# تأثير المركب البروتيني المعزول من بذور نبات العدس *Lens culinaris* في الفئران المعرضة للكرب التأكسدي التجريبي

ألاء محمد طيب اللّيلة نشوان إبراهيم عبو اللّهيبي

إيمان سعيد شمعون الجوكا

قسم الكيمياء / كلية التربية

جامعة الموصل

الاستلام القبول

٢٦ / ٠٩ / ٢٠٠٧ ٠٣ / ٠٦ / ٢٠٠٨

## Abstract

Its clear that the plants were the important source for drugs before chemicals products in the 60s, but its used was expand in advanced countries. This study was concerned with preparation of cold aqueous extract of Lentil seeds, and also comprised the separation of study the proteinous compound from cold proteinous precipitate by using gel filtration technique and its approximated molecular weight was amount (1710.8) Dalton.

The effects of crud aqueous, non proteinous extracts, proteinous precipitate and proteinous compound were studied on serum glucose, total cholesterol (T.C), triglyceride (TG) in female mice which was exposed to oxidative stress induced by hydrogen peroxide, also on glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels in liver and kidney tissues which belong to it. Extracts were administrated interaperitioneally.

The results indicated that after one week of treatment with the individual extracts mentioned above the serum glucose, T.C, TG, levels and MDA level in liver and kidney tissues were decreased significantly ($p<0.05$) while GSH level in liver kidney tissues were significantly increase ($p<0.05$) in female mice which were exposed to oxidative stress. Finally, we may conclude that the extracts isolated from the lentil seeds plants especially proteinous compound have antioxidants and hypoglycemic.

## الخلاصة

من المعلوم لدى الجميع أن النباتات كانت تشكل مصدرا مهما للأدوية قبل بدء أنتاج الكيمياويات بعد الستينات ألا أن استعمالها هذه الأيام اخذ في الصعود حتى في البلدان المتقدمة.

تضمنت هذه الدراسة تحضير مستخلص مائي بارد لبذور نبات العدس (Lentil)، اذ فصل المركب البروتين ي بتقنية الترشيح الهلامي من الراسب البروتيني البارد، وحدد الوزن الجزيئي التقريبي له وكان مقداره (1710.8) دالتون.

تضمنت هذه الدراسة أيضاً تأثير المستخلص الخام، المستخلص غير البروتيني، الراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول من هـ في مستويات الكلوكوز، والكوليستيرو ل الكلي، والكليسيريدات الثلاثية في مصل دم إناث الفئران المعرضة للكرب ا لتاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين وكذلك في مستويات الكلوتاثايون والمالونداياليديها يد في أنسجة الكبد والكلية العائدة لها، المستخلصات حقنت في الغشاء البريتوني.

أشارت النتائج بعد أسبوع من المعاملة بالمركب البروتيني والمستخلصات المذكورة أعلاه إلى انخفاض معن وي ($p<0.05$) في مستوى الكلوكوز، والكوليستيرول الكلي، والكلسيريدات الثلاثية في مصل الدم و انخفاض معنوي في مستوى المالونداياليديهايد في أنسجة الكبد والكلية ، في حين أحدثت المعاملة بالمستخلصات المذكورة سابقاً ارتفاعاً معنوياً ($p<0.05$) في مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية في إناث الفئران المعرضة للكرب التأكس دي. أخيراً يمكن الاستنتاج ان المستخلصات و المركب البروتيني تعمل كمواد مضادة للأكسدة وخافضة لمستوى السكر.


## المقدمة

ان العديد من الحالات المرضية كتصلب الشرايين واحتشاء العضلة القلبية يمكن ان تصاحبها توليد الجذور الحرة Free radicals غير المسيطر عليه كما في حالة الكرب التاكسدي Oxidative stress (١) كما أشارت الدراسات إلى ان التعرض لفترات طويلة لهذه الجذور تؤدي إلى تلف الأوردة (٢) كذلك يمكن ان تحطم هذه الجذور مكونات الخلية الحية مثل الدهون (أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة ) والبروتين (المسخ) والكربوهيدرات والأحماض النووية (٣)، ففي الحالات الاعتيادية هناك توازن ما بين تولد أصناف الأوكسجين الفعالة Reactive Oxygen Species(ROS) وإزالتها (٤). ان جزءاً من الأوكسجين المجهز للخلية الحية يمكن أن يتحول إلى أشكال ذات ض رر كبير من أصناف الأوكسجين الفعالة (ROS) وجذور حرة مثل جذر السوبر اوكساید السالب وبيروكسيد الهيدروجين وجذر الهيدروكسيل (٥). تتولد (ROS) في الخلية بشكل ذاتي استجابة للعديد من الظروف الفسلجية والعمليات الحياتية

