تأثير بعض المركبات البروتينية المعزولة من نبات الشليك ***(Fragaria Vesca)*** على بعض المتغيرات الكيموحيوية للفئران المعرضة للكرب التاكسدي التجريبي

لمى عبد المنعم بكر
قسم الكيمياء / كلية التربية
جامعة الموصل

الاستلام	القبول
٠٩ / ١١ / ٢٠٠٩	٠٧ / ٠٤ / ٢٠١٠

Abstract

This study was concerned with preparation of cold aqueous extract of *Fragaria Vesca*. the proteinous compound (from cold proteinous precipitate) has been isolated and studied by using the gel filtration chromatography technique where the molecular weight of the compound was (7226) Dalton.

The study also concerned with the effect of crud aqueous proteinous and non protienous extracts, protienous precipitate and compound which was isolated from it in serum glucose, total cholesterol (T.C), high density lipoprotein cholesterol (HDL-c) and uric acid in females mice which was exposed to oxidative stress induced by hydrogen peroxide, in addition glutathione (GSH) and malondialdehyed (MDA) levels was determined in liver, heart and kidney tissues for thase mice.

The results of injection intraperitoneal of mice and after one week of a treatment with proteinous compound, crud aqueous precipitate proteine and proteinous precipitate, indicated significant decrease the levels of serum total cholesterol, serum uric acid, and serum glucose when treated with proteinous precipitate and aqueous extracts proteine, whereas the results indicated that significant increase level of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) when treating with (proteinous precipitate, aqueous proteinous, non proteinous (which caused asignificant increase in glucose

level)) extracts, the level of glutathione (GSH) and malondialdehyed (MDA) has also been increased for some tissues when treating with the above mentioned extracts. Finally, it can be concluded that most extracts of (*Fragaria Vesca*) plant have a decreased effects for total cholesterol and have an increased effect for high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) level and as antioxidants.

الخلاصة :

تضمنت هذه الدراسة تحضير مستخلص مائ ي بارد لنبات الشليك *Fragria Vesca*، اذ تم عزل ودراسة المركب البروتيني بتقنية كروماتوغرافيا الترشيح االهلامي من الراسب البروتيني البارد، حيث حدد الوزن الجزيئي للمركب والذي بلغ 7226دالتون. كما تناولت الدراسة تأثير المستخلص الخام والمستخلصان البروتيني وغير البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه في مستويات الكلوكوز، الكولسترول الكلي، كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وحامض اليوريك في مصل دم اناث الفئران المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين بعد حقن المستخلصات في التجويف البريتوني بالإضافة إلى تقدير مستويات الكلوتاثايون والمالوندايالديهايد في انسجة الكبد ، الكلية والقلب العائدة لها. أظهرت نتائج الحقن في التجويف البريتوني للفئران وبعد اسبوع من المعاملة بالمركب البروتيني ،المستخلص المائي الخام والراسب البروتيني له بانخفاض معنوي ($p<0.05$) لمستوى الكوليستيرول الكلي وحامض اليوريك ولمستوى الكلوكوز عند المعاملة بالراسب البروتيني والمستخلص المائي الخام بينما أشارت النتائج إلى ارتفاع معنوي في مستوى الكوليسترول البروتيني الدهني عالي الكثافة عند المعاملة بالمستخلصات (الراسب البروتيني، المائي الخام وغير البروتيني) كما ارتفع مستوى الكلوتاثايون والمالوندايالديهايد ارتفاعا معنويا في الانسجة عند المعاملة بالمستخلصات المذكورة سابقا ماعدا الراسب البروتيني والمستخلص غير البروتيني اديا الى انخفاض غير معنوي في نسيج القلب في مستوى المالوندانيالديهايد. اخيرا يمكن الاستنتاج المستخلص المائي الخام والراسب البر وتيني لنبات الشليك ذات تأثير خافض للكلوكوزوللكوليستيرول الكلي وحامض اليوريك ورافع لمستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة والكلوتاثايون.

المقدمة:

تلعب النباتات وخاصة الفواكه والخضراوات دورا طبيا في حياتنا الطب يعية ، حيث ان لها دور في حماية الإنسان من الكثير من الأمراض بضمنها السرطانات بأنواعها وامراض القلب والأوعية الدموية حيث تعتبر النباتات صيدلية كاملة للأنسان (١). اهتم هذا البحث بدراسة نبات الشليك حيث عرف

الشليك من الفاكهة الناعمة اذ يعود الى العائلة الوردية الجذابة بشكلها والغنية بطعمها (٢)، كما يمتاز بكونه غني بالمركبات الفينولية والتي تعتبر مواد مضادة لتصلب الشرايين والسرطانات بانواعها وكما تعتبر مواد مضادة للاكسدة ومنها امثلتها مركبات التانين القابلة للتحلل وتشمل (Ellagitannins(ETS),Gallotannins(GTS),and ellagic acid(EA)) اضافة الى حامض هيدروكسي س نياميك وبعض المعادن كالحديد والفسفور والفيتامينات (C,B,A)ومادة الانثوسيانين (صبغات تعطي اللون الاحمر لنبات الشليك) (٤،٣). ذكرت بعض الدراسات وجود عدد من العوامل التي تعمل على توليد اصناف الاوكسجين الفعالة منه ا عوام ل كيمياوية كالادوية والكحولات وعوامل فيزياوية مثل الاشعاعات وعوامل الكرب العصبي والنفسي (٦).

