



الارتقاء بالبحوث العلمية طريقنا لخدمة المجتمع

دراسة مقارنة لتأثير المستخلص الكحولي لنبات الدبق *Viscum album* وعقار البنتوستام في الفئران الممخجة بطفيل الليشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* على مستويات تركيز الانزيمات

GOT و GPT و ALP

مقصود عادل محمود الدوري¹ ، توفيق ابراهيم محمد الالوسي² ، عبد الله حسين عبد الله الجبوري³

¹ قسم التحليلات المرضية ، المعهد التقني - الدور ، الجامعة التقنية الشمالية ، الدور ، العراق

² كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

³ كلية الطب ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

صممت الدراسة الحالية لاختبار التأثير السمي للمستخلص الكحولي لثمار نبات الدبق *Viscum album* على فئران ممخجة تجريبيا بطفيل الليشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* مقارنة مع عقار البنتوستام . وقد أظهرت الدراسة ارتفاع الإنزيم S.GPT لدى الحيوانات الممخجة إذ بلغت قيمته ما بين 400 الى 790 وحدة دولية/ لتر لمجموعة السيطرة الموجبة مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة، أما عن سمية المستخلص الكحولي فقد بينت نتائج المعالجة به من خلال قياس الإنزيمات الكبدية S.GPT و S.GOT بأن المستخلص يحتوي على سمية منخفضة أدت إلى انخفاض قيم S.GPT من 402 و 412 إلى 240 و 232 وحدة دولية/ لتر، للمجموعات المعالجة بالمستخلص حقنا عضليا وتجريعا فمويا على التوالي مقارنة مع مجموعة المعالجة بالبنتوستام. وأما الإنزيم S.GOT فأظهر ارتفاعاً في مجموعة المعالجة بالمستخلص الكحولي المحقونة عضلياً، إذ ارتفع من 56 قبل المعالجة إلى 148 وحدة دولية / لتر في اليوم الثلاثين بعد المعالجة. أظهرت الدراسة انخفاضاً في قيم alkaline phosphatase لدى الفئران المعالجة بالبنتوستام وبمستخلص ثمار الدبق حقنا عضليا وتجريعا فمويا، مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة.

معلومات البحث

الكلمات المفتاحية:

الاسم: مقصود عادل محمود الدوري

البريد الإلكتروني:

رقم الهاتف:

المقدمة

واسعة من المظاهر السريرية [3]، فبعد فترة الحضانة incubation period والتي بشكل عام تكون ما بين شهرين و ستة أشهر تبدأ أعراض المرض بالظهور. إذ يهاجم الطفيل الدم والجهاز الشبكي البطاني reticulo-endothelial system ، كالعقد الليمفاوية lymph nodes والطحال spleen والكبد liver، وتتميز الأعراض بحمى غير منتظمة تستمر لأوقات طويلة prolonged fever وضعف weakness وتعرق ليلي night sweats وفقدان شهية anorexia وفقدان الوزن weight loss وشحوب pallor وتضخم الطحال splenomegaly وتضخم العقد الليمفاوية lymphadenopathy وتضخم الكبد hepatomegaly وقلة شاملة في عدد الخلايا pancytopenia وفقر دم anemia وانخفاض بروتين الدم hypoalbuminemia. وفي الكثير من الحالات لا يأخذ

داء الليشمانيا الاحشائية Visceral leishmaniasis أحد أمراض المناطق المدارية و ينتج عن طريق الخمج بطفيل *Leishmania donovani* [1]، يمكن للطفيل أن يغزو مختلف خلايا المضيف ويؤدي إلى تضخم الكبد والطحال hepatosplenomegaly. يكون الطفيل في خلايا المضائف الفقارية بشكل كروي صغير وعديم السوط unflagellated ويطلق عليه شكل لا سوطي amastigote بينما يكون متطاولاً elongated وحاوياً على سوط flagellum ويدعى شكل أمامي السوط promastigote وهذا يكون في حشرة ذبابة الرمل sandflies وفي الوسط الزرعي [2] .

ويسبب هذا الطفيل مرضا يدعى بالكالازار kala-azar هو مرض مميت على الدوام إذا لم يتم تشخيصه وعلاجه بصورة مبكرة وهو المرض الأكثر شدة من كل أنواع الليشمانيا الأخرى، ويضم مجموعة

مشاكل للطفل الرضيع [13]. اما عن جرعة البنتوستام فيعطى حقنا عضليا بتركيز 20 ملغ \ كغم يوميا [14] .

نبات الدبق *Viscum album* أو الهدال *mistletoe* من النباتات دائمة الخضرة *evergreen* التي تعيش بشكل شبه طفيلي على أشجار أخرى، وخاصة أشجار الصنوبر *pine* والتفاح *apple* وغيرها، إذ تكون عملية التمثيل الضوئي *photosynthesis* لها أما قليلة جدا أو معدومة، وبالتالي فإن عليها الحصول على معظم أو كل الكربون والماء والمغذيات الأخرى من الشجرة المضيف [15]. وهو ينتمي لعائلة *Viscaceae* والتي تنتمي الى رتبة الصندليات *Santalales* [16]. إن استعمال الدبق كعلاج لمختلف الأمراض في الطب الشعبي إنما يعود إلى انخفاض المستويات السمية فيه *low levels of toxicity* [17]، ويحتوي مستخلص الدبق على مركبات فعالة طبياً، وهذه المواد تعمل على حث سمية الخلايا البلعمية *macrophage cytotoxicity* وتحفيز الخلايا المناعية لتقوم بالبلعمة *phagocytosis* وزيادة إفراز المحركات الخلوية (السايتوكينات) *cytokine secretion* وتحسين تأثيراتها على مختلف الخلايا [18] . يستعمل الدبق في استطبابات عدة فهو يستعمل كعلاج ضد السرطان *anticancer* , وضد الجراثيم *antimicrobial* كما ويمتلك منشطات عامل النخر الورمي *tumor necrosis factor (TNF)* الذي يقوم بتقوية الجهاز المناعي *immune system*، ولأهمية نبات الدبق فقد أجريت دراسات علمية منهجية عليه [19].

