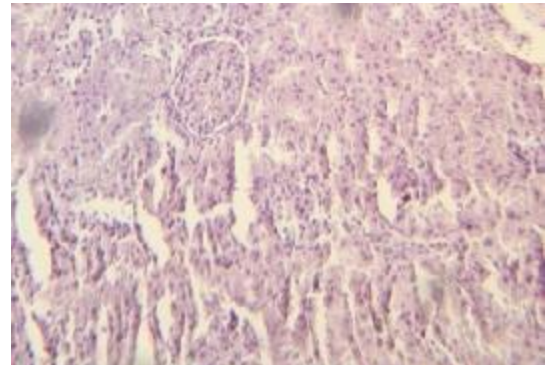
A



B



C



D

شكل (40) ميكروغراف القطع الكلوية بالجرذان المعاملة بالبراسيتامول (750 mg / Kg) و الدور الوقائي لنبات الـ *Warionia* (هيماتوكسيلين + أيزين) OM 100 x

الشاهد : بنى كبيبية وأنيبية عادية بالبرنشيم الكلوي

A

المعاملة بالبراسيتامول (750 mg / Kg) : تلف وانتفاخ أنيبى و انسداد لمعي ونكرزة

B

المعاملة بالبراسيتامول + المستخلص البيتانولي للـ *Warionia* انخفاض مستويات التلف الكبيبي و الأنيبى

C

المعاملة بالبراسيتامول (750 mg / Kg) + NAC : عدم تراجع النكرزة

D

5 - المناقشة

5. المناقشة :

ينجم القصور الكلوي لدى 1-2 % من المرضى الذين يتعاطون جرعات مفرطة من الـ APAP و قد يعود مرد ذلك إلى سمية الـ APAP إثر استقلابه عبر النظام المؤكسد للمأكبات CYP450 الموجودة بالكلية (Blakely and McDonald,1995) ، لتصبح 10-40 % بسمية كبدية و نكرزة (McJunkin *et al.*, 1976)، فاستقلاب الـ APAP يحدث على مستوى الكبد لي طرح 1% منها فقط في صورة غير متغيرة عبر البولة عند التعاطي للجرعة العلاجية و يستقلب حوالي 63 % عبر المسار glucuronidation و عبر مسار sulfation، و ينجم عن الطور 1 من التفاعلات بالكبد مركبات و مستقلبات لها القابلية الذوبانية بالماء لتطرح عبر الكلية ، و تتم أكسدة أقل من 5 % عبر النظام الميكروزمي P450 إلى وسائط استقلابية نشطة N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) ، و تختزل بالجرعة العلاجية هذه المستقلبات النشطة بواسطة الـ GSH لتطرح لاحقا في صورة acide mercapturique و هو مركب أولي محمود العواقب (Ghosh and Sil, 2009). إلا أن بالجرعات العالية من الـ APAP تستنفذ مخازن sulfate و الجلوتاثيون ، ليولد مزيدا من NAPQI و هو المستقلب الإلكتروليفي النشط ليستنفذ بدوره الـ GSH و يحدث الإستقلاب التراكمي لتوليد الأنواع الأكسجينية النشطة كـ $O_2^{\cdot-}$ و H_2O_2 و الـ $OH^{\cdot}$ و يبدو أن إنتاج الـ ROS يكون مبكرا بالنسبة لإستنفاد و ربط للهيكل الجلوتاثيوني و الكبريتي و البروتين الخلوي (Latchoumycandane *et al.*, 2007). فيخل هذا بهيموستازيا الخلية و تنشيط لاحق للـ caspase و الإنزيمات الليزوزومية مؤديا إلى حالات الموت المبرمج و إلى الموت النسيجي و نكرزتها (Matthews *et al.*, 1996). و لقد تم اقتراح نفس الآلية في إحداث السمية الكلوية (Somani *et al.*, 2000). و بالرغم من أن آليات السمية الكبدية باتت جلية إلا أن مراحل و آليات السمية الكلوية لا زال يكتشفها كثيرا من الغموض ، فرغم أن النظام الميكروزمي يوجد بكل من الكبد و الكلى على حد سواء إلا أن تدخله يتوقف على نوع العضو و الشروط المنشطة لهذا النظام ، كالنظام الغذائي و التداخل الدوائي و الاختلافات الفردية أو النماذج الحيوانية (Isik *et al.*, 2006). و أدلت دراسات أخرى بالنماذج البشرية أن السمية الكلوية بالـ APAP قد تكون مستقلة عن السمية الكبدية (Mour *et al.*, 2005).

تظهر نتائج هذه الدراسة بأن السمية النفرونية بالـ APAP قد صعدت مستويات الكرياتينين و اليوريا بالدم بمعدل 2 إلى 4 أضعاف و لقد أدلت الدراسات المرجعية بأن السمية الحادة للـ APAP عند نفس الجرعة 750 ملغ/كغ تظهر مبكرا بعد 4 ساعات من التعاطي (Abraham, 2005)، و يجسد ذلك بارتفاع معدلات اليوريا التي غالبا ما تعكس التلف الكببي و الأنوبي (Lorz *et al.*, 2004) و رجح أن هذا قد يعود أيضا إلى الإصابة الكبدية (Blantz, 1996) و تظهر نتائج الدراسة الحالية أن التزود بالجرعة من المستخلص البيتانولي 300 ملغ/كغ من Warionia قد جعل قيم هذه المؤشرات تتراجع بنسبة قدرت بـ (50-82 %). إن تعاطي الجرذان للجرعة المنفردة 750 ملغ/كغ نجم عنه رفع معدلات الـ MDA بمعدل 80 % مما يعرب عن حدوث حالة إجهاد تأكسدي بالكلية . و في وجود معدن الحديد يتفاعل الـ H_2O_2 مع $O_2^{\cdot-}$ لإعطاء الجذر $OH^{\cdot}$. ينتشر الـ $O_2^{\cdot-}$ بيسر عبر الأغشية خاصة في غياب الـ SOD (Abraham, 2005) لتستهدف الفوسفوليبيدات و هذه

الفاعليات البيروكسيدية تقوم بالإتلاف الغشائي للخلايا إثر إستنفاد الثيولات البروتينية (Boutis and Shannon, 2001). وتؤكد نتائج إنخفاض معدلات الـ LDH النسيجي هذا المفهوم حيث يعتبر أحد مؤشرات السمية الخلوية و الذي يؤكد التلف الغشائي لخلايا الأنبوب الملثوي القريب. تظهر نتائج الدراسة الحالية أن معدلات الـ GSH قد استنفذت بشكل ملحوظ لدى الجرذان المعاملة بالـ 750 ملغ/كغ من البراسيتامول في شكل جرعة منفردة . ومن المعلوم أن الـ GSH الداخل خلوي يلعب دورا معتبرا في إزالة سمية الـ APAP (Ahmed et al., 2007). فاستنفاد الـ GSH أحد أهم عوامل حدوث الأكسدة الليدية و قد أعتبر إرتفاع معدلات APAP-GSH كأحد الآليات الخاصة بالسمية الكلوية و الذي قد يحدث حتى في غياب السمية الكبدية (Kher and Makker, 1987).

تشير دراسات (Bolton et al., 2000) أن الـ GSH الذي يتدخل كمبطل لسمية الـ APAP قد يكون بدوره مسببا للسمية النفرونية من خلال تراكم مقترناته (المستنفذة أولا للـ GSH) و منها الـ quinones و haloalkens (Bolton et al., 2000). إن استنفاد الـ GSH المتيوكوندرية بواسطة الـ NAPQI له تأثير كبير على توليد الـ ROS بالميتوكوندرية (Han et al., 2003). فقد لوحظ ارتفاع في إنتاج الـ H_2O_2 الميتوكوندرية لدى الميتوكوندرية المعزولة ساعة بعد معاملتها بالـ APAP (Hanawa et al., 2008). و ارتفاع الـ ROS قد يكون نتيجة مباشرة لفقد الـ GSH و الذي يسمح بذلك للـ NAPQI بإتلاف سلسلة النقل الالكتروني مما يزيد في إنتاج توليد الـ ROS (Han et al., 2003).

