التأثير المدرر للمستخلص المائي لورق الزيتون (Olea europea) في ذكور الجرذان البالغة

براء نجم عبد الله خالصة كاظم خضير باسم شابا توما

فرع الفسلجة والأدوية –كلية الطب البيطري /جامعة بغداد

الخلاصة

صممت هذه الدراسة لمعرفة تأثير المستخلص المائي لورق الزيتون (Olea europea L) في بعض المعايير الوظيفية الكلوية في ذكور الجرذان البالغة .استخدم 18 جرذ بالغ قسمت عشوائياً إلى ثلاثة مجاميع متساوية و وضعت فراداً في أقفاص ايضية وعوملت كآلاتي :مجموعة السيطرة (س) جرعت الماء المقطر ،في حين أعطيت مجموعة المعاملة الأولى (م1) (90 ملغم/كغم من وزن الجسم) من المستخلص المائي لورق الزيتون ،أما مجموعة المعاملة الثانية (م2) فقد جرعت (0.8 ملغم/كغم من وزن الجسم) من عقار اميورتيك ، تم جمع عينات من الدم و الإدرار بعد24 ساعة من التجريع، أظهرت النتائج وجود زيادة معنوية في حجم الإدرار المطروح و تركيز ايوني الصوديوم و البوتاسيوم في الإدرار بعد 24 ساعة من تجريع الحيوانات بالمستخلص مقارنة مع مجموعة السيطرة . لقد استخدمت تصفية الكرياتنين كمقياس لمعدل الترشيح الكبيبي (م ت ك) و قد لوحظت زيادة معنوية في تصفية الكرياتنين في مجموعتي المعاملة م1، م2 مقارنة مع السيطرة .نستنتج من نتائج هذه الدراسة أن لورق الزيتون تأثير مدرراً في الجرذان من خلال زيادة حجم الإدرار و الطرح البولي لايوني الصوديوم و البوتاسيوم و زيادة تصفية الكرياتنين.

Diuretic effects of aqueous extract of Olive Leaves (Olea europea) in adult male rats.

B.N.Abdullah, K.K.Khudiar and B.S.Toma

Department of physiology and pharmacology, Collage of Veterinary Medicine. University of Baghdad.

Summary

This study was carried out to investigate the effects of aqueous extract of olive leaves (Olea europea) on kidney functions. Eighteen adult male rats were randomly divided in to three equal groups placed individually in metabolic cages and were handled as follows: group (C) served as control group; rats in group (T_1) were intubated (90 mg/kg B.W.) of aqueous extract of olive leaves and rats in group T_2 were intubated (0.8 mg/kg B.W.) of ammuretic. Blood and urine samples were collected after 24 hours of

intubation. The results showed a significant increase in urinary output accompanied by an increase in urinary sodium and potassium ions concentration in the olive leaves treated group only. Creatinine clearance (as an index for glomerular filtration rate) increased significantly in both treated groups, it is concluded that olive leaves extract may cause its diuretic effect by increasing the glomerulor filtration rate.

المقدمة

تم التوجه في السنوات الأخيرة إلى استخدام النباتات الطبية لعلاج الكثير من الحالات المرضية بدلاً من العقاقير المصنعة كيميائياً نظراً للآثار الجانبية الكثيرة التي تصاحب استخدام الأخيرة [1] . و تستخدم حالياً المستخلصات المائية أو الكحولية لبذور أو أوراق أو جذور لكثير من النباتات كالثوم و بذور الحبة السوداء و أوراق اليوكاليبتوس و أوراق الزيتون في علاج داء السكري [2و3و4و5] ،على التوالي .كما تستخدم نباتات أخرى مثل بذور المعدنوس [6] و كفشة الذرة[7] كمواد مدررة للبول .

لقد استخدمت شجرة الزيتون و لعدة قرون مضت (الزيت و الأوراق) في مجال الطب الشعبي كمادة مخفضة للسكر و للحرارة [7] .كما تستخدم أوراق الزيتون كمادة مخفضة لضغط الدم و موسعة للأوعية الدموية [9,8] .و في دراسة حديثة استخدم المستخلص المائي لورق الزيتون في تقليل مستوى الكولستيرول الكلي في الدم و مستواه في البروتينات الشحمية ذات الكثافة الواطئة (LDL-C) و الواطئة جداً(VLDL-C) في أمصال الجرذان المستحدث بها تصلب الشرايين تجريبيا فضلاً عن خفض شدة الإصابة بالتصلب العصيدي [10] .

