التغيرات الحاصلة ببروتين الكولاجين عند التقدم بالعمر

م.م.غزوة خليل علي الطائي
م.م. سراب داؤد سليمان الشماع
قسم علوم الحياة
كلية العلوم / جامعة الموصل

تاريخ تسليم البحث: ٢٠١٢/٤/١١ ؛ تاريخ قبول النشر: ٢٠١٢/٩/٦

ملخص البحث:

شملت الدراسة الحالية بيان تأثير تقدم العمر على بعض الصفات الكيموحيوية للكولاجين الذي تم عزله من مستخلص رئات الارانب، حيث تم استخدام واحد وعشرون ارنباً نوع Albino تراوحت اعمارهم بين شهر واحد - ثلاث سنوات ونصف، صنفت الى سبع مجاميع بمعدل ثلاث ارانب لكل مجموعة. اظهرت النتائج تغيرات بايوكيمائية في محتوى الكولاجين التي ازدادت في مستخلصات رئات الارانب حيث تراوحت بين ٠,٠١٢ - ٠,٠٧٩غم بينما اظهرت نسبة وزن الكولاجين الجاف الكلي / وزن الرئة الجاف زيادة في مجموعة الارانب بعمر سنة ونصف حيث كانت ٠,٠٩٤ مقارنة بها في مجموعة الارانب بعمر شهر واحد ٠,٠٦٢ ثم عادت الى الانخفاض في مجموعة الارانب بعمر ثلاث سنوات ونصف٠,٠٦٢ مقارنة بمجموعة الارانب بعمر سنة ونصف.كما بينت الدراسة ايضاً وجود تغيرات تركيبية للكولاجين الذي تم تنقيته من المستخلصات الرئوية بتقدم العمر، فقد ازدادت نسبة الكربوهيدرات المرتبطة مع الكولاجين وقلت شدة الامتصاصية الفلورنسية والتي تم قياسها باستخدام تقانة قياس الشدة الفلورنسية Fluorescence Spectrometry Technique بتقدم العمر في حين لم نلاحظ اختلافاً واضحاً في المجاميع الفعالة باستخدام تقانة IR Infra-red بتقدم العمر ولكن هذه التقنية اوضحت بان الكولاجين المستخلص من انسجة رئات الارانب ذا بصمة اصبع مماثلة لبصمة الكولاجين نوع١.

Changing in Collagen Protein Due to Aging

Asst. Lect. Sarab D. S. Al-Shama Asst. Lect. Ghazwa K. A. Al-Taee
Department of Biology
College of Science / Mosul University

Abstract:

This study involved the elucidation of aging effects on the some biochemical characters of collagen that has been isolated from rabbit's lungs extract. Twenty-one albino rabbits aged between 1month-3.5 years, classified into 7 groups with 3 rabbits in each.Our results showed biochemical changes in collagens content which increased in rabbit's lung extractfrom 0.012g to 0.079gwhile the percentage of total collagen dry weight/lung dry weight increased in the group 1.5 years 0.094 compared with 1 month group 0.062 then return to decrease in 3.5 years group 0.062 compared to the 1.5 years group.This study also revealed structural changes of purified collagen from rabbits lung extracts with aging,purified collagen showed an increase of carbohydrates content and a decrease in fluorescents absorbance intensity.After using fluorescent spectrophotometric technique,while IR-technique didn't give us any differences in theimportant groups of collagen with aging, but it gave us a finger print similar to that of collagen type I.

المقدمة:

الكولاجين مجموعة من البروتينات المتواجدة طبيعيا فيالانسجة الرابطة للحبليات. تتواجد في الجلد، العظام، الاوعية الدموية، المعي، قرنية العين، الاربطة والغضاريف، وتؤلف حوالي٢٥ - ٣٠% من البروتينات الكلية المتواجدة في الجسم والخلايا المولدة للالياف (الارومة الليفية) وهي المسؤولة عن بناء الكولاجين (Sikorski, 2001)، يتوزع الكولاجين في مناطق عديدة من جسم الانسان والحيوان وحوالي 90%منه يكون من نوع Collagen I حيث ان هناك حوالي 28 نوعاً مختلفاً من الكولاجين تم تشخيصها ، ومن اكثر انواع الكولاجين تواجداً Collagen V, Collagen I،Collagen II,Collagen III, Collagen IV تتجمع لييفات الكولاجين وتنتظم في ارتباطات وتراكيز مختلفة في الأنسجة المختلفة لتجهيز صفات نسيجية مختلفة (Werner, 2003) وجميع أنواع الكولاجين تتكون من وحدات اولية لثلاثة سلاسل ببتيدية حلزونية سلسلتان حلزونيتان متماثلتان نوع α-1اما السلسلة الببتيدية الثالثة فتختلف قليلا α-2 وكل سلسلة من هذه السلاسل تحتوي على 1000 حامض اميني، ان الاحماض الامينية الاساسية المكونة لبروتين الكولاجين تكون فريدة من نوعها وتسلسلها فهي اما تكون Glycine-X-hydroxyproline او

تكونGlycine-proline-xحيث ان xهي أي حامض امينـــي غيـــر الكلايـــسين او البـــرولين او الهيدروكسي برولين . ويعد الكولاجين المكون الرئيس للحشوة خارج الخلوية للرئـــة وان ترســـبه وعدم انتظامه له علاقة بالتهاب النسيج الخلالي للرئة وامراض المجـــرى التنفـــسي (Bellini & Mattoli, 2007).اوضح Calabresi وجماعته (٢٠٠٧) بان التقدم بعمر الرئات يتميز بتحويرات شكلية وتركيبية تتضمن زيادة التليف المؤدي الى تغير وظيفة الرئة وزيـــادة الكـــولاجين المحـــيط بالقصيبات الهوائية في الجرذان الاكبر عمرا مقارنة بالجزدان الصغيرة في دارستهم على الجرذان الذين تراوحت اعمارهم من ٦ -١٩ شهر.