إن سمية الـ APAP النفرونية 750 ملغ/كغ يعكسها أيضا الإجهاد التأكسدي، إضافة إلى الأكسدة الليدية و إستنفاد الـ GSH هناك تراجع في مستويات نشاط الـ SOD و CAT و GST كأهم إنزيمات الدفاع المستبعدة للـ ROS ، حيث قد يعود نزول مستويات نشاط الـ SOD بالجرذان المعاملة بالـ APAP للإنتاج المفرط للـ $O_2^{\cdot-}$ (Yamanaka et al., 1991). ويتدخل كل من الـ GPx و GST المستعملة للـ GSH بغرض التخلص من الجذور الحرة المولدة إثر هذه السمية (Lorz et al., 2004) يتدخل الـ GSH باليتين لمنع التأكسد عن طريق التفاعل الفوري مع الـ ROS وبشكل متزامن مع الـ GPx، لا يلبث الـ GSSG المنتج داخل خلويا من أن يختزل في وجود الـ GR أو يحرر خارج خلويا ليعتبر تراكما للـ GSSG عاملا محددا لمدى التحسس الخلوي للإجهاد التأكسدي. كما يتواجد كل من الـ GSH والـ GSSG خارج خلويا بكميات محدودة، ويساهم الجلوتاثيون الخارج خلوي بدوره في إزالة السمية وتعزيز الفعل المضاد للأكسدة، ويقل تركيزه عن تركيز الداخل خلوي بمقدار 100 إلى 1000 مرة. تحتفظ النواة بالـ GSH مستقلا عن السيتوزول وهذا لتأمين البروتينات الكبريتية الضرورية للـ ADN والتعبير الجيني (Arriago, 1999). لقد تم إقتراح آلية أخرى للسمية النفرونية بالـ APAP ترتبط بـ Prostaglandin endoperoxide synthase (PGES) ، إلا أن أثرها يكون أكثر تعبيراً بحالات السمية المزمنة منها عن الحادة (Bessemis and Vermeulen, 2001)، و مهما اختلفت المسارات الإستقلابية فإن إنتاج المستقبلات النشطة السامة يبقى عاملا مشتركا حيث ينتهي تشكل الروابط التساهمية مع البروتينات الخلوية بعطب و نكرزة نفرونية (Blakely and McDonald, 1995).

لقد اعتمد تدخل أنزيم *N-deacetylase* أيضا كأحد آليات السمية النفرونية حيث أنه يعمل على إزالة أسئلة الـ APAP أو NAPQI لإعطاء *p-aminophenol* و الذي بدوره يتحول إلى جذر حر بإمكانه الارتباط مع البروتينات الخلوية و قد يتم هذا بالتلازم مع النظام الأنزيمي CYP450 (Mazer and Perrone, 2008).

تظهر الدراسات النسيجية بالفحص المجهرى بالقسم القشري لكلى الجرذان المعاملة بالبراسيتامول 750ملغ/كلغ تغيرات على المستوى الأنبوبي خاصة الأنبوب القريب حالة نكرزة للخلايا الطلائية ، بينما تظهر الكبيبات عادية إلا أنه يلاحظ إتلاف على مستوى الأغشية القاعدية و مصحوبة بتجوف و تحلل. و قد فسر ذلك بأن النكرزة قد يكون مردها السمية المباشرة على الجدار الوعائي (Björck et al, 1988) و المواد التي تنتشر باللمعة قد تعود إلى دنثرة المواد الناجمة عن سمية البراسيتامول أو مستقبلاته أو الكالسيوم الداخل خلوي (Kleinman et al, 1980)، كما تظهر الدراسة النسيجية الحالية انتفاخا أنيبيا و تحللا بالأنبوب البعيد ، قليلة هي المعطيات حول مسارات نقل الإشارة المرتبطة بسمية الـ APAP على المستوى الكلوي ، حيث أن العديد من مسارات نقل إشارات الموت المبرمج و المساهمة في تحرر البروتينات عبر الغشاء الميتوكوندري المخرب مثل السييتوكروم C الذي يرتبط عادة بفضاء الغشاء الميتوكوندري الداخلي. ليحرض هذا السييتوكروم المجموع apoptosome و يبدو أن النظام الأنزيمي CYP450 النفروني يكون أقل كفاءة في إزالة سمية البراسيتامول و بالتالي يكون الـ GSH أكثر قابلية للإستفاد مما هو عليه بالكبد و تتلف لاحقا الخلايا النفرونية في صورة نكرزة أنيبية حادة. ولقد أظهرت دراسات سابقة أن بعض من مضادات الأكسدة كالفيتامين C و الـ Punicalin ، Punicalogen ، Melatonin و الفيتامين E بإمكانها إزالة سمية الـ APAP (Özlem et al, 2009). إن الـ NAC الذي يعتبر طليعة إكلينيكية. والذي قد اعتمد بالدراسة الحالية كمضاد أكسدة مرجعي ، علما بأنه سبقت الإشارة إلى اعتماده كـ antidot بالنسبة للسمية الكبدية المستحدثة بالبراسيتامول بالجرذان و كذا يتم تزويد به المرضى إكلينيكي (Sener, et al., 2000)، إلا أن نتائج الدراسة الحالية أظهرت بأن NAC لم يتمكن من مجابهة سمية البراسيتامول على مستوى الكلى حيث أنه لم يخفض معدلات اليوريا و لا الكرياتينين المرتفعة بالبلازما تحت أثر البراسيتامول مما يعني أنه لم يحافظ على الوظائف الكلوية ، كما أنه لم يبد أي تدخل في صيانة النظام المضاد للأكسدة سواء منه النظام الجلوتاثيوني و النظام الخاص SOD و CAT و لم يخفض معدلات الـ MDA و بالتالي لم يقلل من تسرب الـ LDH الخلوي ولم يحسن من بنى البرنشيم الكلوي، وبالرجوع إلى الدراسات المرجعية يظهر بأن الـ NAC اعتمد كثيرا في علاج و الوقاية من آثار سمية الباراسيتامول بالنسبة للكبد (Flanagan and Meredith, 1998) ، إلا أن هذا لم يسجل على مستوى الإصابات الكلوية الناجمة عن سمية البراسيتامول (Mour et al, 2005) كما يمكن تفسير عدم استجابة الكلية للدور الوقائي للـ NAC من السمية بالبراسيتامول إلى كون الكبد كفيلا بتصنيع الجلوتاثيون من طلائعه إذ يعتبر أحد مصانع الـ GSH (Uyemura et al, 1997) على حين تعجز الكلية عن تصنيعه إنطلاقا من الطلائع و تكفي بأن تمول من طرف البلازما (Trumper et al, 1998).

إن أحد أهم الأهداف المستوحاة من هذه الدراسات هي البحث عن بدائل وقائية أو علاجية و قد اتجه هذا البحث إلى اختبار فعالية المستخلص البيتانولي لـ *Warionia sp* في مواجهة السمية الكلوية بالبراسيتامول كبديل طبيعي. لقد اعتمدت هذه الدراسة على المستخلص البيتانولي للنبذة *Warionia sp* التي تستعمل كتابل

غذائي ولكونها كثيرة الاستعمال في الإستطباب الشعبي بمنطقة بشار وقد أدلت الدراسات المرجعية بدورها المضاد للالتهاب (Ramaut, et al., 1985) مما حد بنا إلى تجربتها لأول مرة في هذه الدراسة ، كما أثبتت الدراسات المرجعية أيضا غنى هذه النبتة و خاصة طورها البيتانولي بعديدات الفينول مما قد يؤهلها للدور المزيل لسمية البراسيتامول النفرونية و الذي عكسته نتائج هذه الدراسة و المتمثل في تراجع معنوي لقيم الكرياتينين و اليوريا و الـ MDA مما ينبئ بأن هذا المستخلص قد حافظ على سلامة الكبد و الأنابيب النفرونية بنية و وظيفة ، كما أن تحفيز النظام الجلوتاتيوني الذي يعكسه ارتفاع قيم كل من GPx ، GST، يوحي بأن هذا المستخلص قد تمكن من أسر الجذور الحرة و الأنواع الأكسجينية النشطة التي تستنفذ هذه الأنظمة ، أو تمكن من مخلبة معدنية لعدم سماح بتفاعلها مع هذه الجذور و إبطال توليد أخطر الجذور (OH°) . كما أن تراجع قيم الـ LDH تعكس أيضا سلامة الغشاء للخلايا الأنابيب القريبة و هذا يتفق مع قلة مستويات LPO بالقشرة النفرونية .