(٦) كما تتكون بشكل واضح في المايتوكوندريا خلال نقل الالكترونات في السلسلة التنفسية (٤)، ويمكن ان يستحث تكوينها بتأثير ظروف بيئية كالتعرض الشديد للأشعة فوق البنفسجية والمبيدات او تفاعلات فرط الحساسية (٣) كذلك تعاطي الكحول والتدخين التي تؤدي ايضا إلى زيادة التعرض لأورام الرئة (٧). ان هذا الارتفاع يؤدي إلى تحفيز العوامل الدفاعية ضد هذه الجذور والتي تسمى مضادات أكسدة Antioxidants (٨) منها ذات اوزان جزيئية صغيرة كالفيتامينات (A,C,E) والكلوتاثايون او انزيمات مثل سوبر اوكساید دسميوتيز والكاتليز والبيروكسيديز بالإضافة إلى المركبات الفينولية والفلافونويدات (٣). وبم ا ان النباتات وخاصة البقوليات تحوي المركبات الفينولية مثل الفلافونويدات والتي تعمل كمضادات أكسدة (٤) لذلك كانت فكرة البحث في تحضير مستخلصات لبذور نبات العدس ودراسة قدرتها على كبح تأثير الجذور الحرة الضار وتقليل خطورتها.

## المواد وطرائق العمل

### النبات المستخدم

الاسم العربي للنبات : العدس

- الاسم الإنكليزي للنبات Lentil

الاسم اللاتيني للنبات : *Lens culinaris* (٩).

### الحيوانات المستخدمة

استخدمت في هذه الدراسة إناث الفئران البيضاء Female Albino Mice المجهزة من كلية التربية / جامعة الموصل ، تراوحت أوزانها بين (25-30)غم . وضعت في أقفاص مجهزة ومعدة لهذا الغرض، زودت بالماء والعلف الحيواني الخاص بها وأخضعت للظروف المناسبة من ضوء طبيعي ودرجة حرارة (٢٥)°م .

### طرائق العمل

### تحضير المستخلص المائي البارد الخام

تم وزن (250)غم من بذور نبات العدس ، طحنت بواسطة آلة الطحن ، بعدها مزج ت بالماء وبنسب (٣:١) وزن(غم)/حجم(مل) لمدة عشرة دقائق . سحقت جدران الخلايا باستخدا م التجميد والتذويب (كررت عملية التجميد والتذويب أربع مرات) ثم باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية Ultra sound (نوع PG-1545 من شركة MSC الانكليزية في لمدة (٣٠) دقيقة. ثم رشح المحلول من خلال عدة طبقات من الشاش وفصل المستخلص بجهاز الطرد المركزي المبرد

للتخلص من المواد غير الذائبة ثم قلص حجم هذا المستخلص الناتج إلى الثلث بواسطة جهاز التجفيد (Lyophilizer) وبذلك تم الحصول على المستخلص المائي الخام (١٠).

**عزل البروتينات وترسيبها**

تم ترسيب البروتينات من المستخلص المائي الخام باستخدام الأسيتون البارد وبنسبة (60:40) حجم : حجم على التوالي (١١)، تم الحصول على الراسب البروتيني بعد فصله بجهاز الطرد المركزي المبرد وبسرعة 6000xg ولمدة 20 دقيقة. بعد ذلك وضع الراسب البروتيني في جهاز التجفيد لعدة ساعات للحصول على المادة البروتينية بشكل مسحوق.

**فصل وتنقية البروتين**

نقي البروتين الخام الذي عزل بالترسيب وذلك باستخدام تقنية الترشيح الهلامي Gel Filtration (12)، من خلال عمود فصل ذ ي أبعاد 1.8x120سم، والحاوي على مادة السيفاديكس (Sephadex G-75) بارتفاع ١١٠سم. وبمعدل جريان 36 مل/ساعة.

**التقدير الكمي للبروتين**

قيست كمية البروتينات في المستخلص المتحصل عليه من كل خطوة باستخدام طريقة الباحث لاوري المحورة (13). استخدم البومين مصل البقر BSA بوصفه محلولاً قياسياً بتركيز ١٠٠ملغم /١٠٠سم $^{٣}$ وله معامل امتصاص مولاري ٠.٦٧ عند طول موجي ٢٨٠ نانوميتر.

