تأثير المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء في عدد من المتغيرات الكيموحيوية للدم في ذكور الجرذان المعرضة للكرب التأكسدي

عبد الكريم حسين إسماعيل
قسم علوم الحياة / كلية التربية
جامعة الموصل

الاستلام	القبول
2009 / 05 / 19	2009 / 09 / 10

ABSTRACT

This work designed to determine the effect of watery extract of *Nijella sativa* in induced oxidative stress by hydrogen peroxide (0.5%) in male rats on some biochemical parameters of blood. The results showed giving male (0.5%) hydrogen peroxide with drinking water lead to increase in level of cholesterol, triglycerides, low density lipoproteins significantly ($P<0.05$) comparing with control group and decreases in level of high density lipoprotein significantly ($P<0.05$) with compare of control group also. Treating male rats that have oxidative stress by watery extract of *N. sativa* 100 mg/kg of B.W showed significant decrease in level of Glucose, Cholesterol, Triglyceride comparing with hydrogen peroxide group. We conclude from the result of this study that the watery extract of *N. sativa* have important role in restricting the effects of free radical inside the body.

الخلاصة

صمم هذا البحث لدراسة تأثير المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء *Nijella sativa* في الكرب التأكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين في ذكور الفئران على عدد من المتغيرات الكيموحيوية للدم. اظهرت نتائج البحث اعلى اعطاء بيروكسيد الهيدروجين 0.5% مع ماء الشرب لمدة (30) يوماً أدى إلى ارتفاع في مستويات الكوليسترول والكيسيريدات الثلاثية والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة بالمقارنة مع مجموعة

السيطرة. بينما أدت المعاملة إلى انخفاض معنوي في مستوى البروتينات الدهنية عالية الكثافة للكوليسترول عند مستوى ($P<0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. وعند معاملة الجـرذان المعرض للكرب التأكسدي بالمستخلص المائي لبذور الحبة السوداء 100 ملغم/كغم مـن وزن الجسم ادى الى انخفاض معنوي في مستويات الكلوكوز، الكوليسترول والدهون الثلاثيـة مـع المقارنة بالمجموعة المعرضة لبيروكسيد الهيدروجين. من هذه الدراسة نستنتج ان المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء له دور هام في كبح نشاط بعض انواع الجذور الحـرة المتولـدة داخل الجسم.

المقدمة

تعد الجذور الحرة مركبات ضارة لصحة الانسان والتي هي عبارة عن جزيئـات او ذرات فقدت الكترونا واحدا في مدارها الخارجي مما يكسبها القدرة على التفاعل مع الجزيئات الحيوية لانسجة الجسم مسببة احداث الضرر [1] وقد ينتج الـضرر التأكـسدي oxidative damage في الليبدات والكاربوهيدرات والاحماض النووية مما يؤدي في النهاية الى المـوت الخلوي [2] ان الاجهاد التأكسدي الحاد والمستمر يقود في النهاية إلى تغيير الأنظمة المضادة للأكسدة عند طريق كبح البروتينات التي تشارك هذه الانظمـة [3]. كمـا يلعـب الـضرر التأكسدي دوراً هاماً في نشؤ معظم الامراض العصرية عند الانسان ولقد اثبتت العديـد مـن الدراسات بان عدد من النباتات او بعض مكوناتها المعزولة تمتلك صفات مـضادة للاكـسدة ومنع حدوث العديد من الامراض عند الانسان [4,5]. كما استنتج انهـا تقلـل مـن نـسب الكوليسترول في الدم ومحفزة لمناعة الجسم [6] ويعد نبات الحبة السوداء *N. sativa* مـن النباتات الشائعة الاستعمال في الطب الشعبي لعلاج العديد من الامراض[7]. كما استخدم نبات الحبة السوداء بوصفه مادة مضادة للاكسدة ولاسيما بيروكسيد الدهون والاصابة بداء الـسكر [8,9] لذا استهدف البحث الحالي دراسة تأثير المستخلص المائي لبذور الحبة الـسوداء فـي تقليل نسب السكر، الكوليسترول، الدهون الثلاثية والدهون البروتينيـة واطئـة الكثافـة فـي الحيوانات المعرضة للكرب التأكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين.