فنتائج هذه الدراسة تظهر بأنّ المعاملة المسقبة للجرذان بجرعة 300 mg/kg من المستخلص البيتانولي لأوراق وأزهار نبات الـ *Warionia sp* الـ للجرذان التي سممت بجرعة منفردة من APAP قد تعزز بها كثيرا النظام المضاد للأكسدة حيث تراجع اختزال النظام الجلوتاتيوني، لقد مكن المستخلص البيتانولي من مجابهة الجذور المولدة إثر سمية الـ APAP . ولعل هذا مرده الفعل الأسر جذري أو المخلب للمعادن منة طرف المركبات الفينولية التي يتضمنها المستخلص البيتانولي أو بدعم النظام المضاد للأكسدة و المتلف للجذور النشطة. إنّ الخواص الفرماكولوجية لهذه النبتة تدلي وفقا للدراسات المرجعية بأنها مضادة للالتهاب (Hilmi, et al., 2003) مما قد يرشحها لمجابهة الالتهاب النفروني وقد اثبت غناها بالفلافونيدات حيث أدلت دراسات كيميائية مدى غناها بمشتقات الكرستين وتدلي الدراسة الحالية أنّ الخريطة الفلافونيدية للطور البيتانولي تفصح عن وجود الفلافونيدات بتركيز عالية و أحماض فينولية ويرشح منها فلافونات هيدروكسيلية وجليكوزيلية. إنّ الوظيفة المعززة للنظام الجلوتاتيوني والأنزيمات المضادة للأكسدة وأسر الجذور الحرة وتحريض آليات الأقلمة مع الاجهاد التأكسدي مرده وجود هذه الفلافونيدات وكذا بناها ومستبدلاتها حيث أنّ ortho-dihydroxy بالحلقة B يؤمن الحركية الالكترونية ، كما أنّ الرابطة المضاعفة C₂-C₃ المقترنة مع الوظيفة 4-oxo وكذا تواجد 3-OH متضافرا مع الرابطة المضاعفة C₂-C₃ تعزز النظام المضاد للأكسدة للنفروسيت مما يرشح هذه النبتة كبديل وقائي عن الـ NAC الذي أفلس دوره الوقائي على مستوى الكلية

6 - الخلاصة

6. الخلاصة :

أجريت هذه الدراسة بغرض اختبار الفعل الوقائي لنبات الـ *Warionia sp* من الالتهاب الكلوي المحرض بالبراسيتامول لدى الجرذان اعتمادا على ترشيح المستخلص البيتانولي بناء على مدى غناه بالفلافونيدات التي أكدها الفحص التمهيدي الذي عكسته الخريطة الفلافونيدية واختبار فعله الوقائي على مؤشرات كل من السمية الكلوية و الإجهاد التأكسدي و إظهار ذلك بالدراسات النسيجية.

واختيرت لهذه الدراسة جرذان ذكور *Albino wistar*. وزعت إلى 04 مجموعات بمعدل ستة (6) جرذان عوملت الأولى بالمحلول الفيزيولوجي (0.9 NaCL %) يوميا لمدة تسعة أيام وباليوم العاشر تزود بجرعة منفردة من البراسيتامول عبر المجرى الفموي (750 mg/Kg) والثانية بالـ N-acetyl cystéine (NAC) بجرعة 200 mg/Kg يوميا لمدة عشرة أيام و الثالثة المجموعة الموقاة بمستخلص بيتانولي لنبات *Warionia sp* بجرعة 300 mg/Kg يوميا لمدة عشرة أيام. وفي اليوم العاشر وبعد ثلاث ساعات من أخذ الجرعة من المعاملات المختلفة تتم معاملة مجموعتي المستخلص و الـ NAC بجرعة منفردة من البراسيتامول (750 mg/Kg). وقد شملت معايرة مؤشرات السمية الكلوية كل من معدلات الـ Créatinine، الـ urée، حمض اليوريك، أما مؤشرات الإجهاد التأكسدي فقد تناولت قياس كل من الـ TBARS والنظام الجلوتاتينيوني الذي شمل كل من الجلوتاتيون المختزل الـ GSH و نشاط الـ GPx الـ GST وكذا نشاط إنزيمات الإجهاد التأكسدي المتمثل في كل من الـ catalase (CAT) و الـ SOD Superoxid Dismutase). كما وفرت المعاملة المسبقة بالمستخلص البيتانولي دورا وقائيا ضد السمية بالـ APAP تتمثل في تراجع ارتفاع مؤشرات الوظيفة الكلوية بالدم. بالنسبة للمعاملة بالـ *Warionia sp* مقارنة بالـ NAC الذي لم يستجب لهذا الفعل. إن الجرذان المعاملة بالبراسيتامول قد تولد بها الـ TBARS بشكل معنوي وقد أظهرت المعاملة المسبقة بالمستخلص البيتانولي لنبات *Warionia sp* دورا وقائيا ضد السمية بالـ APAP تتمثل في تراجع هذه الأكسدة اللييدية. وقد أحدثت معاملة الجرذان بالبراسيتامول خلافا بكافة أنظمة الدفاع المانعة للأكسدة حيث اختل النظام الجلوتاتينيوني الـ GSH و GPx نقصا بينما سجلت زيادة معتبرة في نشاط الـ GST وقد أدت المعاملة المسبقة بالمستخلص البيتانولي ضد السمية بالـ APAP إلى الاحتفاظ بنشاط النظام الجلوتاتينيوني بالنسبة لكل الـ GSH و GPx بالنسبة للمستخلص البيتانولي وبالـ NAC في حالة الـ GST. و قد سجلت استجابة معتبرة بالإنزيمات المانعة للأكسدة والتي انخفض نشاطها بشكل معنوي بكلية الجرذان المعاملة بالبراسيتامول حيث تم الاحتفاظ بهذا النشاط بكل من الـ CAT و الـ SOD في حالة المعاملة بالمستخلص البيتانولي ولم يعبر بنفس الإستجابة بالنسبة للمعاملة بالـ NAC. وعلى خلاف مجموعة البراسيتامول تبدي المقاطع النسيجية للكلية للمجموعة المعاملة بالمستخلص مظهرا عاما متماثلا إلى حد ما، من خلال حفظ الهيئة الهندسية للنسيج النفروني مغايرة لما حدث من تلف و نكرزة على مستوى الأنبوب الملثوي القريب و البعيد بتلك الملاحظة لدى مقاطع البراسيتامول.

يظهر أن نسيج المجموعة المعاملة بالـ NAC لم تغب بها الاختلالات المسجلة بالبراسيتامول.

ونلخص من هذه الدراسة أن نبات الـ *Warionia sp* الذي أبدى فعلا واقيا تمثل في صيانة النظام المانع للاكسدة قد يكون مرده إلى غناه بالفلافونيدات الأجليكونية و الهيدروكسيلية و الايتيروزيدية كما أظهرت الدراسات الكيميائية التمهيدية و كذا الدراسات المرجعية ذلك مما يرشحها كبديل فعلي للـ NAC.

7. الآفاق

إن الدور الوقائي الواعد للنبتة يفتح أفقا تتمثل فيما يلي :

- البحث عن الجزيئات الفعالة للـ *Warionia sp*
- علاقة هذه الجزيئات بآلية السمية النفرونية بالـ APAP

7. الملخص

Abstract

Natural antioxidants like flavonoids, are at present considered to be beneficial compounds from fruit and vegetal. *Warionia sp.* (Asteraceae) used as nutriment spice in the province Bechar, was reported as an anti-inflammatory drug. The potential protective role of *n*-butanolic extract of *Warionia sp* in acetaminophen (APAP) induced nephrotoxicity was investigated in rats. Pretreatment of rats with *n*-butanolic extract of *Warionia sp* (300 mg/Kg orally) protected markedly against nephrotoxicity induced an acute single dose of APAP (750 mg/Kg orally) as assessed by biochemical measurements. Pretreatment with *n*-butanolic extract restored blood urea nitrogen and serum creatinine levels that were elevated by acetaminophen. *n*-butanolic extract also compensated deficits the antioxidant defense mechanisms (GSH, GPx, GST, SOD, CAT) and suppressed lipid peroxidation in renal tissue and prevented the tubular necrosis and the inflammatory changes. Results suggest that *Warionia sp* might be a potential nephroprotective candidate against APAP-induced acute nephrotoxicity.

Key words: Acetaminophen, nephrotoxicity, oxidative stress, *Warionia sp*.

Résumé

Warionia sp (Asteraceae), plante saharienne utilisée comme épice à l'Ouest algérien, est dotée de certaines propriétés pharmacologiques; ainsi, dans ce travail, nous nous sommes intéressés à élucider le mécanisme protecteur de l'extrait butanolique de *Warionia sp* vis-à-vis de la néphrotoxicité induite par l'acétaminophène (APAP) chez le rat *Albino wistar*. L'acétaminophène médicament analgésique, peut provoquer une toxicité hépatique et néphrotique chez les patients subissant un traitement chronique ou prenant des doses abusives. La néphrotoxicité provoquée par l'APAP a été évaluée en dosant les marqueurs de la fonction rénale, la concentration de la malondialdéhyde (MDA) ainsi que le système antioxydant (GSH, GPx, GST, SOD, CAT). L'administration préalable de 10 jours de l'extrait butanolique de *Warionia sp* chez les rats traités par l'APAP (750 mg /Kg) a maintenu les taux des marqueurs de la fonction rénale et a diminué les TBARS. L'extrait butanolique a permis la préservation du système glutathione (GSH, GPx, GST) ainsi que l'activité des enzymes antioxydants CAT, SOD. L'étude histologique appuyant cette étude a montré que les néphrocytes ont gardé l'aspect des traits fondamentaux, et a marqué la disparition presque totale de l'infiltration des PN et l'absence de la nécrose tubulaire.