**تعيين الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول**

استخدم نفس عمود الفصل المذكور أعلاه لتعيين الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول لبذور نبات العدس بعد تمرير محاليل المواد القياسية المعلومة الوزن الجزيئي فيه ومحلول البروتين الخام (13).

**تحديد الجرعة المؤثرة**

استخدمت فئران سليمة تراوحت أوزانها (25-30) غم قسمت إلى مجاميع تضم كل مجموعة (4) فئران، عوملت كما يأتي:

١. المجموعة الأولى حقنت في التجويف البريتوني بـ (0.2) مل من المحلول الملحي الفسلجي (Normal Saline ) وعدت مجموعة سيطرة (Control.

٢. المجاميع من (2-7) حقنت في التجويف البريتوني بالجرع (50,١٠٠،٢٠٠،٣٠٠،٤٠٠،٥٠٠) ملغم /كغم من وزن الجسم على التوالي من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات العدس والمذابة في المحلول الملحي الفسلجي ، وبعد ساعتين من أجراء عملية ا لحقن تم سحب الدم من الفئران من جيب محجر العين، قيس مستوى الكلوكوز في مصل الدم، ثم اختيرت الجرعة الأكثر تأثيراً في خفض مستوى كلوكوز الدم وعدت جرعة مؤثرة.

**استحداث داء السكر**

استخدمت ذكور الفئران البيض (Male Albino Mice) والتي تراوحت أوزانها بين (30-35)غم . قسمت إلى مجاميع تضم كل مجموعة (4) فئران ، وفضلاً عن مجموعة سيطرة .حقنت الفئران المراد استحداث داء السكر به بمادة الالوكسان Alloxan المحضرة أنياً وبجرعة 180ملغم/كغم من وزن الجسم في التجويف البريتوني (Intraperitoneally).

أ. مجموعة (١): السيطرة تركت تتناول العلف والماء من دون معاملة لمدة (١٥) يوم.

ب. مجموعة (٢): عرضت للكرب التاكسدي بإعطائها بيروكسيد الهيدروجين (٠.٥%) مع ماء الشرب لمدة (١٥) يوم.

جـ. المجاميع من (٣-٧): عرضت للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين بنسبة (٠.٥%) لمدة (١٥) يوم مع ماء الشرب، مع حقنها في اليوم السابع ويومياً لمدة أسبوع في التجويف البريتوني بكل من المستخلص المائي الخا م، غير البروتيني، الراسب البروتي ني والمركب البروتيني المفصول منه بتقنية الترشيح الهلامي بجرع مقدارها (١٠٠، ٩٨.٠٣، ١.٤١، ١.٠٢) ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي (١٤).

**تقدير المتغيرات**

قدر مستوى الكلوكوز والكوليستيرول الكلي والكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم، باستخدام عدة التحليل Kit نوع (Syrbio, France) وهي طريقة انزيمية . كما قدر مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية بطريقة المان (١٥). في حين قدر مستوى المالونداياالديهايد في الأنسجة المدروسة بالطريقة المتبعة من قبل الباحثين Volken وآخرون (١٦) .

**التحليل الإحصائي**

حللت نتائج مستوى الكلوكوز، الكولسيستيرول الكلي، الكليسيريدات الثلاثية، الكلوتاثايون والمالونداياالديهايد إحصائياً وذلك باستخدام تحليل التباين الأحادي (One way analysis of variance)، كما تم تحديد الاختلافات الخاصة بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن (17)

(Duncan). وكان مستوى التميز الإحصائي المقبول 5 % (P<0.05).

## النتائج والمناقشة

### إيجاد كمية البروتينات الكلية ونسبها المئوية وكفاءة الترسيب بالاسيتون في المستخلص المائي البارد لبذور نبات العدس

يوضح الجدول (1) كمية البروتينات المقدرة بطريقة العالم لوري المحورة ونسبتها المئوية وكفاءة ترسيبها بالأسيتون في المستخلص المائي الخام.