المواد وطرائق العمل

الحيوانات المستخدمة:

استخدمت في هذه الدراسة ذكور الجرذان البيض التـي تراوحـت اعمارهـا بـين (2.5-3) اشهر وأوزانها (225-250) غم ووضعت في اقفاص بلاستيكية ابعادهـا (30 x 15.2) سم وقد روعي اهمية النظافة واعطيت العليقة المتكونة من 35% حنطـة، 34% ذرة

صفراء، 20% فول الصويا، 10% بروتين حيوان، 1% حليب مجفف واعطيت الماء بـشكل مستمر طول مدة دراسة [10].

تحضير المستخلص المائي للحبة السوداء:

تم شراء بذور الحبة السوداء من الاسواق المحلية لمدينة الموصل، نقيت من الشوائب وغسلت جيدا ثم تركت لتجف. بعدها تم سحق البذور باسـتخدام الهـاون الخزفـي ثـم تـم اخذ 50 غم من المسحوق واضيف اليه الماء المقطر واكمل الحجم النهائي الـى واحـد لتـر وترك لمدة (30) دقيقة في جهاز الهزاز الافقي نوع GEL موديل 3015 بعدها رشح الخليط بثلاث طبقات من الشاش لفصل العوالق الكبيرة ثم وضع الراشح في جهاز الطرد المركـزي وبسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة (15) دقيقة لفصل العوالق الصغيرة. ثم تم تبخير الماء مـن المستخلص تحـت ضـغط واطـئ وبدرجـة 40 °م باسـتخدام جهـاز التبخيـر الـدوار (Vacuum evaporator) بعدها تم حفظ المستخلص بدرجة حرارة 4 °م لحـين الاسـتخدام [11].

تحديد الجرعة الفعالة:

تم استخدام (15) من ذكور من الجرذان البيض وقسمت الى ثلاث مجاميع وقـد تـم اعطاؤها تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء لغرض معرفة الجرعـة الفعالة.

تصميم التجارب:

قسمت الحيوانات الى أربع مجاميع وكل مجموعة تضمنت 5 حيوانات.

المجموعة الاولى:

مجموعة السيطرة: اعطيت ماء الشرب الاعتيادي مع التجريع بالماء المقطر بوساطة التغذية الانبوبية لمدة (30) يوماً.

المجموعة الثانية:

اعطيت (0.5%) بيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب لمدة (30) يوماً.

المجموعة الثالثة:

تم تجريعها المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء 100 ملغم/كغم من وزن الجـسم عن طريق التغذية الانبوبية لمدة (30) يوماً.

المجموعة الرابعة:

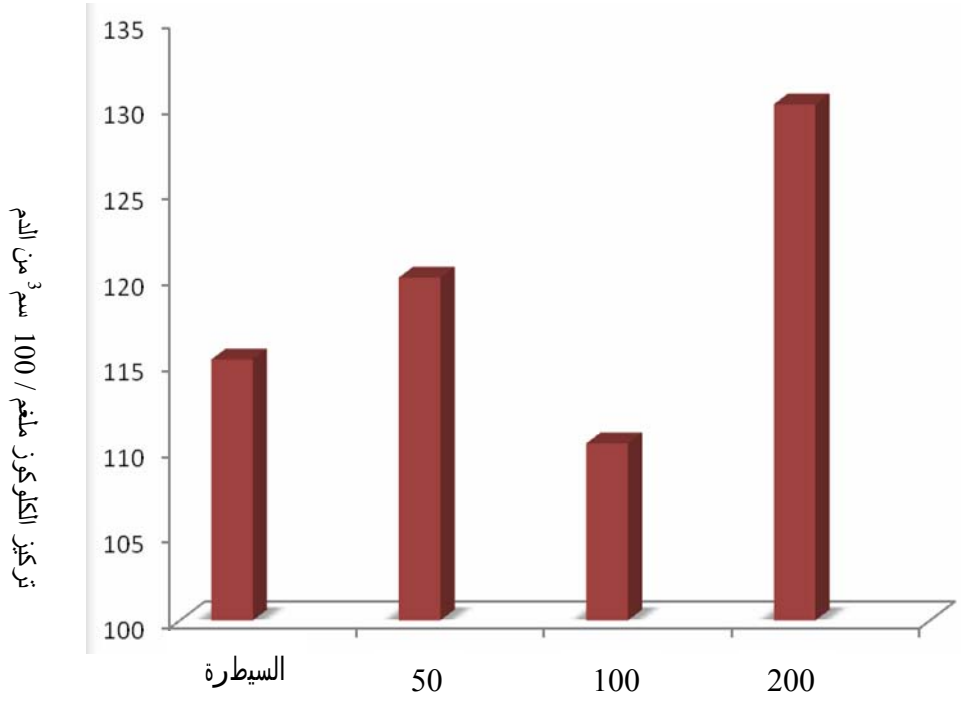
تم تجريعها المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء 100 ملغم/كغم من وزن الجـسم مع اعطائها (0.5%) بيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب لمدة (30) يوماً.