و نظراً للدور الذي تلعبه أوراق الزيتون في تخفيض ضغط الدم و في علاج أمراض القلب ،فقد تم تصميم هذا البحث لدراسة تأثير المستخلص المائي لورق الزيتون في بعض الجوانب الوظيفية الكلوية في الجرذان و مقارنته مع أحد الأدوية المدِّررة شائعة الاستخدام.

المواد و طرق العمل

حيوانات التجربة :

استخدم في هذه الدراسة (18) ذكراً من الجرذان البيضاء البالغة ،تراوحت أوزانها بين 210-230 غم . وضعت في أقفاص ايضية مفردة (Metabolic cages) في غرفة تراوحت درجة حرارتها ما بين (22-27)°م . و تم تقديم العلف المركز خلال فترة التجربة بشكل حر.قسمت الحيوانات عشوائياً إلى ثلاث مجاميع متساوية و كما يأتي:-

1- مجموعة السيطرة (س): جرعت الماء المقطر

2- مجموعة المعاملة(م1): جرعت المستخلص المائي لورق الزيتون لجرعة مقدارها (90 ملغم/كغم من وزن الجسم) اعتمادا على دراسة سابقة [10].

3- مجموعة المعاملة الثانية (م2): جرعت عقار اميورتك * بجرعة مقدارها (0.8 ملغم/كغم من وزن الجسم) و الموصوفة من قبل Opie [11] .

تركت الحيوانات في الأقفاص الايضية لمدة يومين قبل التجريع لغرض التعود عليها . بعد ذلك جرعت بالمواد قيد الدراسة باستخدام (Cavage needle). بعد مرور 24 ساعة من التجريع جمعت عينات الإدرار في أنابيب مصممة لهذا الغرض. أما عينات الدم فقد تم جمعها باستخدام طريقة الوخز القلبي Cardiac puncture . تم فصل بلازما الدم باستخدام الهيبارين كمانع تخثر وحفظ في المجمدة -20°م .

المعايير المستخدمة:-

في هذه الدراسة تم حساب المعايير التالية التي لها علاقة بالمعالم الوظيفية الكلوية و التي شملت:-

1- تركيز آيوني الصوديوم و البوتاسيوم في الإدرار (12) باستخدام جهاز مقياس ضوء اللهب (JENWAY, Felsted, G.T.Dunmow,U.K).

2- تقدير مستوى الكرياتنين في بلازما الدم حسب طريقة Jaff [13] .

3- تقدير مستوى الكرياتنين في الإدرار حسب طريقة Follin [12] .

4- حساب معدل الترشيح الكبيبي (GFR) من خلال حساب تصفية الكرياتنين وفقاً للمعادلة المذكورة في [14].

5- قياس حجم الإدرار المطروح باستخدام أنابيب مدرجة محمولة اسفل الأقفاص الايضية .

6- قياس حجم الماء المستهلك باستخدام قناني مدرجة مصممة لهذا الغرض .

تحضير المستخلص:-

تم جمع أوراق الزيتون وتم فحصها وتصنيفها في الهيئة العامة لفحص و تصديق البذور/المعشب الوطني – بغداد. طحنت الأوراق بعد تنظيفها و تجفيفها ثم حفظت في أكياس بلاستيكية لحين الاستعمال .حضر المستخلص المائي لورق الزيتون حسب طريقة Harbone(1975) [15] .

إنتاج شركة دار الدواء ، ناعور ، الأردن *Ammuretic: Hydrochlochlorothiazide 50mg.

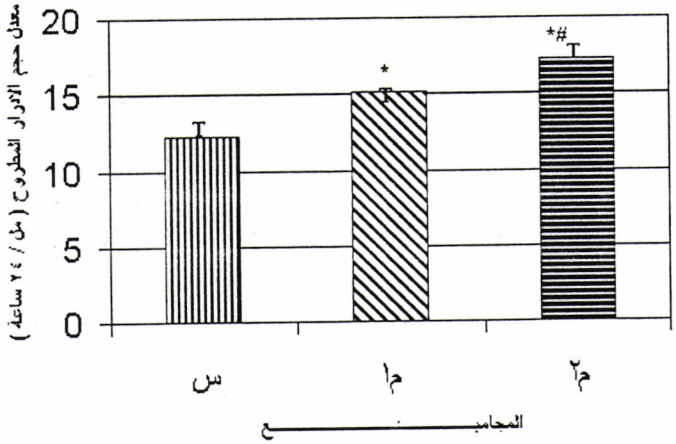
Amiloride 5mg

تم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام تحليل التبـــاين الأحـــادي one- way analysis of variance و اختبار الفرق المعنوي الأصغر LDS بهدف معرفة الفروق المعنوية بين المعدلات[16]. و عدت الفروق معنوية على مستوى 5%.

