تأثير بعض المستخلصات المعزولة من ثمرتي الفاصوليا *Phaseoluis vulgaris* واللوبيا *Vigna sinensis*في الفئران المعرضة للكرب التأكسدي [+]

THE EFFECT OF SOME EXTRACTS ISOLATED FROM PHASEOLUS VULGARIS AND VIGNA SINENSIS FRUITS IN MICE EXPOSED TO OXIDATIVE STRESS

شهاب احمد يوسف البجاري[*]

المستخلص:

تضمن البحث دراسة تأثير بعض المستخلصات المعزولة من ثمرة نباتي الفاصوليا (*Phaseolus Vulgaris*) واللوبيا (*Vigna Sinensis*) في مستوى الكلوتاثايون Glutathione (GSH) والمالوندايالديهايد Malondialdehyde (MAD) في الفئران المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث باستخدام بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 وبنسبة (0.5 %) مع ماء الشرب فقط. كما تم في البحث إعطاء سبع جرع من المركبات المستخلصة عن طريق الحقن في التجويف البريتوني بواقع 77 ملغم / كغم من وزن الجسم .أظهرت النتائج ان عملية إعطاء الفئران مادة بيروكسيد الهيدروجين وبنسبة 0.5 % مع ماء الشرب فقط أدت إلى انخفاض في مستوى الكلوتاثايون وارتفاع في مستوى المالوندايالديهايد وبشكل معنوي بالمقارنة مع مجاميع السيطرة . كما ادى اعطاء بيروكسيد الهيدروجين وبنسبة 0.5 % مع ماء الشرب فقط الى ارتفاع معنوي في مستوى الكلوكوز والكولسترول والدهون الكلية بالمقارنة مع مجاميع السيطرة . في حين تبين من نتائج حقن الفئران المعرضة للكرب التاكسدي بالمستخلصات المتحصل عليها من النباتات إن مستوى الكلوتاثايون يرتفع ارتفاعا معنويا خاصة عند حقن المركب البروتيني (A) العائد للراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لثمرة نبات اللوبيا ، كذلك اظهرت النتائج أن نسبة المالوندايالديهايد تنخفض بشكل معنوي عند حقن المستخلصات نفسها وبخاصة المركب (A) المذكور انفا وهو بذلك يمكن إن يمتلك تأثيرا متشابها لتأثير الأنسولين في رفع مستوى الكلوتاثايون وخفض مستوى المالوندايالديهايد. يمكن الاستنتاج إن لمعظم مستخلصات ثمرة نباتي الفاصوليا واللوبيا وخاصة للمركب (A) تأثيرا مضادا للأكسدة في الفئران المعرضة للكرب التاكسدي .

Abstract:

This work included study the effect of some aqueous extracts of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna sinensis* plants on glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) level in mice exposed to oxidative stress using hydrogen peroxide H_2O_2 (% 0.5). Seven doses intraperitoneal injection of 77 mg / kg body weight of these isolates were used in this study .The results showed that mice treated with hydrogen peroxide orally a showed significant increasing (glucose , cholesterol

[+] تاريخ ستلام البحث ٢٠٠٦/٥/١٤ ،تاريخ قبول النشر ٢٠٠٧/٦/١٠

[*] مدرس مساعد/ المعهد التقني/ الموصل

and total lipids) level when compared with control group . While the results of injected with extracts which were obtained from plants for mice exposed to oxidative stress indicated that glutathione level arise significantly especially when the proteinous compound (A) for the cold extract of *Vigna sinensis* fruits was injected . Also the results revealed that malondialdehyde ratio decreased clearly when the same extracts especially compound (A) was injected . therefore we can suggest that the compound (A) has similar effect to that of insulin in decreasing (MDA) level and increasing (GSH) level . Finally we concluded that most of extracts isolated from fruits of both *Phaseolus vulgaris* and *vigna sinensis* plants (especially compound (A)) have antioxidant effect in mice exposed to oxidative stress .

المقدمة:

يعــد داء السكر من الإمراض المزمنة المعروفة منذ القدم يتسم باضطراب أيــض الكــاربوهيدرات بسبب العوز النسبي أو التام لهرمون الأنسولين مما يؤدي لفرط الكلوكوز في الدم ، وظهور الكلوكوز في البول ويرافق المرض اضطراب في ايض كل من البروتينات والدهون [1] . كان الاهتمام في السابق يتركز علــى عــلاج داء السكر من خلال خفض مستوى كلوكوز الدم ، أما ألان فقد تم الأخذ بنظر الاعتبار احد أسباب حدوث داء السكر هو توليد الجذور الحرة ، إذ وجد إن معظم مضاعفاته تتكون بفاعليات الجذور الحرة[2]. ففي دراسة لتقييم العلاقة بين داء السكر من النوع الأول ومضادات الأكسدة في الدم وجد انخفاض في مستويات مضادات الأكــسدة مثــل فيتامين C وكلوتاثايون بيروكسديز وكلوتاثايون رديكتيز [3]. إن ارتفاع مستوى السكر في الدم يؤدي الى زيــادة الكرب التاكسدي والذي يؤدي إلى زيادة توليد الجذور الحرة وحدوث مضاعفات داء السكر [4] .