Mots clés : Acétaminophen, nephrotoxicity, oxidative stress, *Warionia sp*.

8 - المراجع

8. المراجع

- Abdel-Zaher A.O., Abdel-Rahman M.M., Hafez M.M., Omran F.O. (2007).** Role of nitric oxide and reduced glutathione in the protective effects of aminoguanidine, gadolinium chloride and oleanolic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage. *Toxicology* 234 : 124–134.
- Abraham P.(2005).** Oxidative stress in paracetamol-induced pathogenesis : (I) Renal damage. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics* 42 :59-62.
- Adeneye A.A., Olagunju J.A., Benebo A.S., Elias S.O., Adisa A.O., Idowu B.O., Oyediji M.O., Isiye E.O., Braimoh O.B., Oladejo O.O., Alana E.O.(2008).** Nephroprotective effects of the aqueous root extract of *Harungana madagascariensis* (L.) in acute and repeated dose acetaminophen renal injured rats. *International Journal of Applied Research in Natural Products* 1: 6–14.
- Aebi H. (1984).** Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121–126.
- Ahmed O., Abdel-Zaher ., Mahmoud M. Abdel-Rahman., Moumen M., Hafez ., Faten M., Omran.(2007).** Role of nitric oxide and reduced glutathione in the protective effects of aminoguanidine, gadolinium chloride and oleanolic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage. *Toxicology* 234: 124–134
- Al Shohaib S., Satti M.S., Abunijem Z. (1996).** Acute interstitial nephritis due to cefotaxime. *Nephron* 73:725.
- Albano E., Rundgren M., Harvison P.J., Nelson S.D. and Moldeus P. (1985).** Mechanisms of *N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine cytotoxicity. *Molecular Pharmacology* 28:306–311.
- Alexandridis G., Liberopoulos E., Elisaf M.(2003).** Aminoglycoside-induced reversible tubular dysfunction. *Pharmacology* 67: 118—20.
- Alin P., Danielson U.H., Mannervik B.(1985).** 4-Hydroxy-2-enals are substrates for glutathione *S*-transferase. *FEBS Lett* 179:267-270
- Alluis B. (2000).** Modifications chimiques de flavonoïdes, étude de leurs pouvoirs complexant (protéines, métaux, pigments) et antioxydants. Université Claude Bernard Lyon I, Lyon.
- Andrade L., Reboucas N.A., Seguro A.C. (2004).** Down-regulation of Na⁺ transporters and AQP2 is responsible for acyclovir-induced polyuria and hypophosphatemia. *Kidney Int* 65:175-83.
- Appelboam A.V., Dargan P.I., Knighton J.(2002).** Fatal anaphylactoid reaction to N-acetylcysteine: caution in patients with asthma. *Emerg. Med. J* 19: 594–595.
- Arriago A. P. (1999).** Gene expression and thiol redox state. *Free. Radic. Biol. Med* 27: 936 – 944.
- Aruoma O.I., Halliwell B., Hoey B.M., Butler I. (1989)** The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide and hypochlorous acid. *Free radical Biology and Medicine* 6:593-597.
- Aujard.4., Autret.E., Lenoir.G.(1992).** Pharmacologie et Thérapeutique Pédiatrique. Flammarion. France. P.177-178:451-452.
- Aurousseau B. (2002).** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod Anim.* 15(1): 67-82.
- Baciewicz A.M., Sokos D.R., Cowan R.I. (2003).** Aminoglycoside-associated nephrotoxicity in the elderly. *Ann Pharmacother* 37:182-6.
- Bagshaw S.M. (2006).** The long-term outcome after acute renal failure. *Curr Opin Crit Care* 12:561-6
- Baker R.J., Pusey C.D.(2004)** .The changing profile of acute tubulointerstitial nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 19:8-11.
- Bannwarth B.,(2003).** Pehourcq F «Bases pharmacologiques de l'emploi du paracétamol :Aspects Pharmacocinétiques et Pharmacodynamiques»
- Bartolone J.B., Beierschmitt W.P., Birge R.B., Hart S.G., Wyand S., Cohen S.D. and Khairallah E.A. (1989).** Selective acetaminophen metabolite binding to hepatic and extrahepatic proteins: An *in vivo* and *in vitro* analysis. *Toxicology & Applied Pharmacology* 99:240– 249.
- Barza M., Ioannidis J.P., Cappelleri J.C., Lau J. (1996).** Single or multiple daily doses of aminoglycosides: a meta-analysis. *BMJ* 312:338-45.
- Bean B., Aeppli D. (1985).** Adverse effects of high-dose intravenous acyclovir in ambulatory patients with acute herpes zoster. *J Infect Dis* 151: 362-5.
- Beauchamp C., Fridovich, I., (1971).** Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44: 276–287.
- Berner G., Engels B., Vogtle-Junkert U. (1989).** Percutaneous ibuprofen therapy with Trauma-Dolgit gel: bioequivalence studies. *Drugs Exp Clin Res* 15:559-64.

- Bessem J.G., Vermeulen N.P.(2001).** Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanism, analogues, and protective approaches. *Crit. Rev. Toxicol* 31 : 55–138.
- Bessem J.G., Vermeulen N.P.(2001).** Paracetamol (acetaminophen)- induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues, and protective approaches. *Rev Toxicol* 31:55–138.
- Björck S., Svalander C.T., Aurell M. (1988).** Acute renal failure after analgesic drugs including paracetamol (acetaminophen). *Nephron* 49:45–53
- Blakely P., McDonald B.R. (1995).** Acute renal failure due to acetaminophen ingestion: a case report and review of the literature. *J Am Soc Nephrol* 6(1):48-53.
- Blantz R.C. (1996)** .Acetaminophen: acute and chronic effects on renal function. *American Journal of Kidney Diseases* 28:S3–6.
- Bolton J.L., Trush M.A., Penning T.M., Dryhurst G., Monks T.J.(2000).** Role of quinones in toxicology. *Chem. Res. Toxicol* 13 : 135–160.
- Bonnefont J.,Courade J.-P.,AllaouiA.,Eschalié A .(2003).** Mécanismes de l'action antinociceptive du paracétamol .*Drugs* 63, N°Spécial 2 :1-4.
- Bonsib S. (2007).** Renal anatomy and histology of the kidney. Philadelphia, Lipincott, Williams & Wilkins.
- Boulares H.A., Zoltoski A.J., Stoica B.A., Cuvillier O., Smulson M.E.(2002).**Acetaminophen induces a caspase-dependant and Bcl-xL sensitive apoptosis in human hepatoma cells and lymphocytes. *Pharmacol. Toxicol* 90 : 38–50.
- Boutis K., Shannon M. (2001).** Nephrotoxicity after acute severe acetaminophen poisoning in adolescents. *Clin Toxicol* 39:41–445.
- Boveris A., Chance B. (1973).** The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J* 134(3):707-16.
- Boveris A., Oshino N., Chance B. (1972).** The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem J* 128(3):617-30.
- Briançon S. K. M. (2007).** Qualité de vie et maladies rénales chroniques.*Dis* 39:930-6.
- Brigélius-Flohé R.(1999).** Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med* 27(9-10):951-65.
- Brik R., Magen D., Ben-Yzhak O., Grin J. (1998).** Isoniazid-induced crescentic glomerulonephritis in a child with a positive tuberculin skin test. *Am J Nephrol* 18:430-2.
- Bronner W.E., Beecher G.R. (1995).** Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates. *J. Chromatogr. A.* 705 : 247–256.
- Burcham P.C., Harman A.W. (1991).** Acetaminophen toxicity results in site-specific mitochondrial damage in isolated mouse hepatocytes. *J Biol Chem* 266(8):5049–5054
- Burda S., Oleszek W. (2001).** Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J Agric Food Chem* 49 (6) : 2774-2779.
- Cadenas E., Boveris A., Ragan C.I., Stoppani A.O.(1977).**Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from beef-heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 180(2):248-57.
- Cadenas E., Davies K.J. (2000).** Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic. Biol. Med* 29(3-4):222-30.
- Cao G., Sofic, E., Prior R. L. (1997).** Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships. *Free Radical Biology and Medicine* 22 (5) : 749-760.
- Chandrasekharan N.V.,Turepu Ross L.K.,EvansonN.K.,Tomsik J.,EltonT.S.,Simmons D.L. (2002).** Cox-3, a Cyclooxygenase-1variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs : cloning , structure, and expression. *Proc natl acad s ci (usa)* 99:13926-31.
- Chang L.Y., Slot J.W., Geuze H.J., Crapo J.D.(1988).** Molecular immunocytochemistry of the CuZn superoxide dismutase in rat hepatocytes. *J Cell Biol* 107(6 Pt 1):2169-79.
- Chen K., Plumb G.M., Bennett R.N., Bao Y. (2005).** Antioxidant activities of extracts from five anti-viral medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 96(1-2) 201-205.
- Chu F.F., Esworthy R.S., Lee L., Wilczynski S. (1999).** Retinoic acid induces Gpx2 gene expression in MCF-7 human breast cancer cells. *J Nutr* 129(10):1846- 54.
- Church S.L., Grant J.W., Ridnour L.A., Oberley L.W., Swanson P.E., Meltzer P.S., Trent J.M. (1993).** Increased manganese superoxide dismutase expression suppresses the malignant phenotype of human melanoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 90(7):3113-7.
- Cihlar T., Lin D.C., Pritchard J.B., Fuller M.D., Mendel D.B., Sweet D.H. (1999).** The antiviral nucleotide analogs cidofovir and adefovir are novel substrates for human and rat renal organic anion transporter1. *Mol Pharmacol* 56:570—80.
- Cody V., Mideleton E., Haeborne J.B. (1986).** Plant flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological and Structure Activity Relationships. ALAN, R. LISS, New York.