وبعد انتهاء مدة التجربة البالغة (30) يوماً تم تخدير الحيوانات وسحب الدم من الوريد الوداجي Jugular vein بحدود (3-4) مل ووضع الدم في انابيب اختبار غير حاوية على مانع تخثر الدم وتركت في حمام مائي بدرجة حرارة (37)°م لمدة (30) دقيقة ثم فصلت الامصال بجهاز الطرد المركزي وبسرعة 3000 دورة/دقيقة. وحفظت لحين اجراء التحاليل للكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية والبروتينات الدهنية.

حللت النتائج إحصائيا على وفق تحليل التباين One-Way analysis of Variance واختبرت المتوسطات الحسابية على وفق اختبار Duncun Multiple Range بمستوى معنوية (0.05) [12].

النتائج

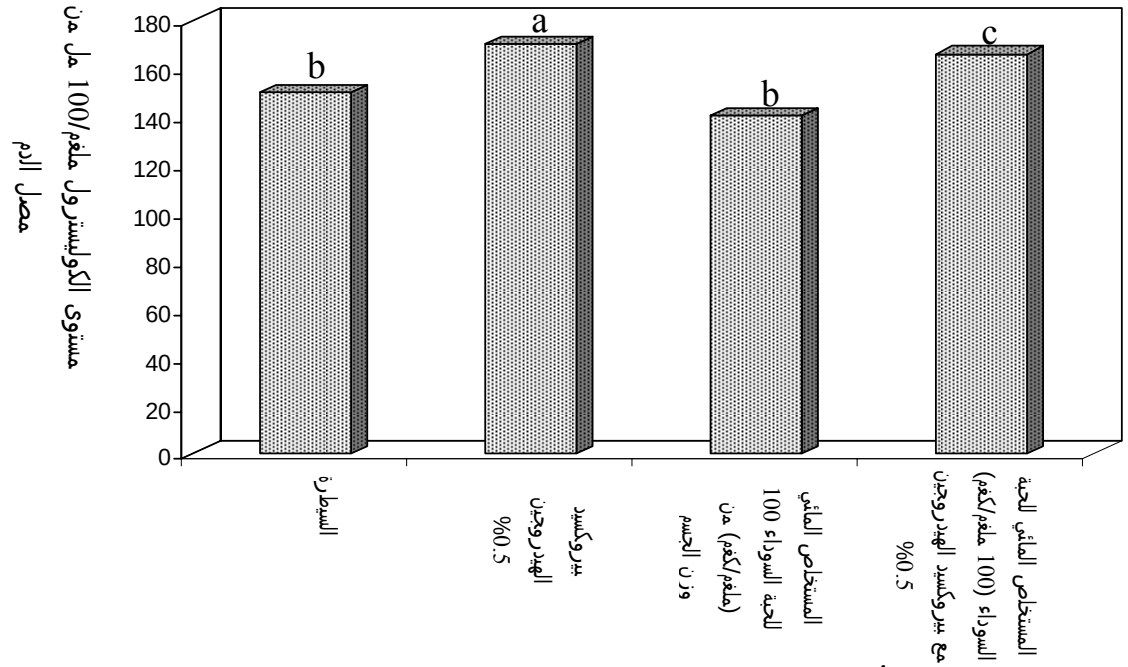
يوضح الشكل (1) تحديد الجرعة الاكثر فاعلية في خفض مستوى الكلوكوز في الدم للمستخلص المائي لبذور الحبة السوداء. ولقد تبين ان الجرعة (100 ملغم/كغم) من وزن الجسم هي الاكثر فاعلية في خفض مستوى السكر في الدم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.