تظهر حالة الكرب التاكسدي Oxidative stress عند زيادة الجذور الحرة ويصبح الجسم غير قادر على ازالتها مما تؤدي الى تخريب الخلايا وتحطيم مكوناتها من الجزيئات الحيوية م ؤدية إلى ظهور العديد من الأمراض مثل الامراض السرطانية و امراض الكلية والكبد وأمراض شبكية العين ، داء السكر،الشيخوخة والزاهايمر (٧). كما تعمل الجذور الحرة على اكسدة الاحماض الدهنية غير المشبعة في الدهون الفوسفاتية الموجودة في غشاء الخلية من خلال سلسلة تفاعلات تحفيز ذاتية مزدوجة تتكون من خلالها مجموعة من المركبات السامة مثل الالكانات والالكينات والالديهايد ات كالمالوندايالديهايد (٨,٧) لذا اعتمدت الدراسات الحديثة على مضادات الاكسدة في الوقاية من الكرب التأكسدي حيث يمتلك الجسم عدة أنظمة دفاعية للسيطرة على إنتاج ال جذور الحرة والحد من مخاطرها منها انظمة انزيمية تشمل انزيمات الكتاليز والسوبر اوكسايد ديسميوتيس وكلوتاثايون بيروكسيديس وكذلك الأنظمة غير إلانزيمية أما يكون مصدرها من داخل الجسم كالهرمونات الجنسية وحامض اليوريك ، السيريلوبلازمين او المرافق الانزيمي Co-enzymeQ او مصدرها غذائي كالفواكه والخضروات التي تحتوي مركبات مضادة للاكسدة تشمل الفلافونويد ات وايزوفلافونات ، فلافونات، انثوسيانين، كاتيجين وايزوكاتيجين ، بالاضافة الى الفيتامينات E,A,C (٦)وهذا ما أكدته بعض الدراسات بضرورة تناول كميات كافية من الفاكهة والخضروات (التوت ، الشاي ، الخوخ ، الشليك) لاحتوائها على نسبة جيدة من مانعات الأكسدة و التي لها دور في تقليل الاصابة بالأمراض الخطرة كأمراض الأوعية الدموية ، سرطان القولون والبروستات ، داء السكر ، ارتفاع ضغط الدم (١٠,٩).

الجزء العملي:

المواد وطرائق العمل:

النبات المستخدم: الشليك.

الأسم الانكليزي للنبات:Fragaria.

الأسم اللاتيني للنبات:Strawberry.

اسم العائلة:[Rosaceae(Rose Family)].(١١)

الحيوانات المستخدمة

استخدمت في هذه الدراسة اناث الفئران البيضاء المجهزة من كلية الطب جامعة الموصل .وبعمر ثلاثة اشهرواوزان تراوحت مابين (٢٥-٣٠)غرام وضعت في اقفاص ذات ابعاد (١٥-٤٥)سم جهزت لهذا الغرض وزودت بالماء والعلف الخاص بها ،اخضعت للظروف ذاتها من اضاءة ودرجة حرارة ٢٥°.

تحضير المستخلص الخام

اخذ ٥٠٠ غم من نبات الشليك ثم قطعت الى اجزاء صغيرة وسحقت بصورة جيدة باستخدام جهاز الثرم (Blender) ومزجت بالماء المقطر البارد بنسبة ١ وزن :٣ حجم (ماء) لمدة عشرة دقائق . تم تكسير الجدار الخلوي باستخدام عملية التجميد والتذويب المتكررة حيت كررت العملية اربع مرات،بعدها استخدم جهاز الامواج فوق الصوتية نوع PG ١٥٤٥ من شركة MSC الانكليزية ولمدة ٣٠ دقيقة، رشح الخليط الناتج خلال عدة طبقات من الشاش ثم فصل المحلول الناتج باستخدام جهاز الطرد المركزي المبرد للتخلص من المواد غير الذائبةوالحصول على راشح رائق ، بعدها تم تقليص حجم هذا الراشح الى الثلث بواسطة جهاز التجفيد Lyophilizer (١٢).

ترسيب البروتينات وعزلها

رسبت البروتينات من المستخلص المائي الخام باستخدام المذيب العضوي الاسيتون البارد (١٣) وبنسبة ٤٠:٦٠، حجم :حجم على التوالي وباستخدام جهاز الطرد المركزي المبرد وبسرعة xg ٦٠٠٠ ولمدة ٢٠ دقيقة، تم الحصول على الراسب البروتيني والذي جفف وأصبح مادة صلبة على شكل مسحوق بعد وضعه بجهاز التجفيد لعدة ساعات.(١٤)

فصل وتنقية البروتينات

بعد عزل البروتينات بطريقة الترسيب بالاسيتون تم تنقيتها وفصلها باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الترشيح الهلامي Gel Filtration من خلال امرار حجم (٢) سم^{٣} من محلول مركز حضر من اذابة ٢ملغم من الراسب البروتيني لنبات الشليك في ١٠ مل ماء مقطر على عمود الفصل ذي الابعاد (١٢٠×١.٨) سم والحاوي على هلام السيفديكس نوع G50 الى ارتفاع ١١٠ سم يتبعها (٢) سم^{٣} من الماء لدفع النموذج داخل العمود ومن ثم يستمر استرداد المادة البروتينية بإضافة الماء المقطر بمعدل جريان ٦٠ مل / ساعة اي بمعدل ١٠ دقائق لكل جزء من جامع الاجزاء الاوتوماتيكي (Fraction collector) الذي يعمل على نظام الدقائق حيث تم متابعة المحتوى البروتيني من خلال قراءة شدة الامتصاصية عند الطول الموجي (٢٨٠) نانوميتر وباستخدام جهاز مطياف الاشعة فوق البنفسجية والمرئية.جمعت الحزمة الناتجة عن فصل مادة الراسب البروتينية من خلال الرسم البياني للامتصاصية مقابل حجم الروغان وقدرت كمية البروتين للحزمة بطريقةلاوري المحورة (١٥).