الهدف من الدراسة:

- 1- إيجاد علاج بديل عن العلاجات الكيميائية المستعملة حالياً وتكون أرخص ثمناً وأقل سمية. مع دراسة تأثير المستخلص الكحولي لثمار الدبق على الطفيل في الكائن الحي *in vivo* .
- 2- دراسة سمية المستخلص على المضيف من خلال الانزيمات *glutamic pyruvic transaminase (GPT)* و *glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)* والفوسفات القاعدية *Alkaline phosphatases (ALP)* مقارنة مع عقار البنتوستام المستعمل حالياً في معالجة داء الليشمانيات

المواد وطرائق العمل

موقع إجراء التجارب المخبرية والوقت:

أجريت الدراسة في جامعة تكريت مختبرات كلية التربية للعلوم الصرفة و كلية التربية للنبات ومختبر الأبحاث ومختبر البلمس الطبي الأهلي، للمدة من 2 / 1 / 2016 ولغاية 12 / 1 / 2017.

عزلة الليشمانيا الإحشائية: تم الحصول على المزارع الأصلية *stock cultures* لطفيل الليشمانيا الإحشائية (MHOM/IQ/2005/MRU15) من مركز البحوث الطبية في كلية الطب / جامعة النهرين.

النبات قيد الدراسة، جمعه وتحضيره واستخلاصه:

أخذت ثمار نبات الدبق المستعمل في هذه الدراسة من السوق المحلية، وغسلت الثمار بالماء المقطر لإزالة ما علق بها من أتربة أو أوساخ،

المرض الشكل الحاد أو المزمن ويبقى بدون أعراض *asymptomatic* أو أعراض تحت سريرية *subclinical* [4] . ان النتائج المخبرية المميزة للدمج هي زيادة إنزيمي *GOT* و *GPT* وفرط كاما كلوبولين الدم *hypergammaglobulinemia* [5] . إن اختبارات الكبد القياسية والتي تقيم إصابته تشتمل على الإنزيم الناقل أمين الألانين *alanine aminotransferase (ALT)* ويعرف أيضاً *glutamic pyruvic transaminase (GPT)* والإنزيم الناقل الأمين اسبارتيت *aspartate aminotransferase (AST)* والذي يعرف بـ *glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)* والفوسفات القاعدية *Alkaline phosphatases (ALP)*. وإن ضرر الكبد *Hepatic injury* مرتبط بتشوه وظائفه. وهذه الاختبارات مهمة في تحديد وظائف الكبد *liver function test (LFT)* . إذ يتم إطلاق الإنزيمات في مجرى الدم بعد تلف الكبد لأن ارتفاع أنشطة الإنزيم الناقل للأمين *transaminase* يعد مؤشراً *marker* على تسمم الكبد *hepatotoxicity* [6] .

يعد الإنزيم *GPT* المؤشر الأكثر خصوصية *specific* لوظائف الكبد ويستعمل كمؤشر مباشر لإلتهاب الكبد أو إصابته ، وأما الإنزيم *GOT* فهو المؤشر الأقل خصوصية من سابقه وذلك لكونه يفرز من أعضاء أخرى إضافة للكبد [7]. إن حدوث ضرر في القناة الصفراوية يؤدي إلى ارتفاع الفوسفات القاعدية ويستعمل اختبار *Serum Alkaline Phosphatase ALP* تحديداً في تقييم التهاب القناة الصفراوية *choolangitis* الرئيسية وتصلبها [8].

الدواء الأساسي المستعمل في معالجة الليشمانيا هو الـ *Pentavalent antimonials* ويسمى أيضاً *sodium stibogluconate* أو *Pentostam*، وهو من فئة الأنتيمونات خماسية التكافؤ من الأدوية [9]. للبنتوستام مساوئ عديدة، فهو مسم للقلب *cardiotoxic* وللکبد *liver toxic* وللبنكرياس *pancreatic toxic* [10] .

يرافق العلاج بالبنتوستام ألم شديد خلال الحقن العضلي *intramuscular injections* فضلاً عن التأثيرات الجانبية الجهازية والتي تتطلب إشراف طبي دقيق جداً، والأثار الجانبية النموذجية تشتمل على فقدان الشهية *appetite* وغثيان *nausea* وآلام العضلات *muscle pains* وصداع *headache* والشعور بالتعب *feeling tired* [9] ، وضعف *weakness* ومغص في البطن *abdominal colic* وإسهال *diarrhea* وطفح جلدي *skin rash* وسمية الكبد جنباً إلى جنب مع سمية القلب الأكثر أهمية، إن ظهور مقاومة من قبل الطفيل لهذا العلاج تعد مشكلة مهمة [11]، واثبتت بعض التقارير حدوث مقاومة للـ *antimonials* من قبل بعض سلالات الليشمانيا الإحشائية إذ وجد أن تلك السلالات القدرة على التغاير في جسم الكائن الحي [12] . لا يسمح باستعمال البنتوستام خلال فترة الحمل *pregnancy* كونه من العلاجات غير الأمانة على الجنين ، ويمكن استعماله خلال الرضاعة، لأنه لم يتم تسجيل أي

اختيرت 80 ذكراً بعمر 6 إلى 8 أسابيع بوزن يتراوح بين 25 إلى 30 غم تقريباً والتأكد من خلوها من الأمراض الظاهرة، ومن ثم وضعها داخل محقنة طبية سعة 50 مل تم أحداث شق على طول أنبوبها الخارجي؛ بغية السيطرة على الحيوان بحيث يبقى الذنب سائبا من جهة فوهة المحقنة ، وبعدها تم غمر الذنب بماء درجة حرارته 45 °م تقريباً كما في الصورة (2) ومن ثم تم تثبيته بالسبابة والابهام بحيث يكون الوريد الذنبى ظاهراً، وتم حقنه بـ 300 مايكرو ليتر من الوسط الزرعى حاوي على $6.3 - 8.1 \times 10^3$ طفيل في الطور أمامي السوط بواسطة محقنة طبية سعة 9.5×0.25 ملم. وبعد شهرين من أحداث الخمج فيها تم اجراء الاختبارات عليها.