الهدف من البحث

بسبب قلة البحوث حول التغييرات الكيموحيوية الحاصلة ببروتين الكولاجين بتقـــدم العمـــر ارتأينا إجراء الدراسة الحالية والتي كان من أهم أهدافها بيان تأثير تقـــدم العمـــر علـــى بـــروتين الكولاجين المكون الاساسي للحشوة خارج الخلوية لنسيج الرئة كميا وتركيبيا.

المواد وطرائق العمل

الحيوانات قيد الدراسة

استخدم 21ذكراً من الارانب البيض نوع Albino ذات صحة جيدة وخالية من الامـــراض تراوحت أعمارها بين 1 –42 شهر وتراوحت أوزانها بين 0.450 - 2.250كغم ، تـــم الحـــصول عليها من الاسواق المحلية، صنفت هذه الارانب الى 7أعمار اساسية وبمعدل3 مكررات لكل عمر .

تحضير المستخلص الرئوي

قطعت عينات الرئة اليمنى (R) واليسرى (L) ولجميع الاعمار الى قطع صغيرة واُجـــري لها عملية سحن ومجانسة مع محلول الفوسفات المنظم Phosphate Buffer Saline (PBS)و pH 7.4باستخدام جهاز السحن والمجانسة الكهربائية لمدة 1/2 دقيقة عنـــد ســـرعة 400 دورة/دقيقـــة للنسيج، وكانت انبوبة الجهاز مغمورة في الثلج المبروش اثناء عملية المجانسة ثم اجـــري بعـــدها تفجير للجدر الخلوية باستخدام جهاز الترددات فوق الصوتية وعلى ثلاث مراحل لمدة ١٠ ثانية، ثم اُجري بعدها طرد مركزي بسرعة 3000 دورة /الدقيقة ولمدة 15دقيقة للعينـــات الحاويـــة علـــى المستخلص الرئوي لفصل الراشح عن الراسب.

استخلاص الدهون من الراسب الرئوي

تم استخلاص الدهون من الراسب الرئوي ولجميع الاعمار حسب طريقة (Daamen *et al.*, 2001)باستخدام المذيبات العضوية الآتية : الميثانول :الكلوروفورم(حجم / حجم) 2:1، ثم تمت متابعة الاستخلاص باستخدام الايثانول100% (مرتان) والايثر : الايثانول (حجم / حجم 50 : 50 (مرتان)، واستخدام الايثر100% (مرتان) .

غُسل الراسب بعدها بالمحلول الملحي الفسلجي واُحتفظ به لحين استخدامه في استخلاص الكولاجين.

بعد استخلاص الدهون من نسيج الرئة لكل عمر تجفد بقايا النسيج عند درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة بعدها نحصل على نسيج جاف خالٍ من الدهون Dry Fat-Free weight (D.F.F.wt) ، يُخزن بالتجميد عند درجة حرارة - 20مْ لغرض استكمال عملية استخلاصالكولاجين.

استخلاص الكولاجين

تم استخلاص بروتين الكولاجين من مسحوق نسيج الرئة الجاف الخالي من الدهون، وحسب طريقة (Harris, 1986) وكالاتي:

- أُخذ مسحوق الرئة الجاف الخالي من الدهون لكل عمر وذُوب في NaCl 0.15 M بمعدل 1سم^3 / 50 ملغم، وُضع المعلق جانبا لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 4 مْ .

- البروتينات المذابة فصلت بجهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 105.000 x g ولمدة نصف ساعة عند درجة حرارة 5 مْ ، و أُعيد استخلاص الراسب طول الليل بنفس الحجم السابق من NaCl 0.15 Mثم اجري طرد مركزي مبرد، الراشح يهمل لأنه يمثل البروتينات المذابة أما الرواسب المستخلصة أُضيف لها الماء المقطر و وُضعت في جهاز المعقام عند ضغط 80 IPS ودرجة حرارة 120 مْ ولمدة 6 ساعات ، تُركت بعدها لتبرد الى درجة حرارة الغرفة بعدها اُستخدم جهاز الطرد المركزي المبرد لعزل الراشح الذي يمثل الكولاجين.

- تم بعدها اجراء عملية الفرز الغشائي Dialysisللراشح الكولاجيني (Robyt &White, 1987) تجرى هذه العملية من اجل التخلص من الايونات، تمت عملية الفرز الغشائي بوضع المحلول البروتيني (الراشح) الذي تم الحصول عليه من الفقرة السابقة في اكياس السيلوفان المحكمة الربط من الاسفل والاعلى ثم غطست هذه الاكياس في وعاء حجمي يحتوي على الماء المقطر مع التحريك المستمر بالمحرك الكهربائي وبدرجة 4مْ واستمرت العملية لمدة 24 ساعة مع مراعاة تبديل الماء كل ست ساعات للتخلص من ايونات كلوريد الصوديوم، ثم جفد الراشح البروتيني بجاز التجفيد ووزن البروتين الناتج والذي يمثل بروتين الكولاجين ولجميع الفئات العمرية.

التحول الى الجيلاتين و تأثير تقدم العمر على لونه

وضعت عينات الكولاجين المجفدة وبحدود 10ملغم ولجميع الاعمار في حمام مائي مغلي بدرجة حرارة93مْولمدة 16 ساعة حسب طريقة (Cole & Roberts, 1996) ، مع ملاحظة اختلاف لون الجيلاتين الناتج بتقدم العمر.