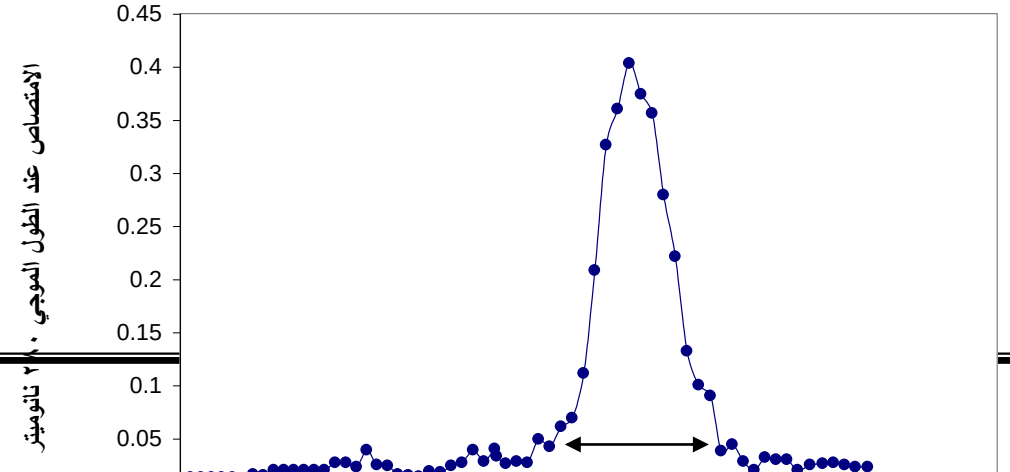
**الجدول (1): كمية البروتينات ونسبتها المئوية في المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات العدس وكفاءة الترسيب بالأسيتون.**

| نوع المستخلص | تركيز البروتين (ملغم/مل) | الحجم الكلي (مل) | كمية البروتين الكلي في المستخلص (ملغم) | وزن النبات (غم) | نسبة البروتين في النبات (%) | كمية البروتين المتحصل عليها عمليا (ملغم) | كفاءة الترسيب (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| المستخلص المائي الخام لبذور نبات العدس | 6.73 | ٥٢٥ | ٣٥٣3.25 | ٢٥٠ | 1.41 | 3024 | 85.58 |

### فصل مادة الراسب البروتيني

تعد طريقة الترشيح الهلامي إحدى الطرائق المتبعة عالمياً لفصل المركبات اعتماداً على الاختلاف في حجم جزيئاتها ، فالجزيئات الكبيرة تمر أولاً من خلال عمود الفصل أما الجزيئات الصغيرة فسوف تتمكن من اختراق الهلام لذلك فانها تستغرق مدة زمنية أطول فتظهر أخيراً (18).

وأعطى روغان مادة الراسب البروتينية المعزولة من المستخلص المائي لبذور نبات العدس قمة واضحة عند إمرار محلولها في عمود الفصل المذكور سابقا والمبينة في الشكل (١).



**الشكل (1): حجم الروغان للراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات العدس بتقنية الترشيح ، الهلامي تشير قمة الحزمة إلى حجم الروغان للمركب البروتيني المفصول ومقدارها (247)مل، حجم كل جزء ٦ مل وبمعدل جريان (٣٦ مل/ساعة).**

**أيجاد كمية البروتين الكلي في مادة الراسب البروتينية للمستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات العدس قبل التمرير في عمود الفصل والمركب البروتيني الناتج عن تقنية الترشيح الهلامي**

بعد فصل المركب البروتيني من المحلول المركز لمادة الراسب البروتينية التي مررت في عمود الفصل كما ذكر في طريقة العمل . قدرت كمية البروتين بطريقة ال عالم لاوري المحورة، ومن ثم تم إيجاد كفاءة الفصل في العمود المستخدم بتقنية الترشيح الهلامي ، والجدول (2) يبين النتائج التي تم الحصول عليها.

**الجدول(٢): كمية البروتين للمحلول المركز قبل تمريره على عمود الفصل والمركب البروتيني الناتج من الترشيح الهلامي**

| نوع المادة | تركيز البروتين (ملغم/مل) | الحجم الكلي (مل) | كمية البروتين الكلي (ملغم) | النسبة المئوية (%) | كفاءة الفصل (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| الراسب البروتيني الناتج من المستخلص المائي الخام لبذور نبات العدس قبل التمرير على عمود الفصل | 3.38 | 2 | 6.76 | 100 | ٧٢.٧ |
| المركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي من مادة الراسب البروتينية | 0.0512 | ٩٦ | ٤.٩١٥ | ٧٢.٧ | |

**الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول**

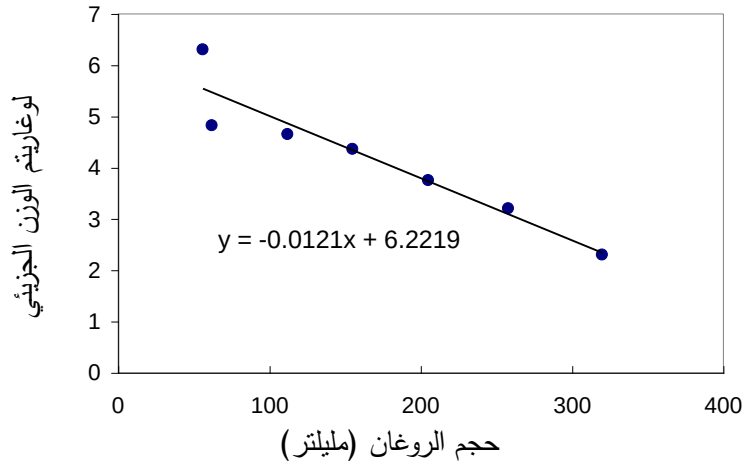
لتعين الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح اله .لامي، مرر عدد من المواد المعلومة الوزن الجزيئي خلال عمود الفصل الذي استخدم سابقاً ، تراوحت أوزانها الجزيئية بين (204-2000000) دالتون، بعد ذلك عين حجوم الروغان لهذه المواد كما هو مبين

في الجدول(3).

**الجدول (3): حجوم الروغان للمواد المعلومة الوزن الجزيئي**

| المادة | الوزن الجزيئي (دالتون) | حجم الروغان (مل) |
|---|---|---|
| الدكستران الازرق Blue dextran | 2000000 | 56 |
| البومين مصل البقر Bovine serum albumin (B SA) | 67000 | 62 |
| البومين البيض Eggs albumin | 45000 | 112 |
| تربسين Trypsin | 23000 | 155 |
| هرمون الأنسولين Insulin Hormone | 5750 | 205 |
| هرمون الاوكسيتوسين Oxytocin Hormone | 1051 | 258 |
| التربتوفان Tryptophan | 204 | ٣٢٠ |

وتم الحصول على المنحني القياسي لتقدير الوزن الجزيئي من رسم العلاقة بين حجم الروغان لكل مادة ولوغاريتم الوزن الجزيئي كما هو مبين في الشكل (2) والذي من خلاله يمكن تحديد الوزن الجزيئي التقريبي للمركب المفصول.




**الشكل ( 2 ) : المنحني القياسي لتقدير الوزن الجزيئي التقريبي للبروتين**

وتم الحصول على الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي من خلال إسقاط حج م الروغان الذي تم الحصول عليه للمركب على المنحني القياسي (الشكل 2) كما مبين في الجدول (4) .

**الجدول (4): الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي**

| المركب البروتيني | حجم الروغان | الوزن الجزيئي التقريبي دالتون |
|---|---|---|

| | | |
|---|---|---|
| المركب البروتيني المفصول من مادة الراسب البروتينية للمستخلص المائي الخام لبذور نبات العدس | 247 | 1710.8 |

**تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام البارد**

يوضح الجدول (٥) تحديد الجرع الأكثر تأثيراً في خفض مستوى الكلوكوز في إناث الفئران البيض السليمة للمستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات العدس . وقد تبين من خلال الجدول إن قيمة الجرعة المؤثرة هي ١٠٠ملغم/كغم من وزن الجسم.

**الجدول (٥): تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي البارد لبذور نبات العدس.**

**تأثير المستخلص المائي الخام والمستخلص غير البروتيني و الراسب البروتيني والمركب**

| | السيطرة | جرع المستخلص الخام البارد لبذور نبات العدس بالملغم/كغم من وزن الجسم | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ٥٠ | 100 | ٢٠٠ | ٣٠٠ | ٤٠٠ | ٥٠٠ |
| تركيز الكلوكوز ملي مول/لتر | 5.66 | ٢.٦١ | 2.13 | 2.94 | 2.91 | 8.28 | 7.52 |
| نسبة التغيير % | - | -٥٣.٨٨ | -62.٣٦ | -48.05 | -48.58 | 46.28 | 32.86 |