صورة رقم (2) عملية تحضير الفأر للحقن بالطفيل

المعالجة بمستخلص ثمار الدبق الكحولي:

قسمت الفئران المخمجة على خمسة مجموعات هي مجموعة المعالجة بالبنيتوستام ومجموعة المعالجة بمستخلص الدبق حقن عضلي ومجموعة المعالجة بالدبق تجريع فموي ومجموعة السيطرة الموجبة (فئران مخمجة لم تخضع للمعالجة) فضلاً عن مجموعة السيطرة السالبة (فئران لم تخمخ اي انها خالية من الإصابة). حيث عولجت الفئران التي أحدث فيها الخمج عن طريق حقنها عضلياً بـ 300 مايكرو ليتر حاوية على مستخلص الدبق بتركيز 0.92 ملغم/مل يومياً، وأما مجموعة التجريع الفموي فقد تم تجريعها يومياً بالكمية نفسها وبالتركيز نفسه من المستخلص. وقورنت مع مجموعة الحيوانات المعالجة بالبنيتوستام بتركيز 20 ملغم 11 كغم يومياً (300 مايكرو ليتر من الماء المقطر حاوية على 6 مايكرو ليتر من البنيتوستام) وقورنت النتائج مع مجموعتي السيطرة الموجبة والسالبة.

عينات دم الفئران :

سحبت عينات الدم من الفئران عن طريق قطع جزء قصير من الذنب وسحب الدم ووضع في أنابيب شعيرية حاوية على الهيبارين Heparin، وبعد غلق إحدى جهتي الأنبوب بالمعجون الأصطناعي sealing material وضعت في جهاز الطرد المركزي على السرعة

ثم جففت عن طريق وضعها على أوراق كبيرة في جهاز الحاضنة بدرجة حرارة 37 °م مع تقلبيها كل ساعتين إلى ثلاث ساعات تقريباً لحين جفافها. وبعد جفافها أخذت الثمار وسحقت بالهاون لتصبح بهيئة العلكة gum، وحفظت في علب محكمة الغلق، وتركت لحين استخلاصها.



صورة (1) ثمار نبات الدبق

خطوات الاستخلاص الكحولي:

تم الحصول على المستخلص الكحولي لثمار نبات الدبق، صورة (1) بحسب طريقة Taskin وجماعته (2005) [20] وكما يلي:

1- تم إضافة 50 غرام من ثمار نبات الدبق المسحوقة بالهاون إلى 500 مل من الأثير البترولي petroleum ether ، وذلك لإزالة الدهون defatted .

2- وضع الخليط في بيكر سعة 1000 مل، وغطيت فوهته بورق سيليفون، وتم ثقب الغطاء بضعة ثقب صغيرة بواسطة نيدل المحقنة الطبية، ووضع على جهاز المحرك المغناطيسي magnetic stirrer بسرعة متوسطة وبدرجة حرارة 40 - 45 °م وترك لمدة 72 ساعة .

3- رشح المزيج بورق ترشيح قياس 0.3 ملم وأخذت الراشب ووضع في بيكر سعته 1000 مل وتم إضافة 500 مل من الكحول الأيثلي المطلق، ومن ثم غطت فتحته بورق السيليفون مع تنقيتها.

4- وضع المزيج على جهاز المحرك المغناطيسي بسرعة متوسطة وبدرجة حرارة 40 - 45 °م وترك لمدة 72 ساعة ايضاً.

5- رشح المزيج بورق ترشيح وأخذ الراشح ووضع في جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator وضبط الجهاز على السرعة المتوسطة وبدرجة حرارة 45 °م إذ تم تبخير الكحول الأيثلي المطلق.

6- جمع المستخلص النباتي في قارورة صغيرة، وحفظ لحين الاستعمال.

7- تم تجفيف المستخلص وذلك بأمرار النيتروجين السائل liquid nitrogen عليه.

استعمل التراكيز 0.92 ملغم / مل. حيث تم اذابة المستخلص الجاف بالماء المقطر.

واستعملت في هذه الدراسة الفئران البيض من نوع *Mus musculus* سلالة Balb/C لأغراض التجارب، تم شراؤها من معمل الأدوية في سامراء / قسم علم الأدوية .

حقن الفئران بالليشمانيا بالطور أمامية السوط:

العلاج. وعلى العكس من ذلك، نلاحظ أن الـ GPT قد بدأت بالانخفاض شيئاً فشيئاً مع تقدم المعالجة بمستخلص ثمار الدبق الكحولي للحقن العضلي أو التجريع الفموي لتبلغ 240 و 232 وحدة/لتر، بعد أن كانت 402 و 412 وحدة دولية/لتر قبل المعالجة. وبمقارنة مجموعة السيطرة السالبة جدول 1، والذي تراوحت قيمة الـ GPT فيه ما بين 206 و 278 مع مجموعة السيطرة الموجبة جدول 2، والذي تراوحت قيمه فيها ما بين 400 و 790 وحدة دولية/لتر، نجد خلال النتائج في الجدولين ارتفاع قيم هذا الإنزيم لدى الحيوانات المخمجة وقد يكون هذا الارتفاع بسبب الضرر الذي أحدثه الطفيل في خلايا الكبد مما أدى إلى زيادة إطلاقها لهذا الإنزيم. أما عن الارتفاع فيه نتيجة المعالجة بالبينتوستام فقد يكون عائداً إلى سمية هذا العلاج الكيميائي. وعلى العكس من ذلك، نجد انخفاضاً في إنزيم GPT لدى الحيوانات المعالجة بالمستخلص الكحولي للدبق وهذا قد يدل على انخفاض سميته على الكبد.

