------مجلة علوم الرافدين، المجلد 23، العدد 1، ص67-78،2012------

تأثير مسحوق بذور العنب في بعض مستويات مضادات الأكسدة وبيروكسدة الدهن لذكور الجرذان البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي

منى حسين جانكير
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل

ركزان محمود داؤد
قسم الكيمياء
كلية التربية للبنات
جامعة الموصل

إيمان سالم محمود
قسم علوم الحياة
كلية التربية للبنات
جامعة الموصل

E. mail:
munahj04aa@yahoo.com

(تاريخ الاستلام 13/ 6 / 2011 ؛ تاريخ القبول 5 / 9 / 2011)

الملخص

تضمنت الدراسة الحالية معرفة تأثير مسحوق بذور العنب *Vitis vinifera* في قدرته على الحماية من الإجهاد التأكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 0.5 % المستهلك في ماء الشرب من قبل ذكور الجرذان البيض *Rattus norvegicus* بعمر 2.5 – 3 أشهر، ثم قسمت الجرذان عشوائياً إلى خمس مجموعات بواقع (5 جرذ/ مجموعة) وغذيت بعليقة مضافاً إليها مسحوق بذور العنب بتراكيز مختلفة 200، 400، 600 ملغم / كغم من وزن الجسم يومياً ولمدة 8 أسابيع.

أظهرت نتائج المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين 0.5% ارتفاعاً معنوياً في مستوى المالونداليالديهايد والبيليروبين وحامض اليوريك وانخفاضاً معنوياً في مستوى الكلوتاثيون والالبومين وفعالية أنزيم سوبر أوكسايد دسميوتيز مقارنة مع مجموعة السيطرة، مما يدل على قابلية بيروكسيد الهيدروجين في إحداث الإجهاد التأكسدي في الجرذان البيض.

كما أظهرت نتائج المعاملة بمسحوق بذور العنب انخفاضاً معنوياً في مستوى المالونداليالديهايد والبيليروبين وحامض اليوريك وارتفاعاً معنوياً في مستوى الكلوتاثيون والالبومين وفعالية أنزيم سوبر أوكسايد دسميوتيز مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما أوضحت النتائج أن الانخفاض والارتفاع كان أكثر وضوحاً في مجموعة الجرذان المعاملة بتركيز 600 ملغم / كغم وزن الجسم من مسحوق بذور العنب، وهذا يدل على أن لمسحوق بذور العنب تأثيراً مضاداً للأكسدة.

الكلمات الدالة: بذور العنب، بيروكسيد الهيدروجين، الكلوتاثيون، المالونداليالديهايد، سوبر أوكسايد دسميوتيز.

Effect of Grape Seeds Powder on the Level of Some Antioxidants and Lipid Peroxidation of White Male Albino Rats Exposed to Oxidative Stress

Muna H. Jankeer
Department of Biology
College of Science
University of Mosul

Rukzan M. Daoud
Department of Chemistry
College of Education for Girls
University of Mosul

Eman S. Mahmmud
Department of Biology
College of Education for Girls
University of Mosul

ABSTRACT

The present study included the investigation of the effect of grape seeds powder *Vitis vinifera* in preventing oxidative stress induced by hydrogen peroxide H_2O_2 at a concentration 0.5 % given with consumed drinking water in male albino rats *Rattus norvegicus* aged 2.5 – 3 months. Rats were randomly divided into 5 groups (5 rats/group) and the rats were treated with forage to which grape seeds powder were added at different concentrations 200, 400, 600 mg/kg. B. Wt. of grape seeds powder daily for eight weeks.

The results showed that treatment with 0.5% H_2O_2 caused a significant increase in malondialdhyde (MDA), bilirubin and uric acid level and a significant decrease in glutathione (GSH), albumin level and the enzyme activity of superoxide dismutase (SOD) in the serum of treated rats compared with control group, also the above changes indicating the ability of H_2O_2 to induce the oxidative stress in albino rats.

The results also showed that treatment with grape seeds powder caused a significant decrease in MDA, bilirubin and uric acid level and a significant increase in GSH, albumin level and the activity of SOD compared with control. The results also showed the decrease and increase were more prominent in rats treated with 600 mg /kg. B. Wt. of grape seeds powder, these results indicate the protective effect of grape seeds powder against oxidative stress.

Keywords: Grape seeds, hydrogen peroxide, glutathione, malondialdhyde, superoxide dismutase.