تعين الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول

تم استخدام نفس أبعاد عمود الفصل المشار اليه في الفقرة السابقة لتعيين الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المنقى جزئيا من الراسب البروتيني لنبات الشليك بعد تمرير محاليل قياسية معلومة الوزن الجزيئي ذات التركيز ١ ملغم / سم^{٣} وقد تراوحت الأوزان الجزيئية لها (204-2000000) دالتون في عمود الفصل كل على حدة وبنفس الطريقةالمشار اليها في الفقرة اعلاه ومن هذه المواد :

١.الدكستران الازرق (Blue Dextran) لتعيين الحجم الخالي (الفارغ من الحبيبات) (V0=void volume).

٢.الحامض الاميني التربتوفان (Tryptophan)لتعيين الحجم الداخلي للعمود (V1=internal volume).

٣.ألبومين مصل البقر (Bovine Serum Albumin, BSA).

٤.ألبومين البيض (Egg Albumin).

٥.انزيم الببسين (Pepsin Enzyme).

٦.هرمون الانسولين (Insulin Hormone).

بعد ذلك تم تعيين حجم الروغان لكل من المواد المعلومة الوزن الجزيئي والمركب البروتيني ذو الوزن الجزيئي المجهول ومن خلال اسقاط حجم الروغان للمركب البروتيني على الخط المستقيم الناتج من الرسم البياني للوغاريتم الوزن الجزيئي مقابل حجم الروغان للمواد المعلومة الوزن الجزيئي تم تحديد الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المنقى جزئيا لنبات **الشليك.(١٦)**

تحديد الجرعة المؤثرة

استخدمت إناث الفئران السليمة تراوحت أوزانها ما بين(٢٥-٣٠) غم قسمت إلى ٦ مجاميع تضم كل مجموعة ٣ فئران عوملت كالتالي :

١. المجموعة الاولى

حقنت في التجويف البريتوني (٠.٢٥)مل من المحلول الملحي الفسلجي (Normal Saline) واعتبرت مجموعة سيطرة Control

٢. المجموعة الثانية وتشت مل على مجاميع (٢-٦)حقنت في التجويف البريتوني بالجرع (١٧٥,١٥٠,١٢٥,١٠٠,٧٥,٥٠,٢٥)ملغم /كغم من وزن الجسم على التوالي من المستخلص المائي الخام البارد لثمرة نبات الشليك والمذابة في المحلول الملحي الفسلجي ،وبعد مرور ساعتين من أجراء عملية الحقن في التجويف البريتوني تم سحب الدم من الفئران من محجر العين و ثم تحديد مستوى كلوكوز الدم.

حقن الحيونات المعرضة للكرب التاكسدي التجريبي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين

استخدمت اناث الفئران البيض ذات الأوزان(٢٥-٣٠)غم حيث قسمت إلى ست مجاميع تضم كل مجموعة ٣ فئران وكما مبين أدناه:

أ. المجموعة الأولى: مجموعة سيطرة عوملت بصورة طبيعية من حيث العلف والماء ولمدة ١٥ يوم

ب. المجموعة الثانية : مجموعة تجريبية حيث عرضت للكرب التاكسدي باستخدام بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (٠.5%) مع ماء الشرب ولمدة ١٥ يوم.

ج. المجاميع من (٣-٦): جرعت بيروكسيد الهيدرو جين ذو التركيز ذاته وبنفس المدة مع ماء الشرب، ثم حقنت باليوم السابع ولمدة أسبوعا كاملا في التجويف البريتوني (باللمستخلص المائي الخام، المستخلص الغير البروتيني، الراسب البروتيني ، والمركب البروتيني المفصول منه بتقنية الترشيح الهلامي بالجرع (١٢٥، ٩٩.٨٨، ٠.١,٠.١١٧)ملغم /كغم من وزن الجسم على التوالي.

تقدير المتغيرات:

قدر مستوى الكلوكوز والكوليستيرول وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وحامض اليوريك باستخدام عدة التحليل Kit نوع Reactifs Biolabo الفرنسي لحامض اليوريك Biocon الالماني للكوليستيرول الكلي وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة و Syrbio الفرنسي لكلوكوز الدم وهي طرق انزيمية، كما تم تقدير مستوى الكلوتاثايون في انسجة الكلية والكبد والقلب باستخدام طريقة

المان ، في حين قدر مستوى المالونداياالديه ايد في الانسجة المدروسة بالطريقة المتبعة من قبل الباحثين (١٨).

التحليل الاحصائي

حللت نتائج مستوى الكلوكوز ، الكوليستيرول الكلي ، كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة ، حامض اليوريك ، الكلوتاثايون ، المالونداياالديهايد احصائيا وذلك باستخدام تحليل الت باين الاحادي One way analysis of variance كما تم تحديد الاختلافات ا لخاصة بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن Duncan (19) وكان مستوى التمييز الإحصائي المقبول عند ٥%(P<0.05).

النتائج والمناقشة

تم إيجاد كمية البروتينات الكلية ونسبتها المئوية وكفاءة الترسيب بالاسيتون في المستخلص المائي البارد لنبات الشليك كما موضحة بالجدول (١).