10.000 دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق، ومن ثم تم كسر الأنبوب الشعيري من الحد الفاصل بين البلازما وخلايا الدم، وسحبت البلازما لعمل الاختبارات الإنزيمية.

الاختبارات الإنزيمية: تم إجراء الفحوص الإنزيمية باستعمال العدة Kit AGAPPE السويسرية. وقد اشتملت الاختبارات الإنزيمية على GOT و GPT و ALP

النتائج والمناقشة

تعد النباتات الطبية مصادر حقيقية للمواد الفعالة ببيولوجيا، وهي بذلك تكون ذات قيم علاجية وطبية جيدة وسمية منخفضة low toxicity والميزة المهمة الأخرى أنها رخيصة الثمن low price، فضلاً عن إمكانية تطويرها ضد الأمراض التي تسببها الأوالي الطفيلية في المناطق المدارية الاستوائية [21].

أظهرت الدراسة الحالية ارتفاع إنزيم GPT تدريجياً مع التقدم في الوقت لدى مجموعة الفئران المعالجة بالبينتوستام من 410 وحدة دولية/لتر قبل العلاج لتصل إلى 606 وحدة دولية/لتر في اليوم الثالثين من

جدول 1 : مستويات S.GPT (وحدة دولية لكل لتر IU/L) خلال فترة المعالجة مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة

S.GPT	مجموعة السيطرة السالبة	مجموعة البينتوستام	مجموعة الحقن العضلي	مجموعة التجريع الفموي
قبل العلاج	278* ef**	410 bc	402 C	412 bc
بعد 5 ايام	206 gh	494 b	436 Bc	304 de
بعد 10 ايام	247 f	334 d	452 B	200 gh
بعد 15 يوم	266 ef	445 bc	453 B	272 ef
بعد 20 يوم	243 fg	460 b	324 D	182 h
بعد 25 يوم	235 fg	604 a	310 De	180 h
بعد 30 يوم	230 fgh	606 a	240 F	232 fg

* يمثل المعدل لخمس مكررات. ** الحروف الانكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية، أما الحروف المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن علماً ان $p \geq 0.05$.

جدول 2 : مستويات S.GPT (وحدة دولية لكل لتر IU/L) خلال فترة المعالجة مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة:

S.GPT	مجموعة السيطرة الموجبة	مجموعة البينتوستام	مجموعة الحقن العضلي	مجموعة التجريع الفموي
قبل العلاج	400* e**	410 e	402 E	412 e
بعد 5 ايام	403 e	494 c	436 De	304 f
بعد 10 ايام	437 de	334 f	452 D	200 hi
بعد 15 يوم	447 de	445 de	453 D	272 fg
بعد 20 يوم	517 c	460 cd	324 F	182 i
بعد 25 يوم	598 b	604 b	310 F	180 i
بعد 30 يوم	790 a	606 b	240 Gh	232 gh

* يمثل المعدل لخمس مكررات. ** الحروف الانكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية، أما الحروف المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن علماً ان $p \geq 0.05$.

ثمار الدبق الكحولي، إذ أشاروا فيها إلى أن المعالجة به تؤدي إلى خفض مستوى الإنزيم GPT. وأيضاً اتفقت مع الدراسة التي قامت بها الباحثة قاسم (2012) [32] والتي استعملت فيها مستخلص بذور الحلبة لمعرفة تأثيرها على الإنزيمات الكبدية لدى الفئران البيض فأظهرت النتائج انخفاض قيم الإنزيمات الكبدية. بينما لم تتفق نتائج الدراسة مع ما جاءت به الباحثة (2012) Hiro, et al. [33] والتي أشارت فيها إلى عدم وجود فروق في نسب الإنزيم GPT لدى الفئران المعالجة بمستخلص ثمار الدبق عن تلك التي لم تعالج، وذلك قد يرجع إلى نوعية نبات الدبق المستخدم في دراستها أو ربما إلى طريقة الاستخلاص، أو إلى طريقة المعالجة بالمستخلص، أو ربما بسبب اختلاف الجرعة المستخدمة في دراستها عن تلك التي استخدمت في الدراسة الحالية .

أما الجدول 3 و 4 فقد أظهر ارتفاعاً في S.GOT لدى مجموعة الفئران المخمجة تجريبياً بالليشمانيا الإحشائية إذ تراوحت قيم الإنزيم لدى مجموعة السيطرة الموجبة بين 58 و 454 وحدة دولية/لتر، مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة والتي تراوحت ما بين 40 و 78 وحدة دولية/لتر. ان ارتفاع هذا الإنزيم لدى الفئران المخمجة تجريبياً قد بدأ بشكل تدريجي منذ بداية الشهر الثالث بعد إحداث الخمج فيها. وهو ذات الشهر الذي بدأت فيه المعالجة، وربما يكون الطفل في هذه المرحلة قد تغلب على مناعة المضيف وبدأ يصبح أكثر فتكاً بالأنسجة الأخرى كالتحالم مثلاً، وهذا قد يوضح حجم الضرر الذي أحدثه الخمج في الكبد وباقي الأنسجة الأخرى مما قد دعا خلايا تلك الأنسجة إلى زيادة إطلاقه. وقد ظهر ارتفاع الإنزيم لدى مجموعة الفئران المعالجة بمستخلص ثمار الدبق حقناً عضلياً إذ تراوحت قيمه ما بين 56 إلى 172 وحدة/لتر. خلال فترة المعالجة. وربما يرجع ذلك إلى حدوث ضرر في الأنسجة العضلية نتيجة الحقن المتكرر فيها، مما قد أدى إلى زيادة إطلاق هذا الإنزيم من قبل خلايا منطقة الحقن [34].