النتائج

يبين الشكل (1) معدلات حجم الإدرار المطروح (مل/24 ساعة) من قبـــل الجـــرذان فـــي مجاميع التجربة .يظهر من الشكل وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في حجم الإدرار المطروح فـــي المجموعتين (م1) و (م2) مقارنـــة مـــــــع مجموعـــة الســـيطرة (س) حيـــث بلغـــت معدلاتـــها (15.12 ± 0.38) و (17.20 ± 0.78) و (12.30 ± 0.73) للمجاميع الثلاث ، على التوالي .كمـــا تشير النتائج إلى وجود فرق معنوي($P<0.05$) بين م1 و م2 عند مقارنتهما مع بعضهما .

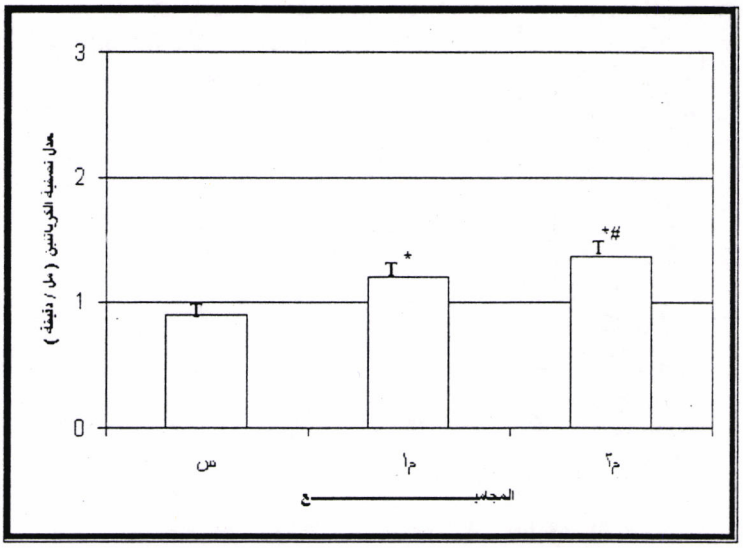
إن معدلات تصفية الكرياتنين (مل / دقيقة) بلغـــت (0.08 ± 0.89) و (0.04 ± 1.20) و(0.10 ± 1.44) لمجاميع السيطرة و م1 و م2 ، على التوالي (شكل – 2).



شكل (1) يبين معدل حجم الإدرار المطروح في الجرذان

س = السيطرة .م 1 =المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورق الزيتون 90 ملغم / كغم من وزن الجسم .م 2 = المجموعة المعاملة بعقار اميورتيك (0.8 ملغم / كغم من وزن الجسم) .الأرقام تمثل المعدل ± الخطأ القياســـي . عدد الحيوانات في كل مجموعة = 6.

* تشير إلى وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) مقارنة مع س .



شكل (2) يبين معدل تصفية الكرياتنين في الجرذان

س = السيطرة . م ١ =المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورق الزيتون (90 ملغم / كغم وزن الجسم)
.م 2 = المجموعة المعاملة بعقار اميورتيك (0.8 ملغم / كغم من وزن الجسم) . الأرقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي. عدد الحيوانات في كل مجموعة = 6.