قياس الشدة الفلورنسية للكولاجين

قيست الشدة الفلورنسية للجيلاتين بالاعتماد على طريقة(Cole & Roberts, 1996) حيث ذُوب الجيلاتين المستحصل سابقا في 1سم^3 من الماء المقطر وترك لمدة20 دقيقةبدرجة حرارة الغرفة ثم وضع في حمام مائي بدرجة حرارة 40 مْ لمدة 30 دقيقة للحصول على محلول كامل الذوبان من الجيلاتين ولجميع الاعمار، ثم تم ترشيح العينات بورق الترشيح لفصل المحلول الجيلاتيني عن البقايا الصلبة بعدها تم حساب الاطياف الفلورنسية للكولاجين بعد تحوله الى الجيلاتين عند الاطوال الموجية 330 – 450 نانوميتر والتي تمثل الاطوال الموجية الخاصة بالاثارة والانبعاث على التوالي ، و استخدم الماء المقطر كمحلول كفئ (Blank) .

الكشف عن وجود الكاربوهيدرات في المادة المستخلصة (الكولاجين)

أجري كشف مولش على جميع العينات المستخلصة لجميع الاعمار حسب طريقة (Plummer, 1978).

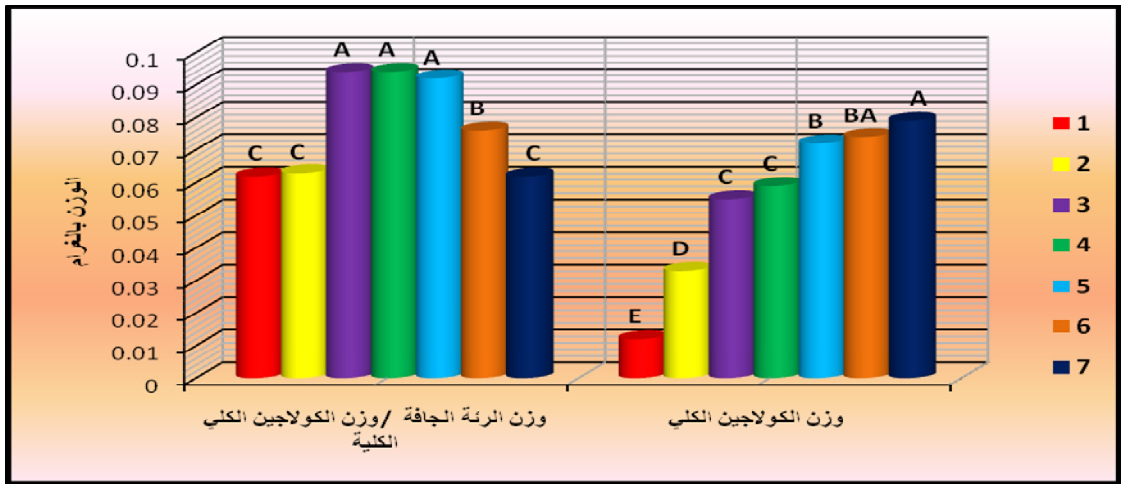
قياس الامتصاصية المطيافية ماتحت الحمراء للكولاجين

تقع منطقة ماتحت الحمراء (Infrared region, IR) بين الجزء المرئي والجزء المايكروي للطيف الكهرومغناطيسي ولسعة هذه المنطقة تصنف اشعاعاتها الى منطقة ماتحت الحمراء القريبة والوسطية والبعيدة ، وتعتمد معظم التطبيقات التحليلية العملية على المنطقة الوسطية والمحصورة ترددتها بينcm^{-1} 4000-400 ، حيث يستخدم التحليل الطيفي في منطقة ماتحت الحمراء لاغراض التحليل النوعي والتحليل الكمي ، ففي التحليل النوعي يمثل طيف امتصاص ماتحت الحمراء لمركب عضوي احد الخواص الفيزيائية المميزة لاحتوائه على قمم متعددة يمكن استخدامها لأغراض المقارنة ومن ثم الافصاح عن البنية الجزيئية للمركب ، تم تهيئة العينات الصلبة على شكل اقراص KBr .

النتائج والمناقشة

تأثير تقدم العمر على كميات الكولاجين في رئات الارانب:

بينت نتائج هذه الدراسة زيادة الوزن الكلي للكولاجين زيادة طردية بتقدم العمر حيث بلغت هذه الأوزان (0.079غم) في رئات الأرانب بعمر 3.5 سنة مقارنة بكميتها في رئات الأرانب في عمر شهر (0.012غم)، وأظهر التحليل الإحصائي فرقاً معنوياً بكمية الكولاجين بين هذين العمرين، وان نسبة وزن الكولاجين الكلي غم/ وزن الرئة الجاف الكلي غم فقد ازدادت ايضاً في رئات الأرانب من عمر شهر الى سنة ونصف حيث بلغت (0.094 غم) انخفضت بعدها لتصل الى (0.062غم) في رئات الارانب بعمر ثلاث سنوات ونصف، كما هو موضح في الشكل (١)، وأظهرت نتائجنا اتفاقاً مع النتائج التي حصل عليها كل من Cattel وآخرون (١٩٩٦) في دراسة قاموا بها على 20 أبهر لأشخاص تتراوح أعمارهم بين 14 -90 سنة، حيث وجدوا ان تركيز كل من الكولاجين يزداد بصورة ملحوظة بتقدم العمر وأن هذه الزيادة تحدث بعد عمر45سنة، وبين الباحثان (Meyer, 2005 ; Pride, 2005) بأن التغيرات في نسيج الرئة والمرافقة لتقدم العمر تشمل انخفاضا تدريجيا للكولاجين، أما Estrada و Chesler (٢٠٠٩) فقد استنتجا اختلاف في كمية ونوعية الكولاجين في نسيج الرئة عند تعرض الجرذان لقلة الأوكسجين المزمن حيث يتجمع الكولاجين في نسيج الرئة مقارنة بالجرذان الطبيعية ويعود هذا إلى اختلاف مجموعة الجينات المشفرة لإنتاج هذا الكولاجين ، ويشابه هذا ما توصلت إليه الدراسة من حيث قلة حجم الاسناخ الرئوية بتقدم العمر والذي يشابه حالة قلة الأوكسجين المزمن في الدراسةالمذكورة والذي أدى إلى زيادة كمية الكولاجين في نسيج الرئة .