الشكل (1): يبين الجرعة الاكثر فاعلية للمستخلص المائي للحبة السوداء

- عدد الحيوانات في كل تجربة (5)

اظهرت النتائج في الشكل (2) بان هناك انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى الكوليسترول في مصل دم الجرذان المعامل بالمستخلص المائي للحبة السوداء مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين في حين لم تصل المجاميع المعاملة بالمستخلص المائي وبيروكسيد الهيدروجين الى مستوى مجموعة السيطرة.

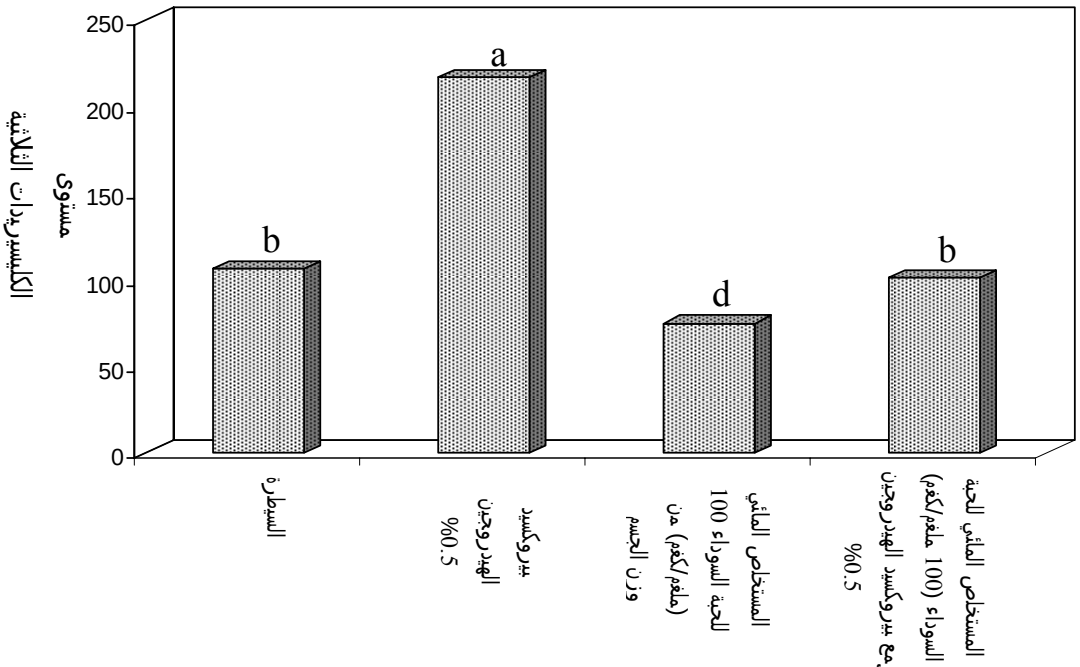


الشكل (2): تأثير المعاملات المختلفة في مستوى الكوليسترول في مصل الدم

- عدد الحيوانات في كل مجموعة (5)
- الاحرف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى معنوي ($P<0.05$)

تأثير المعاملات المختلفة في مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم

بينت نتائج الشكل (3) بان هناك زيادة معنوية ($P<0.05$) في مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وهناك انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مجموعة المعاملة بالمستخلص المائي للحبة السوداء بالمقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين.