- Cook N., Samman, S. (1996).** Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutritional Biochemistry* 7: 66-76.
- Crapo J.D., Oury T., Rabouille C., Slot J.W., Chang L.Y. (1992).** Copper,zinc superoxide dismutase is primarily a cytosolic protein in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 89(21):10405-9.
- Dahlin D.C., Miwa G.T., Lu A.Y., Nelson S.D. (1984).** N-acetyl-p-benzoquinone imine: a cytochrome P450 mediated oxidation product of acetaminophen. *Proc Natl Acad Sci USA* 81(5):1327-1331
- Danel V. (2004)** .Intoxication aiguë par le paracétamol . In : Carli P. Protocoles - Urgences, plans et schémas thérapeutiques. Editions Scientifiques L 193-195
- Das J., Ghosh G., Manna P., Parames C., Sil.(2010).** Taurine protects acetaminophen-induced oxidative damage in mice kidney through APAP urinary excretion and CYP2E1 inactivation. *Toxicology* 269 : 24-34
- Dawson T.L., Gores G.J., Nieminen A.L., Herman B., Lemasters J.J. (1993)** .Mitochondria as a source of reactive oxygen species during reductive stress in rat hepatocytes. *Am J Physiol* 264(4 Pt 1):C961-7.
- Day A. J., Canada F. J., Diaz J.C., Kroon P.A., Mclauchlan R., Flauds C.B., Plumb G.W.,Mor gan M.R.A., Williamson G. (2000).** Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Lett.* 468: 166-170.
- Deray G. (2004).** Effets rénaux et cardiovasculaires des anti-inflammatoires non stéroïdiens et des coxibs. *Presse Med* 33:483-9.
- Elliot Medleton J. (1984).** The flavonoids. *Trends Pharmacol Sci* 5, 335-338.
- Ellman G.L., (1959).** Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 82: 70-77 .
- Elting L.S., Rubenstein E.B., Kurtin D., Rolston K.V., Fangtang J., Martin C.G.(1998).** Mississippi mud in the 1990 s. Risks and outcomes of vancomycin-associated toxicity in general oncology practice. *Cancer* 83:2597-607.
- Emeigh Hart S.G., Beierschmitt W.P., Bartolone J.B., Wyand D.S., Khairallah E.A. and Cohen S.D. (1991a).** Evidence against deacetylation and for cytochrome P450- mediated activation in acetaminophen-induced nephrotoxicity in the CD-1 mouse. *Toxicology & Applied Pharmacology* 107:1-15.
- Epp O., Ladenstein R., Wendel A.(1983).** The refined structure of the selenoenzyme glutathione peroxidase at 0.2-nm resolution. *Eur J Biochem* 133(1):51- 69.
- Esterbauer H., Schaur R.J., Zollner H. (1991).** Chemistry and biochemistry of 4- hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 11(1):81-128.
- Fischer V., West P.R., Nelson S.D., Harvison P.J. and Mason R.P. (1985c).** Formation of 4-aminophenoxy free radical from the acetaminophen metabolite N-acetyl- benzoquinone imine. *Journal of Biological Chemistry* 260:11446-11450.
- Flanagan R.J., Meredith T.J. (1991).** Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *Am. J. Med* 91 : 131-139.
- Floris-Moore M.A., Amodio-Groton M.I., Catalano M.T. (2003).** Adverse reactions to trimethoprim / sulfamethoxazole in AIDS. *Ann Pharmacother* 37:1810-3.
- Flower R.J.Vane J.R., Lock E.A. (1972).** Inhibition of prostaglandin Synthetase in brain explains the anti-pyretic activity of paracétamol (4-acetamidophenol).*Nature* 240:410-1.
- Fowler L.M., Moore R.B., Foster J.R. and Lock E.A. (1991).** Nephrotoxicity of 4-aminophenol glutathione conjugate. *Human & Experimental Toxicology* 10:451-459.
- Garcia-Ortiz R., Espinoza R.S., Silva G.R., Alonso R.K., Opazo H.S., Houghton D.C. (1992).** Cloxacillin-induced acute tubulo interstitial nephritis. *Ann Pharmacother* 26:1241-2.
- Geissman T. (1955).** In modern methods of plant nalysis. Vol III, K. Paech et V. Tracey P:133
- GemborysM.W.and Mudge G.H. (1981).** Formation and disposition of the minor metabolites of acetaminophen in the hamster. *Drug Metabolism & Disposition* 9:340- 351.
- Gérard-Monnier D., Chaudiere J. (1996).**Metabolism and antioxidant function of glutathionne. *Pathol Biol (Paris)* 44(1):77-85.
- Ghosh A., Sil P.C.(2009).** Protection of acetaminophen induced mitochondrial dysfunctions and hepatic necrosis via Akt-NF-kappaB pathway: role of a novel plant protein. *Chem. Biol. Interact* 177 : 96-106.
- Goetz M.B., Sayers J. (1993).**Nephrotoxicity of vancomycin and aminoglycoside therapy separately and in combination. *J Antimicrob Chemother* 32:325-34.
- Gougoux A. (1999).** La physiologie du rein et des liquides corporels.
- Griendling K.K., Sorescu D., Ushio-Fukai M. Circ Res. (2000).** NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease 86(5):494-501.
- Griffith O.W. (1999).** Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Redic - Biol. Med* 27: 922 - 935
- Grossmann A., Wendel A. (1983).** Non-reactivity of the selenoenzyme glutathione peroxidase with enzymatically hydroperoxidized phospholipids. *Eur J Biochem* 135(3):549-52.