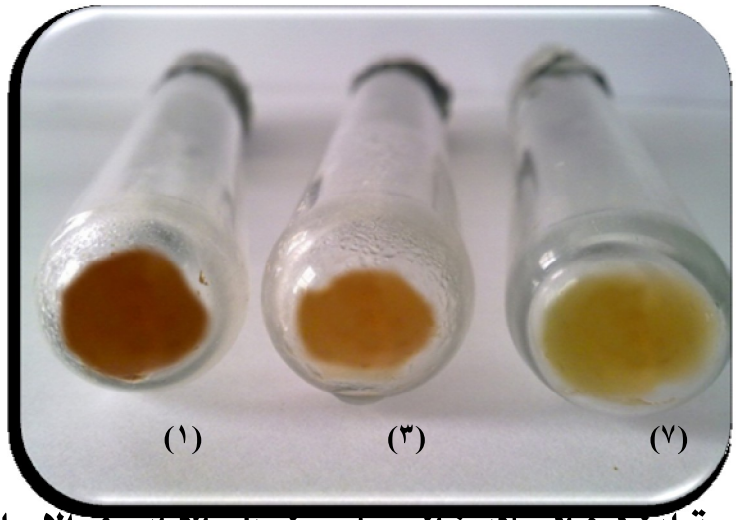


- القيم معبر عنها بالمتوسط الحسابي ± الانحراف القياسي هو ٣ مكررات.
- الاشكال المتبوعة باحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال ($P \leq 0.05$) والعكس صحيح حسب اختبار دنكن.

الشكل (١): تأثير تقدم العمر على وزن الكولاجين الكلي ونسبة وزن الكولاجين الكلي/وزن الرئة الجاف الكلي لرئات الارانب بأعمار مختلفة تتراوح بين (شهر – ثلاث سنوات ونصف)

التحول للجيلاتين وتأثير تقدم العمر على لونه

الشكل (٢) يوضح تباين لون الجيلاتين (الناتج النهائي للكولاجين المعامل حرارياً والمستخلص من أنسجة رئات الأرانب بأعمار مختلفة) الذي أصبح أقل شدةً وأفتح في الأعمار الكبيرة مقارنة بلونه في الأعمار الصغيرة.



الشكل (٢): تباين لون الجيلاتين المستخلص من رئات الارانب في الاعمار المختلفة عمر شهر واحد؛ (٣) عمر سنة ونصف؛ (٧) عمر ثلاث سنوات ونصف

يعد تحول الكولاجين الى الجيلاتين مؤشراً لنقاوة الكولاجين المستخلص لأنه يمثل الناتج النهائي لمعاملة الكولاجين حرارياً وهذا ما أكده كل من Cole وRobert(1996) في دراستهما حول استخلاص الكولاجين من أنسجة الجلد المسموط لأبقار وعجول بأعمار مختلفة تراوحت بين 10 و156 شهر ، حيث أوضحا أن عملية استخلاص الكولاجين تقل عند تقدم الحيوان بالعمر وان معاملة الكولاجين حرارياً يؤدي إلى إنتاج الجيلاتين والذي يظهر مطيافية فلورنسية عند الأطوال الموجية 295nm/395nm للإثارة والانبعاث على التوالي والتي تعزى إلى حصول تقاطعات Pyridinoline بين سلاسل الكولاجين في الأعمار الصغيرة ، ومطيافية فلورنسية عند الأطوال 335/385nm والتي تعزى إلى حصول تقاطعات من نوع آخر Pentosidin أكثر ثباتاً في الأعمار الكبيرة .

قياس شدة المطيافية الفلورنسية للكولاجين

تم قياس شدة المطيافية الفلورنسية للجيلاتين المستخلص من أنسجة رئات الأرانب بالأعمار(شهر– سنة ونصف - ثلاث سنوات ونصف) والتي تم الحصول عليها عند الأطوال الموجية 350nm للإثارة و 432nm للانبعاث ووجد أنها تقل بتقدم العمر الشكل (٣)، وهذا يتفق

مع نتائج العديد من الباحثين الذين أكدوا الخاصية الفلورنسية للكولاجين (Bartling *et al*., 2009; Kollias *et al*., 1998; Cole & Robert, 1997).

حيث أوضح الباحث Kolliase وجماعتهِ (1998) بأن قياس شدة المطيافية الفلورنسية للكولاجين والتربتوفان تعد مؤشرات طبيعية حول الحالة الصحية أو المرضية لأنسجة الجلد كما أنها تعد طريقة سهلة لتمييز أنسجة الجلد المتقدمة بالعمر مقارنة بالأنسجة الفتية .