المقدمـــة

يعود الإنسان من جديد إلى العلاج بالأعشاب والنباتات الطبيعية على الرغم من التطور الكبيـر فـي ميادين الكيمياء والصيدلة بعدما وجد أن للأدوية الكيمياوية بعض الآثار الجانبية Side effects السلبية بجانب التأثير الطبي الأساسي الذي يستخدم من أجله، وقد لا تكتشف هذه الآثار الضارة إلا بالتراكم بعد مدة طويلـة من استخدام الدواء (الهواري، 1986). وفي مجال النباتات الطبية ودور بعض مضادات الأكسدة فقد تعـددت المصادر النباتية ومحتوياتها من هذه المواد، لذا تركزت معظم الدراسات الحديثة على النباتات الطبيـة ودور

بعض مضادات الأكسدة للوقاية من الإجهاد التأكسدي الناتج من تفاعلات الجذور الحرة في عدد من الحالات المرضية وحماية الوظائف الحيوية للخلايا (Kang *et al.*, 1998). ومن هذه النباتات، نبات العنب *Vitis vinifera*، الذي ينتمي إلى العائلة العنبية Vitaceae وإلى رتبة العنابيات Rhamnales وهو من النباتات البذرية Spermatophaya ومن ذوات الفلقتين، ويعد العنب من الفواكه ذات القيمة الغذائية والعلاجية الجيدة، وتتكون ثمرة العنب من القشرة الخارجية واللب الحاوي على البذور. لبذور العنب Grape seeds قيمة علاجية عالية وذلك لاحتوائها على مركبات فعالة ذات تأثيرات حيوية، اذ تحتوي على تراكيز عالية من المركبات الفينولية المضادة للأكسدة والتي تعرف بالفينولات المتعددة Polyphenol، اذ يمثل المركب الفعال فيها البروانثوسيانيدين Proanthocyanidins (Gabetta *et al.*, 2000)، كما يحتوي على مركبات أخرى البروسيانيدين Procyanidin والتانينات Tanins وأحماض دهنية غير مشبعة أهمها حامض لينوليك Linolic acid وفيتامين E (الفا-توكوفيرول α-Tocopherol) (Palma *et al.*, 1999).

وللمركب الفينولي البروانثوسيانين تأثيرات فسيولوجية مهمة، اذ يمتلك فعالية مضادة للأكسدة أقوى من فيتامين E و C بعشرين مرة (Bagchi *et al.*, 1997). بسبب قدرته على تحطيم أو القضاء على الجذور الحرة وتثبيط بيروكسدة الدهن في الأغشية الخلوية وبالتالي حماية الجسم من الأمراض التي يعد الإجهاد التأكسدي Oxidative stress أساساً لنشوئها، كما يعمل على زيادة فعالية مضادات الأكسدة الموجودة بالجسم (Nuttail *et al.*, 1998). إن احتواء بذور العنب على العديد من المركبات الفينولية تجعلها عامل حماية من تأثيرات الأشعة فوق البنفسجية، لذا يعد مضاداً للسرطان والأورام (Katiyar, 2008)، كما أن لها تأثيراً فعالاً ضد الرواشح والأحياء المجهرية، لذا يستخدم مضاداً للالتهابات من خلال خفض إنتاج السايتوكينات، وله تأثير فعال وإيجابي في معالجة داء السكر (Al-Alfy *et al.*, 2005). كما أن احتواءها على البروسيانيدين والتانينات وفيتامين E و A التي تمتلك خواصاً مضادة للأكسدة التي لها القدرة على القضاء على الجذور الحرة والتي تعد من النواتج الوسطية لمختلف الفعاليات الأيضية، كما تنتج من التعرض للإشعاع والمبيدات الحشرية والتلوث البيئي والتدخين (Bagchi *et al.*, 2002).

تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة قدرة بذور العنب على الحماية من الإجهاد التأكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5 % في ذكور الجرذان البيض.

المواد وطرائق العمل

النبات المستخدم قيد الدراسة

استخدمت في هذه الدراسة بذور ثمار العنب *Vitis vinifera* التي تم الحصول عليها من الأسواق المحلية في مدينة الموصل، اذ تم جمع البذور من ثمار العنب وجففت ثم طحنت للحصول على مسحوق هذه البذور، الذي حفظ في علبة مغلقة لحين الاستخدام.

بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 المستخدم قيد الدراسة

استخدم بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 50 % المصنع من قبل شركة Lab Tech الهندية، إذ تم الحصول عليه من مذخر الفاتح للأدوية والمستلزمات الطبية في محافظة نينوى.

الحيوانات المستخدمة

تهيئة الحيوانات :

استخدم في الدراسة الحالية 25 من ذكور الجرذان البيض *Rattus norvegicus* بعمر 2.5 – 3 أشهر و بوزن 250-300 غم وكانت الجرذان جميعها بحالة جيدة، تم الحصول عليها من كلية الطب البيطري في جامعة الموصل، ثم نقلت ووضعت في أقفاص بلاستيكية بيضاء اللون ذات أغطية معدنية شبكية خاصة لتربية الجرذان، وأخضعت الحيوانات طوال مدة الدراسة لظروف مختبرية موحدة من حيث التهوية ودرجة الحرارة 26 ± 2 °م والدورة الضوئية 14 ساعة ضوء و10 ساعات ظلام إضاءة طبيعية، وتم إخضاعها لفترة تمهيدية أمدها أسبوع لغرض التأقلم على المكان، وغذيت خلالها على عليقة قياسية، ثم قسمت حيوانات الدراسة إلى مجاميع، تم تغذيتها على العلائق المضاف إليها مسحوق بذور العنب واستغرقت فترة تغذيتها على العليقة المعاملة (8) أسابيع (جانكير و خورشيد، 2009).