**البروتيني المفصول منه لبذور نبات العدس على مستوى الكلوكوز ، الكوليسترول الكلي ، الكليسيريدات الثلاثية.**

أدت المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (٠.٥%) عن طريق الفم مع ماء الشرب ولمدة (١٥) يوم في إناث الفئران البيض وكما موضح في الجدول (٦) إلى ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في مستوى كلوكوز مصل الدم عند المقارنة مع مجموعة السيط رة السليمة، وهذا يتفق مع ما حصل عليه كل من (١٩,14) في ذكور الفئران المعرضة لنفس الظروف أعلاه، وقد يكمن السبب في ذلك إلى زيادة ضغط الأوكسجين الناتج من بيروكسيد الهيدروجين وبالتالي إلى زيادة أصناف الأوكسجين الفعالة التي تهاجم خلايا بيتا البنكرياسية مما يعطل عملية تخليق الانسولين (٢٠)، كما أدى الإجهاد التاكسدي هذا إلى ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في مستوى الكليسيريدات الثلاثية T.G عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة وهذا يتفق مع دراسة (١٠)، وقد يعود سبب ذلك إلى انخفاض فعالية انزيم لا يبوبروتين لايبيز (٢١)، كما أدى هذا الإجهاد التاكسدي إلى ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في مستوى الكوليستيرول الكلي T.C يمكن ان يكون سببه نقصان في فعالية انزيم ٧-الفا-هيدروكسيليز المسؤول عن تحويل الكوليستيرول إلى أحماض صفراء (٢٢).

أما بالنسبة للمستخلصات فقد أظهرت نتائج حقن المستخلص المائي الخام والمستلخص غير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه عن طريق الحقن في التجويف البريتوني وبالجرع (١٠٠، ٩٨.٠٣، ١.٤١، ١.٠٢)ملغم /كغم من وزن الجسم على التوالي إلى انخفاض معنوي ($p<0.05$) في مستوى كلوكوز مصل الدم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة وكما موضح في الجدول (٦)، وقد يكون السبب في امتلاك المستخلصات قابلية على خفض فعالية الانزيمات المسؤولة عن التكوين الجديد للكلوكوز مثل انزيم كلوكوز-٦-فوسفاتيز والذي يؤدي دوراً مركزياً في تنظيم اتزان مستويات سكر الدم (٢٣)، او إن عملها مشابه للأنسولين في تنشيط الأنزيمات المسؤولة عن حل الكلوكوز مثل الكلوكوكينيز وفوسفوفركتو كينيز (٢٢)، وبنفس الوقت أدت المعاملة بالمستخلصات المذكورة سابقا و بذات الجرع إلى انخفاض معنوي($p<0.05$) في مستوى T.C ويمكن ان يكون سبب ذلك زيادة فعالية انزيم ٧-الفا-هيدروكسيليز المسؤول عن تحويل الكوليستيرول إلى أحماض صفراء (٢٢)، كما أدت المعاملة بنفس المستخلصات إلى انخفاض معنوي ($p<0.05$) في مستوى T.G ويمكن ان يعزى هذا التأثير الخافض لهذه المستخلصات في قدرتها على زيادة تحفيز فعالية انزيم لايبوبروتين لايبيز (٢٢).

**الجدول (6): تأثير المس تخلص المائي الخام والمستخلص غير البروتيني و الراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه لبذور نبات العدس على مستوى المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم إناث الفئران المعرضة للكرب التاكسدي التجريبي**

| المعاملات | الكلوكوز (ملي مول/لتر) | الكوليستيرول الكلي (ملي مول/لتر) | الكليسيريدات الثلاثية (ملي مول/لتر) |
|---|---|---|---|
| السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي) | 0.74±6.31 c | 0.123±2.32 a | 0.028±0.683 a |
| السيطرة المصابة (معرضة للكرب التاكسدي) | 0.367±13.76 d | 0.577±4.563 c | 0.025±0.853 b |
| المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات العدس | 0.056±4.02 b | 0.24±2.366 ab | 0.01±0.72 a |
| المستخلص غير البروتيني البارد لبذور نبات العدس | 0.66±3.10 a | 0.185±1.893 a | 0.036±1.08 c |
| الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد لبذور نبات العدس | 0.66±3.97 b | 0.079±2.830 b | 0.075±0.683 a |
| المركب البروتيني المفصول من الراسب البروتين ي للمستخلص المائي لبذور نبات العدس | 0.28±6.8 c | 0.015±2.773 b | 0.074±0.68 a |

**الأحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية (0.05).**

**تشير القيم إلى المعدل ± الخطأ القياسي.**

**تأثير المستخلص المائي الخام و غير البروتيني و الراسب البروتيني والمركب ال بروتيني المفصول منه لبذور نبات العدس على مستوى الكلوتاثايون والمالونداياالديهايد**