ومن مقارنة ما توصلنا إليه من نتائج مع نتائج الباحثين السابقين الذين حصلوا على أعلى شدة للمطيافية الفلورنسية للكولاجين المستخلص من أنسجة الجلد بعد معاملته بأنزيم Collagenase عند الطول الموجي 440nm الخاص بالانبعاث وجد انه مقارب لشدة المطيافية الفلورنسية للكولاجين المعامل حرارياً الذي تم عزله من أنسجة الرئة والتي تم الحصول عليها عند الطول الموجي 432nm الخاص بالانبعاث .

إن انخفاض شدة المطيافية الفلورنسية للجيلاتين بتقدم العمر قد يعود الى حصول تقاطعات غير فلورنسية أو تآصرات مختلفة للكولاجين في أنسجة الرئة بتقدم العمر أو قد يعود إلى صعوبة استخلاص الكولاجين من الأنسجة المتقدمة بالعمر مقارنة بالأنسجة الصغيرة، فضلاً عن أن عملية استخلاص وتنقية الكولاجين من أنسجة رئات الأرانب وباستخدام ظروف قاعدية قد تؤثر على نوعية التقاطعات الحاصلة في الكولاجين بتقدم العمر، قد أكد كل من Cole وRobbert(997) أن اختلاف نوع التقاطعات الحاصلة بتركيب الكولاجين بتقدم العمر قد يعزى إليه السبب في انخفاض شدة المطيافية الفلورنسية للجيلاتين بتقدم العمر فهذه الشدة تزداد بزيادة لون الجيلاتين الناتج من المعاملة الحرارية للكولاجين ولذا كانت شدته أعلى ما يمكن في الجيلاتين للأعمار الصغيرة .

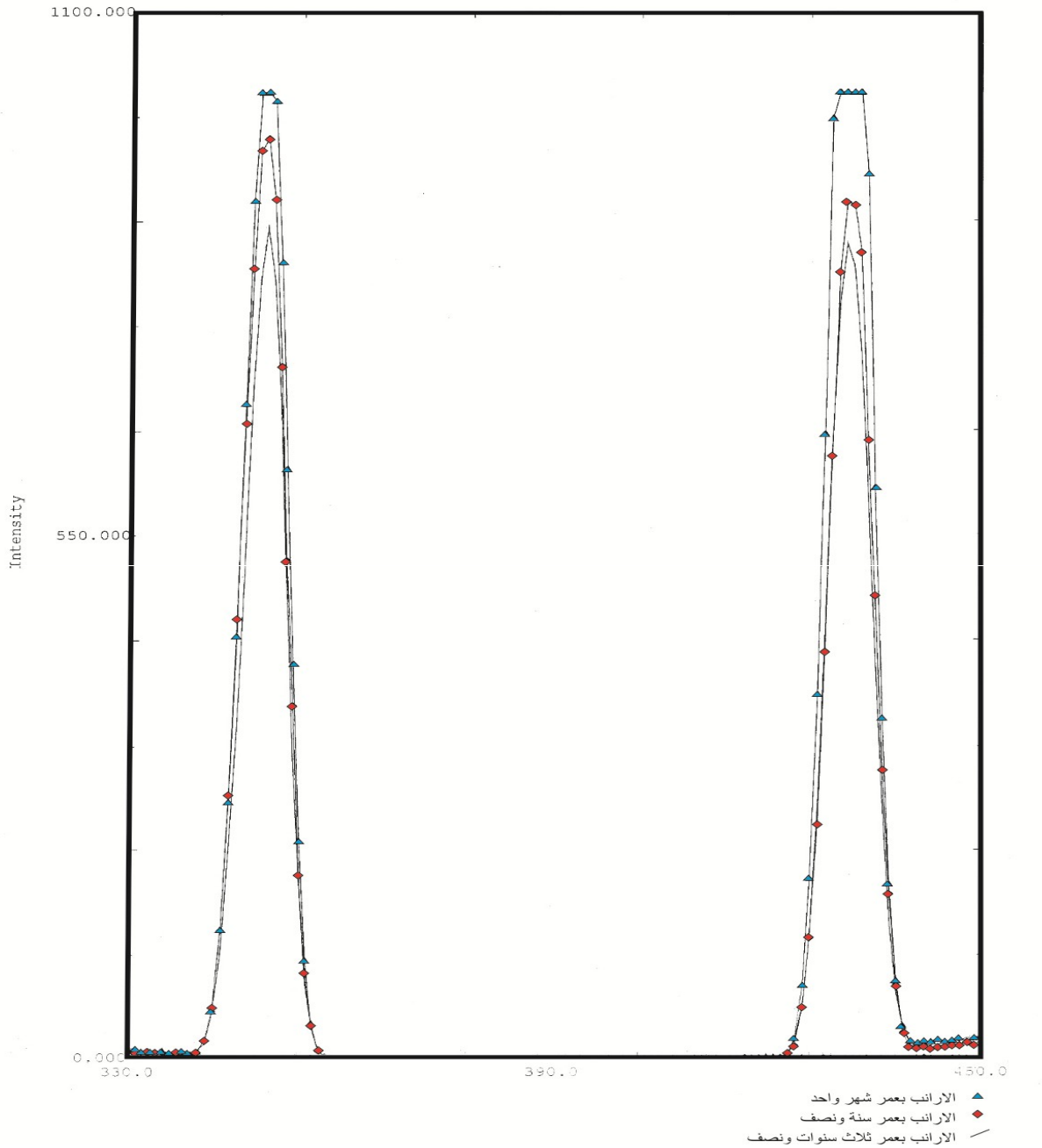
الكشف عن وجود الكاربوهيدرات في المادة المستخلصة

يشير الشكل (4) أن الكولاجين الذي تم استخلاصه وتنقيته في الدراسة الحالية يحتوي على وحدات كاربوهيدراتية أي أنه بروتين سكري glycoprotein وذلك من خلال ملاحظة النتيجة الموجبة لكشف مولش (تكوين حلقة بنفسجية) وهذا مماثل لما استنتجه العديد من الباحثين من أن هناك تحويرات في التركيب البروتيني يصاحب التقدم في العمر يعزى إلى التفاعل الحاصل بين البروتين والسكريات المختزلة Maillared reaction والذي يعتقد بأنه يتداخل مع العديد من التغييرات النسيجية المرتبطة بتقدم العمر (Ulrich & Cerami, 2001).