- Halliwell B., Gutteridge J.M. (1986).** Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: Some problems and concepts. *Arch. Biochem. Biophys* 246: 501-514.
- Han D., Hanawa N., Saberi B., Kaplowitz N.(2006a).** Hydrogen peroxide and redox modulation sensitize primary mouse hepatocytes to TNF-induced apoptosis. *Free Radic Biol Med* 41(4):627-639
- Han D., Canali R., Rettori D., Kaplowitz N. (2003).**Effect of glutathione depletion on sites and topology of superoxide and hydrogen peroxide production in mitochondria. *Mol Pharmacol* 64 (5):1136-1144.
- Han D., Loukianoff S., McLaughlin L . (2010) .** Oxidative stress indices: analytical aspects and significance. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O (eds) *Handbook of oxidants and antioxidants in exercise*. Elsevier, New York, pp 43 3-484 .
- Hanawa N., Shinohara M., Saberi B., Gaarde W.A., Han D., Kaplowitz N .(2008).** Role of JNK translocation to mitochondria leading to inhibition of mitochondria bioenergetics in acetaminophen induced liver injury. *J Biol Chem* 283(20):13565–13577
- Harborne J.B., (1988).** The Flavonoids: Advances in Research Since 1980, ED.Chapman and Hall, London 589-618.
- Hayman M., Seidl E.C., Ali M., Malik K. (2003).Acute tubular necrosis associated with propylene glycol from concomitant administration of intravenous lorazepam and trimethoprim-sulfamethoxazole. *Pharmacotherapy* 23:1190-4.
- Heim K. E., Tagliaferro A. R., Bobilya D. J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13 (10) : 572-584.
- Hilmi, F., Sticher, O., Heilmann, J. (2003).**new cytotoxic sesquiterpene lactones from *Warionia saharae*. *Plant Med* 69(5): 462-464.
- Hinson J.A., Reid A.B., McCullough S.S., James L.P. (2004).** Acetaminophen-induced hepatotoxicity: role of metabolic activation, reactive oxygen/nitrogen species, and mitochondrial permeability transition. *Drug Metab Rev* 36(3-1):805-822
- Hoivik D.J., Fisher R.L., Brendel K., Gandolfi A.J., Khairallah E.A. and Cohen S.D. (1996a).** Protein arylation precedes acetaminophen toxicity in a dynamic organ slice culture of mouse kidney. *Fundamental & Applied Toxicology* 34:99–104.
- Hoivik D.J., Manautou J.E., Tveit A., Hart S.G., Khairallah E.A. and Cohen S.D. (1995).** Gender-related differences in susceptibility to acetaminophen-induced protein arylation and nephrotoxicity in the CD-1 mouse. *Toxicology & Applied Pharmacology* 130:257–271.
- Hu J.J., Lee M.J., Vapiwala M., Reuhl K., Thomas P.E. and Yang C.S. (1993).** Sex-related differences in mouse renal metabolism and toxicity of acetaminophen. *Toxicology & Applied Pharmacology* 122:16–26.
- Isik B., Bayrak R., Akcay A., Sogut S. (2006).** Erdosteine against acetaminophen induced Renal toxicity. *Molecular and Cellular Biochemistry* 287: 185–191.
- Ito Y., Abril E.R., Bethea N.W., McCuskey R.S. (2004).** Role of nitric oxide in hepatic microvascular injury elicited by acetaminophen in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 286 (1): 60-G67.
- Jaeschke H., Knight T.R., Bajt M.L.(2003).** The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicol Lett* 144(3):279–288
- Jaeschke H., Knight T.R., Bajt M.L. (2003).** The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicol Lett* 144(3):279–288
- Jallom D.J.(1973).** Acetaminophen induced hepatic necrosis *J .Pharmacol* 187-195.
- James L.P., Mayeux P.R., Hinson J.A. (2003).** Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug metab Dispos* 31(12):1499–1506
- Jefferies H., Coster J., Khalil A., Bot J., McCauley R.D., Hall J.C. (2003).** Glutathione. *ANZ J Surg* 73(7):517-22.
- Johen et monil 2. (2004).** Toxicologie traditionnelle, 2^{ème} édition ellemande de par Rebert Perraud
- Johnson P.C., Wheat L.J., Cloud G.A., Goldman M., Lancaster D., Bamberger D.M.(2002).**Safety and efficacy of liposomal amphotericin B compared with conventional amphotericin B for induction therapy of histoplasmosis in patients with AIDS. *Ann Intern Med* 137:105—9.
- Jones A.F., Vale J.A. (1993).**Paracetamol poisoning and the kidney.*J Clin Pharm Ther* 18:5–8.
- Jurd L., Horowitz L. (1962).** Spectral properties of flavonoid compounds. In Gersman, the chemistry of the flavonoids. Editeur Pergaman Press Oxford P.107
- Kao L.W., Kirk M.A., Furbee R.B., Mehta N.H., Skinner J.R., Brizendine E.J. (2003).** What is the rate of adverse events after oral N-acetylcysteine administered by the intravenous route to patients with suspected acetaminophen poisoning? *Ann. Emerg. Med.* 42 : 741–750.
- Katinas L., Tellería M.C., Susanna A., Ortiz S. (2008).** *Warionia* (Asteraceae):a relict genus of Cichorieae? *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 65(2) : 367-381.
- Keller G.A., Warner T.G., Steimer K.S., Hallewell R.A.(1991).**Cu,Zn superoxide dismutase is a peroxisomal enzyme in human fibroblasts and hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(16):7381-5.

Khandkar M.A., Parmar D.V., Das M., Katyare S.S. (1996). Is activation of lysosomal enzymes responsible for paracetamol-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity? *J Pharm Pharmacol* 48:437–440.

Kher K., Makker S.(1987). Acute renal failure due to acetaminophen ingestion without concurrent hepatotoxicity. *Am. J. Med* 82 : 1280–1281.

Kheradpezhoh E., Panjehshahin M.R., Miri R., Javidnia K., Noorafshan A., Monabati A., Dehpour A.R.(2010). Curcumin protects rats against acetaminophen-induced hepatorenal damages and shows synergistic activity with N-acetyl cysteine. *European Journal of Pharmacology* 628 : 274–281

Klatt P., Lamas S. (2000). Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress. *Eur J Biochem* 267(16):4928–4944

Kleinknecht D., Landais P., Goldfarb B. (1987) .Drug-associated acute renal failure. A prospective collaborative study of 81 biopsied patients. *Adv Exp Med Biol* 212:125-8.

Kleinman J.G., Breitenfeld R.V., Roth D.A. (1980). Acute renal failure associated with acetaminophen ingestion: report of a case and review of the literature. *Clin Nephrol* 14:201–205

Klos C., Koob M., Kramer C. and Dekant W. (1992). p- Aminophenol nephrotoxicity: biosynthesis of toxic glutathione conjugates. *Toxicology & Applied Pharmacology* 115:98–106.

Kozer E., Koren G. (2001). Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug Saf* 24: 503–512.

Krummel T., Dimitrov Y., Moulin B., Hannedouche T. (2000) .Drug points:Acute renal failure induced by topical ketoprofen. *BMJ* 320:93.

Kurisawa M., Chung J. E., Uyama H., Kobayashi S. (2003). Enzymatic Synthesis and Antioxidant Properties of Poly(rutin). *Biomacromolecules* 4 (5):1394-1399.

Larsson R., Ross D., Berlin T., Olsson L.I. and Moldéus P. (1985). Prostaglandin synthase catalyzed metabolic activation of p-phenetidine and acetaminophen by microsomes isolated from rabbit and human kidney. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 235:475–480.

Latchoumycandane C., Goh C.W., Ong M.M.K., Boelsterli U.A.(2007). Mitochondrial protection by the JNK inhibitor leflunomide rescues mice from acetaminophen induced liver injury. *Hepatology* 45 : 412–421.

Levy E.M., Viscoli C.M., Horwitz R.I. (1996). The effect of acute renal failure on mortality. A cohort analysis. *JAMA* 275:1489-94.

Lin C.C., Hsu Y.F., Lin T.C., Hsu H.Y.(2001). Antioxidant and hepatoprotective effects of punicalagin and punicalin on acetaminophen-induced liver damage in rats. *Phytother. Res* 15 : 206–212.

Liou W., Chang L.Y., Geuze H.J., Strous G.J., Crapo J.D., Slot J.W. (1993). Distribution of CuZn superoxide dismutase in rat liver. *Free Radic Biol Med* 14(2):201-7.

Logan S.A., Brown M., Davidson R.N. (2005).Teicoplanin-induced vasculitis with cutaneous and renal involvement. *J Infect* 51: 185-6.

Lorz C., Justo P., Sanz A., Subira, D.(2004). Paracetamol-induced renal tubular injury: a role for ER stress. *J. Am. Soc. Nephrol* 15 : 380–389.

Lotito S. B., Actis-Goretta L., Renart M. L., Caligiuri M., Rein, D., Schmitz H. H., Steinberg F. M., Keen C. L., Fraga C. G. (2000).Influence of Oligomer Chain Length on the Antioxidant Activity of Procyanidins. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 276 (3) : 945-951.

Lowry O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry* 193: 265–275.

Lysandro P.B., Cristina W.N., Rodrigo B.P., Joao B.T.R., Gilson Z. (2006). Acute liver damage induced by 2-nitropropane in rats: Effect of diphenyl diselenide on antioxidant defenses. *Chemico-Biological interactions* 160: 99-107.

Maiorino M., Aumann K.D., Brigelius-Flohé R., Doria D., van den Heuvel J., McCarthy J., Roveri A., Ursini F., Flohé L. (1995). Probing the presumed catalytic triad of selenium-containing peroxidases by mutational analysis of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx). *Biol Chem Hoppe Seyler*376(11):651- 60.

Manautou J.E., Silva V.M.,HennigG.E.(1998) .Repeated dosing with the peroxisome proliferator clofibrate decreases the toxicity of model hepatotoxic agents in male mice.*Toxicology*127:1–10.

Marklund S.L. (1982). Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proc Natl Acad Sci USA* 79(24):7634-8.

Marklund S.L., Bjelle A., Elmqvist L.G. (1986). Superoxide dismutase isoenzymes of the synovial fluid in rheumatoid arthritis and in reactive arthritides. *Ann Rheum Dis* 45(10):847-51.