يهدف البحث إلى دراسة تأثير المواد المعزولة من ثمرة نباتي الفاصوليا واللوبيا و فاعليتها في التقليــل من تكوين الجذور الحرة في الحيوانات المعرضة للكرب التاكسدي وذلك من خلال قياس مستوى الكلوتاثايون و المالوندايالديهايد في أنسجة الكبد والكلية والقلب .

المواد وطرائق العمل:

النباتات المستخدمة

استخدم في هذا البحث كل من نبات الفاصوليا *Phaseolus Vulgaris* وهو نبات عــشبي حــولي منتصب وملتف الأشجار. من العائلة البقولية . كذلك استخدم نبات اللوبيا *Vigna Sinensis* وهــو نبــات عشبي صيفي من العائلة البقولية التابعة للفصيلة القرنية [5].

الحيوانات المستخدمة

استخدمت في هذه الدراسة ذكور الفئران البيض (Male Albino Mice) المجهزة من كلية التربية / جامعة الموصل ، تراوحت أوزانها (30-35) غم ، قسمت إلى مجاميع تضم كل مجموعة (3) فئران .

تحضير المستخلصات المائية الخام البارد

تم وزن ٥٠٠ غم من ثمرة النبات (الفاصوليا و اللوبيا) ، قطع إلى أجزاء صغيرة بواسطة جهاز الثرم Blender ولمدة ١٠ دقائق ، بعدها مزج بالماء وبنسبة 3:1 وزن/حجم . جمدت بإضافة النيتروجين المسال وتركت لتذوب في درجة حرارة الغرفة . كررت العملية ثلاث مرات بعدها حرك الخليط لمدة ساعتين تحت تأثير المحرك الكهربائي مع مراعاة التبريد في حمام ثلجي. ثم رشح المحلول من خلال عدة طبقات من الشاش وقلص الحجم بواسطة جهاز التجفيد (Lyophilizer) إلى الثلث و قسم المحلول إلى قسمين . القسم الأول تجرى علية عملية الترسيب بالأسيتون ليتم فصل الجزء البروتيني عن الجزء غير البروتيني ، أما القسم الثاني فيتم تجفيد المستخلص وبشكل تام إلى أن يصبح بشكل مسحوق وبذلك تم الحصول على المستخلص المائي الخام البارد [6].

تحضير المستخلص المائي الخام المغلي

تم وزن 500 غم من ثمرة النبات (الفاصوليا ، اللوبيا) ، ثم قطعت إلى أجزاء صغيرة ، بعدها سحقت بواسطة جهاز الثرم Blender ، بعدها مزج بالماء وبنسب 3:1 لمدة عشرة دقائق . جمدت بإضافة النيتروجين المسال وتركت لتذوب في درجة حرارة الغرفة . كررت العملية ثلاث مرات بعدها حرك الخليط لمدة ساعتين تحت تأثير المحرك الكهربائي مع مراعاة التبريد في حمام ثلجي . بعد ذلك غلي الخليط في وعاء زجاجي لمدة ربع ساعة ثم ترك ليبرد. ثم رشح المحلول من خلال عدة طبقات من الشاش وقلص الحجم بواسطة جهاز التجفيد (Lyophilizer) إلى الثلث ، قسم المحلول إلى قسمين . القسم الأول يجرى علية عملية الترسيب بالأسيتون ليتم فصل الجزء البروتيني عن الجزء غير البروتيني ، أما القسم الثاني فيتم تجفيد المستخلص وبشكل تام إلى أن يصبح بشكل مسحوق وبذلك تم الحصول على المستخلص المائي الخام المغلي [6].

فصل الجزء البروتيني وغير البروتيني من المستخلص الخام

تم ترسيب البروتين باستخدام الأسيتون البارد(5 مْ) ، وذلك بأخذ المستخلص المائي وإضافة الأسيتون وبنسبة 60:40 حجم/ حجم[7]، ثم ترك لمدة يوم كامل ، نلاحظ ترسب البروتين . عندها فصل البروتين المترسب بواسطة جهاز الطرد المركزي المبرد(Refrigerated Centrifuge) وبسرعة ٣٠٠٠xg ولمدة ٢٠ دقيقة. إما بالنسبة للراشح المتبقي فهو يمثل الجزء غير البروتيني ، بعد التخلص من الأسيتون الموجود فيه بواسطة جهاز التبخير تحت ضغط مخلخل (Rotary evaporator) .

فصل وتنقية الجزء البروتيني

تم فصل وتنقية الجزء البروتيني بتقنية الترشيح الهلامي وذلك بامرار ٢ مل من المحلول البروتيني الخام وبتركيز (5.99 و 5.27 و 5.53 و5.22) من المركب البروتيني الخام البارد والمغلي لثمرة نبات الفاصوليا والمركب البروتيني الخام البارد والمغلي لثمرة نبات اللوبيا على التوالي ، وذلك باستخدام عمود

فصل ذي أبعاد (1.8x120) سم، يحتوي على مادة السيفادكس (Sephadex G-50) . وبمعدل جريان 43 مل / ساعة [8].