يوضح الجدول (٧) ان مستوى الكلوتاثايون في انسجة الكبد والكلية قد انخفض معنوياً ($p<0.05$) في إناث الفئران المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجن (٠.٠٠٥%) عن طريق الفم ولمدة (١٥) يوم عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة، قد يكون سبب ذلك زيادة فعالية انزيم الدوزريدكتيز aldose reductase الذي يختزل الكلوكوز إلى الكحول السكري السوربيتول مستهلكا بذلك NADPH ضمن مسار البوليول polyol pathway وبهذا تقل كمي ة NADPH الضرورية لإ عادة الكلوتاثايون المؤكسد GSSG إلى شكله المختزل GSH (٤). بالنسبة للمستخلصات فقد أدت المعاملة بالمستخلص الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه عن طريق الحقن في التجويف البريتوني وبالجرع (١٠٠، ٩٨.٠٣، ١.٤١، ١.٠٢)ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي إلى ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في مستوى الكلوتاثايون عند المقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة، وقد يكون السبب هنا إلى قدرتها هذه المستخلصات على تحفيز النظام الدفاعي الأنزيمي مثل سوبراوكساید دسميوتيز وكلوتاثايون ريدكتيز والكاتليز (٢).

أما فيما يخ ص المالونداياالديهايد فقد أدى تعريض الحيوانات إلى الكرب التاكسدي التجريبي السابق إلى ارتفاع معنوي ($p<0.05$) في مستواه في أنسجة الكبد والكلية عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة ، قد يعزى الارتفاع هذا بسبب التعرض لمستويات عالية من الجذور الحرة التي تؤدي إل ى أكسدة الدهون غير المشبعة (٣) وعدم قدرة هذه الأنسجة على مقاومة هذه الأكسدة مما يؤدي إلى زيادة أكسدة الدهون وبالتالي زيادة مستوى المالونداياالديهايد (٢٤). في حين ادى الحقن بالمستخلصات المذكورة سابقاً وبنفس الجرع إلى انخفاض معنوي ($p<0.05$) في مستواه في أنسجة الكبد والكلية عند المقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة، مما يشير إلى قدرة هذه المستخلصات ال مضادة لبيروكسدة الدهن قد يكون بسبب تثبيطها لعدد من تفاعلات الجذور الحرة المولدة لبيروكسدة الدهن (٢٥).

**الجدول (7): تأثير المستخلص المائي الخام والمستخلص غير البروتينيي والراسب البروتيني و المركب البروتيني المفصول منه لبذور نبات العدس على مستوى الكلوتاثايون والمالونداياليديهايد في أنسجة الكبد والكلية لإناث الفئران العرضة للكرب التاكسدي التجريبي**

| المعاملات | الكلوتاثايون( نانومول/غم) | | المالونداياليديهايد( نانومول/غم) | |
|---|---|---|---|---|
| | كبد | كلية | كبد | كلية |
| السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي) | 224.4±3339.19 b | 110.03±2803.17 d | 4.11±59.40 a | 13.5±83.33 a |
| السيطرة المصابة (معرضة للكرب التاكسدي) | 31.69±1476.91 a | 52.0±1322.3 a | 10.92±135.46 c | 10.49±232.04 e |
| المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات العدس | 119.11±4442.99 d | 31,51±2620.53 c | 5.33±99.14 v | 8.97±132.04 c |
| المستخلص غير البروتيني البارد لبذور نبات العدس | 70.84±3974.66 c | 44.12±2247.31 b | 11.76±103.85 b | 3.61±186.23 d |
| الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد لبذور نبات العدس | 75.52±6277.04 e | 61.67±3311.40 e | 10.95±96.15 b | 8.34±111.16 b |
| المركب البروتيني المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي لبذور نبات العدس | 399.04±9916.35 f | 83.38±3430.54 e | 5.64±56.98 a | 8.0±78.2 a |

**الأحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية (0.05).**

**تشير القيم إلى المعدل ± الخطأ القياسي.**

## المصادر


**1)** Herman J., Gultai R., Napoli C., Julie E., Lilach O. L., Martin R., Venconzo S., Robert D. S., Aron C. and Lerman A., Oxidative stress–related increase in ubiqitination in early coronary atherogenesis. J. *FASEB*.17:1730-1732.(2003).

**2)** Flore R., Geraldino L., Santoliquido A., Catantanti C., Pola P. and Tondi P., Reduction of oxidative stress by compressin stoking instanding workers. Occu. Med.Adr. 57(5):337-341.(2007).

**3)** Blokhina O., Vivolainen E. and Fagerstedt K. V., Antioxidants, Oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annal. Bot. 91:179-194. (2003).