أما عن مجموعتي المعالجة بالبنوتستام وبالمستخلص تجريبياً فمؤياً فقد تراوحت نسب الإنزيم فيها ما بين 63 و 94 وحدة دولية/لتر لمجموعة البنوتستام، و 42 و 60 وحدة دولية/لتر لمجموعة المعالجة بالمستخلص تجريبياً فمؤياً.

النتائج التي أظهرتها الدراسة الحالية والتي أشارت إلى ارتفاع قيمة الإنزيم GPT لدى الفئران المخمجة بطفيل الليشمانيا الإحشائية قد اتفقت مع العديد من الدراسات ومنها الدراسة التي قام بها الباحث Hassan et al (2016) [22] في السودان والذين أكدوا فيها ارتفاع إنزيمات الكبد لدى الأشخاص المخمجين بالليشمانيا الإحشائية. وأيضاً تلك التي أجراها Sarkari, et al. (2016) [23] ، و دراسة Taher et al (2015) [24] والتي أجريت على 50 طفلاً في العراق والتي أوضحت ارتفاع نسب GPT بمقدار 25.40 وحدة دولية/لتر مقابل 8.60 وحدة دولية/لتر لمجموعة السيطرة السالبة. وأيضاً Naseralla, et al. (2015) [25] في دراسته على عينة شملت 50 طفلاً في مستشفيات بغداد والتي أظهرت ارتفاعاً في هذا الإنزيم حيث كانت قيمته 58.43 وحدة دولية/لتر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة والتي كانت قيمته لديهم 20.02 وحدة دولية/لتر. وأيضاً Salwa, et al. (2014) [26] في اليمن والتي أكدت دراستهم على أهمية الإنزيمات الكبدية ومنها GPT لدى الأشخاص المخمجين بالطفيل. وأيضاً وافقت دراسة الباحث Mehdi (2008) [27] في محافظة ذي قار والتي أجراها على أطفال مخمجين بالليشمانيا الإحشائية، حيث وجد ارتفاع إنزيمات الكبد لدى الحالات الشديدة severity cases منهم.

أما عن سمية عقار البنوتستام، فقد اتفقت مع نتائج العديد من الدراسات، والتي أكدت على سمية عقار البنوتستام، ومنها الدراسة التي جاء بها Roychoudhury and Ali (2008) [28] ودراسة Bouree and Belec (1993) [29] على 33 شخصاً كانوا يعانون من الليشمانيا الإحشائية وأخذوا جرعات يومية من عقار البنوتستام إذ أشار الباحثان إلى ارتفاع الإنزيمات الكبدية لديهم. بينما خالفت الدراسة التي قامت بها الباحثة Metwally, et al. (2016) [30] والتي أشارت إلى أن استعمال البنوتستام بتركيز 120 ملغ/كغم يؤدي إلى انخفاض في مستوى GPT في الدم.

وبعكس السمية التي أظهرتها الدراسة الحالية في استخدام البنوتستام، إن استخدام المستخلص الكحولي أقل سمية وذلك من خلال خفضه للإنزيم GPT، ما قد اتفق مع العديد من الدراسات ومنها دراسة Sung, et al. (2013) [31] ، والتي استخدموا فيها مستخلص

جدول 3 : مستويات S.GOT (وحدة دولية لكل لتر IU/L) خلال فترة المعالجة مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة:

S.GOT	مجموعة السيطرة السالبة	مجموعة البنوتستام	مجموعة الحقن العضلي	مجموعة التجريع الفموي
قبل العلاج	44 I	63 fg	56 h	53 h
بعد 5 يوم	48 I	67 fg	70 F	46 I
بعد 10 يوم	74 Ef	94 d	89 de	46 I
بعد 15 يوم	67 Fg	82 de	123 C	50 hi
بعد 20 يوم	78 E	73 f	172 A	42 I
بعد 25 يوم	40 I	66 fg	155 ab	57 h
بعد 30 يوم	55 H	66 fg	148 B	60 gh

*يمثل المعدل لخمسة مكررات.

**الحروف الانكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية، أما الحروف المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن علما ان $p \geq 0.05$.

جدول 4: مستويات S.GOT (وحدة دولية لكل لتر IU/L) خلال فترة المعالجة مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة:

S.GOT	مجموعة السيطرة الموجبة	مجموعة البنوتستام	مجموعة الحقن العضلي	مجموعة التجريع الفموي
قبل العلاج	58 Mn	63 i	56 mn	53 mn
بعد 5 يوم	89 Ij	67 ki	70 ki	46 o
بعد 10 يوم	140 G	94 i	89 ij	46 o
بعد 15 يوم	280 D	82 j	123 h	50 no
بعد 20 يوم	310 D	73 k	172 e	42 o
بعد 25 يوم	365 B	66 ki	155 f	57 mn
بعد 30 يوم	454 A	66 ki	148 fg	60 Im

* يمثل المعدل لخمسة مكررات. **الحروف الانكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية، أما الحروف المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن علما ان $p \geq 0.05$.

مقابل 10.46 وحدة دولية /لتر لمجموعة السيطرة السالبة. وأيضاً (2014) Salwa, et al. [26] في اليمن والتي أظهرت دراستهم وجود أهمية لإنزيمات الكبد لدى الأشخاص المخمجين بالطفيل عن أولئك الأصحاء.