المجاميع التجريبية:

قسمت الحيوانات إلى خمس مجموعات عشوائياً (5 جرذ / مجموعة) ووضعت في أقفاص منفصلة كالآتي:

1- **مجموعة السيطرة:** تم معاملة هذه المجموعة بإعطائها عليقة قياسية مع ماء اعتيادي.
2- **مجموعة بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2:** تم معاملة هذه المجموعة بإعطائها عليقة قياسية مع ماء مضاف إليه H_2O_2 بتركيز 0.5 % يومياً.
3- **مجموعة بيروكسيد الهيدروجين ومسحوق بذور العنب بتركيز 200 ملغم / كغم وزن الجسم:** تم معاملة هذه المجموعة بإعطائها عليقة مضاف إليها مسحوق بذور العنب بتركيز 200 ملغم / كغم من وزن الجسم يومياً مع ماء مضاف إليه H_2O_2 بتركيز 0.5% ولمدة 8 أسابيع.
4- **مجموعة بيروكسيد الهيدروجين ومسحوق بذور العنب بتركيز 400 ملغم / كغم وزن الجسم:** تم معاملة هذه المجموعة بإعطائها عليقة مضاف إليها مسحوق بذور العنب بتركيز 400 ملغم / كغم من وزن الجسم يومياً مع ماء مضاف إليه H_2O_2 بتركيز 0.5% ولمدة 8 أسابيع.
5- **مجموعة بيروكسيد الهيدروجين ومسحوق بذور العنب بتركيز 600 ملغم / كغم وزن الجسم:** تم معاملة هذه المجموعة بإعطائها عليقة مضاف إليها مسحوق بذور العنب بتركيز 600 ملغم / كغم من وزن الجسم يومياً مع ماء مضاف إليه H_2O_2 بتركيز 0.5% ولمدة 8 أسابيع.

جمع وحفظ العينات

بعد معاملة الجرذان بـ 0.5 % H_2O_2 و 200 – 600 ملغم من مسحوق بذور العنب / كغم مـن وزن الجسم ولفترة 8 أسابيع، جمعت عينات الدم من وريد محجر العين لكل حيوان بوساطة أنابيب شعرية لغرض الحصول على مصل الدم لإجراء الفحوصات الكيموحيوية المختلفة.

تقدير مستوى بيروكسدة الدهن في مصل الدم

استخدمت طريقة تفاعل حامض ثايوباربـاتيورك Thiobarbituric acid (TBA) لقيـاس مـستوى المالوندايالديهايد (MDA) في مصل الدم (Muslih *et al.*, 2002).

تقدير مستوى مضادات الأكسدة غير الأنزيمية والأنزيمية

قدّر مستوى الكلوتاثيون في مصل الـدم باسـتخدام طريقـة كاشـف ألمـان المحـوّرة مـن قبـل (Al-Zamely *et al.*, 2001).

وقدّر مستوى الالبومين في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة Biolabo الفرنـسية اعتماداً على الطريقة اللونية (Jennifer and Findar, 1982) كما قدّر مستوى البيليروبين الكلي في مـصل الدم باستخدام عدة التحليل الجـاهزة مـن شـركة Biolabo الفرنـسية اعتمـاداً علـى الطريقـة اللونيـة (Henry, 1995)، وقدّر مستوى حامض اليوريك في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الجاهزة مـن شـركة Biolabo الفرنسية اعتماداً على الطريقة الأنزيمية (Burits and Ashoowed, 1999).

كما قدّرت فعالية أنزيم سوبر أوكسايد دسميوتيز SOD في مصل الدم باستخدام الطريقـة المحـورة المتبعة من قبل (Brown and Goldstien, 1983).

التحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائياً مقارنة بين مجموعة السيطرة وكل من مجـاميع الدراسـة باسـتخدام اختبـار T (T – test). وعدت النتائج معنوية عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$).

النتائج والمناقشة

تبين النتائج في الجدول (1) ارتفاعاً معنوياً في مستوى المالوندايالديهايد MDA في مصل دم الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 0.5 % ولمدة 8 أسابيع مقارنة مع مجموعة السيطرة. تتفـق نتائج هذه الدراسة مع نتائج الدراسة التي توصل إليها كل من (عبـد الـرحمن، 1995 ؛ العـلاف، 2004 ؛ الخفاف، 2005 ؛ الصالح، 2011) عند معاملة إناث وذكور الجرذان البيض والأرانب المحلية. ويعزى سبب ارتفاع مستوى MDA إلى زيادة إنتاج الجذور الحرة التي تؤدي إلى زيادة بيروكسدة الدهن ثم زيادة الضرر التأكسدي المحدث في الأغشية الخلوية وبالتالي رفع مستوى MDA أحد النواتج المهمة لعمليـة بيروكـسدة الدهن. كما أشار كل من (Osumi and Hashimoto, 1978; Basha and Sovers, 1996) إلى أن ارتفـاع

مستوى MDA يعزى إلى تحفيز أنزيم Fatty-acyl-CoA وبدء أكسدة الأحماض الدهنية التي تؤدي إلى زيادة إنتاج H_2O_2 الداخلي المنشأ والذي يسهم في إنتاج بيروكسيدات الدهن.