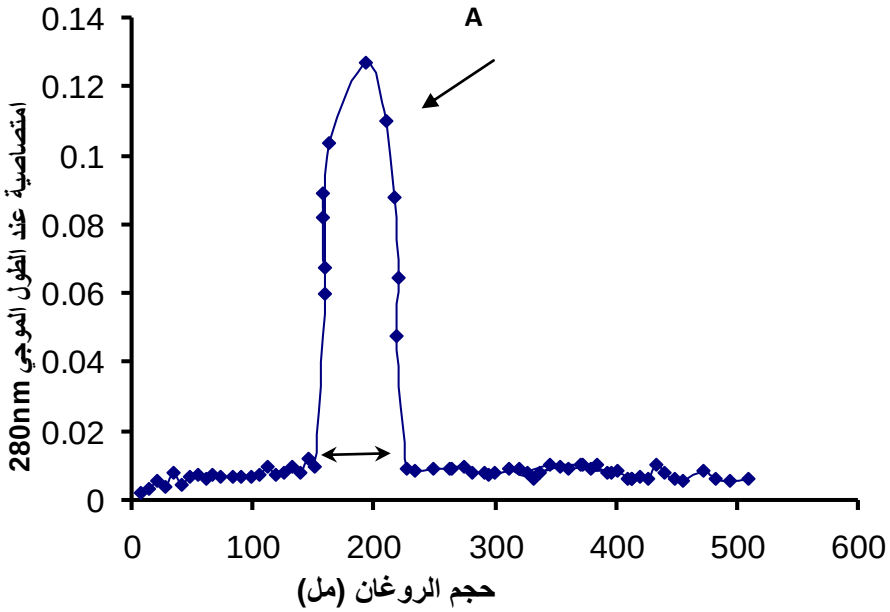
جدول (١): كمية البروتين المقدرة بطريقة لاوري المحورة ونسبتها المئوية وكفاءة ترسيبها بالاسيتون في المستخلص المائي الخام.

نوع المستخلص	تركيز البروتين (ملغم/سم^3)	الحجم الكلي للمستخلص (سم^3)	كمية البروتين الكلي في المستخلص (ملغم)	وزن النبات (غم)	نسبة البروتين في النبات (%)	وزن البروتين المحصل عليه عملياً (ملغم)	كفاءة الترسيب بالأسيتون (%)
المستخلص المائي الخام البارد لنبات الشليك	٠.٥٤٣	١٠٨٠	٥٨٦.٤٤	٥٠٠	٠.١١	٣٨٨.٣	٦٦.٢١

فصل الراسب البروتيني

استخدمت طريقة الترشيح الهلامي والتي تعد أحد طرق الفصل للمركبات ا لحيوية حيث تعتمد على حجم الجزئيات ،فالجزيئات الكبيرة تظهر أولا من عامود الفصل أما الجزئيات الأقل حجما فتستطيع اختراق مادة الهلام فتظهر متأخرة حيث تستغرق فترة زمنية خلال عامود الفصل (٢٠،١٦).

وعند استخدام عامود الفصل المذكور (١٢٠ ×١.٨) سم أعطى روغان الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي لنبات الشليك قمة واضحة وكما مبين في الشكل الاتي:



شكل(١): حجم روغان الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لثمار نبات الشليك بتقنية الترشيح الهلامي(A) تشير قمة الحزمة الى حجم الروغان للمركب البروتيني المفصول ومقدارها(١٩٢)مل، حجم كل جزء (١٠)مل وبمعدل جريان (٦٠)مل/ساعة.

إيجاد كمية البروتين الكلي في الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام البارد لنبات الشليك قبل التمرير في عامود الفصل والمركب البروتيني الناتج من تقنية الترسيح الهلامي

بعد عملية فصل المركب البروتيني من المحلول المركز للراسب البروتيني الذي مرر في عمود الفصل كما ذكر سابقا ، قدرت كمية البروتين بطريقة لا وري المحورة، تم أيجاد كفاءة الفصل في العمود المستخدم لتقنية الترشيح الهلامي والجدول (2) يبين النتائج التي تم الحصول عليها.

جدول (٢): يوضح كمية البروتين المركز الناتج قبل تمريره على عمود الفصل والمركب البروتيني الناتج من الترشيح الهلامي

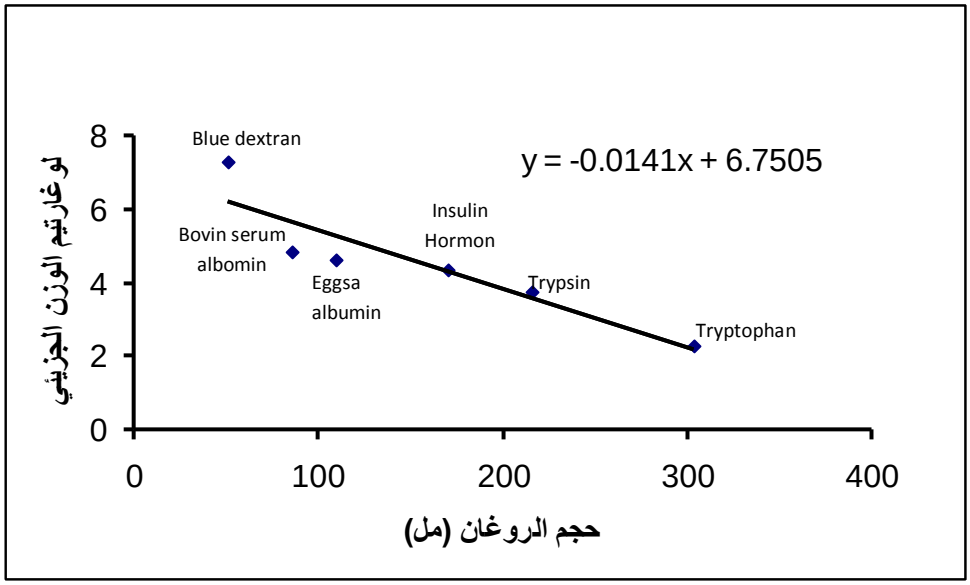
نوع المادة	تركيز البروتين (ملغم/سم^3)	الحجم الكلي (سم^3)	كمية البروتين الكلي (ملغم)	النسبة المئوية (%)
الراسب البروتيني الناتج من المستخلص المائي الخام البارد لنبات الشليك قبل التمرير في عمود الفصل	١.٢٤٥	٢	٢.٤٩١	١٠٠
المركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي من مادة الراسب البروتيني	٠.٠٣٠٥	٧٥.٢٣	٢.٢٩	٩٢.١١

الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول

لتعيين الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني ا لمفصول بتقنية الترشيح الهلامي استخدم عامود الفصل المستخدم سابقا ، حيث مرر عدد من المواد المعلومة الوزن الجزيئي التي تراوحت أوزانها الجزيئية بين (٢٠٤ – ٢٠٠٠٠٠٠) دالتون، بعد ذلك عين حجوم الروغان لهذه المواد والمبينة في جدول (٣).

جدول (٣): حجم الروغان للمواد المعلومة الوزن الجزيئي التي مررت على عمود الفصل Sephadex G- ذي الابعاد (١.٨× ١٢٠) سم والحاوي على هلام سفيدكس ٧٥

	المادة	الوزن الجزيئي(دالتون)	حجم الروغان(سم^3)
١	الدكستران الازرق Blue dextran	2000000	٥١
٢	البومين مصل البقر(Bovine serum albumin (BSA	٦٧٠٠٠	٨٦
٣	ا لبومين البيضEggs albumin	٤٥٠٠٠	١١٠
4	تربسين Trypsin	٢٣٠٠٠	١٧٠
٥	هرمون الانسولينInsulin Hormone	٥٧٥٠	٢١٦
٦	تريتوفانTryptophan	٢٠٤	٣٠٤



الشكل(٢): يوضح المنحنى القياسي لتقدير الوزن الجزيئي التقريبي لبروتين

تم الحصول على المنحني القياسي الشكل (٢) لتقدير الوزن الجزئي من رسم العلاقة بين حجم الروغان لكل مادة ولوغارتم الوزن الجزيئي كما هو مبين في الجدول (٣)والذي من خلاله يمكن تحديد الوزن الجزيئي التقريبي للمركب المفصول وذلك من خلال اسقاط حجم الروغان الذي تم الحصول عليه للمركب البروتيني من الشكل (١) على المنحني القياسي وكما موضح في الجدول (٤).

جدول (٤): الوزن الجزيئي التقريبي للمركب المفصول بتقنية الترشيح الهلامي

المادة	حجم الروغان (سم^3)	الوزن الجزيئي التقريبي(دالتون)
المركب البروتيني المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام البارد لنبات الشليك	١٩٢	١١٠٥٣٠.٥٠٤

تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام البارد

يوضح الجدول (٥) تحديد الجرعة الأكثر تأثيرا في خفض مستوى الكلوكوز في إناث الفئران السليمة للمستخلص الخام البارد لنبا ت الشليك،حيث تبين من خلال الجدول إن الجرعة المؤثرة (١٢٥)ملغم /كغم من وزن الجسم.

جدول (٥): تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي البارد لنبات الشليك

تركيز الكلوكوز	السيطرة	جرعة المستخلص المائي الخام البارد ملغم/كغم وزن الجسم						
		٢٥	٥٠	٧٥	١٠٠	١٢٥	١٥٠	١٧٥
ملي مول/لتر	0.25±5.34	٣.٨ ±٠.٠٨	±٣.٩ ٠.٠١	٥.٦ ±٠.١	٣.٨٣ ±٠.١١	٢.٧٥ ±٠.١١	٤.٧±٠.٠٥	٤.٦±٠.٦

المعدل±S.D

تاثير المستخلص المائي الخام والمستخلص غير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه لنبات الشليك على مستوى الكلوكوز والكوليستيرول الكل ي وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وحامض اليوريك في مصل دم اناث الفئران المعرضة للكرب التاكسدي

أظهرت النتائج في الجدول (٦) ان معاملة اناث الفئران البيض ببيروكسيد الهيدروجين (٠.٠٥%) عن طريق الفم من خلال ماء الشرب ولمدة ١٥ يوم إلى ارتفاع معنوي في م ستوى كلوكوز مصل الدم عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة، وهذا يتفق مع ما حصل عليه كل من (١٤,٢١) في

ذكور الفئران المعرضة لنفس الظروف أعلاه وقد يعزى السبب إلى أن بيرو كسيد الهيدروجين قد يؤدي إلى زيادة الجذور الحرة التي تسبب تلف خلايا بيتا مما يؤدي إلى انخفاض مستوى هرمون الانسولين (٢٢).