استحداث الكرب التاكسدي

تم استحداث الكرب التاكسدي عند الفئران بإعطائها بيروكسيد الهيدروجين وبتركيز (0.5) % مع ماء الشرب ولمدة (15) يوما [8] .

حقن الحيوانات

تم حقن الفئران في التجويف البريتوني وبجرعة 77 ملغم/كغم، من وزن الجسم [9] وكما يلي :

١-مجموعة السيطرة تركت تتناول العلف والماء من دون معاملة لمدة 15 يوما.

٢-مجموعة عرضت للكرب التأكسدي بإعطائها بيروكسيد الهايدروجين وبنسبة (0.5) % مع ماء الشرب ولمدة 15 يوماً

٣-مجموعة عرضت للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهايدروجين (0.5) % مع الحقن اليومي بالانسولين تحت الجلد وبجرعة (10) وحدة/كغم ولمدة اسبوع.

٤-مجموعة تتكون من عشرين مجموعة فرعية كل مجموعة من هذه المجاميع الفرعية تضم (٣) فئران عرضت للكرب التأكسدي المستحدث بيروكسيد الهايدروجين (0.5) % ولمدة 15 يوما مع حقنها بدءً من اليوم السابع يوميا ولمدة أسبوع بالتجويف البريتوني بالمستخلصات الخام الباردة والمغلية والمستخلصات غير البروتينية والرواسب البروتينية الخام والمركبات البروتينية A و B المفصولة منها لثمرة كل من نباتي الفاصوليا واللوبيا وبجرعة مقدارها 77 ملغم/كغم من وزن الجسم.

الحصول على العينات الدموية والنسيجية Getting of bloody and tissues samples

عند نهاية كل تجربة تم تخدير الحيوانات بالايثر لبضع ثوان ثم سحب الدم من جيب محجر العين (Orbital sinus puncture) [10]. فصل المصل (Serum) بواسطة جهاز الطرد المركزي وبسرعة (1008xg) ولمدة (15) دقيقة. بعدها أخذت عينات نسيجية من كل من القلب والكبد والكلية وضعت في المحلول الفسلجي المبرد ، ثم لفت بورق الألمنيوم ثم وضعت في التبريد بدرجة حرارة (- ٢٠ مْ) .

التحليل الإحصائي

حللت نتائج مستوى الكلوكوز و الكولسترول و الدهون الكلية والكلوتاثايون و المالونداياليديهايد إحصائيا وذلك باستخدام تحليل التباين الأحادي (One way analysis of variance) ، كما تم تحديد الاختلافات الخاصة بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن (Duncan) [11] .وكان مستوى التميز الإحصائي المقبول 5 % ($P\leq0.05$) .

<u>النتائج والمناقشة:</u>

تأثير الكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين على مستويات الكلوكوز والكولسترول والدهون الكلية في مصل الدمأدت المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5) % عن طريق ماء الشرب ولمدة (15) يوما في ذكور الفئران إلى حصول ارتفاع معنوي في مستوى الكلوكوز (الجدول ١) وهذا لا يتفق مع

نتائج (عزيز) الذي اشار الى عدم حصول أي تغير معنوي في مستوى كلوكوز دم ذكور الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين [12] . في حين أشار عبد السعدون [8] بان إعطاء بيروكسيد الهيدروجين أدى إلى ارتفاع معنوي في كلوكوز الدم عند المقارنة مع مجموعة السيطرة . والسبب في زيادة مستوى الكلوكوز قد يكمن في ان بيروكسيد الهيدروجين يؤدي إلى زيادة ضغط الأوكسجين وبالتالي زيادة أصناف الأوكسجين الفعالة(بيروكسيد الهيدروجين وجذر السوبر اوكسيد السالب وجذر الهيدروكسيل) التي تهاجم خلايا بيتا في جزر لانكرهانز البنكرياسية وتحطيمها معطلة صنع الأنسولين مما يؤدي إلى انخفاض نشاط Glycolysis وتحفيز عمليتي تخليق الكلوكوز وحل الكلايكوجين [13].كما ادى حقن المستخلص المائي الخام البارد والمغلي والمستخلص غير البروتيني البارد والمغلي لثمرة نباتي الفاصوليا واللوبيا الى حدوث انخفاض معنوي في مستوى الكولستيرول ، وقد يعزى السبب في هذا التاثير الخافض لهذه المستخلصات الى تثبيط فعالية انزيم HMG-CoA reductase المسؤول عن بناء الكوليستيرول [8] .كما ادى حقن الراسب البروتيني الخام المعزول من المستخلصات المائية الخام البارد والمغلية لثمرة نباتي الفاصوليا واللوبيا والمركبات البروتينية المفصولة منه الى انخفاض مستوى الكوليستيرول وبشكل معنوي ، يمكن إن يعزى هذا الانخفاض الى تثبيط فعالية انزيم HMG-CoA reductsae [8]

الجدول (1) تأثير المستخلصات المائية الخام والمستخلصات غير البروتينية الباردة والمغلية لثمرة نباتي الفاصوليا واللوبيا في مستويات الكلوكوز والكولسترول والدهون الكلية في مصل دم الفئران المعرضة للكرب التاكسدي بواسطة بيروكسيد الهيدروجين .