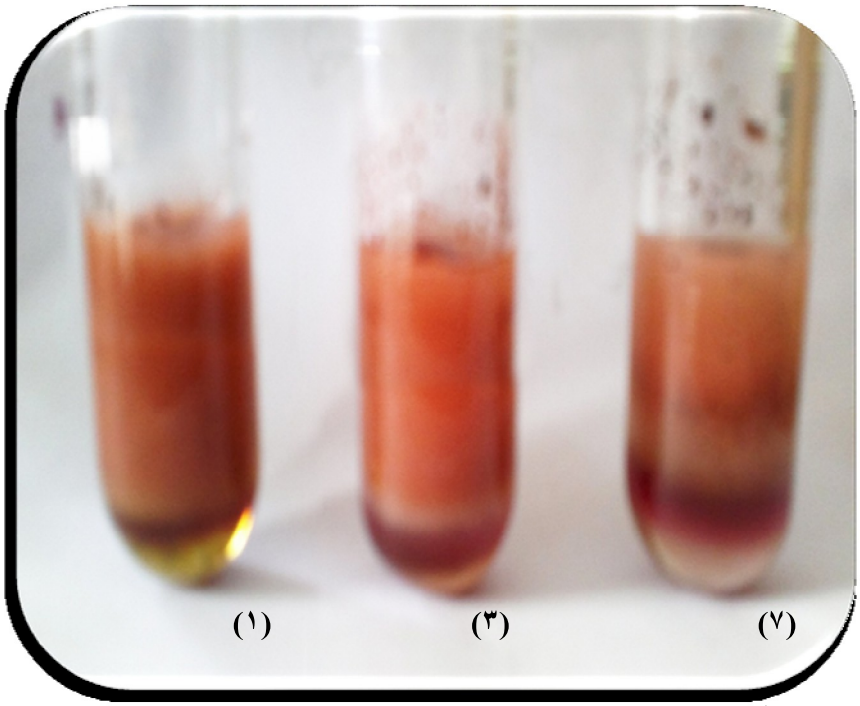
أما الباحثين Sell وجماعته (٢٠٠١) و Canty وKadler (٢٠٠٥) فقد أكدوا أن هذه التحويرات التركيبية مثل التآصر مع السكريات المختزلة glycation أو الأكسدة السكرية glycoxidation فضلاً عن حصول التقاطعات المختلفة تحدث في الأنواع الكولاجينية I و III الأكثر تواجداً في الحشوة خارج الخلوية لأنسجة الجسم المختلفة بتقدم العمر ، إن المرحلة النهائية

لتآصر البروتين مع الوحدات السكرية يطلق عليها النـــواتج النهائيـــة للتآصـــر الـــسكري المتقـــدم Advanced glycation end products (AGEs).

إن مستوى هذه النواتج النهائية للتآصر بنوعيها تزداد في الأنسجة المختلفة من ضمنها نسيج الرئة بتقدم العمر (Bellmunt *et al*., 1995) والتي يعزى لها قلة مرونة الأنسجة المتقدمـــة فـــي العمر(Avery & Bailey, 2006; Baynes, 2001) .



الشكل (٣): تأثير تقدم العمر على شدة المطيافية الفلورنسية للجيلاتين المستخلص من رئات الارانب باعمار مختلفة



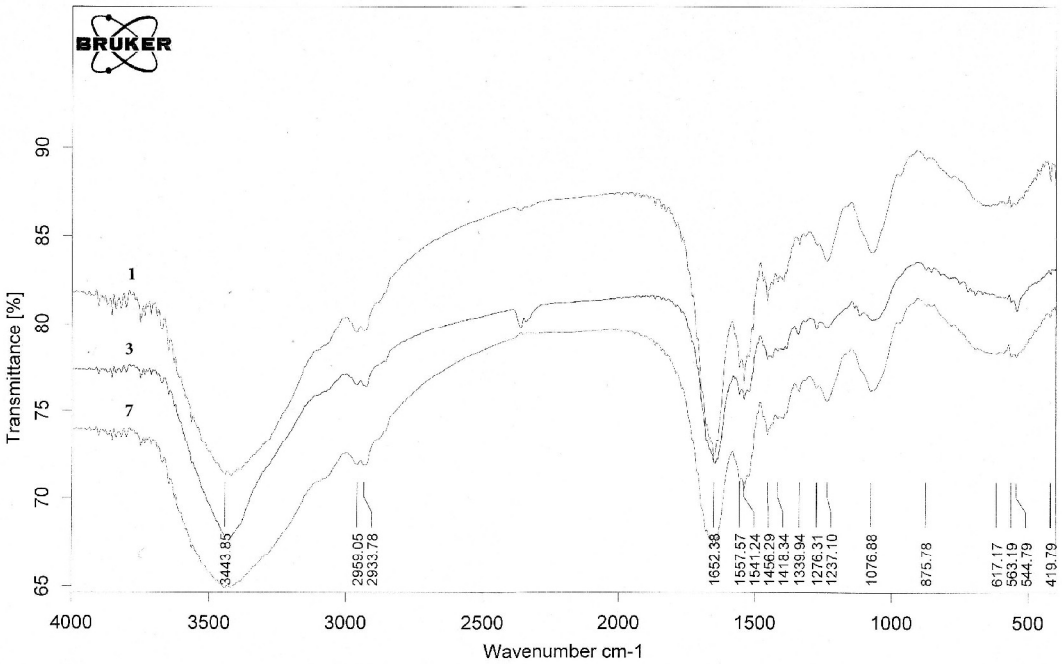
الشكل (٤): تآصر الكاربوهيدرات مع الكولاجين بتقدم العمر
(١) عمر شهر واحد ؛ (٣) عمر سنة ونصف؛ (٧) عمر ثلاث سنوات ونصف