كما أظهرت النتائج أن هناك ارتفاعا معنويا للكوليستيرول الكلي الذي قد يكون ناتج من حصول تغيرات في عملية امتصاص وطرح الستيروبد أو قلة كمية احماض الصفراء في الأمعاء وبالتالي زيادة استهلاك الكوليستيرول في الدم لغرض التعويض (٢٣) في حين بين الجدول (٦) انخفاضا غير معنويا لكولستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وارتفاعا معنويا لحامض اليوريك وقد يعود السبب الى ان حامض اليوريك يعتبر من مضادات الاكسدة الداخلية والتي تمتلك القدرة على تقليل ٦٠% من الجذور الحرة والتي تؤدي الى حدوث الكرب ال تاكسدي حيث يتحفز خلاله انزيم زانثين اوكسيديس لتكوين حامض اليوريك الذي يتفاعل مع peroxynitrite (احد انواع الجذور الحرة الغير مستقرة) ليحولها الى حامض النتريك المستقر وبالتالي فان زيادته تكون متوقعة (٢٥,٢٤)

اما بالنسبة لنتائج حقن الفئران بالمستخلصات (المائي الخام،والراسب البروتيني والمستخلص غير البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه وذلك عن طريق الحقن في التجويف البريتوني بالجرع (١٢٥، ٩٩.٨٨، ٠.١,٠.١١٧)ملغم /كغم من وزن الجسم على التوالي والمبينة في الجدول (٦) ولوحظ هناك انخفاض معنوي للكلوكوز عند الحقن بالراسب ا لبروتيني والمستخلص الخام قد يعود السبب الى ان بعض النباتات ومن ضمنها الشليك لها القدرة اعادة وظيفة الخلايا البنكرياسية في منع او تقليل الامتصاص المعوي للكلوكوز والذي يؤدي الى زيادة مستوى الانسولين (٢٧,٢٦). أما عند حقن الفئران بالمركب البروتيني المفصول منه والمستخلص غير البروتيني فقد ظهرت النتائج ارتفاع غير معنوي لكلوكوز مصل الدم.

من ناحية اخرى أظهرت النتائج في الجدول (٦) أن مستوى الكوليستيرول الكلي قد انخفض انخفاضا غير معنويا عند حقن الفئران بالمستخلص غير البروتيني بينما أظهرت انخفاضا معنويا للكوليستيرول الكلي عند حقنه بالمستخلص المائي الخام ، الراسب البروتيني ، المركب البروتيني المفصول منه ،ان التاثير الخافض لهذه لمستخلصات ربما تعمل على تثبيط أنزيم reductase Hydroxymethyl glutary- CoA المسؤول عن بناء الكوليستيرول ، او قد يعود السبب الى ان الفلافونات المتواجدة في بعض النباتات تزيد من طرح أحماض الصفراء والشحوم المتعادلة مع الفضلات وبالتالي تقلل الكوليستيرول (٢٨). إن عملية طرح أملاح الصفراء وبالتالي زيادة تكونها من الكوليستيرول تؤدي الى قلة مستواه في مصل الدم وهذا ما أكده بعض الباحثين لنبات الفاصوليا (٢٩).

جدول (6): تأثير الراسب البروتيني والمستخلص غير البروتيني و المائي الخام والمركب البروتيني المفصول لنبات الشليك في مستوى المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم إناث الفئران المعرضة للكرب التاكسدي التجريبي

المعاملات	الكلوكوز ملي مول/لتر	الكوليستيرول الكلي مليمول/لتر	حامض اليوريك ملي مول/لتر	HDL-C مليمول/لتر
السيطرة(المحلول الملحي الفسلجي)	a 0.41±7.36	bc 0.1±1.5	a 0.17±8.57	a 0.22±2.236
السيطرة المصابة (معرضة للكرب التاكسدي)	c ٠.٢٨±١٢.١٣	c ٠.١±١.٧	f ٠.٣٤±٢٢.٥٧	a 0.62±2.046
الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد لنبات الشليك	a ٠.٤١٦±٧.٢٣	ab ٠.٢٥±١.٣٦	a ٠.٢٩±٢٠.٣٩	c 0.36±3.70
المستخلص غير البروتيني البارد لنبات الشليك	f ٠.٣±١٧.٢	dc ٠.١٥٢±٢.١٣	f ٠.٠٠٥±٢٢.٩٩	bc 0.20±3.10
المستخلص المائي الخام البارد لنبات الشليك	b ٠.١±٩.٥	a ٠.١±١.٢	c ٠.٢٢٥± ١٩.٢٣	d 0.503±4.46
المركب البرو تيني المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد لنبات الشليك	c ٠.١٥±١٣.٣٦	ab ٠.٠٥±١.٢٧	b ٠.٧٦٧±١٥.٦٥	ab 0.23±2.46

كما تبين من النتائج ان كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة ارتفع ارتفاعا معنويا عن د الحقن بالمستخلص (البروتيني، غير البروتيني ، الخام) قد يعزى السبب الى قدر ة هذه المستخلصات على تحفيز خلايا الكبد والأمعاء لإنتاج جزيئات البروتين الدهني عالي الكثافة (٣٠) أو ربما تكون هذه المستخلصات لها القدرة على تحفيز أنزيم لايبو بروتين لايبيز الذي يجهز جزيئات البروتين الدهني عالي الكثافة بالدهون الف وسفاتية و $apoA_1$ أثناء سحب الكليسريدات الثلاثية من الما يكرونات والبروتين الدهني واطئ الكثافة جدا (١٤).