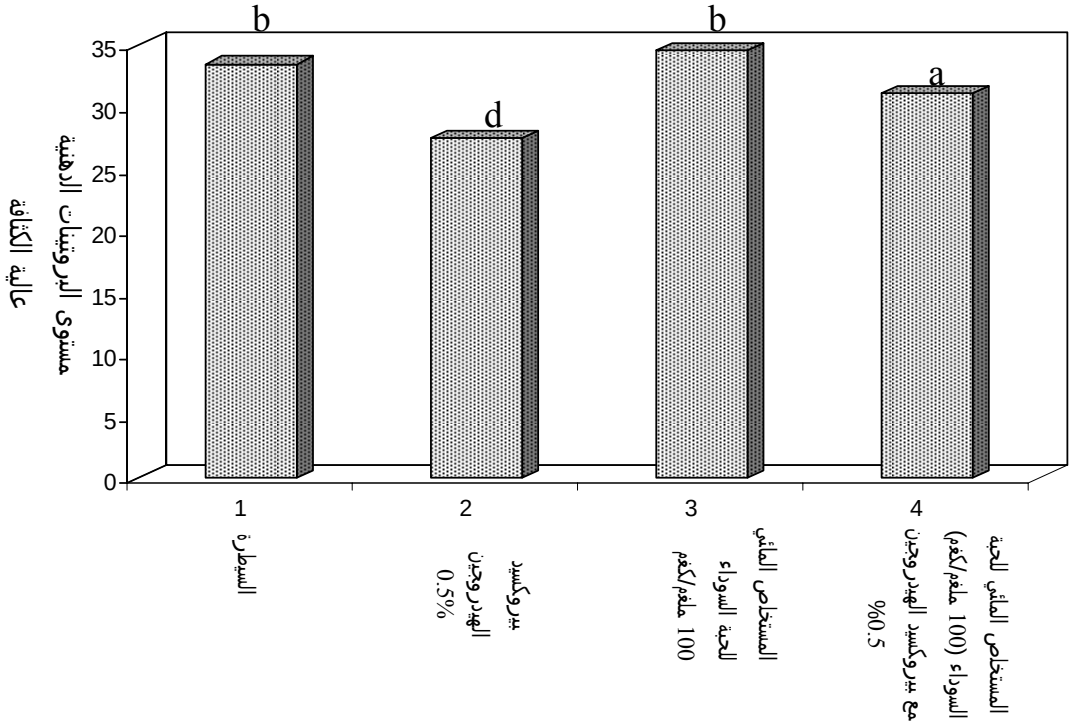


الشكل (3): تأثير المعاملات المختلفة في مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم

- عدد الحيوانات في كل مجموعة (5)
- الاحرف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى معنوي ($P<0.05$)

تأثير المعاملات المختلفة في مستوى كوليستول البـروتين الـدهني عـالي الكثافـة فـي مصل الدم

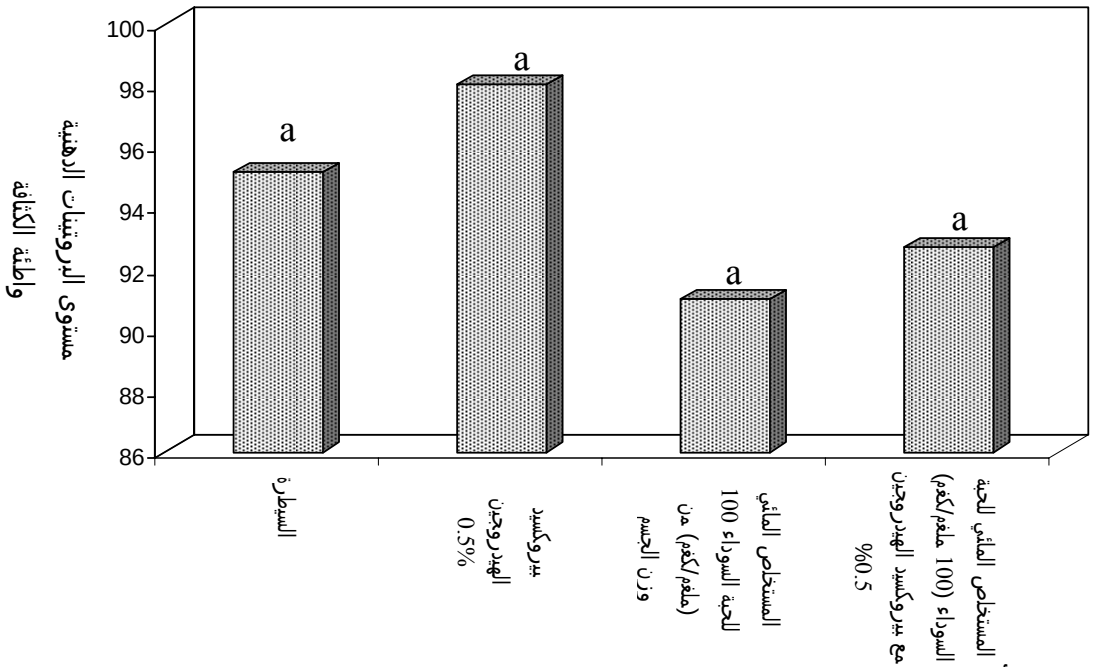
اظهرت نتائج الشكل (4) بان هنـاك انخفـاض معنـوي ($P<0.05$) فـي مـستوى البروتينات الدهنية عالية الكثافة للكوليسترول في مصل الدم في المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وهناك زيادة معنوية ($P< 0.05$) فـي مـستوى البروتينات الدهنية عالية الكثافة الكوليسترول في مصل الدم بالمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لحبة السوداء 100 ملغم/كغم من وزن الجسم مـع المقارنـة بالمجموعـة بيروكـسيد الهيدروجين.