المعاملات	الكلوكوز ملي مول / لتر	كولسترول ملي مول / لتر	الدهون الكلية ملغم / 100 سم
السيطرة (المحلول الفسلجي)	1.7±6.52 b	0.88 ± 2.34 b	1.76± 352 c
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب فقط	0.77± 7.21 a	0.14± 2.97 a	1.76 ± 500 a
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + الانسولين (10 وحدات دولية / كغم)	0.25± 3.64 i	0.10±2.33 bc	2.33 ±382 b
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص مائي خام بارد (فاصوليا)	0.17±4.93 F	0.20±2.19 e	2.8 ± 309 D
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص مائي خام مغلي (فاصوليا)	0.37±5.08 e	0.17± 2.28 ed	1.4 ±295 de
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص مائي خام بارد (لوبيا)	0.46±4.63 g	0.17± 1.87 g	2.4± 199 f
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص مائي خام مغلي (لوبيا)	0.77 ± 4.52 g	0.37 ± 2.22 de	2.9± 205 f
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص غير بروتيني بارد (فاصوليا)	0.55± 5.62 d	0.11± 2.33 bc	3.6 ± 268 e
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص غير بروتيني مغلي (فاصوليا)	0.20 ± 5.26 c	0.20 ± 2.36 b	3.2 ± 270 e
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص غير بروتيني بارد (لوبيا)	0.48 ± 4.22 h	0.18 ± 2.03 f	2.6 ± 215 f
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء	0.31 ± 4.55	0.20± 1.92	1.7 ± 296

الشرب + مستخلص غير بروتيني مغلي (لوبيا)	g	g	de

الاحرف المختلفة عموديا تعني فرق معنوي عند مستوى 0.05

تشير القيم اعلاه المعدل ± الانحراف القياسي ، عدد الفئران في كل مجموعة (٣)

الجدول (2) تاثير الرواسب البروتيني البارد والمغلي والمركبات البروتينية المفصولة منها لثمرة نباتي الفاصوليا واللوبيا في مستويات الكلوكوز والكولسترول والدهون الكلية في مصل دم الفئران المعرضة للكرب التاكسدي بواسطة بيروكسيد الهيدروجين .

المعاملات	الكلوكوز ملي مول / لتر	الكولسترول ملي مول / لتر	الدهون الكلية ملغم / 100 سم
السيطرة (المحلول الفسلجي)	0.14± 6.54 b	0.15±2.37 g	1.76±352 h
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب فقط	0.57±7.2 a	0.26±3.04 a	1.76±505 a
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + الانسولين (10 وحدات دولية / كغم)	0.26±3.34 k	0.14±2.40 g	1.1±363 h
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + الراسب البروتيني الخام البارد(فاصوليا)	0.31±6.54 b	0.53±2.62 e	1.7±492 c
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + الراسب البروتيني الخام المغلي(فاصوليا)	0.12±6.40 c	0.26±2.5 f	3.9± 500 abc
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + الراسب البروتيني الخام البارد(لوبيا)	0.36±4.15 h	0.69±2.83 c	2.0±394 g
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + الراسب البروتيني الخام المغلي (لوبيا)	0.29±4.25 g	0.14± 2.92 b	2.0±406 f
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب +المركب البروتيني Aالبارد (فاصوليا)	0.41 ± 6.21 d	0.66 ± 2.20 h	2.3±465 d
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتيني A المغلي (فاصوليا)	0.14±6.07 e	0.26±2.15 h	1.8±451 e
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتينيB البارد(فاصوليا)	0.57±7.21 a	0.17±3.04 a	2.6± 504 ab
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتيني B المغلي(فاصوليا)	0.12±7.23 a	0.26±2.94 b	3.2±494 bc
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتينيA البارد (لوبيا)	0.88±3.89 j	0.26±1.92 i	2.5±185 l
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتيني A المغلي(لوبيا)	0.14±4.04 i	0.25±1.97 i	2.3±205 k
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب	0.49±4.20	0.20±2.76	2.8±305

+ المركب البروتيني B البارد(لوبيا)	gh	cd	j
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتيني B المغلي(لوبيا)	0.39±4.36 f	0.20±2.73 d	3.17±320 i

الاحرف المختلفة عموديا تعني فرق معنوي عند مستوى 0.05

تشير القيم اعلاه المعدل ± الانحراف القياسي ، عدد الفئران في كل مجموعة (٣)