كما أظهرت الفئران المحقونة بالمركب المفصول من الراسب البروتيني ارتفاعا غير معنوي لكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة . اما بالنسبة لمستوى حامض اليوريك فقد أظهرت نتائج الحقن بالمستخلص المائي الخام ، الراسب البروتيني،المستخلص غير البروتيني ، والمركب البروتيني المفصولة من الراسب البروتيني انخفاضا معنويا باستثناء المستخلص غير البروتيني قد يعزى السبب الى كون بعض المركبات التي يمتاز بها الشليك واتي بضمنها الفلافونويدات لها دور في تقليل تاثير الجذور الحرة ومن جانب آخر فهي تعمل على تثبيط فعالية أنزيم زانثين اوكسديس وبالتالي تقلل من مستوى حامض اليوريك (٣١) .

تأثير المستخلص الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب المفصول منه لنبات الشليك على مستوى الكلوتاثايون في انسجة الفئران المعرضة للكرب التاكسدي

تبين النتائج الموضحة في الجدول (٧) ان هناك انخفاضا معنويا لمستوى الكلوتاثايون لأنسجة الكبد والقلب والكلية للفئران المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين (٠.٠٥)% عن طريق الفم ولمدة ١٥ يوم عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة، وقد يعود السبب الى ان حدوث الكرب التاكسدي يؤدي الى استنفاذ مضادات الاكسدة في الانسجة ومنها الكلوتاثايون إضافة الى تأثر الانزيمات الخاصة بالكلوتاثايون ومنها (كلوتاثايون ترانسفيريس ، كلوتاثايون ريديكتيس وكلوتاثايون بيروكسيديس) بحالة الكرب التاكسدي (٣٢).

كما أظهرت النتائج عند حقن الفئران بالمستخلصات (البروتيني ، غير البروتيني ، الخام) ارتفاعا معنويا في مستوى الكلوتاثايون في انسجة (الكبد ، القلب والكلية) وقد يعود السبب الى زيادة فعالية أنزيم الكلوتاثايون ريدكتيز الذي يعمل على اختزال الكل وتاثايون المؤكسد الى الشكل المختزل باستخدام NADPH عاملا مختزلا او ان هذه المستخلصات لها دور في تثبيط فعالية انزيم الهادم للكلوتاثايون والذي يسمى انزيم كاما –كلوتامايل ترانس ببتيديز (٣٣) في حين أدت المعاملة بالمركب البروتيني المفصول الى ارتفاع غير معنوي في مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية ولكنه اظهر ارتفاعا معنويا في مستواه في نسيج القلب.

جدول (7): تأثير الراسب البروتيني والمستخلص غير البروتيني و المائي الخام والمركب الهروتيني المفصول لنبات الشليك في مستوى الكلوتاثايون والمالونداياالديهايد في أنسجة الكبد والكليةوالقلب لإناث الفئران المعرضة للكرب التاكسدي التجريبي

المعاملات	الكلوتاثايون(نانومول/غم)			المالونداياالديهايد(نانومول/غم)		
	الكبد	الكلية	القلب	الكبد	الكلية	القلب
السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي)	c 3.95±332.06	c 12.65±320.9	c 10.92±308.2	a 17.1±168.6	c 43.5±348.33	a 40.6±154.3
السيطرة المصابة (معرضة للكرب التاكسدي)	a 12.55±133.3	a 3.81±159.96	a 17.09±128.3	b 7.81±104	a 30.23±242.3	c 5±500
الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد لنبات الشليك	b 30.71±244.4	b 10.54±241.1	b 17.43±229.8	c 11.63±284	c 10.6±521.33	c 7.21±142
المستخلص غير البروتيني البارد لنبات الشليك	c 34.08±338.5	b 7.69±231.89	c 16.7±282	c 45.48±180	b 33.95±423	c 55.42±467
المستخلص المائي الخام البارد لنبات الشليك	b 29.7±236	d 11.83±353.8	c 21.5±278.22	c 5.85±173.3	c 58.31±521.3	b 36.38±512
المركب البروتيني المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد لنبات الشليك	a 36.61±172.2	a 15.45±170.2	b 14.29±248.3	d 27.83±170	a 42.93±313	cd 38.4±495.66

تأثير المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب المفصول منه لنب ات الشليك على مستوى المالوندالديهايد في انسجة الفئران المعرضة للكرب التاكسدي

يوضح جدول (٧) أن مستوى MDA لإناث الفئران المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين (٠.٠٠٥%) عن طريق الفم ولمدة ١٥ يوم أن هناك ارتفاع في مستواه في نسيج القلب عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة ، وقد يعود السبب الى ان زيادة توليد الجذور الحرة تزيد من استهلاك الكوتاثايون مما يجعل الخلايا عرضة لسمية الجذور الحرة والتي من ضمنها بيروكسيد الهيدروجين الذي يؤدي الى تلف خلايا الانسجة كما ان جذور الاوكسيجن الحرة تؤذي الدهون الفوسفاتية الموجودة في اغشية الخلايا وبالتالي تزيد من تكون المالونداياالديهايد وهذا ما اكدته النتائج حيث ارتفاع مستوى MDA ارتفاعا معنويا عند الحقن بالمستخلصات البروتيني ، الغير بروتيني،الخام (٣٤).

References

١) جامعة الدول العربية، المنظمة العربية للتنمية الزراعية (١٩٨٨)، "النباتات الطبية و العطرية و السامة في الوطن العربي"، الخرطوم –السودان، ص ٥-١٤.

٢) السعيدي، ابراهيم حسن محمد (٢٠٠٠) "انتاج الثمار الصغير " الجزء الثاني ، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل ص ٥-٦.

3) Seeram N. P., Adams. L. S., Zhang،y., Lee R., Sand, D., Scheuller, H. S. and Heber, D. (2006). *J. Agric. Food. Chem*. 54:9329-9339.