أما عن دور المستخلص الكحولي في خفض الإنزيم GOT فقد اتفقت نتائج المجموعة المعالجة به عن طريق التجريع الفموي مع دراسة (2013) Sung, et al. [31]، والتي استخدموا فيها مستخلص ثمار الدبق الكحولي، إذ أشاروا فيها إلى أن المعالجة به تؤدي إلى خفض هذا الإنزيم. وأيضاً اتفقت مع الدراسة التي قامت بها الباحثة قاسم (2012) [32] والتي استعملت فيها مستخلص بذور الحلبة لمعرفة تأثيرها على الإنزيمات الكبدية لدى الفئران البيض والتي لاحظت فيها انخفاض قيم الإنزيمات الكبدية. بينما خالفهم نتائج حقن المستخلص

النتائج التي تم الحصول عليها والتي أظهرها الجدولان 3 و 4 اعلاه، قد اتفقت مع العديد من النتائج التي توصلت لها الدراسات المختلفة ومنها دراسة الباحث (2016) Hassan, et al. [22] و Sarkari et al. (2016) [23] في ايران، والتي أشاروا فيها إلى ارتفاع الإنزيم GOT في حالات الخمج بالليشمانيا الإحشائية. و (2015) Naseralla, et al. [25] في دراسة أجراها في مستشفيات بغداد على الأطفال المخمجين بالليشمانيا الإحشائية والبالغ عددهم 50 طفلاً، حيث وجد ارتفاعاً كبيراً للإنزيم GOT لديهم، إذ بلغت قيم الإنزيم 87.374 وحدة دولية/لتر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة والتي كانت 32.304 وحدة دولية /لتر على التوالي. وأيضاً أظهرت دراسة قام بها (2015) Taher, et al. [24] على 50 طفلاً في العراق ارتفاع نسب إنزيمات الكبد لديهم إذ كانت قيمته 60.00

الإحصائية إذ تراوحت قيم الإنزيم لدى مجموعة السيطرة الموجبة بين 53 و 103 وحدة دولية/لتر، مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة والتي تراوحت قيم ALP فيها بين 35 و 52 وحدة /لتر. بينما المجموعات المعالجة بالبنيتوستام وبمستخلص ثمار الدبق حقنا عضليا وتجريعا فمويا فقد بلغت قيمته بعد شهر من المعالجة 87 و 68 و 41 وحدة دولية/لتر على التوالي، بعد أن كانت 47 و 55 و 55 وحدة دولية/لتر على التوالي قبل المعالجة.

عضليا في الدراسة الحالية والتي أظهرت ارتفاعا تدريجيا لهذا الإنزيم خلال فترة المعالجة، وذلك قد يكون بسبب الضرر الحاصل في الأنسجة العضلية في موقع الحقن. الدراسة الحالية خالفت نتائج الباحثة (2012) Hiro, *et al.* [33] والذين أشاروا إلى عدم وجود فروق في نسب الإنزيم GOT لدى الفئران المعالجة بمستخلص ثمار الدبق عن تلك التي لم تعالج. أما الجدول 5 و 6 فقد أظهر ارتفاعاً تدريجياً في إنزيم Alkaline phosphatase لدى مجموعة الفئران المخمجة تجريبيا باللشمانيا

جدول رقم 5: يوضح مستويات S.ALP (وحدة دولية لكل لتر IU/L) خلال فترة المعالجة مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة

S.ALP	مجموعة السيطرة السالبة	مجموعة البنيتوستام	مجموعة الحقن العضلي	مجموعة التجريع الفموي
قبل العلاج	49 d	47 de	55 c	55 c
بعد 5 يوم	43 ef	69 b	16 j	30 h
بعد 10 يوم	52 c	12 k	17 j	26 i
بعد 15 يوم	46 de	20 j	25 i	50 cd
بعد 20 يوم	40 f	47 de	9 k	26 i
بعد 25 يوم	35 g	52 cd	20 j	32 gh
بعد 30 يوم	47 de	87 a	68 b	41 f

*الرقم يمثل المعدل لخمس مكررات. **الحروف الانكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية، أما الحروف المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن علما ان $p \geq 0.05$.

السلي على خلايا كوبفر Kupffer cell. وبمقارنة نتائج المجموعات الثلاث المعالجة بالبنيتوستام وبالمستخلص الكحولي للدبق مع مجموعة السيطرة الموجبة يتضح لنا دور العلاج في خفض ALP.

قد كان لاستخدام المستخلص الكحولي للدبق عن طريق التجريع الفموي أفضلية في الاستخدام حيث إن قيمة ALP كانت 41 وحدة دولية/لتر مقارنة مع مجموعة البنيتوستام والتي كانت قيمته فيها 87 وحدة دولية/لتر، وهذا ربما يعود إلى سمية عقار البنيتوستام وتأثيره

جدول رقم 6 : يوضح مستويات S.ALP (وحدة دولية لكل لتر IU/L) خلال فترة المعالجة مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة

S.ALP	مجموعة السيطرة الموجبة	مجموعة البنيتوستام	مجموعة الحقن العضلي	مجموعة التجريع الفموي
قبل العلاج	53 G	47 H	55 fg	55 fg
بعد 5 يوم	59 F	69 E	16 i	30 j
بعد 10 يوم	74 D	12 M	17 i	26 k
بعد 15 يوم	75 D	20 I	25 k	50 gh
بعد 20 يوم	110 A	47 h	9 m	26 k
بعد 25 يوم	93 C	52 g	20 i	32 j
بعد 30 يوم	103 B	87 c	68 e	41 l

*الرقم يمثل المعدل لخمس مكررات. **الحروف الانكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية، أما الحروف المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن علما ان $p \geq 0.05$.