الامتصاصية المطيافية ما تحت الحمراء للكولاجين

وللتأكيد على نقاوة الكولاجين المستخلص من أنسجة رئات الأرانب تم استخدام تقنية Infrared Spectrometry-IR حيث أنها تعطي معلومات جيدة عن التركيب الكيميائي للمركبات ويمكن استخدامها لمتابعة التغييرات الحاصلة في شكل وتركيب هذه المركبات أثناء التفاعلات ، فيمكن التعرف على المجموعات الوظيفية الفعالة عن طريق قراءة الطاقة الاهتزازية للجزيئات والتي تتطابق مع المنطقة تحت الحمراء للموجات الكهرومغناطيسية والتي يمكن أن تقاس بوساطة طيف IR . حيث أن المجموعات الوظيفية تمتلك ترددات اهتزازية مميزة ولذا تعد هذه التقنية من ابسط وأسرع الطرق المعول عليها لتعيين مركب ما .

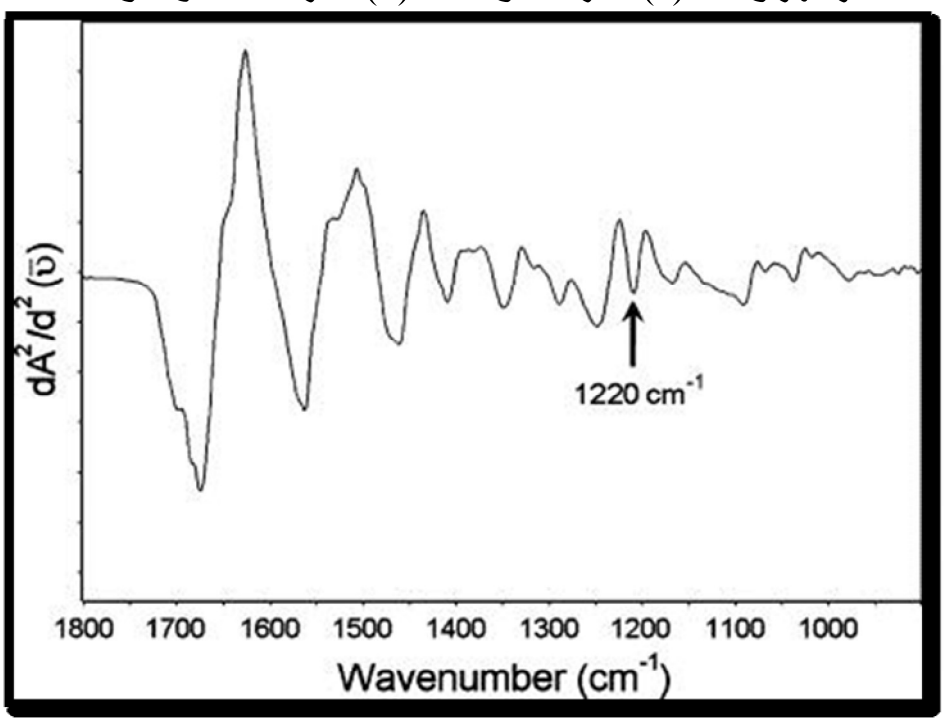
ومن مقارنة بصمة الإصبع Finger print للكولاجين الذي تم عزله وتنقيته من انسجة رئات الأرانب والذي انحصر بين ترددات الأطوال الموجية cm^{-1} 1800-1000 ، شكل (٥) مع بصمة الأصبع للكولاجين نوع I المعزول من قبل Toyran وجماعته (٢٠٠٦) وجد أن لها بصمة إصبع متقاربة من ناحية المجاميع الوظيفية الرئيسية مما يعطي مؤشراً على نقاوة الكولاجين المستخلص من أنسجة رئات الأرانب، وعند ملاحظة التغييرات المرافقة في بصمة الأصبع للكولاجين المستخلص من أنسجة رئات الأرانب بتقدم العمر لم يلاحظ تغييرات واضحة في شدة

الترددات الطيفية الرئيسية أي في المجاميع الوظيفية الرئيسة للكولاجين وأنه لابد من استخدام تقنية أخرى لمتابعة التغييرات التركيبية التي تحصل في بروتين الكولاجين بتقدم العمر شكل (٦).



الشكل (٥): قيم امتصاص المجموعات الفعالة للكولاجين المستخلص من رئات الارانب باعمار مختلفة باستخدام تقانة الـ IR

عمر شهر واحد؛ (٣) عمر سنة ونصف؛ (٧) عمر ثلاث سنوات ونصف



الشكل (٦): قيم امتصاص المجموعات الفعالة للكولاجين نوع I باستخدام تقانة الـ IR وعند الاطوال الموجية من1-cm ١٠٠٠-١٨٠٠ بصمة الاصبع Finger print

(Toyran *et al.*, 2006)

تم قياس طيف الاشعة تحت الحمراء IR للبروتين المستخلص من الارانب وعند مقارنتهـا مع حزم طيف الاشعة تحت الحمراء للكولاجين لاحظنا تقاربا كبيرا بين الحزم تصل لدرجة التماثل مما يدل على ان البروتين المستخلص لديه نفس تركيب الكولاجين وفيما يأتي جـدول (١) لطيـف الاشعة تحت الحمراء للكولاجين I والبروتين المستخلص من فئات عمرية مختلفة للارانب.