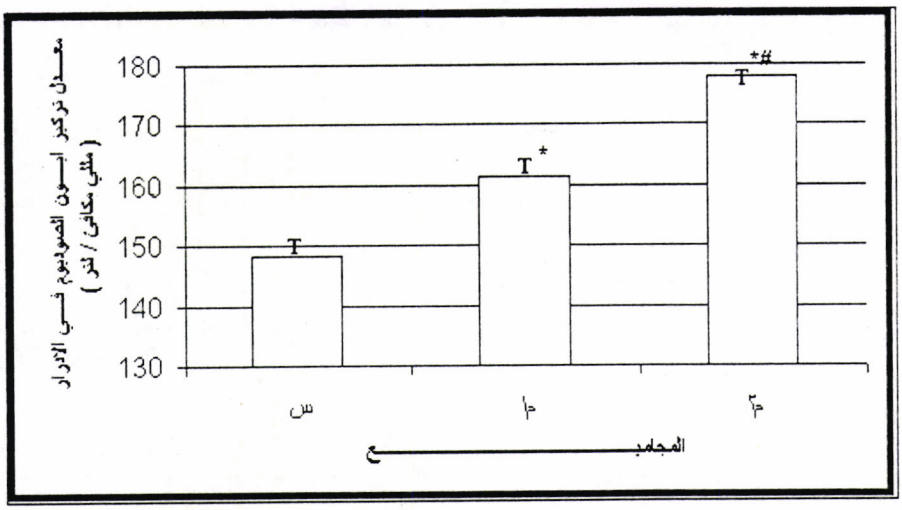
* تشير إلى وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) مقارنة مع س .

تشير إلى وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) مقارنة مع م١ .

تظهر النتائج وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في معدل تصفية الكرياتنين في مجموعتي المعاملة بالمستخلص و بالعقار مقارنة بمجموعة السيطرة. كذلك لوحظ وجود فرق معنوي بين المجموعتين المعاملتين عند مقارنتها مع بعضها ($P<0.05$).

يوضح الشكل (3) معدلات تركيز أيون البوتاسيوم في الإدرار (ملي مكافئ /لتر) لمجاميع التجربة . حيث بلغ معدله في الإدرار(2.18 ± 148.30) و (2.10 ± 161.50) و(2.60 ± 178.1) في مجاميع س و م١ و م2 ، على التوالي .

تشير النتائج إلى وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في تركيز أيون الصوديوم في الإدرار في المجموعة التي جرعت المستخلص و المجموعة التي جرعت عقار اميورتيك مقارنة مع مجموعة السيطرة.كما لوحظ وجود فرق معنوي ($P<0.05$) عند مقارنة المجموعتين المعاملتين م١ و م2 مع بعضهما.



شكل (3) يبين معدل تركيز أيون الصوديوم في الإدرار في المجاميع المعاملة

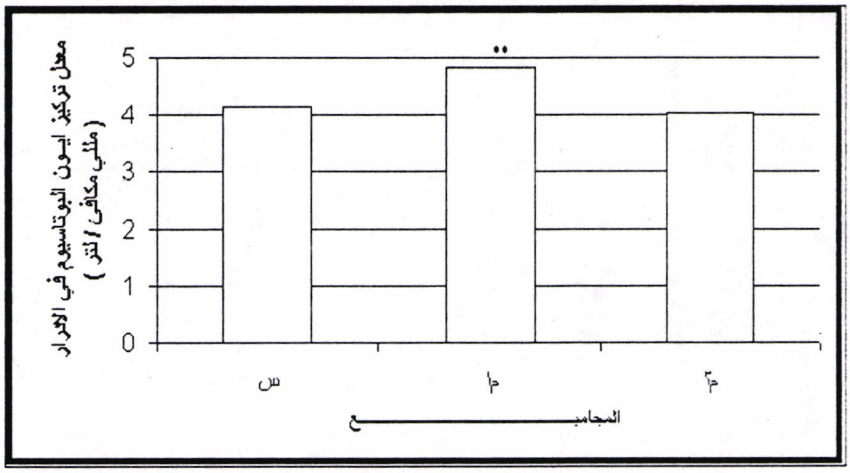
س = السيطرة . م 1 =المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورق الزيتون (90 ملغم / كغم من وزن الجسم) .م 2 = المجموعة المعاملة بعقار اميورتيك (0.8 ملغم / كغم من وزن الجسم) . الأرقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي. عدد الحيوانات في كل مجموعة = 6.

* تشير إلى وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) مقارنة مع س .

تشير إلى وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) مقارنة مع م1 .