Marklund S.L., Holme E., Hellner L. (1982). Superoxide dismutase in extracellular fluids. *Clin Chim Acta* 126(1):41-51.

Marre R., Schulz E., Graefe H., Sack K. (1987).Teicoplanin: renal tolerance and pharmacokinetics in rats. *J Antimicrob Chemother* 20:697-704.

Matthews A.M., Roberts D.W., Hinson J.A., Pumford N.R. (1996). Acetaminophen induced hepatotoxicity. Analysis of total covalent binding versus specific binding to cysteine. *Drug Metab Dispos* 24: 1192–1196.

Mayne P.D. (1994). The kidneys and renal calculi, *Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment* (sixth ed.), London Edward Arnold Publications p. 2–24

Mazer M., Perrone J. (2008). Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestation, and management. *J Med Toxicol* 4(1):2–6

McJunkin B., Barwick K.W., Little W.C., Winfield J.B. (1976). Fatal massive hepatic necrosis following acetaminophen overdose. *JAMA* 236(16):1874–5.

Meier P., Dautheville-Guibal S., Ronco P.M., Rossert J. (2002). Cidofovir-induced end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 17:148–9.

Mellou F., Lazari D., Skaltsa H., Tselepis A. D., Kolisis F. N., Stamatis H. (2005). Biocatalytic preparation of acylated derivatives of flavonoid glycosides enhances their antioxidant and antimicrobial activity. *Journal of Biotechnology* 116 (3): 295–304.

Meyer S.A., Ewan R.C., Beitz D.C. (1983). Effect of selenium on the subcellular distribution of glutathione peroxidase in rat liver, epididymal fat pad and seminal vesicle. *J Nutr* 113(2):394–400.

Miller N. J., Castelluccio C., Tijburg L., Rice-Evans C. (1996). The antioxidant properties of theaflavins and their gallate esters- radical scavengers or metal chelators? *FEBS Letters* 392(1): 40–44.

Miranda-Guardiola F., Fernandez-Llama P., Badia J.R., Botey A., Estruch R., Darnell A. (1995). Acute renal failure associated with alpha-interferon therapy for chronic hepatitis B. *Nephrol dial Transplant* 10:1441–3.

Mohandas J., Duggin G.G., Horvath J.S. and Tiller D.J. (1981). Regional differences in peroxidatic activation of paracetamol (acetaminophen) mediated by cytochrome P450 and prostaglandin endoperoxide synthetase in rabbit kidney. *Research Communications in Chemical Pathology & Pharmacology* 34:69–80.

Mohandas J., Marshall J.J., Duggin G.G., Horvath J.S., Tiller D.J. (1984). Low activities of glutathione-related enzymes as factors in the genesis of urinary bladder cancer. *Cancer Research* 44, 5086–5091.

Monks T.J., Anders M.W., Dekant W., Stevens J.L., Lau S.S., Van Bladeren P.J. (1990). Contemporary issues in toxicology: glutathione conjugate mediated toxicities. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 106 : 1–19.

Moreau X., Le Quay L., Granry J. -C., Boishardy N., Delhumeau A. (1993). Pharmacocinétiques du Paracétamol dans le liquide céphalo-rachidien de sujets âgés. *Thérapie* 48 :393–6.

Mour G., Feinfeld DA, Caraccio T, McGuigan M. (2005). Acute renal dysfunction in acetaminophen poisoning. *Ren Fail* 27:381–383.

Mour G., Feinfeld D.A., Caraccio T. (2005). McGuigan M. Acute renal dysfunction in acetaminophen poisoning. *Ren Fail* 27:381–383.

Mourelle M., Beales D., McLean A. (1990). Prevention of paracetamol-induced liver injury by fructose. *Biochem. Pharmacol* 41 : 1831–1837.

Mugford C.A. and Tarloff J.B. (1995). Contribution of oxidation and deacetylation to the bioactivation of acetaminophen in vitro in liver and kidney from male and female Sprague-Dawley rats. *Drug Metabolism & Disposition* 23:290–294.

Muthukumar T., Jayakumar M., Fernando E.M., Muthusethupathi M.A. (2002). Acute renal failure due to rifampicin: a study of 25 patients. *Am J Kidney Dis* 40:690–6.

Nakagawa T., Zhu H., Morishima N., Li E., Xu J., Yankner B.A., Yuan J. (2000). Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature* 403: 98–103.

Nash K., Hafeez A., Hou S. (2002). Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney* 39(5):930–6.

Negre-Salvayre A. (2005). *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* (ISSN : 1258-8210). Volume 12, Numéro 5: 433–8.

Newton J.F., Bailie M.B. and Hook J.B. (1983). Acetaminophen nephrotoxicity in the rat. Renal metabolic activation in vitro. *Toxicology & Applied Pharmacology* 70:433–444.

Newton J.F., Pasino D.A. and Hook J.B. (1985b). Acetaminophen nephrotoxicity in the rat: quantitation of renal metabolic activation in vivo. *Toxicology & Applied Pharmacology* 78:39–46.

Nishimura S., Miura H., Yamada H., Shinoda T., Kitamura S., Miura Y. (2002). Acute onset of nephrotic syndrome during interferon-alpha retreatment for chronic active hepatitis C. *J gastroenterol* 37:854–8.

Noël L.-h. (2008). *Atlas de pathologie rénale*. Paris, Flammarion.

Oberley L.W., Oberley T.D. (1984). The role of superoxide dismutase and gene amplification in carcinogenesis. *J Theor. Biol* 106(3):403–22.

Ohkawa H., Ohishi, N., Yagi, K., (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 95:351–358.

Ortiz A., Justo P., Sanz A., Melero R., Caramelo C., Guerrero M.F. (2005). Tubular cell apoptosis and cidofovir-induced acute renal failure. *Antivir Ther* 10:185–90.

Osumi T., Hashimoto T. (1978). Acyl-CoA oxidase of rat liver: a new enzyme for fatty acid oxidation. *Biochem Biophys Res Commun* 83(2):479–85.

Özlem Y.İ., Ozbek E., Cekmen M., Somay A., Ozcan L., Alper Otüntemur A., Simsek A., Mete F. (2009). Melatonin prevents acetaminophen-induced nephrotoxicity in rats. *Int Urol Nephrol* 41:695–702

Paglia D., Valentine W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70:158–163

Palozza P., Calviello G., Bartoli G.M. (1995). Prooxidant activity of beta-carotene under 100% oxygen pressure in rat liver microsomes. *Free Radic Biol Med* 19(6):887–92.

Pérez-Martin A., Chuster I., Dauzat M. (2007). Rudiments de Physiologie Rénale.

Potter W.Z., Davis D.C., Mitchell J.R. (1973). Acetaminophen induced hepatic necrosis: III. Cytochrome P-450 mediated covalent binding in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 87:203–210

Prescott L.F. (2003). Nouvelle perspectives avec le paracétamol. *Drugs*, 63, N° Spécial 2 :51-6.

Ramaut J.L., Hofinger M., Dimbi R., Corvisier M. and Lewalle J. (1985). Main constituents of the essential oil of *Warionia saharae* Benth & Coss. *Chromato-graphia* 20 (3): 193-194.

Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* 20 (7) : 933-956.

Rice-Evans C.A.; (2001). Flavonoid antioxidants. *Curr. Med chem* 8: 797-807.

Rossat J., Maillard M., Nussberger J., Brunner H.R., Burnier M. (1999). Renal effects of selective cyclooxygenase-2 inhibition in normotensive salt-depleted subjects. *Clin Pharmacol Ther* 66:76-84.

Rybak M.J., Albrecht L.M., Boike S.C., Chandrasekar P.H. (1990). Nephrotoxicity of vancomycin, alone and with an aminoglycoside. *J Antimicrob Chemother* 25:679-87.

Saija A., Tomaino A., Trombetta D., Luisa Pellegrino M., Tita B., Messina C., Bonina F. P., Rocco C., Nicolosi G., Castelli F. (2003). 'In vitro' antioxidant and photoprotective properties and interaction with model membranes of three new quercetin esters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 56 (2) : 167-174.

Sandler D.P., Smith J.C., Weinberg C.R., Buckalew V.M., Jr., Dennis V.W., Blythe W.B. and Burgess W.P. (1989). Analgesic use and chronic renal disease. *New England Journal of Medicine* 320:1238–1243.

Sanni C.; Sauvin, H. (1952). Les couleurs des fleurs et des fruits, Anthocyanes et flavones.

Schnellmann R.G. (1998). Analgesic nephropathy in rodents. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews* 1:81–90.