الشكل (4): تأثير المعاملات المختلفة في مستوى البروتينات الدهنية عالية الكثافة للكوليسترول (HDL-C) في مصل الدم

- عدد الحيوانات في كل مجموعة (5)
- الاحرف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى ($P<0.05$)

تأثير المعاملات المختلفة في مستوى كوليستيرول البروتين الدهني واطئ الكثافة في مصل الدم.(HDL-C) أظهرت النتائج من الشكل (5) بان هناك ارتفاعاً غير معنوي في مستوى البروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليسترول في مصل الدم للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. كما وجد انخفاض غير معنوي في مستوى ابروتينات ادهنية واطئة الكثافة للكوليستيرول في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي حبة السوداء 100 ملغم/كغم من وزن الجسم وكذلك مجموعة المعاملة بالمستخلص المائي للحبة السوداء 100 ملغم/كغم وبيروكسيد الهيدروجين 0.5% بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.



الشكل (5): تأثير المعاملات المختلفة في مستوى البروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليستيرول في مصل الدم (LDL-C)

- عدد الحيوانات في كل مجموعة (5)
- الاحرف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى ($P<0.05$)

المناقشة

الكوليسترول

اظهرت نتائج الشكل (2) بان هناك زيادة معنوية ($P<0.05$) في مستوى الكوليسترول في المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين (0.5%). (7.12 ± 170.2 ملغـم/100 مـل) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (7.37 ± 150.2 ملغم/100 مل) ويعود السبب في ذلك الى حدوث الكرب التأكسدي مما يزيد من تحلل الدهون والاحماض الدهنية غيـر المـشبعة [13] وتتف هذه النتائج مع ما توصل اليه Ojo وجماعته [14]. وان ارتفاع الكوليسترول يرجع الى لجوء الجسم الى مصادر اخرى للطاقة [15] وقد لوحظ أيـضاً ان الزيـادة فـي مـستوى الكوليسترول بسبب الكرب التأكسدي تعزى الى بعض الاضطرابات الحاصلة في ايض الدهون والذي يؤدي الى الزيادة في تحللها [16] اما المجموعة المعاملة بالمستخلص المـائي لزيـت الحبة السوداء 100 ملغم/كغم من وزن الجسم فقد اظهرت النتائج ان هناك انخفاضـا معنويـا ($P<0.05$) في مستوى الكوليسترول (14.54 ± 140.4 ملغـم/100 مـل) بالمقارنـة مـع مجموعة الـسيطرة (7.37 ± 150.2 ملغـم/100 مـل) والمجموعـة المعاملـة بيروكـسد الهيدروجين (7.12 ± 170.2 ملغم/100 مل) ويعزى السبب في ذلك الى دور الفلافونيـدات

الموجودة في المستخلص المائي للحبة السوداء والتي قد تعمل على تثبيط انزيم β-hydroxy-β-methylglutaryl-S-COA reductase (HMG-S-COA) المسؤول عن بناء الكوليسترول[17].