[24] في العراق والتي أظهرت ارتفاع ALP لدى الأطفال الممخمين حيث بلغت 180.23 مقابل 82.62 وحدة دولية/لتر لمجموعة الأطفال الأصحاء. وأيضاً دراسة (2014) Salwa, et al. [26] في اليمن والتي أظهرت وجود أهمية لإنزيمات الكبد لدى الأشخاص الممخمين بالطفيل عن أولئك الأصحاء. واتفقت مع دراسة Mehdi سنة 2008 في دراسة أجراها في محافظة ذي قار على أطفال ممخمين بالليشمانيا الإحشائية والذي وجد ارتفاع إنزيمات وظائف الكبد لدى الحالات الشديدة severity cases منهم.

من خلال النتائج التي توصلت لها الدراسة الحالية نستنتج بأن للمستخلص الكحولي لثمار نبات الديق أهمية علاجية ضد الليشمانيا الإحشائية أو الكلازار وأنه ذو سمية منخفضة مقارنة بالعقار البننوستام والمستخدم طبياً في معالجة المرض.

قد يكون الارتفاع التدريجي بقيم الفوسفات القاعدية لمجموعة السيطرة الموجبة في غضون الشهر الثالث بعد إحداث الخمج تجريبياً عائداً إلى حجم الضرر الذي بدأ يسببه الطفيل للقنوات الصفراوية فضلاً عن الخلايا الكبدية المعروفة بخلايا كوففر. إن ارتفاع الفوسفات القاعدية لدى الحيوانات المختبرية الممخجة تجريبياً بالليشمانيا الإحشائية والذي أظهرته مجموعة السيطرة الموجبة قد تم تأكيده من قبل العديد من الدراسات، ومنها دراسة الباحث Hassan, et al. (2016) [22] في السودان، ودراسة (2016) Sarkari, et al. [23] في إيران، و(2015) Naseralla, et al. [25] والتي أجراها على 50 طفلاً في مستشفيات بغداد ممخمين بالليشمانيا الإحشائية والتي أظهرت ارتفاع قيمة ALP لديهم لتبلغ 238.14 وحدة دولية/لتر، مقارنة مع مجموعة السيطرة للأطفال الأصحاء والتي بلغت قيمة لديهم 132.94 وحدة دولية/لتر. واتفقت الدراسة مع نتائج Taher, et al. (2015).

المصادر

- 1- Quinnell, R.J. and Courtenay, O. (2009). Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis, *Parasitology*, 136 (2009), pp. 1915–1934.
- 2- Alvar, J.; Velez, I.D.; Bern, C.; Herrero, M.; Desjeux, P.; Jannin, J.; den Boer, M. and WHO Leishmaniasis Control Team.(2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One* 7: 35671.
- 3- Sahni, G.S.(2012) .Visceral leishmaniasis (Kala-azar) without splenomegaly. *Indian Pediatrics*; 49:590-591.
- 4- Faleiro, R.; Kumar, R.; Hafner, L. and Engwerda, C. (2014). Immune regulation during chronic visceral leishmaniasis. *PloS. Negl. Trop. Dis.*, 8(7): 2914.
- 5- Mansueto, P.; Seidita, A.; Vitale, G. and Cascio, A. (2014). Leishmaniasis in travelers: A literature review. *Travel Med Infect Dis* 2014; 12(6): 563–81.
- 6- Kasarala, G. and Tillmann, H. (2016). Standard Liver Tests. *J. An Official Learning Resource of AASLD*. 8 (1): 13 – 18.
- 7- Lee, D.H.; Silventoinen, K.; Jacobs, D.R.; Jousilahti, P. and Tuomileto, J. (2004). Glutamyltransferase, obesity, and the risk of type 2 diabetes: Observational cohort study among 20,158 middle-aged men and women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* , 89, 5410–5414.
- 8- Kwo, P.Y.; Cohen, S.M. and Lim, J.K.(2016). ACG Practice Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *J Gastroenterol advance online publication*, 20, 1 – 18.
- 9- Oryan, A. and Akbari, M. (2016). *Worldwide risk factors in leishmaniasis. Asian Pacific journal of tropical medicine*. 9 (10): 925–932.
- 10-Zijlstra, E.E. and el-Hassan, A.M. (2001). Leishmaniasis in Sudan. *Visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg* 95 Suppl 1: S27–S58. PMID: 11370250 .

- 11-Guerin, P.J.; Olliaro, P.; Sundar, S.; Boelaert, M.; Croft, S.L.; Desjeux, P.; Wasunna, M.K. and Bryceson, A.D.(2002). Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *Lancet Infect*, 2: 494-501.
- 12-Vanaerschot, M.; De Doncker, S.; Rijal, S.; Maes, L.; Dujardin, J.C. and Decuypere, S. (2011).Antimonial resistance in *L. donovani* is associated with increased *in vivo* parasite burden. *PLoS One*; 6: 23120.
- 13-World Health Organization. (2010). Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. WHO Technical Report Series 949, p. 55-186. ISBN 9789241209496.
- 14- "Recommendations for Treating Leishmaniasis with Sodium Stibogluconate (Pentostam) and Review of Pertinent Clinical Studies". *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 46 (3): 296–306
- 15-Bell, T.L.; Adams, M.A., and Rennenberg, H. (2011). Attack on all fronts: Functional relationships between aerial and root parasitic plants and their woody hosts and consequences for ecosystems. *Tree Physiol.*, 31, 3–15.
- 16-Bremer, K; Chase, M. W.; Stevens, P.F. (1998). An ordinal classification for the families of flowering plants. - *Ann. Missouri Bot. Gard*. 85: 531-553.
- 17-Taiga, A.(2013). Quantitative phytochemical properties of mistletoe (*V. album*) from five different plants. *J, Agricultural and Environmental Management Vol. 2(6)*, pp. 150-153 .
- 18-Goebell, P.J.; Otto, T.; Suhr, J. and Rübber, H. (2002)Evaluation on an unconventional treatment modality with mistletoe lectin to prevent recurrence of superficial bladder cancer: a randomized, phase II trial. *J. Urol.* ;168(1):72-5.
- 19-Lim, Y.C.; Rajabalaya, R.; Lee, S.H.F.; Tennakoon, K.U.; Le, Q.; Idris, A.; Zulkipli, I.N.; Keasberry, N. and David, S.R. (2016). Parasitic