من الجدول أعلاه يتبين ان حقن الأنسولين قد أدى إلى انخفاض معنوي في مستوى الكلوكوز والكولسترول والدهون الكلية ، تتفق هذه النتائج مع نتائج عبد المناع في الفئران [14] .فقد يعزى السبب إلى إن الأنسولين يزيد من معدل دخول الكلوكوز إلى داخل الخلية من خلال زيادة عدد نواقل الكلوكوز [15] . في حين ادى حقن المستخلصات المائية الخام والمستخلصات غير البروتينية وبجرعة 77 ملغم / كغم من وزن الجسم في التجويف البريتوني [9] إلى انخفاض معنوي في مستويات الكلوكوز والكولسترول والدهون الكلية وبشكل معنوي كما موضح في الجدول (1) ، أظهرت أعلى نسبة انخفاض في مستوى الكلوكوز عند حقن المستخلص المغلي لثمرة نبات اللوبيا بالمقارنة مع الفئران المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب فقط ، تتفق هذه النتائج مع الكاكي في الارانب [16] . قد يعزى سبب الانخفاض إلى إن هذه المستخلصات تعمل على زيادة عملية انحلال الكلوكوز لاهوائيا (Glycolysis) أو قد تعمل على تثبيط الإنزيمات المسؤلة عن تكوين الكلوكوز [17] . كما أظهرت نتائج حقن الرواسب البروتينية والمركبات البروتينية المفصولة منها وبالجرعة نفسها في الفئران المعرضة للكرب التاكسدي انخفاضا معنويا في مستوى الكلوكوز والكولسترول والدهون الكلية عند مقارنتها مع الفئران المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب فقط كما مبين في الجدول (2) ، ماعدا المركب البروتيني B البارد والمغلي المفصول من الراسب البروتيني المعزول من ثمرة نبات الفاصوليا فقد أدى إلى ارتفاع معنوي في مستوى الكلوكوز وارتفاع غير معنوي في مستوى الكولسترول والدهون الكلية ، قد يكمن سبب هذا الارتفاع إلى إن هذا المركب البروتيني يمتلك تاثيرات مشابهة لهرمون الكلوكاكون ، الذي يؤدي إلى رفع مستوى السكر في الدم من خلال حل الكلايكوجين في الكبد [17] .

تاثيرالكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين على مستويات الكلوتاثايون والمالونداياليديهايد في انسجة الكبد والكلية والقلب لذكور الفئران .

أدى استحداث الكرب التاكسدي من خلال المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب إلى انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثايون في انسجة الكبد والكلية والقلب بالمقارنة مع مجموعة السيطرة كما موضح في الجداول (٣)، وهذا يتماشى نوعا ما مع نتائج عبد السعدون [8]، إذ لاحظ انخفاضا معنويا في مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية والقلب . قد يعزى هذا إلى زيادة الجذور الحرة نتيجة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مما يؤدي إلى استنزاف الكلوتاثايون [18] . ورافق هذا الانخفاض في مستوى الكلوتاثايون في هذه الأنسجة ارتفاع معنوي في مستوى المالونداياليديهايد ، قد يكمن سبب هذه الزيادة في عدم تحمل هذه الأنسجة للكرب التاكسدي المستحدث تجريبيا ،الى ان الارتفاع في مستوى المالونداياليديهايد يعكس الزيادة في عملية بيروكسيدة الدهون في هذه الأنسجة [19] .

تاثير الانسولين والمستخلصات المائية الخام وغير البروتينية والرواسب البروتينية والمركبات المفصولة منها في مستويات الكلوتاثايون والمالونداياليديهايد في مصل دم ذكور الفئران المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين .

تأثير الأنسولين:

أدت المعاملة بالأنسولين الصافي (Insulin hormone) المنتج من شركة Novodisk الدانماركية ، وبجرعة (10) وحدات دولية / كغم وزن الجسم من ذكور الفئران المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث إلى ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الكلوتاثايون كما مشار إلية في الجداول (3و4) ، تتفق هذه النتيجة مع نتائج دراسة الكاكي التي لاحظ فيها ان المعاملة بالأنسولين في ذكور الأرانب المستحدث فيها داء السكر أدت إلى ارتفاع معنوي في مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والبنكرياس وعلى نحو غيرمعنوي وفي القلب والكلية ،كما أدت في الوقت نفسه المعاملة بالأنسولين إلى انخفاض معنوي في مستوى المالونداياليديهايد في أنسجة الكبد والكلية والقلب عند المقارنة مع مجموعة السيطرة . مما يوحي إلى قدرة الأنسولين في عكس التغيرات الحاصلة للكرب التاكسدي وربما يعزى السبب في ارتفاع مستوى الكلوتاثايون وانخفاض مستوى المالونداياليديهايد إلى ارتفاع مستويات مضادات الأكسدة بعد المعالجة بالأنسولين [20] .