4) Szenthe A., Stefanovits-Banyai E., Blazovics A., Hegedus A., Engel, R., Sipos, B. Z, Sardi E. and Papp J. (2006*). International. J. Horticultural. Sci.*12(3):109-113.

5) Beattie J., Crozier A. and Puthic G., (2005) *Current Nutrition& Food Science*, 1, 1,:71-86.

6) Schneider C. D., Oliveira A., R., (2004), *Review. Article*, 10(4), 314-318.

7) Wu X., Beecher G. R., Holden J. M., Haytowtz D. B., Gebhardt S. E. and Prior R. L.,(2004). *J. of Agric. Food. chem*. 12, (52): 4026-4037.

8) Cemek M., Dede S., Bayiroglu F., Caksen H., Cemek F. and Mert N.(2006), *World Journal of Gastroenterologyl*, 12, (38): 6212-6215.

9) Chun O. K., Kim D., Smith N., Schroedert D., Han J. T. and Lee C. Y. (2005) *J. sci. Food. Agric*. 85: 1715-1724.

10) Aqil F., Ahmed I. and Mehood Z. (2006)..*Turk, J. Biol*. 30, 177-183.

١١) الكاتب، يوسف منصور . "تصنيف النباتات البذرية "، الطبعة الثانية، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل. ٣٦١، ٥٠٤.(٢٠٠٢).

١٢) آل فليح، اسراء سهل احمد ، (٢٠٠٦) "دراسة تأثير المركب البروتيني والأجزاء غير البروتينية المعزولة من المستخلص المائي البارد والمغلي للحاء الدارسين على بعض المتغيرات الكيموحيوية. رسالة ماجستير.كلية العلوم. جامعة الموصل.

١٣) ال فليح، خولة احمد ، مدخل الى الكيمياء الحياتية . دار الكتب للطباعة والنشر، الطبع ة الثانية، جامعة الموصل، (٢٠٠٠).

١٤) الجوكا، ايمان سعيد شمعون (٢٠٠٦). "فصل ودراسة المركبات الفعّالة من بذور البازاليا *Pisum sativum* في الفئران المصابة بداء السكر و المعرضة للكرب التأكسدي ". رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل

15) Schacterle G. R. and Pollack J. K. (1973) "A simplified method for the quantitative assay of small amount of protein in biological materials" Anal. Biochem., 51:54-655

16) Robyt F. J. and White J. B. "Biochemical techniques, theory and practice". *Brookes/Cole publishing Company, Montery, California* (1987). pp. 115-118.

17) Volken E., Nurperi G. and Ahmet B., (2001) J. Neurol. Sci, Issue: 1302-1310.

18) Parihar M. S. and Hemnani T., (2003) J. Biosci. Vol. 28. No.1 P121-128.

19) Steel R. G. and Torrie J. H. "*Principle and procedures of statistics biometrical approach*" 2nd ed., Mc Graw.Hill Inc., Singapore, (1984*).* p. 183.

٢٠) المظفر، سامي. "أساسيات الكيمياء الحياتية"، (١٩٩٩)، الطبعة الاولى، دار المسيرة للنشر والتوزيع والطباعة، عمان، ص ١٤٦.

٢١) السعدون، محمد بحري حسن (٢٠٠٥) "عزل المستخلصات من بذور نبات الكرافس *apium graveolens* ودراسة تأثيرها في الفألمعرضة للكرب التأكسدي "، اطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة الموصل.

22) Kim J. S., Ju J. B., Choi C. W. and Kim S. C., *American Journal of Biochemistry and biotechnology*.(2006). 2(4):154-160.

23) Oboh, H. A. and Omofoma, C. O. *Pakistan Journal of Nutriton.* (2008). 7(5):636-639.

24) Waring W. S. and Esmail, S. (2005) *Current Hypertension Reviews.* 1(1): 89-95.

25) Kharb, S., (2007), the Journal of obstetrics and gynecology of Indian., 57(5): 401-402.

26) Abou El-soud, N. H., Khalil M. Y., Hussein J. S., Oraby F. S. H. and Farrag A. R., *Journal of Applied sciences Research*, (2007). 3(10): 1073-1083.

27) Chude, M. A., Orisakwe O. E., aFonne O. J., Gamaniel K. S., Vongtau O. H., Obi, F. (2001) *Indian Journal of Pharmacology* 33.215-216.

٢٨) حميد، حمزة نامق. (٢٠٠٨). "عزل بعض المركبات البروتينية الفعالة من بذور فول الصويا ودراسة تاثيراتها في الفئران المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان والمعرضة للكرب التاكسدي. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل

29) Oakenfull, D. G., and Sidhu, G. S. Proc. Nutr. Soc. Aust., (1984), 9:104-106..

30) Murray R. K., Granner D. K., Myes P. A. and Rodwell V.W. (2000) "Harper's biochemistry" 25th Appleton and louge, usa, p. 257-266.

31) Nijveldt R. J, Nood E. V., Hooru D. E., Boelens P. G., Norren K. V. and Leeuwen PM. *The American Journal of clinical Nutrition.*.(2001), 74: 418-425.

32) Lomaestro B. M. and Malone M. *Annals pharmacother,* (1995), 29:1263-1273.

33) Prashant A. V., Harishchandra, H., Dsonza, V. and Dsouuza, B., Ind, *J. CLINIC. Biochem*.(2007), 22(1):131-134.

34) Aksoy H., Koruk M. and Akcay F. *Turkish Journal of Biochemistry*. (2008).28(2).32-34.