- Mistletoes of the Genera *Scurrula* and *Viscum*: From Bench to Bedside. J. Molecules, 21, 1048, doi:10.3390/molecules21081048 .
- 20-Taskin, M.K.; Caliskan, O.A.; Abou – Gazar, H.A.A.; Khan, I.A. and Bedir, E.(2005). Triterpene Saponins from *Nigella sativa* L., Turk J. Chem, 29,561 – 569.
- 21-Montesino, N.L.; Kaiser, M.; Brun, R. and Schmidt, T.J. (2015). Search for Antiprotozoal Activity in Herbal Medicinal Preparations; New Natural Leads against Neglected Tropical Diseases. J. Molecules, 20, 14118-14138.
- 22-Hassan, Z.A.; Idris, O.F., Gourashi,R.A. and Wadidi, S. (2016). Impact of Visceral Leishmaniasis on Liver Function in Gadaref State – Sudan, J. European Academic Research , Vol. IV.Issue 9: 2286 – 4822.
- 23-Sarkari, B.; Naraki, T.; Ghatee, M. A.; Khabisi, S. A. and Davami, M. H. (2016). Visceral Leishmaniasis in Southwestern Iran: A Retrospective Clinico-Hematological Analysis of 380 Consecutive Hospitalized Cases (1999–2014). PLOS Published: March 4, 2016 .
- 24-Taher, J.H.; Abdullah, N.A.; Mohammad, S. and Faris, E.(2015). Evaluation of some enzymes levels in Iraqi children infected with visceral Leishmaniasis. Der Pharma Chemica, 7 (10):1-5.
- 25-Naseralla, B.A.; Al-Quraishi, M.A.; Jebur, M.S.(2015). Serological detection and liver functions of pediatric visceral leishmaniasis in Baghdad hospitals. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 4(1): 100-107.
- 26-Salwa, A.G.; Hezam, A. and Mohammed, A. (2014). Biochemical and hematological levels in patients with cutaneous leishmaniasis in Yemen. Int. J. Pharm. Sci. Invent., 3(5): 30 35.
- 27-Mehdi, D.S. (2008). The effect of visceral leishmaniasis on some liver enzyme and blood parameter. J Thi-Qar University, No.1,Vol.4.
- 28-Roychoudhury, J. and Ali ,N.(2008). Sodium Stibogluconate : Therpeutic use in the management of leishmaniasis. Indian journal of Biochemistry and Biophysics, Vol. 45, pp. 16 – 22.
- 29-Bouree, P. and Belec, L.(1993). Leishmaniasis: report of 33 cases and a review of the literature. Comp Immun Microbiol Infect Dis.,16:251–265.
- 30-Metwally, D.M.; Al-Olayan, E. M.; El-Khadragy, M. F and, Alkathiri, B. (2016). Anti-Leishmanial Activity (*In vitro* and *In vivo*) of Allicin and Allicin Cream Using *Leishmania major* (Sub-strain Zymowme LON4) and Balb/c Mice .J. PLoS ONE 11(8): 0161296.
- 31-Sung, N.Y.; Byun, E.B.; Song ,D.S.; Jin ,Y.B.; Kim, J.K.; Park, J.H.; Song, B.S.; Jung, P.M.; Byun, M.W.; Lee, J.W.; Park, S.H and Kim, J.H. (2013). Effect of gamma irradiation on mistletoe (*V. album*) lectin - mediated toxicity and immunomodulatory activity. US national library of medicine national institutes of health , 22;3:106-11. doi: 10.1016/j.fob.01.003. Print 2013.
- 32- قاسم، هديل محمد (2012). تأثير مستخلص بذور الحلبة في الخلايا وانزيمات الكبد في ذكور الفئران البيض ، المجلة العراقية للعلوم ،مجلد 53 ، العدد 1: 62 _ 67 .
- 33-Hiro, M.O.; Al-Alousi, T.I. and Al-Jboori, A.H. (2012). The *in vivo* effect of some medicinal plant extracts on *Cryptosporidium* parasite. J. university of anbar for pure science , Vol.6: NO.3.
- 34-Lee, D.H.; Silventoinen, K.; Jacobs, D.R.; Jousilahti, P. and Tuomileto, J. (2004). Glutamyltransferase, obesity, and the risk of type 2 diabetes: Observational cohort study among 20,158 middle-aged men and women. J. Clin. Endocrinol. Metab., 89, 5410–5414.

A Comparative Study of the Effect of Alcoholic Extract of *Viscum album* and the Pentostam in mice infected with *Leishmania donovani* on the Levels of GOT, GPT and ALP

Maksood A.M. Al-Doori¹, Tawfiq I. Al-Alousi², Abdulla H. Al-Jboori³

¹ Technical institute in Al-Dour , Northern Technical University , Al-Dour , Iraq

² Veterinary Medicine College , Tikrit University , Tikrit , Iraq

³ Medicine College Tikrit University, Tikrit , Iraq

Abstract

The present study was designed to examine the toxic effect of *Viscum album* extracted alcohol on mice which were experimentally infected with *Leishmania donovani* compared with pentostam. The study showed a gradual increasing in S. GPT enzyme in the animals, between 400 and 790 IU / L for the positively controlled group comparing with the negative one. For the toxicity of the extracted alcohol, the results of the treatment showed that the hepatic enzymes S.GPT and S.GOT contained low toxicity resulted in reduced S.GPT values from 402 and 412 to 240 and 232 IU / L for the treated groups in muscle injection and oral dosage methods, respectively, comparing with the pentostam group. The S.GOT showed a rise in the muscly injected group from 56 to 148 IU / L after thirty days of treatment.