إن معدلات تركيز أيون البوتاسيوم في الإدرار (مللي مكافئ / لتر) للمجاميع المعاملة الثلاث موضحة في الشكل (4) .حيث يظهر الشكل وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في تركيز هذا الأيون في إدرار المجموعة المعاملة بالمستخلص (م1) مقارنة مع مجموعة السيطرة .إذ بلغ معدله (4.57 ±0.08) و (4.57 ±0.03) ، على التوالي.فضلاً عن ذلك فقد لوحظ وجود فرق معنوي بين المجموعتين المعاملتين م1 و م2 عند مقارنتهما مع بعضهما ($P<0.05$).

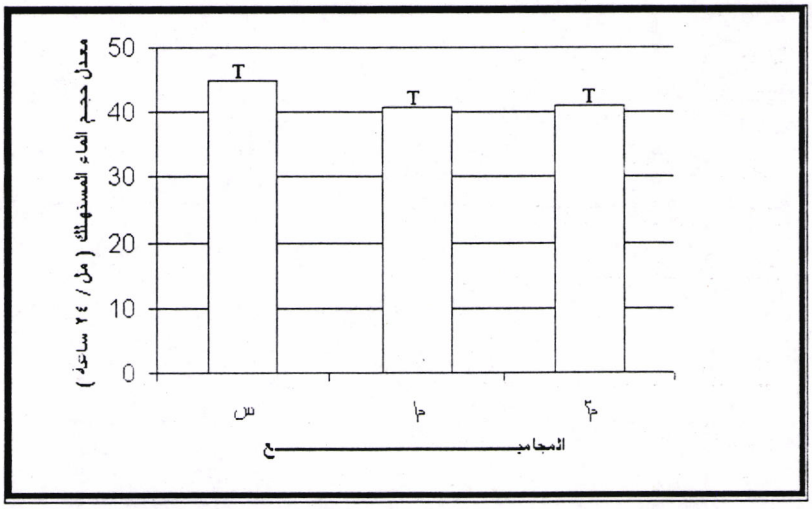
أما الشكل (5) فيوضح معدلات حجم الماء المستهلك (مل/24 ساعة) في مجاميع التجربة. يبين الشكل عدم وجود فرق معنوي ($P<0.05$) في حجم الماء المستهلك في المجموعتين المعاملتين م1 و م2 مقارنة مع مجموعة السيطرة أو عند مقارنتهما مع بعضهما.



شكل (4) يبين معدل تركيز أيون البوتاسيوم في الإدرار في الجرذان

س = السيطرة . م ١ =المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورق الزيتون (90 ملغم / كغم من وزن الجسم) .م ٢ = المجموعة المعاملة بعقار اميورتيك (0.8 ملغم / كغم من وزن الجسم) . الأرقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي. عدد الحيوانات في كل مجموعة = 6.

* تشير إلى وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) مقارنة مع س و م 2.



شكل (5) يبين معدل حجم الماء المستهلك في الجرذان

س = السيطرة . م ١ =المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورق الزيتون (90 ملغم / كغم من وزن الجسم) .م ٢ = المجموعة المعاملة بعقار اميورتيك (0.8 ملغم / كغم من وزن الجسم) . الأرقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي. عدد الحيوانات في كل مجموعة = 6

المناقشة

لقد تسبب المستخلص المائي لورق الزيتون بجرعة (90 ملغم/ كغم من وزن الجسم) في حدوث زيادة معنوية ($P<0.05$) في حجم الإدرار المطروح ،تركيز ايوني الصوديوم و البوتاسيوم في الإدرار و معدل الكرياتنين (معدل الترشيح الكبيبي) (شكل -1 ،2 ،3، 4)، مما يشير إلى التأثير المدرر لورق الزيتون .و تُعد هذه الدراسة الأولى من نوعها لمعرفة التأثير المدرر لورق الزيتون للأصناف المحلية في حين وردت في أحد المراجع إشارة غير مباشرة إلى تأثير مستخلص ورق الزيتون في تخفيض الضغط و حامض البوليك في الجرذان[9] .