كما أدت معاملة الجرذان بـ H_2O_2 إلى انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثيون GSH مقارنة مع مجموعة السيطرة، وهذه النتائج تتطابق مع ما توصل إليه كل من (عبد الرحمن، 1995 ؛ العلاف، 2004 ؛ الخفاف، 2005 ؛ الصالح، 2011) عند معاملة كل من ذكور وإناث الجرذان والأرانب بـ H_2O_2 ولفترات مختلفة. إن انخفاض مستوى GSH في الخلية يعد مؤشراً على زيادة الإجهاد التأكسدي (McLennan *et al.*, 1991). وعليه فإن انخفاض مستوى الكلوتاثيون قد يعود إلى تقويضه أو انخفاض تكوينه (Loven *et al.*, 1986)، لذا يعزى سبب هذا الانخفاض إلى مشاركة GSH الفعالة في منع الأكسدة المحدثة بـ H_2O_2 من خلال الإزالة المباشرة لتأثيرات الجذور الحرة (Berndt *et al.*, 2007).

الجدول 1 : تأثير المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) ومسحوق بذور العنب بتراكيز 200، 400، 600 ملغم / كغم من وزن الجسم في مستوى المالونداليالديهايد ومضادات الأكسدة غير الأنزيمية في مصل دم الجرذان البيض.

المتغيرات / المجاميع المعاملة		مستوى المالونداليالديهايد (نانومول/لتر) المعدل ± الخطأ القياسي	مستوى الكلوتاثيون (مايكرومول/لتر) المعدل ± الخطأ القياسي	مستوى حامض اليوريك (ملغم/100سم3) المعدل ± الخطأ القياسي	مستوى الالبومين (غم/100سم3) المعدل ± الخطأ القياسي	مستوى البيليروبين (ملغم/100سم3) المعدل ± الخطأ القياسي
السيطرة		0.17 ± 2.8	0.14 ± 19.2	0.12 ± 2.9	0.23 ± 3.6	0.04 ± 0.59
% 0.5 H_2O_2		***0.19 ± 4.8	***0.18 ± 13.8	***0.16 ± 3.1	***0.12 ±2.5	***0.11 ± 1.09
تركيز مسحوق بذور العنب (ملغم / كغم)	200	0.21 ± 3.0	0.11 ± 18.2	0.12 ± 2.8	0.11 ± 3.7	0.09 ± 0.86
	400	**0.22 ± 2.6	*0.18 ± 20.5	**0.18 ± 2.6	**0.24 ± 4.0	0.03 ± 0.50
	600	***0.18 ± 2.2	***0.20 ± 22.3	***0.19 ± 2.5	***0.20 ±4.2	*0.01 ± 0.48

عدد الحيوانات في كل مجموعة = 5

* : تشير إلى فرق معنوي عند مستوى ($p \leq 0.05$)

** : تشير إلى فرق معنوي عند مستوى ($p \leq 0.01$)

*** : تشير إلى فرق معنوي عند مستوى ($p \leq 0.001$)

كما أشار Loven وجماعته (1986) إلى أن الكلوتاثيون هو المادة الأساس لبعض الأنزيمات مثل الكلوتاثيون بيروكسيديز (Gpx) الذي له دور مهم في المحافظة على الخلية من الأذى التأكسدي، اذ يعمل GSH على تحويل H_2O_2 إلى ماء بتحفيز أنزيم Gpx وبذلك ينخفض مستواه في المصل.

كما أظهرت النتائج في الجدول (1) انخفاضاً معنوياً في مستوى MDA ورافقه ارتفاع معنوي في مستوى GSH في مصل دم الجرذان المعاملة بمسحوق بذور العنب وبتراكيز مختلفة 200، 400، 600 ملغم من مسحوق بذور العنب / كغم وزن الجسم مع H_2O_2 ولمدة 8 أسابيع. كما أوضحت النتائج أن الانخفاض والارتفاع كان أكثر وضوحاً في المجموعة المعاملة بتركيز 600 ملغم من مسحوق بذور العنب / كغم وزن الجسم. ويعزى سبب الانخفاض في مستوى MDA إلى احتواء بذور العنب على العديد من المركبات الفينولية المضادة للأكسدة من أبرزها البروانثوسيانيدين، فقد أوضح كل من Enginar وجماعته (2007) وFeng وجماعته (2007) قدرة البروانثوسيانيدين على تثبيط عملية بيروكسدة الدهن والحماية من الأذى التأكسدي من خلال الارتباط المباشر بالجذور الحرة وتثبيط أنزيم الزانثين أوكسيديز Xanthine oxidase ، مما يؤدي إلى الحد من تكوّن الجذور الفعالة ومنها جذر السوبر أوكسايد. وجاءت نتائج هذه الدراسة متطابقة مع الدراسة التي قام بها (Sano *et al.*, 2007).