Sener G., Sehirlir A.O., Ayanoğlu-Dülger G. (2003). Protective effects of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against acetaminophen toxicity in mice: a comparative study. *J. Pineal Res* 35 : 61–68.

Servais A., Lechat P., Zahr N., Urien S., Aymard G., Jaudon M.C. (2005). Effet de l'inhibition des transporteurs OAT1 et MRP2 sur la clairance de l'adéfovir. *Nephrol Ther* 1:296-300.

Sevanian A., Muakkassah-Kelly S.F., Montestruque S. (1983). The influence of phospholipase A2 and glutathione peroxidase on the elimination of membrane lipid peroxides. *Arch Biochem Biophys* 223(2):441-52.

Shan X.Q., Aw T.Y., Jones D.P. 1990 (1990). Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol Ther* 47(1):61-71.

Shin G.T., Yim H., Park J., Kim H. (2007). Membranous nephropathy associated with fluconazole treatment. *Am J Kidney Dis* 49:318-22.

Sohn S.H., Lee, E.Y., Kim, Y. (2009). Screening of herbal medicines for recovery of acetaminophen-induced nephrotoxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 27:225-230.

Somani S.M., Husain K., Whitworth C., Trammell G.L., Malafa M., Rybak L.P. (2000). Dose-dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: antioxidant defense system. *Pharmacol. Toxicol* 86 : 234–241.

Soni N., Harrington J.W., Weiss R., Chander P., Vyas S. (2004). Recurrent acute interstitial nephritis induced by azithromycin. *Pediatr Infect Dis J* 23: 965-6.

Stadtman E.R., Moskovitz J., Levine R.L. (2003). Oxidation of methionine residues of proteins: biological consequences. *Antioxid Redox Signal* 5(5):577–582.

Stern S.T., Bruno M.K., Horton R.A., Hill D.W., Roberts J.C., Cohena S.D. (2005). Contribution of acetaminophen-cysteine to acetaminophen nephrotoxicity II. Possible involvement of the g-glutamyl cycle. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 202 : 160–171.

Sumioka I., Matsura T., Kai M., Yamada K. (2004). Potential roles of hepatic heat shock protein 25 and 70 in protection of mice against acetaminophen-induced liver injury. *Life Sci* 74 (20) :2551-2561.

Takebe G., Yarimizu J., Saito Y., Hayashi T., Nakamura H., Yodoi J., Nagasawa S., Takahashi K. (2002). A comparative study on the hydroperoxide and thiol specificity of the glutathione peroxidase family and selenoprotein P. *J Biol Chem* 277(43):41254-8.

Tanji N., Tanji K., Kambham N., Markowitz G.S., Bell A., D'agati V.D. (2001). Adefovir nephrotoxicity: possible role of mitochondrial DNA depletion. *Hum Pathol* 32:734-40.

Thomas J.P., Maiorino M., Ursini F., Girotti A.W. (1990). Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation. In situ reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides. *J Biol Chem* 265(1):454-61.

Tjolsen A., Lund A., Hole K. (1991). Antinociceptive effect of paracetamol in rats is partly dependent of spinal serotonergic systems. *Eur J pharmacol* 193:201.

Tran A., Treiluyer J., Rey E., Barbet J., Ferracci G. (2001). Protective effect of stiripentol on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 170 : 145–152.

Trumper L., Monasterolo L.A. and Elias M.M. (1996). Nephrotoxicity of acetaminophen in male Wistar rats role of hepatically derived metabolites. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 279:548–554.

Trumper L., Monasterolo L.A., Elias M.M. (1998). Probenecid protects against In vivo acetaminophen-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. *J Pharmacol Exp Ther* 284: 606–610

Uchino S., Kellum J.A., Bellomo R., Doig G.S., Morimatsu H., Morgera S. (2005). Beginning and ending supportive therapy for the kidney (BEST Kidney) investigators. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA* 294:813-8.

Ursini F., Maiorino M., Brigelius-Flohé R., Aumann K.D., Roveri A., Schomburg D., Flohé L. (1995). Diversity of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol* 252:38-53.

Uyemura S.A., Santos A.C., Mingatto F.E. (1997). Diclofenac sodium and mefenamic acid: potent inducers of the membrane permeability transition in renal cortex mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 342:231–235.

Van Bladeren P.J. (2000). Glutathione conjugation as a bioactivation reaction. *Chem Biol Interact* 129(1-2):61-76.

Van de Straat R., Vromans R.M., Bosman P., De Vries J. and Vermeulen N.P.E. (1988b). Cytochrome P-450-mediated oxidation of substrates by electron-transfer; role of oxygen radicals and of 1- and 2-electron oxidation of paracetamol. *Chemico-Biological Interactions* 64:267–280.

Von Mach M.A., Hermanns-Clausen M., Koch I. (2005). Experiences of a poison center network with renal insufficiency in acetaminophen overdose: an analysis of 17 cases. *Clin Toxicol* 43:31–37.

Warner T.D., Mitchell J.A. (2004). Cyclo oxygenase: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J* 18:780-804.

Watillon C., GasAPAP T., Hofinger M., Ramaut J.-L. (1987). La mi-cropropagation de *Warionia saharae* Benth. & Coss. *Al Biruniya* 4: 35-38.

Wen Y.K., Chen M.L. (2006). Crescentic glomerulonephritis associated with rifampicin in a patient co-infected with tuberculosis and human immunodeficiency virus. *Clin Nephrol* 65:284-9.

Wood M.J. (2000). Comparative safety of teicoplanin and vancomycin. *J Chemother* 12:21-5.

Wroblewski F. (1967). Sigma Technical Bulletin No. 500.

Yamanaka K., Hesegwa A., Sawamuna R., Okada S. (1991). Cellular response to oxidative damage in lung induced by the administration of dimethylarsinic acid, a major metabolite of inorganic arsenics, in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 108: 205–213.

Yap L.P., Chang A.H.K., Han D., Cadenas E. (2008). Free radical biology, mitochondrial functions, and nitric oxide. In: Zierhut M, Cadenas E, Rao NA (eds) *Free radicals in ophthalmic disorders*. Informa Healthcare, New York

Zaher H., Buters J.T., Ward J.M., Bruno M.K., Lucas A.M., Stern S.T. (1998). Protection against acetaminophen toxicity in cyp 1A2 and cyp 2E1 double null mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 52: 193–199.

Zelko I.N., Mariani T.J., Folz R.J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med* 33(3):337-49.

Zuliani E., Zwahlen H., Gilliet F., Marone C. (2005). Vancomycin-induced hypersensitivity reaction with acute renal failure: resolution following cyclosporine treatment. *Clin Nephrol* 64:155-8

فرع بيولوجيا وفيسيولوجيا الحيوان

تخصص فيزيولوجيا أمراض الخلية

الفعل الوقائي للمستخلص الفلافونيدي من الالتهاب النفروني المحرض بالـ Paracetamol
لدى الجرذان

الملخص :

تتمتع نبتة الـ *Warionia* التي تنتشر بغرب الصحراء الجزائرية بخصائص صيدلانية عدة أهمها الدور المضاد للالتهاب ، وتهدف الدراسة الحالية إلى اختبار الفعل الوقائي الكلوي لهذه النبتة لدى الجرذان المعاملة بالبراسيتامول و محاولة تحديد آليات هذا الفعل ، يصاحب تعريض الجرذان إلى جرعة مفردة من البراسيتامول عبر الفم (750 mg /Kg) ارتفاع معدلات مؤشرات الوظائف الكلوية بالدم وكذا ارتفاع الأكسدة الليبيدية في صورة TBARS واختزال في نشاط النظام الجلوتاثيوني و المؤشرات المانعة للأكسدة.

مكن التعاطي المسبق للمستخلص البيتانولي للـ *Warionia* (300 mg /Kg) لمدة 10 أيام الخلايا الكلية من الإحتفاظ بمعدلات مؤشرات الوظائف الكلوية بالدم إلى المعدل الطبيعي كما يخفض الـ TBARS . وقد أفاد التعاطي المسبق لهذه النبتة بالاحتفاظ بالنظام الجلوتاثيوني GSH و GPx وبتعديل نشاط الـ GST ، وبصيانة نشاط كل من CAT و SOD .

وقد دعم هذا العمل بالدراسة النسيجية التي أظهرت بأن الخلايا الكلوية تحتفظ بمعالمها ويختزل بها الارتشاح بالـ PN ويكاد يغيب بها النخر الانبوبي الحاد إثر المعاملة المسبقة بالـ *Warionia* ويبدو أن الفعل الوقائي لهذا المستخلص يفوق كثيرا أثر الوقائي المرجعي الـ NAC.

الكلمات الدالة : ROS , Acetaminophen, nephrotoxicity, oxidative stress, *Warionia sp* .