تأثير المستخلصات المائية الخام والمستخلصات غير البروتينية الباردة والمغلية لثمرة نباتي الفاصوليا واللوبيا:

أدت معاملة الفئران المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيرودكسيد الهيدروجين بالمستخلصات المذكورة أعلاه وبجرعة 77 ملغم / كغم من وزن الجسم إلى ارتفاع معنوي ($p <0.05$) في مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية والقلب ، في حين انخفض معنويا مستوى المالونداياليديهايد في الأنسجة نفسها عند المقارنة مع الفئران المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب فقط، كما موضح في الجدول (3) ، ربما يعزى سبب هذا الارتفاع في مستوى الكلوتاثايون عند حقن هذه المستخلصات إلى زيادة إفراز الأنسولين وبالتالي زيادة فعالية إنزيم كلوكوز -6- فوسفيت دي هايدروجينيز وهذا يؤدي إلى تكوين القوى المختزلة NADPH التي تكون ضرورية في اختزال الكلوتاثايون المؤكسد GSSG إلى شكله المختزل GSH [21] . وكما هو معلوم فان مستوى الكلوتاثايون يعكس حالة الكرب التاكسدي، إذ إن العلاقة بينهما عكسية [22]. في حين انخفض معنويا مستوى المالونداياليديهايد عند حقن هذه المستخلصات وكما موضح في الجدول (3)، قد يكمن هذا الانخفاض إلى قدرة المستخلصات المذكورة سابقا في إزالة الجذور الحرة أو قد تمتلك إلية مضادة للأكسدة أو أنها تعمل على تنشيط مضادات الأكسدة الإنزيمية الكاسحة للجذور الحرة .

جدول رقم (٣) تأثير المستخلصات المائية الخام والمستخلصات غير البروتينية الباردة والمغلية لثمرة نباتي الفاصوليا واللوبيا في ستويات لكلوتاثايون والمالوندايالديهايد.

المعاملات	كلوتاثايون GSH مايكرو مول / غم			المالوندايالديهايد MDA نانومول / غم		
	كبد	كلية	قلب	كبد	كلية	قلب
السيطرة (المحلول الفسلجي)	0.021±4.456 f	0.021±1.363 E	0.024±1.273 f	8.5±536 b	2.7±374 b	3.1± 285 B
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب فقط	0.035±4.001 G	0.013±1.093 F	0.022±0.998 g	6.0±616 a	2.9 ±651 a	2.6±693 A
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + الانسولين (10 وحدات دولية / كغم)	0.028±5.408 A	0.023±2.005 A	0.016±2.002 a	4.3±320 g	2.0± 263 i	2.0±170 G
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص مائي خام بارد (فاصوليا)	0.035±4.487 F	0.17±1.4610 d	0.013±1.394 def	3.5±487 c	1.2± 338 d	1.4± 270 C
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص مائي خام مغلي (فاصوليا)	0.026±4.492 F	0.33± 1.407 De	0.013±1.292 ef	6.4±492 c	2.4± 326 e	2.6± 272 C
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص مائي خام بارد (لوبيا)	0.021±4.971 B	0.023±1.780 B	0.023±1.497 cde	9.3±414 d	5.5± 301 fg	3.7± 206 D
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص مائي خام مغلي (لوبيا)	0.036±4.724 E	0.023±1.727 B	0.013±1.759 b	8.7±418 d	1.8± 297 fg	1.4± 178 F
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص غير بروتيني	30.5±4.923 Bc	0.016±1.384 E	0.012±1.384 def	7.9±423 D	2.6± 350 c	3.2± 286 B

بارد (فاصوليا)						
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص غير بروتيني مغلي (فاصوليا)	34.0±4948 Bc	0.018±1.620 C	0.022±1.539 cd	6.7±392 e	2.0±2 94 g	3.0± 193 E
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص غير بروتيني بارد (لوبيا)	0.021±4.912 C	0.024±1.786 B	0.017±1.618 bc	2.4±364 f	2.9±305 f	2.6± 183 F
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + مستخلص غير بروتيني مغلي (لوبيا)	0.033±4.743 D	0.013±1.735 B	0.012±1.778 b	2.6±355 f	1.4±280 h	1.8± 183 F

الاحرف المختلفة عموديا تعني فرق معنوي عند مستوى 0.05

تشير القيم اعلاه المعدل ± الانحراف القياسي ، عدد الفئران في كل مجموعة (٣)

تأثير الرواسب البروتينية الباردة والمغلية المعزولة من ثمرة نباتي الفاصوليا واللوبيا والمركبات البروتينية المفصولة منها:

ادى حقن الراسب البروتيني البارد والمغلي والمركبات البروتينية A و B المفصولة منها في التجويف البريتوني لذكور الفئران المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين إلى ارتفاع معنوي في مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية والقلب، في حين انخفض معنويا مستوى المالونداياالديهايد في أنسجة الكبد والكلية والقلب عند المقارنة مع الفئران المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب فقط ،كما موضح في الجدول (4). تتفق النتائج المتحصل عليها مع نتائج عبد السعدون [8]. قد يعزى سبب الارتفاع في مستوى الكلوتاثايون عند حقن هذه الرواسب والمركبات البروتينية إلى قدرتها على تنشيط إلية بناء الكلوتاثايون من خلال زيادة فعالية إنزيم كلوتاثايون سينثتيز [23] أو تزيد من فعالية انزيم كلوتاثايون ردكتيز الذي يعمل على اختزال الكلوتاثايون المؤكسد إلى الشكل المختزل باستخدام NADPH كعامل مختزل [24] . وانعكس هذا على انخفاض مستوى المالونداياالديهايد في هذه الانسجة المدروسة عند حقن المركبات البروتينية المذكورة أنفا في التجويف البريتوني للفئران المعرضة للكرب التاكسدي وبالجرعة نفسها وكما موضح في الجدول (4) ، تتفق هذه النتائج مع نتائج عبد السعدون . إن الانخفاض في مستوى المالونداياالديهايد بعد الحقن يمكن إن يعزى إلى إن هذة الرواسب والمركبات البروتينية تعمل على تنشيط مضادات الأكسدة مثل إنزيم سوبراوكساید دسيموتيز ، او إنزيم الكاتاليز [8].

الجدول (4) تأثير الرواسب البروتينية الباردة والمغلية والمركبات المفصولة منها لثمرة نباتي الفاصوليا واللوبيا في مستويات الكلوتاثايون والمالونداياليديهايد.

المعاملات	الكلوتاثايون GSH مايكرو مول /غم			المالونداياليديهايد MDA نانومول / غم		
	الكبد	الكلية	القلب	الكبد	الكلية	القلب
السيطرة (المحلول الفسلجي)	0.021±4.492 G	0.021±1.363 i	0.012±1.270 k	2.8± 539 b	3.8± 373 b	4.2± 287 B
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب فقط	0.035±4.001 H	0.023±1.093 j	0.012±9.98 l	2.0± 616 a	2.9± 651 a	2.6± 693 A
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + الانسولين (10 وحدات دولية / كغم)	0.033±5.323 A	0.021±2.023 a	0.016±2.005 a	5.5± 307 kl	3.8± 275 e	4.7± 180 Hi
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + الراسب البروتيني الخام البارد(فاصوليا)	0.024±4.887 Cd	0.023±1.791 ef	0.025±1.580 g	7.3± 346 h	3.3± 309 cd	3.7± 183 H
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + الراسب البروتيني الخام المغلي(فاصوليا)	25.0±4.770 Ef	0.032±1.662 g	0.016±1621 d	3.1± 366 f	3.2± 284 de	3.5± 204 F
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + الراسب البروتيني الخام البارد(لوبيا)	0.027±5.014 B	0.016±1.799 def	0.012±1.606 e	2.4± 304 l	2.9± 225 g	2.8± 171 J
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + الراسب البروتيني الخام المغلي (لوبيا)	0.035±5.012 B	0.023±1.804 de	0.014±1597 ef	3.4± 315 jk	3.7± 256 ef	3.2± 174 Ij
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب +المركب البروتيني Aالبارد (فاصوليا)	0.042±4.841 D	0.027±1.782 f	0.025±1.488 i	2.3± 536 b	4.4± 372 b	5.1± 289 B

فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتيني B البارد(فاصوليا)	0.044±4.479 G	13.6±1.366 i	0.012±1.282 k	4.2± 507 c	3. 9± 359 b	2. 9± 289 B
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتينيA مغلي (فاصوليا)	0.034±4.785 E	0.011±1.674 g	0.013±1.475 i	4.0± 466 d	2.7± 314 c	2.7± 254 D
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتيني B المغلي(فاصوليا)	0.032±4.474 G	0.015±1.421 h	0.016±1.324 j	2.3± 439 e	3.4± 313 c	2.6± 266 C
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتينيA البارد (لوبيا)	0.036±5.020 B	0.012±1.946 b	0.016±1.811 b	5.7± 316 j	2.5± 239 fg	2.9±171 J
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتيني B البارد(لوبيا)	0.037±4.901 C	0.016±1.812 d	0.024±1.591 fg	4.7± 362 fg	5.7± 276 e	2.6± 194 G
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتيني A المغلي(لوبيا)	0.026±4.910 C	0.023±1.876 c	0.014±1.708 c	4.6± 355 gh	4.0± 273 e	3.4± 192 G
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب + المركب البروتيني B المغلي(لوبيا)	0.025±4.730 F	0.016±1.675 g	0.016±1.511 h	5.3± 326 i	5.0± 283 de	3.0± 215 E

الاحرف المختلفة عموديا تعني فرق معنوي عند مستوى 0.05

المصادر :

١. مصيقر ، عبد الرحمن . *الغذاء والتغذية* . أكاديميا ، بيروت، لبنان، ص 557-699 ، 1999

2. Tuko I. V., Marcondes S. and Murad F. " Diabetes-associated nitration of tyrosine and inactivation of succinyl-CoA:3-oxoacid and CoA-transferase". *Am. J. Physiol. Heart Circ . Physiol*. Vol.28, pp H2289-H2294 , 2001 .