كما أظهرت النتائج أن معاملة الجرذان بمسحوق بذور العنب مع H_2O_2 أدى إلى ارتفاع مستوى GSH وهذه النتائج متطابقة مع النتائج التي توصل إليها (Alas *et al.*, 2008)، اذ عزا سبب الارتفاع إلى فاعلية المركبات الفينولية خاصة مجاميع الهيدروكسيل في البروانثوسيانيدين على إزالة أصناف الجذور الحرة وبالتالي حماية مجموعة الثايول (SH-) في الكلوتاثيون من الأكسدة، ومنع استنزافه ومنع تحويله إلى الشكل المؤكسد ثنائي الكبريت، لذا يرتفع مستواه في المصل. كما أشار Myrstad وجماعته (2002) إلى أن الفلافونويدات الموجودة في بذور العنب تعمل على تنشيط فعالية أنزيم γ-glutamyl-cysteine synthetase مما يؤدي إلى تحفيز تكوين GSH وبالتالي يرتفع مستواه في الدم. كما ان للبروانثوسيانيدين القابلية على زيادة فعالية مضادات الأكسدة الأنزيمية وغير الأنزيمية والتي لها القابلية على الحماية من الإجهاد التأكسدي وتثبيط بيروكسدة الدهن من خلال كسر سلسلة تفاعلات الجذور الحرة والحد من تكوينها، هذا ما أكده (Enginar *et al.*, 2007).

تشير النتائج في الجدول (1) إلى ارتفاع معنوي في مستوى حامض اليوريك في مصل دم الجرذان المعاملة بـ H_2O_2 مقارنة مع السيطرة. وهذه النتائج تتطابق مع ما توصلت إليه الصالح (2011) عند معاملة الأرانب المحلية بـ H_2O_2 بتركيز 1 %. وقد يعزى ذلك إلى زيادة الإجهاد التأكسدي المحدث بـ H_2O_2 والذي يؤدي إلى زيادة إنتاج الجذور الحرة التي تلحق الضرر بمكونات الخلية ومنها الأحماض النووية والقواعد النتروجينية، اذ يعد حامض اليوريك الناتج النهائي لتقويض البيورينات وكذلك تحطم الأواصر البروتينية. كما أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في مستوى حامض اليوريك في مصل دم الجرذان المعاملة

بمسحوق بذور العنب مع H_2O_2، وكان أكثر انخفاضاً في المجموعة المعاملة بتركيز 400 ملغم من مسحوق بذور العنب / كغم وزن الجسم، ويليها المجموعة المعاملة بتركيز 600 ملغم من مسحوق بذور العنب / كغم وزن الجسم. ويعزى ذلك إلى فعالية البروانثوسيانيدين الموجود في بذور العنب المضادة للأكسدة والتي تعـد أقـوى مـن فيتـامين E و C بعـشرين مـرة (Nuttail *et al.*, 1998 ; Bagchi *et al.*, 2000)، وبذلك فله القدرة على إزالة التأثيرات المباشرة للجذور الحرة، كما انه يعمل على زيـادة فعاليـة مـضادات الأكسدة الداخلية المنشأ في الجسم، كما يعمل على زيادة إنتاج أوكسيد النتريك الذي يعد من مضادات الأكسدة الداخلية (Shao *et al.*, 2006).

كذلك أوضحت النتائج في الجدول (1) وجود انخفاض معنوي في مستوى الالبـومين فـي مـصل دم الجرذان المعاملة بـ H_2O_2 مقارنة مع مجموعة السيطرة، وقد يعزى ذلك إلى انخفاض بناء البروتين وزيادة معدل تقويض البروتينات أو لدوره في تقليل تكوين أصناف الأوكسجين الفعالة، كما يعود ذلك إلـى زيـادة الإجهاد التأكسدي المحدث بـ H_2O_2، لذلك يتضح دور الالبومين بوصفه مـضاد أكـسدة داخلـي المنـشأ (غير أنزيمي) الذي له دور مهم في منع تكوين الجذور الحرة وذلك بكسر سلسلة التفاعلات وإعادة إصـلاح الجزيئات الحيوية المتضررة تأكسدياً (Halliwell and Gutteridge, 1999)، كما ورد فـي Tietz (1999) إلى أن الالبومين من مضادات الأكسدة المهمة في الدم التي تعمل على حجب الجـذور الحـرة مـن خـلال ارتباطها بالأحماض الدهنية ومركبات الهايبوكلوريد النشطة والبيليروبين، ونتيجة لذلك ينخفض مستواه فـي الدم.

وأظهرت النتائج أن معاملة الجرذان بتركيز 200 ملغم من مسحوق بذور العنب / كغم وزن الجسم مع H_2O_2 أظهرت ارتفاعاً غير معنوي في مستوى الالبومين، إن تمكن مسحوق بذور العنب من إعادة مـستواه إلى المستوى الطبيعي في مجموعة السيطرة، بينما أدت معاملة الجرذان بتركيـز 400 و 600 ملغـم مـن مسحوق بذور العنب / كغم وزن الجسم، على التوالي، ارتفاعاً معنوياً في مستواه، ويعزى ذلك إلـى قـدرة المواد الفعالة في بذور العنب وخاصة الفلافونويدات التي تعد أيضاً مضادات أكسدة لها القدرة على الحمايـة من الإجهاد التأكسدي من خلال اقتناص جذور الأوكسجين الحرة وتثبيط بيروكسدة الدهن وهذه النتائج تتفـق مع نتائج الدراسات التي قام بها كل من (Kandaswami *et al.*, 1994 ; Hassan *et al.*, 2000).