وان تجريع الحيوانات المعرضة للكرب التأكسدي بالمستخلص المائي للحبة السوداء (100 ملغم/كغم من وزن الجسم) ادى الى انخفاض في مستوى الكوليسترول (2.11 ± 166.1 ملغم/100 مل) بالمقارنة مع مجموعة المعرضة للكرب التأكسدي (7.12 ± 170.2 ملغم/100 مل) وجاء هذا متفقا مع نتائج العبيدي [18].

الكليسيريدات الثلاثية

نلاحظ من الشكل (3) حدوث زيادة معنوية ($P<0.05$) في مستوى الكليسيريدات الثلاثية في ذكور الجرذان المعرضة للكرب التأكسدي (10.22 ± 217.1 ملغم/100 مل) مقارنة مع مجموعة السيطرة (8.84 ± 106.3 ملغم/100 مل) وتتفق هذه النتيجة مع عدد من البحوث حول احداث الكرب التأكسدي ولكن بطرائق مختلفة [18,19] اذ ان الزيادة الحاصلة في مستوى الكليسيريدات الثلاثية ترجع الى حالة الكرب التأكسدي المتسببة في اضطرابات ايض الدهون وقد يؤدي الكرب التأكسدي واصناف الاوكسجين الفعالة الى تثبيط بعض الانزيمات المسؤولة عن تجزئة الكليسيريدات الثلاثية ومنها (Lipase) مؤدية الى احداث تغير في ايض الدهون [20] وعند اعطاء المستخلص المائي للحبة السوداء (100 ملغم/كغم من وزن الجسم) ادى ذلك الى انخفاض معنوي ($P< 0.05$) في مستوى الكليسيريدات الثلاثية (12.4 ± 75.10 ملغم/100 مل) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (8.84 ± 106.3 ملغم/100 مل) ويعزى ذلك الى دور مكونات الحبة السوداء وخاصة الفلافونيدات بخفض نسب الاحماض الدهنية الحرة في البلازما ومن ثم خفض مستويات الكليسيريدات الثلاثية [21]. وعند اعطاء الحيوانات المستخلص المائي للحبة السوداء (100 ملغم/كغم من وزن الجسم) والمعرض للكرب التأكسدي ادى ذلك الى انخفاض غير معنوي (5.11 ± 101 ملغم/100 مل) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (8.84 ± 106.3 ملغم/100 مل) وهذا يتفق ونتائج الدوري[22]. ويعزى ذلك الى المركبات الفعالة الموجودة في المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء بوصفها مواد مضادة للأكسدة تساهم في منع اكسدة الدهون ومن ثم تقليل مستوى الكليسيريدات الثلاثية [23].

البروتينات الدهنية للكوليسيترول

يلاحظ من الشكل (4) ان اعطاء بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) ادى الى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى (HDL-C) (2.0 ± 27.5 ملغم/100 مل) بالمقارنة مع

مجموعة السيطرة (3.17 ± 33.5 ملغم/100 مل) بينما يوضح الشكل (5) ان الكرب التأكسدي احدث زيادة معنوية في مستوى (LDL-C) (7.9 ± 98.44 ملغم/100 مل) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (9.78 ± 95.11 ملغم/100 مل) وان الانخفاض الحاصل في مستوى (HDL-C) يعود الى زيادة اصناف الاوكسجين الفعالة والتي تؤدي ارتفاع مستوى الكوليسترول وانخفاض مستوى البروتينات الدهنية عالية الكثافة (HDL-C) في الدم [23]. اما الزيادة الحاصلة في مستويات البروتينات الدهنية واطئة الكثافة (LDL-C) فقد ترجع الى الزيادة الحاصلة في مستوى المانوليهايد (MDA) الناجم عن الكرب التأكسدي والتي يرافقها زيادة في مستوى (LDL-C) في مصل الدم [24]. وكما يلاحظ ايضاً من الشكل (4) ان اعطاء المستخلص المائي للحبة السوداء (100 ملغم/كغم من وزن الجسم) ادت الى حدوث زيادة غير معنوية في مستوى (HDL-C) (3.11 ± 34.6) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (9.78 ± 95.11 ملغم/100 مل) وكما يلاحظ من الشكل (5) ان هناك انخفاضا غير معنوي في مستوى البروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليستيرول في المجموعة المعطاة المستخلص المائي للحبة السوداء (100 ملغم/كغم من وزن الجسم) (14.2 ± 91.0 ملغم/100 مل) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (9.78 ± 95.11 ملغم/100 مل) ويعزى السبب في ذلك ان المستخلص المائي للحبة السوداء يعمل مانعاً لتكوين (LDL-C) الضار وزيادة تكوين (HDL-C) النافع [25] كما يعمل على تقليل ضرر تأثير الجذور الحرة المتولدة بسبب بيروكسيد الهيدروجين وهذا يتفق ونتائج الخيري [26].