إن آلية زيادة حجم الإدرار المطروح و زيادة تركيز ايوني الصوديوم و البوتاسيوم فيه شكل(3،4) في الجرذان المعاملة بالمستخلص المائي لورق الزيتون قد تكون من خلال زيادة ازموزية السائل المترشح و التي قد تؤدي إلى عرقلة إعادة امتصاص الماء و من ثم احتباسه داخل تجويف النبيب مؤدية إلى زيادة حجم الإدرار[17] . كما أن الزيادة في معدل الطرح البولي لأيون البوتاسيوم شكل (4) قد يشير إلى أن بعض المواد الفعالة في مستخلص ورق الزيتون قد تعمل عمل المواد المثبطة لأنزيم كاربونيك انهايدريز(C.A) مثلما يعمل عقار هايدروكلوثيازايد.إذ أن تثبيط أنزيم C.A يعمل على زيادة ازموزية الراشح و ذلك نتيجة لتثبيطها إعادة امتصاص جذر البيكاربونات (HCO_3) و زيادة تركيزه في تجويف النبيب مؤدياً بالتالي إلى زيادة حجم الإدرار (18)، أو ربما يكون الانخفاض في مستوى هرمون الالدوستيرون، أو حدوث تغيرات في ديناميات الدم الكلوية[19،20] هي أحد العوامل المؤدية إلى الزيادة في حجم الإدرار المطروح و تركيز أيون الصوديوم و البوتاسيوم فيه. و على العموم إن الزيادة في حجم الإدرار في التجربة الحالية قد يكون بسبب احتواء المستخلص المائي لورق الزيتون على بعض المواد الفعالة ذات التأثير المدرر و التي قد تُحدث تأثيرها من خلال إحداث تغيير في واحد أو اكثر من الاحتمالات المذكورة آنفا.

لقد تم اعتماد تصفية الكرياتنين في هذه الدراسة بوصفها مقياساً لمعدل الترشيح الكبيبي (م ت ك) في الجرذان (21).إن أية زيادة في معدل (م ت ك) تؤدي إلى زيادة في حجم الإدرار و زيادة في طرح الصوديوم فيه (14).أوضحت نتائج هذه الدراسة وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في تصفية الكرياتنين في المجموعة المعاملة بالمستخلص مقارنة مع مجموعة السيطرة .لذلك من الممكن تفسير الزيادة الحاصلة في حجم الإدرار و في طرح أيون الصوديوم في هذه الدراسة كنتيجة لزيادة (م ت ك).إن معدل الترشيح الكبيبي يتأثر بشكل كبير بمعدل جريان الدم إلى الكلية [14] و على هذا

الأساس يمكن أعزاء الزيادة الحاصلة في تصفية الكرياتنين إلى ارتفاع (م ت ك) الذي قد يكون كنتيجة لزيادة جريان الدم الكلوي.

أظهرت النتائج وجود انخفاض غير معنوي ($P>0.05$) في معدل حجم الماء المستهلك في المجموعة المعاملة بالمستخلص مقارنة مع مجموعة السيطرة (الشكل 5). قد يعود هذا الانخفاض إلى نقصان ازموزية بلازما الدم و زيادتها في الإدرار بسبب طرح أيون الصوديوم فيه ، و هذا بدوره يؤدي إلى انخفاض في ازموزية كل من السائل خارج الخلايا أولا ثم السائل داخل الخلايا .و من المعروف أن انخفاض ازموزية السائل داخل الخلايا سيؤدي إلى عدم الشعور بالعطش و بالتالي قلة استهلاك الماء[22]، إن عدم توفر جهاز لقياس الازموزية اصبح عائقاً في وضع تفسير ملائم لهذه المعايير.

يستنتج من نتائج هذه الدراسة أن الزيادة الحاصلة في حجم الإدرار و زيادة تركيز أيون الصوديوم فيه تحت تأثير المستخلص ،قد تكون ناتجة عن ارتفاع (م ت ك) بسبب حدوث تغيرات في دينميات الدم الكلوية.من جهة أخرى قد يكون تأثير مستخلص ورق الزيتون في الكلية و مواقع عمله مشابهة لعقار الاميورتيك ما عدا في معدل طرح البوتاسيوم .إن المراجع العلمية تفتقر إلى الدراسات المتعلقة بآلية التأثير المدرر للنباتات الطبية لذلك يصعب وضع تفسير ملائم للنتائج في الوقت الحاضر.

References

1- الجبوري ، علي عواد و الراوي ، محمد عبد الله (1993) . علم الأدوية الطبيعية – جامعة بغداد

2- العمر ، لمى وليد خليل (1994) . تأثير الثوم على مستوى الكلوكوز و الكولستيرول في الأرانب السليمة و المصابة بداء السكر . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.