الجدول (١): **قيم امتصاص المجموعات الفعالة للكولاجين نوع I باستخدام تقانة الـ IR وعند الاطوال الموجية من**1-cm ١٠٠٠ـ١٨٠٠ **بصمة الاصبع** Finger print

حزم الكولاجين المستخلص من الارانب بعمر ثلاث سنوات ونصف	حزم الكولاجين المستخلص من الارانب بعمر سنة ونصف	حزم الكولاجين المستخلص من الارانب بعمر شهر واحد	حزم الكولاجين نوع I
١٢٣٧	١٢٣٨	١٢٣٨	١٢٢٠
١٣٣٩	١٣٤٢	١٣٣٩	١٣٥٠
١٤٥٦	١٤٥٦	١٤٥٦	١٤٦٠
١٥٤١	١٥٥٨	١٥٥٧	١٥٦٠
١٦٥٢	١٦٤٧	١٦٥٢	١٦٧٠

المصادر

Avery , N. C. and Bailey , A.J. (2006) . The effects of the Maillard reaction on the physical properties and cell interactions of collagen. *Pathol. Biol.*, **54**(7): 387-395.

Bartling , B.; Desole, M.; Rohrbach, S.; Silber, R.E. and Simm, A. (2009). Age – associated changes of extracellular matrix collagen impair lung cancer cell migration. *FASEB J.*, **23**(5):1510-1520.

Baynes, J.W. (2001). The role of AGEs in aging: causation or correlation. *Exp. Gerontol.*, **36**(9): 1527-1537.

Bellini, A. and Mattoli, S. (2007). The role of the fibrocyte, a bone marrow-derived mesenchymal progenitor, in reactive and reparative fibroses. *Lab Invest.*, **87**(9):858-870.

Bellmunt, M. J.; Portero, M.; Pamplona, R.; Muntaner, M.; and Part, J. (1995). Age – related fluorescence in rat lung collagen. *Lung*, **173**(3): 177-185.

Calabresi, C.; Arosio, E. and Galimberti, L. (2007). Natural aging, expression of fibrosis-related genes and collagen deposition in rat lung. *Exp. Gerontol.*, **42**(10):1003-1011.

Canty, E.G. and Kadler, K.E. (2005). Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. *J. C. Sci*., **118**(7):1341-1353.

Cattel, M.A.; Anderson, J.C. and Hasleton, P.S. (1996). Age-related changes in amounts and concentrations of collagen and elastin in normotensive human thoracic aorta. *Clin. Chim. Acta*. **245**(1):73-84.

Cole, C.G.B. and Roberts, J.J. (1996). Gelaline fluorescence and its relationship to animal age and gelatione colour. *Sa. J. of Food Sci. Nut*., **8** (4):139-143.

Cole, C.G.B. and Roberts, J.J. (1997). Gelatine colour measurement. *Meat Science*. **45**(1):23-31..

Daamen, W.F.; Hafmans, T.; Veerkamp, J.H. and Van Kuppevelt, T.H. (2001). Comparison of five procedures for the purfication of insoluble elstin. *Biomaterials*, **22**(14):1997-2005.

Estrada, K.D. and Chesler, N.C. (2009). Collagen-related gene and protein expression changes in the lang in response to chronic hypoxia. *Biomech. Model. Mechanobiol*., **8**(4): 263-272.

Harris, E.D. (1986). Biochemical defect in chick lung resulting from copper deficiency. *J. N*., **116**(2):252-258.

Kollise, N.; Gillies, R.; Moran, M.; Kochevay, I.E. and Anderson, R.R. (1998). Endogenous skin fluorescence includes bands that may serve as quantitative markers of aging and phathoaging. *J. Invest. Dermatol*., **111**(5):776-780.

Meyer, K. C. (2005). Aging. Proc. *Am. Thorac. Soc*., **2**(5):433-439.

Plummer, T.D. (1978). "An introduction to practical biochemistry", 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, U.K., p:362.

Pride, N.B. (2005). Aging and changes in lung mechanics. *Eur. Respir. J*., **26**(4):563-565.

Robyt, J.F. and White, B.J. (1987). "Biochemical Techniques Theory and Practice", 1st ed.,Brooke, Cole, Montery, California. P:234.

Sell, D.R.; Nelson, J.F. and Monnier, V.M. (2001). Effect of chronic aminoguanidine treatment on age-related glycation, glycoxidation, and collagen cross-linking in the Fischer 344 rat. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci*., **56**(9): 405-411.

Sikorski, Z.E. (2001). "Chemical and functional properties of food proteins". Boca. Raton.: CRC Press. P. 242.

Toyran, N.; Lasch, P.; Naumann, D.; Turan, B. and Severcan, F. (2006). Early alterations in myocardia and vessels of the diabetic rat heart: an FTIR microspectroscopic study. *Biochem. J*., **397**(1):427-436.

Ulrich, P. and Cerami, A.(2001). Protein glycation diabetes, and aging. *Recent. Prog. Horm. Res*., **56**:1-21.

Werner, M.E.G. (2003). The origin of metazoan complexity: porifera as ingegrated animals. *Int. Com. Biol*., **43**(1): 3-10.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.