**4)** Piconi L. and Cerillo A. Oxidative stress, Diabetes, and its Complications., Clin. Scie. Res. (2007).

**5)** AL-Mamun M., Yamaki K., Mazumaza T., Nakai Y., Saito K., Sano H. and Tamura Y., Super oxide anion radical scavenging activities of herb and pastures in northern japan detrmined using electron spin resonance spectrometry., Int. J. Biol. Scie. 3: 349-355. (2007).

**6)** Morgan M. J., Kim Y. and Liu Z. Singling., Lipid rafts and oxidative stress-induce cell death. Anti. Redo. 9(9) :1471-1484. (2007).

**7)** Mahajan A. and Tandon V. R. Antioxidants and rheumatoid arthritis. J. Indian Rheumatol assoc., 12:139-142. (2004).

**8)** Patil S. B., Kodliwadmath M. V. and Kodliwadmath S. M., Study of oxidative stress and enzymatic antioxidants in normal pregnancy. Ind. J. Clin. Biochem. 22(1): pp 135-137. (2007).

٩) الكاتب، يوسف منصور "تصنيف النباتات البذرية". الطبعة الثانية ص:٣٩٤. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. (٢٠٠٠).

١٠) حميد، حمزة نامق، عزل بعض المركبات البروتينية الفعالة من بذور فول الصويا ودراسة تأثيراتها في الفئران المصابة والمعرضة للكرب التاكسدي المستحدث، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل. (٢٠٠٨).

**11)** Robyt F. J. and White J. B. "Biochemical techniques, theory and practice". Brookes/Cole publishing company, Monterey, California. (1987).

**12)** Stanton P., Gell filtration chromatograohy. human a press., 251: 55-74 .(2003).

**13)** Clark j. M. and Switzer R.L., Experimental biochemistry. San Francisco, USA, PP.73-77. (1977).

١٤) السعدون، محمد بحري حسن، عزل المستخلصات من بذور نبات الكرفس *Apium graveolens* ودراسة تأثيرها في الفئران المعرضة للكرب التاكسدي ، أطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة الموصل. (٢٠٠٥).

**15)** James R. C., Goodman D. R. and Harbison R. D., Hepatic glutathione and Hepatotoxicity, changes induced by selected marcortics. J. Pharmacol. Therapy, 221: 708-714. (1982).

**16)** Volken E., Nurperi G. and Ahmet B., N-acetyl cystine reduces cerebral lipid peroxidation in a rat model of infanttile hydrocephalus. J. Neurol. Sci., Issue 1302-1310. (2001).

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

**18)** Plummer D. T., An Introduction of Practical Biochemistry. 2nd ed., McGraw-Hill Book Company, UK. p 61. (1978).

**١٩)** الجوكا، ايمان سعيد شمعون. فصل ودراسة المركبات الفعّالة من بذور البازاليا *Pisum sativum* في الفئران المصابة بداء السكر والمعرضة للكرب التأكسدي . رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، (٢٠٠٧).

**20)** Edwards C. R. W. and Bouchier I. A. D, Davidson's principles and practice of medicine. 18th ed., Churchill Livingston, London, pp. 724-764. (1991).

**21)** De-Man F. H., Cabezas M. C., Van-Barlingen H. H., Erkelens D. W. and Debruin T. W., Triglycerides rich lipoprotein sin non insulin dependant diabetes mellitus post-prandial metabolism and relation to premature atherosclerosis. Eur. J. clin. Invest., 26: 89-108. (1996).

**22)** Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A. and Rodwell V. W., Harpers' Biochemistry. 25th ed., Appleton and Lange, USA, pp.260, 279.(2000).

**23)** Gupta R. K., Kesari A. N., Watal G., Murthy P. S., Chandra R., Maithal K. and Tandon V., Hypoglycemic and antidiabetic effect of aqueous extract of leaves of *Annona squamosa* (L.) in experimental animal. Current Science, 88(8) :1244-1254. (2005).

**24)** Javed S. and Shukla Y., Effects of Black tea extract on transplantable and solid tumors in swiss albino mice. Biomed Environ. Sic., 13 : 213-218. (2000).

**25)** Saad N. I., Rady A. A. and Mandour A. A., Effect of administration of α-tocopherol, *Nigella Sativa* seeds to gether with deep fried fat on glutathione dependant enzymes and lipid peroxidase in rats liver. Assiut. Vet. Med. J., 38:151-160. (1998).