3- الاسدي ، إخلاص حاتم عبد الأمير (2000) . تأثير اللكتين المعزول من بذور الحبة السوداء Nigella sativa في مستوى سكر و كولستيرول و بروتينات مصل الدم . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.

4- المشهداني ، هدى عارف جاسم (1999). تأثير مستخلص أوراق اليوكاليبتوس Eucalyptus calmaldulensis على مستوى السكر و بروتينات مصل دم الأرانب السليمة المحدث بها داء السكر تجريبيا . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

5- الكاكي ، إسماعيل صالح (1999). تأثير بعض النباتات المخفضة لسكر الدم في بيروكسدة الدهن و مستوى الكلوتاثايون و بعض الجوانب الكيمياوية في ذكور الأرانب السليمة و المصابة بداء السكر التجريبي . رسالة دكتوراه ، كلية الطب البيطري – جامعة الموصل .

6- العقيلي ، براء نجم (1999). تأثير مستخلص بذور نبات المعدنوس Petroselinum sativum في وظيفة الكليتين في الجرذان . رسالة دكتوراه ، كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

7- الزبيدي ، زهير نجيب ؛ بابان ، هدى عبد الكريم و فليح ، فارس كاظم (1996) . دليل العلاج بالأعشاب الطبية العراقية . شركة أب للطباعة الفنية المحدودة ، بغداد – العراق.

8- Chiej, R. (1984). MacDonald Encyclopedia of Medicinal Plants. MacDonald and Co. Publishers Ltd. London. P: 18, 209.

9- Fehri, B.; Aiache, J. M.; Memmi, A.; Korbi, S.; Yacoubi, M. T.; Mad, S.; and Lamasion, J. L. (1994). Hypotension, hypoglycemia and hypouricemia recorded after repeated administration of aqueous leaf extract of Olea europaea L. J. Pharm-Belg., 49 (2): 101 – 8.

10- Khudiar, K. K. (2000). The role of aqueous extract of Olive (Olea europaea) leaves and garlic (Allium sativum) in a meliorating the effects of experimentally induced atherosclerosis in rats. Ph.D. Thesis, College of Veterinary Medicine. University of Baghdad.

11- Opie, L. H. (1984). Drugs of the heart. 1st ed. Crine and Stratton Inc. Orlando. Florida. PP: 5, 109.

12- Wooton, I. O. P. (1964). Micro – Analysis in Medical Biochemistry. 4th ed. J & A Churchill LTD. London.

13- Tietz, N. M. (1976). Electrolytes .In: Fundamentals of Clinical Chemistry. Tietz, N. W. (Ed.). Chap.15. Saunders, W. B. Company. Philadelphia. London. Toronto.

14- Vander, A.; Sherman, J. and Luciano, D. (1998). Human Physiology. 7th Ed. Chap.16. WCB. MacGraw –Hill.

15- Harbone, J. B.; Mabray, T. J. and Mabray, H. (1975). Physiology and Function of Flavonoids. The Favoids Acad. Press. New York, San Francisco. PP: 970 –1042.

16- Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. (1973). Statistical methods. 6th Ed. The Iowa State University Press.

17- Goldberg, M. and Ramirez, M. A. (1967). Effects of saline and mannitol diuresis on the renal concentrating mechanism in dogs: alteration in renal tissue solutes and water. Clin. Sci., 32: 475 – 493.

18- Bleich and Greger, R. (1997). Mechanism of action of diuretics. Kidney Int. Vol. 51. Suppl. 59. PP: S11 – S15.
19- Lorenz, J. N.; Weihprecht, H.; Schnermann, J.; Skott, O. and Briggs , J. P. (1990). Characterization of the macula densa stimulus for renin secretion. Am. J. Physiol., 28 (Renal Fluid Electrolyte Physiol.1): F186 – F193.
20- Spark, H. V. and Rooke, T. W. (1987). Essential of Cardiovascular Physiology. University of Minnisota Press. Minneapolis. PP: 155 – 195.
21- Sullivan, L. P. and Grantham, J. J. (1982). Physiology of Kidney 2nd ed. Lea & Febigar. Philadelphia. PP: 41 – 54.
22- Dunn, F. L.; Bernnan, J. J.; Nelson, A. E. and Robertson, G. L. (1973). The role of blood osmolarity and volume regulating vassopressin secretion in the rats. J. Clin. Invest.,52 : 3212.