بينت النتائج في الجدول (1) أيضاً ارتفاعاً معنوياً في مستوى البيليروبين الكلي في مصل دم الجـرذان المعاملة بـ H_2O_2 مقارنة مع السيطرة وهذا يتفق مع ما توصلت إليه جانكير والقاسم (2009). ويعزى ذلك إلى الضرر الذي يلحق بالخلايا الكبدية نتيجة الإجهاد التأكسدي المحدث بـ H_2O_2، مما أدى إلى فشل الكبـد على اقتران البيليروبين بحامض الكلوكويورونيك وخزنه في كيس الصفراء على شكل بيليروبين مقتـرن أو نتيجة انسداد القنوات الصفراوية مما يعني عدم قدرة الكبد على إفراغ البيليروبين مما يؤدي إلـى اسـترجاع البيليروبين منه إلى الدم وزيادة مستواه عن الحد الطبيعي (Rofeal, 1984).

أما في مجاميع الجرذان المعاملة بتراكيز مختلفة من مسحوق بذور العنب مع H_2O_2 لوحظ انخفـاض معنوي في مستوى البيليروبين. وهذا يعني أن بذور العنب تملك القابلية على الحد من بيروكسدة الدهن بسبب احتوائها على العديد من المركبات الفينولية المضادة للأكسدة والتي لها القابلية على إزالة تـأثيرات الإجهـاد التأكسدي، ان احتواء بذور العنب على البروانثوسيانيدين والتانينات وفيتامين E والتي تمتلك خواصاً مـضادة للأكسدة قادرة على إزالة جذور الأوكـسجين الحـرة وهـذا يتفـق مـع مـا أشـارت إليـه الدراسـات (Dulundu *et al.*, 2007 ; Spranger *et al.*, 2008).

أوضحت نتائج الجدول (2) انخفاضاً معنوياً في مستوى التغير في امتصاصية الفورمازين لفعالية أنزيم SOD في مصل دم الجرذان المعاملة بـ H_2O_2، وهذا يدل على زيادة فعالية أنزيم SOD، كما أشار إليهـا (Beyer *et al.*, 1991) وتعزى هذه الزيادة الى زيادة الجذور الحرة وخاصة جذر السوبر أوكـسايد نتيجـة الإجهاد ألتأكسدي الذي سببه حالة عدم التوازن بين عوامل الأكسدة والأنظمة الدفاعية لمـضادات الأكـسدة وبالتالي زيادة فعالية الأنزيم للتخاص من الجذور الحرة المتولدة، اذ يحفز أنزيم SOD تحويل جذر الـسوبر أوكسايد إلى بيروكـسيد الهيـدروجين الـذي يتحـول إلـى مـاء بوسـاطة أنـزيم الكاتـاليز Catalase (Guemouri *et al.*, 1991 ; Sies, 1997).

الجدول 2: تأثير المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) ومسحوق بذور العنب بتراكيز 200، 400، 600 ملغم / كغم من وزن الجسم في فعالية أنزيم السوبر أوكسايد دسميوتيز SOD (مـضاد أكـسدة أنزيمي) في مصل دم الجرذان البيض.

المجاميع المعاملة		فعالية أنزيم SOD (Δ.O.D.) المعدل ± الخطأ القياسي
السيطرة		0.014 ± 0.138
% 0.5 H_2O_2		% 0.5 H_2O_2
200	تركيز مسحوق بذور العنب (ملغم / كغم)	0.011 ± 0.130
400		0.017 ± 0.140
600		*** 0.021 ± 0.160

عدد الحيوانات في كل مجموعة = 5

*** : تشير إلى فرق معنوي عند مستوى ($p \leq 0.001$)

أما في مجاميع الجرذان المعاملة بتراكيز مختلفة من مسحوق بذور العنب مع H_2O_2، لوحظ ارتفاع في مستوى التغير في امتصاصية الفورمازين لفعالية أنزيم SOD. وأظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً في مستوى التغير في مصل دم الجرذان المعاملة بتركيز 600 ملغم من مسحوق بذور العنب / كغم وزن الجسم وهذا يدل على انخفاض فعالية الأنزيم. ويعود سبب انخفاض فعالية أنزيم SOD إلى خصائص المركبات الفينولية المضادة للأكسدة في بذور العنب وقدرتها على إزالة أصناف الأوكسجين الفعالة ومنها جذر السوبر أوكسايد الذي يعد مادة أساس لأنزيم SOD، فضلاً عما أشار إليه Rice-Evans وجماعته (1996) من قدرة البروانثوسيانيدين على إزالة الجذور الحرة من خلال تكوين جذر الفينوكسي Phenoxy radical المستقر نسبياً، والحد من إنتاج جذر السوبر أوكسايد (Bagchi *et al.*, 2000).