3. Ndahimana J., Dorchy H. and Vertongen F. "Erythrocyte and plasma antioxidant activity in type I diabetes mellitus " . *Medicale*, Vol. 25 , No . 5 ,pp.188-192, 1996.

4. Koya D., Hayashi K. and Haneda M. " Effects of antioxidants in diabetes-induced oxidative stress in the glomeruli of diabetic rats " .*J. Am. Soc. Nephrol* .,Vol. 14 ,pp.S250- S253, 2003

٥. قدامة ، احمد . *الغذاء والتداوي بالنباتات*. دار النفائس للطباة والنشر ، بيروت ، لبنان ، ص 639-638 ، 1995 .

6. Al-Chalabi N.S. "Biochemical study of the proteinceous compounds isolated from aqueous extract of Trigonella f oenum-graecum L. seeds ".*Raf. J. Sci*., Vol.13 , No. 3 , pp 46 – 55 ,2002 .

7. Robyt F.J. and White J.B." *Biochemical Techniques . Theory and practice*". Brookes/ Cloe publishing Company, Monterey California, 1987.

٨. عبد 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، العراق، 2005 .

٩. البجاري ، شهاب احمد يوسف . *عزل البروتينات والأجزاء غير البروتينية من ثمرتي الفاصـــوليا Phaseolus vulgaris واللوبيا Vigna sinensis ودراسة تأثيراتهما في الفئران*، رســـالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق، 2004

10. Atta A.H., Shalaby M.A., Shokry I. M. and Ahmed A.A." Interaction between oral hypoglycemic and antibiotics on blood glucose level of normal fasted and alloxan - diabetic rats " *Vet. Med. J.* Vol.31, No.1, pp.11-18, 1983.
11. Steel R. G. and Torrie J. H." Principles and Procedures of Statistics Biometrical Approach ". 2nd ed ., McGraw-Hill Inc., Singapore, pp183, 1980.

١٢.عزيز ، بسام نجيب . *بعض التغيرات الكيميائية الحياتية في حالات الجوع والكرب التاكسدي وداء السكر التجريبي في الجرذان . تأثير بعض النباتات الطبية والهرمونات الجنـــسية الأنثويـــة* ، أطروحة دكتوراه ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل ، العراق ، 1999 .

13. Edwards C.R. and Bouchier I.A." *Davidson's principles and practice medicine* "18th ed ., Churchill Livingstone , London, 1999.

١٤. عبد المناع ، خالد صالح عمر .*عزل البروتينات والأجزاء غير لبروتينية من نباتي السبحبح وخس الزيت ودراسة تاثيرها على مستوى السكر في الدم* ، رسالة ماجستير ، كلية التربيـــة ، جامعـــة الموصل ، العراق، ٢٠٠٢.

15. Ashcroft F.M. and Ashcroft S.J." *Insulin Molecular Biology to Pathology* ". IRL press, 1990.

١٦.الكاكي ، إسماعيل صالح . *تأثير بعض النباتات المخفضة لسكر الـــدم فـــي بيروكـــسيدة الـــدهون ومستوى الكلوتاثايون وبعض الجوانب الكيميائية الحياتية في ذكور الأرانب السليمة والمـــصابة بداء السكر التجريبي* ، أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، العراق ، 1999 .

17. Murray R. K., Granner D.K., Mayes P. A. and Rodwell V. W." *Harper's Biochemistry*" 25th ed ., Appleton and lange, USA, 2000.
18. Reed D. J. and Farris M. W. " Glutathione depletion and susceptibility " *Pharmacol. Rev*., Vol. 36, pp. 255-355 , 1984.
19. Loven D. P. and Oberley L.W. "Free radicals , insulin action and diabetes" . In: Oberley L. W. , ed., Superoxide dismutase III . Disease state . Boca Raton FL, CRC, pp. 151-190 , 1985 .
20. Jenkins A. J. , Klein R. L. and Chassereau C. N. "LDL from patients with well. Controlled IDDM is not more susceptible to invtro oxidation " .*Diabetes* , Vol 45 , pp762-767, 1996 .
21. Lands L.C., Grey V.L. and Smountas A.A." Effect of supplementation with a cysteine donor on muscular performance " *J. Appl. Physiol*., Vol.87,pp.1381-1385,1999.
22. Ewadh M.J., Abbas T.F. and Alsaadi H.K." Effect of prostaglandin f2α on the serum glutathione levels in male albino mice". *Nat. J. Chem.*, Vol. 11,pp. 452-457 , 2003.
23. Fettman M.J. "Comparative aspects of glutathione metabolism affecting individual susceptibility to oxidant injury ". *Compend Contin. Educ. Pract*. Vet., Vol.13 , No . 7 ,pp. 1079-1087, 1991.

24. Lomaestro B. and Malone M. "Glutathione in health and disease : Pharmacotheapeutic issues". *Ann. Pharmacother*., Vol. 29 , pp. 1263-1273, 1995 .