المصادر

1) De-Zwart LL., Meerman JH., Commanur JN. and Vermeulen NPE., 26(1/2):202-226 (1999).

2) Halliwell B. and Gutteridge J. M. C., "Free Radical in Biology Medicine". 3rd ed., Oxford University Press UK. (1999).

3) Thomas JA., pp. 404-. Supplement (1999).

4) Tsao AS., Kim Es. and Hong Wk., J. Chin. 54:150-180 (2004).

5) Surh YZ. And Ferguson L., AJB 5(12). pp. 1227-1232 (2003).

6) Fuleki T. and Recadida Silva J. M., J. Agric Food Chem., 45:1156-1160. (1997).

7) Riaz M., Syed M. and Chaud hary F. M., Hamdard Medicus, 39(2):40-45 (1996).

8) Burits M. and Bucar F., Res. Aug. 14(5): 323-328 (2000).

9) El-Abhar H. S. Abdullah D. M. and Saleh S., Cario, University Cairo. Egypt, (2003).

10) AL-Jobory, H. M., M.Sc. Thesis, College of Science, University of Tikrit, Tikrit, Iraq (2001). (In Arabic).

11) Al-Zerfy, S, K., M.Sc. Thesis, College of Science, University of Babil Babil, Iraq (2003). (In Arabic).

12) Kikwood B. R., "Medical statistic". 1st ed., Black well scientific publications , Oxford pp: 38. 89-148 (1998).

13) Pffeuffer M. and Pitman R., Atherosclerosis. 76:89-91 (1989).

14) Ojo O. O., Kabutu F. R., Bello M. and Babayo U., AJB Vol. 5(12): pp. 1227-1232. (2006).

15) Edwards C. R. W., Boucheir I. A. D. and Chilver E. R., "Davidon's principle and practice of medicine Edinburgh".London and New York; 12:pp. 764-768 (1996).

16) Hassan S. M., Al-Kenaya E. R. and Al-Hafez H. A. K., Iraq Vet. Sci. 13: 249-270 (2000).

17) Stryer L., "Biochemistry". 4th ed., New York, USA, pp. 612 (2000).

18) Al-Obady, B. A., M.Sc. Thesis, College of Pharmachology, University of Baghdad, Baghdad, Iraq (2001). (In Arabic).

19) Al-Suleman, R. A., PhD. Dissertation, College of Science, University of Mosul, Mosul, Iraq (2001). (In Arabic).

20) Grucka-Mamczar E., Birkner E., Kasperczyk S., Kasperezyk A., Chlubek D., Samujlo D., Katowice A. C. and Szczecin P., Fluoride, 37(3): 195-200. (2004).

21) Machoy-Mokrzynska A., Put A., Ceglecka M. and Mysliwiec Z., Fluoride, 27:201-204 (1994).

22) Al-Durry, A. M., M.Sc. Thesis, College of Education, University of Tikrit, Tikrit, Iraq (2001). (In Arabic).

23) Baratta M. T., J. Vet. 13, n. 4, P:235-244 (1998).

24) Cipollone F., Fazia M. , Lezzi A., Pini B., Costantini D., Paloscia L., Materazzag, Annunzio E., Bucciarelli T. and Mezzetti, A., Tleart, 89:773-779 (2003).

25) Tain H., Liange J. and Zhang X., Hum I.Ko-Ta. Hsueh. Pao. 22(1):97-99 (1991).

26) Al-Kairy, H. Y., M.Sc. Thesis, College of Pharmachology, University of Baghdad, Baghdad, Iraq (2000). (In Arabic).