يستنتج من هذه الدراسة قدرة مسحوق بذور العنب على إزالة تأثيرات الإجهاد التأكسدية وتبين أن تركيز 600 ملغم من مسحوق بذور العنب / كغم وزن الجسم كانت أفضل التراكيز في تعزيز فعالية مضادات الأكسدة التي تأثرت مستوياتها جرّاء الإجهاد التأكسدي المحدث بـ H_2O_2.

المصادر العربية

جانكير، منى حسين ؛ القاسم، سراب يحيى (2009). مقارنة تأثير مبيدي الالفا-مثرين والأكتارا على أنواع البيليروبين وفعالية الأنزيمات الناقلة للأمين وأنزيم الأستايل كولين استريز في مصل ونسج الجرذان البيض. وقائع المؤتمر العلمي الأول لكلية العلوم، تكريت، 9 – 21.

جانكير، منى حسين ؛ خورشيد، جرو أحمد (2009). تأثير تزنخ الدهون على بعض مضادات الأكسدة في ذكور الجرذان البيض. *مجلة تكريت للعلوم الصرفة*، **14**(1)، 108-115.

الخفاف، اسرار اسماعيل (2005). قابلية الإجهاد التأكسدي في إحداث آفات التصلب العصيدي التجريبي في إناث الجرذان البيضاء مع استخدام بعض مضادات الأكسدة، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.

الصالح، نور عبد الواحد (2011). تأثير البايوتين في بعض الصفات الفسلجية والكيموحيوية والنسجية لذكور الأرانب المحلية للإجهاد التأكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

عبد الرحمن، صائب يونس (1995). تأثير الجوع وداء السكر التجريبي على مستويات الكلوتاثيون وزنخة الدهن في أنسجة الجرذان، أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.

العلاف، إيناس شيت (2004). تأثير الثوم وفيتامين هـ في إمراضية التصلب العصيدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين في الأرانب، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.

الهواري، سهام (1986). النباتات الطبية كغذاء ودواء. *المجلة العربية السعودية*، (21)، 70-71.

المصادر الأجنبية

Al-Alfy, A.; Ahmed, A.A.; Fatani, A. J. (2005). Protective effect of red grape seeds proanthocyanidin against induction diabetes by alloxan in rats. *Pharmacol. Res.*, **52**, 264-270.

Alas, B.; Wachowicz, B.; Tomczak, A.; Erler, J.; Stochrnal, A.; Oles zek, W. (2008). Comparative antiplatet and antioxidant properties of poly phenol-rich extract from, berries of aronia melanocarpa, seed of grape and bark of yucca schidigeria *in Vitro*. *Platelets*. **19** (1), 70-77.

Al-Zamely, O.; Al-Nimer, M.; Al-Mushih, R. (2001). Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction. *N. J. Chem.*, **4**, 625-637.

Bagchi, D.; Bagchi, M.; Stohs, S. J.; Das. D. K.; Ray, S. D.; Kuszyn Ski, C. A.; Joshi, S.S.; Pruess, H.G. (2000). Free radical and grape seed proanthcynidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, **148**, 187-197.

Bagchi, D.; Bagchi, M.; Stohs, S.J.; Ray, S.D.; Sen, C.D.; Pruss, (2002). Cellular protection with proanthocyanidin derived from grape seed. *Mnn. N.Y. Acad. Sci.*, **957**, 260-270.

Bagchi, D.; Grag, A.; Krohn, R.; Bagchi, M.; Tran, M.X.; Stohs, S.J. (1997). Oxygen free radical scavenging abilities of vitamin C and E and a grape seed proanthocyandin extract in vitro. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmaco.*, **95**, 179-189.

Basha, B.; Sovers, I. (1996). Atherosclerosis: an update. *Am. Heart. J.*, **131**, 1192-1202.

Berndt, C.; Lilling, C.H.; Holmgren, A. (2007). Thiol-Baseal mechanisms of the thioredoxin and glutaredoxin system: implication for disease in the cardiovascular system. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **292**, H1227-H1236.

Beyer, W.; Imalay, J.; Fridovich, I. (1991). Superoxide dismutase. *Prog. Nuclic. Acid. Res. Mol. Biol.*, **40**, 221-253.

Brown, M.S.; Godstein (1983). *Ann. Rev. Biochem.*, **25**, 223. (Cited by Al-Zamely *et al.*, 2001).

Burits, N.R.; Ashoowed, E.R. (1999). "Tietz Textbook of Clinical Chemistry". 3rd edn. W.B. Saunders Company, USA, pp. 490-491, 1000-1025.

Dulundu, E.; Ozel, Y.; Topaloglu, U.; Toklu, H.; Ercan, F.; Gedik, N.; Sener, G. (2007). Grape seed extract reduced oxidative stress and fibrosis in experimental biliary obstruction. *J. gastroenterol Hepatol.*, **22**(6), 885-892.

Enginar, H.; Cemek, M.; Karaca, T.; Unak, P. (2007). Effect of grape seed extract on lipid peroxidation, antioxidant activity and peripheral blood lymphocytes in rats exposed to x-radiation. *Phyt. Res.* **21**(11), 1029-1035.

Feng, Y.; Liu, Y.M.; Leblane, M.H.; Bhatt, A.J.; Rhodes, P.G. (2007). Grape seed extract given three hours after injury suppresses lipid peroxidation and reduces hyoxic-schemic brain injury in neonatal rats. *Pediatric Res.*, **61**(3), 295-300.

Gabbetta, D.; Fuzzati, N.; Griffini, A. Lolla, E.; Pace, R.; Ruffilli, T. (2000). Characterization of proanthocyanidins from grape seeds. *Fitoterapia*, **71**, 162-175.

Guemouri, L.; Arthur, Y.; Herbeth, B.; Jeaudel, C.; Gung, G.; Siest, G. (1991). Biology variability of superoxide dismutase glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin. Chem.*, **37**, 24-33.

Halliwell, B.; Gutteridge, J.M.C. (1999). "Free Radical in Biology and Medicine". 3rd edn. Oxford, Oxford University Press, pp.146-163, 399-430.

Hassan, S.M.; Al-Kennany, E.R.; Al-Hafez, H.A. (2000). Hydrogen peroxide-induced atherosclerosis in chicken effect of vitamin C. *Iraqi J. Vet.*, **13**, 249-270.

Henry, R. J. (1995). "Principles and Technics". Harper and Row, 592p.

Jennifer, D.; Findar, D.P. (1982). Albumin by bromocresol green - a case of laboratory conservatism. *Clin. Chem.*, **28**, (6), 1407-1408.

Kandaswami, C. ; Middlettonc, T.R. (1994). Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. *Adv. Exp. Med. Biol*. **366**, 351-376.

Kang, M.; Naito, M.; Tsujihara, N.; Osawa, T. (1998). Sesamolin inhibits lipid peroxidation in rat liver and kidney. *J. Nutr.*, **128**, 1018-1022.

Katiyar, S. K. (2008). Grape seed proanthocyanidin and skin cancer prevention inhibition of oxidative stress and protection of immune system. *Mol. Nutr. Food Res.*, **2**, **52**(s1), 71-76.

Loven, O.; Schedl, H.; Wilson, H.; Daabees, T.; Stegink, L.; Diekus, M.; Oberley, L. (1986). Effect of insulin and oral glutathione levels and superoxide dismutase activity in organs of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes*, **35**, 503-507 .

McLennan, S.; Hafernan, S.; Wright, L.; Rae, C. (1991). Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. *Diabetes*, **40**(3), 344-348.

Muslih, R.; Al-Nimer, M.; Al-Zamely, O. (2002). The level of manodialdehyde after activation with (H_2O_2 and $CuSO_4$) and inhibition by desferozamine and molsidomine in the serum patients with acute myocardial infarction. *Nat. J. Chem.*, **5**, 139-148.

Myrstad, M.C.; Carlsen, H.; Nordstrom, O. (2002). Falvonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of gamma-glutamyl cysteine synthetase catalytical subunit promrter. *Free Radical. Biol. Med.*, **32**: 386-393.

Nuttail, S.L.; Kendall, M.J.; Bombarardelli, E.; Morazzoni, P. (1998). An evaluation of the antioxidant activity of a standardized grape seed extract, leuco select. *J. Clin. Pharm. Ther.*, **23**, 385-389.

Osumi, J.; Hashimoto, T. (1978). Acyl-CoA oxidase of rat liver: A new enzyme for fatty acid oxidation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **83**, 479-485.

Palma, M.; Tayior, L.T.; Verela, R.M.; Gutler, S.J.; Gutler, H.G. (1999). Fraction extraction of compound from grape seeds by supercritical fluid extraction and analysis for antimicrobial and agrochemical activities. *J. Agric. Food. Chem.*, **47**(12), 5044-5048.

Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J.; Paganga, G. (1996). Stracture oxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acid. *Free Radical Biol. Med.*, **20**, 933-956.

Rofeal, J. (1984). The effect of essential fatty acid deficiency of basal repiration and function of liver mitochonderia in rat. *J. Nutr.*, **114**, 255-262.

Sano, A.; Uchida, R.; Saito, M.; Shioya, N.; Komori, Y.; Tho, Y. (2007). Beneficial effect of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* (Tokyo), **53**, 174-182.

Shao, Z.H.; Hsu, C.W.; Chang, W. (2006). Cytoxicity induced by grape seed proanthocyanidian: role of nitric oxide cell. *Biol. Toxicol.*, **22**, 149-158.

Sies, H. (1997). Oxidative stress, oxidants and antioxidants. *Exp. Physiol.*, **82**, 291. (Abstract)

Spranger, I.; Sun, B.; Mateus, A.M.; Freitas, V.; Ricardo, Da-Silva, J.M. (2008). Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds. *Food Chem.* **104**, 519-532.

Tietz, N.V. (1999). "Textbook of Clinical Chemistry". 3rd edn. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 490-491, 1000-1025, 1245-1250.