عزل ودراسة تأثير الأجزاء البروتينية وغير البروتينية لثمرة نبات الحمص *Cicer arietinum L.* في الأرانب المعرضة للكرب التاكسدي

محمد بحري حسن عبد السعدون[١] و عمر يونس محمد العباسي[٢] و شهاب احمد يوسف حسن البجاري[٣]

[١] قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة الموصل، الموصل، جمهورية العراق
[٢] قسم الكيمياء ، كلية التربية ، جامعة الموصل، الموصل ، جمهورية العراق
[٣] قسم التحليلات المرضية ، معهد تقني موصل، الموصل ، جمهورية العراق

الملخص:

تضمنت هذه الدراسة تحضير مستخلص مائي بارد لثمرة نبات الحمص (*Cicer arietinum L.*) ، إذ تم عزل ودراسة المركبات البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي من الراسب البروتيني البارد ، كما تم تحديد الأوزان الجزئية لهذه المركبات المفصولة وكانت كما يلي، المركب A (40935) دالتون والمركب B (5495) دالتون.

أشارت النتائج بعد أسبوع من المعاملة إلى أن حقن المستخلص المائي الخام البارد والراسب البروتيني والمركب البروتيني A وبجرع (٧٥٠، ٢٥,٩٨، ١,٥٤) ملغم/كغم وزن الجسم أدى إلى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الكلوكوز ، والكوليستيرول الكلي ، والكلسيريدات الثلاثية ، وكوليستيرول البروتين الدهني واطئ الكثافة في مصل الدم، ومستوى المالونداياليديهايد في انسجة الكبد والكلية والقلب ، بينما احدثت ارتفاعا معنويا ($P < 0.05$) في مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة في مصل الدم ، ومستوى الكلوتاثايون في انسجة الكبد والكلية والقلب في الارانب المعرضة للكرب التاكسدي .ومن جانب اخر فان المركب البروتيني B وبجرعة (١,٤٨) ملغم/كغم وزن الجسم ادى الى ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الكلوكوز ، في حين ان الراسب غير البروتيني وبجرعة (724) ملغم/كغم وزن الجسم لم يؤد الى تغير معنوي ($P<0.05$) في مستوى الكلوكوزفي الارانب المعرضة للكرب التاكسدي.

الكلمات المفتاحية: الكرب التأكسدي، مضادات الأكسدة، نبات الحمص

المقدمة:

ان الكرب التاكسدي oxidative stress والذي ينتج عن نقصان في الانظمة المضادة للأكسدة بالجسم التي تزيل اصناف الاوكسجين الفعالة Reactive oxygen species (ROS) ذات الفعالية المؤكسدة للخلايا (١) . يعد الكرب التاكسدي المسؤول عن كثير من الامراض المزمنة والمتلازمات المعقدة والتي تسبب اكسدة LDL-C فضلا عن تاثيرها في Nitric oxide (NO) والخلايا البطانية للشرايين والخلايا العضلية الملساء بالاضافة لتاثيرها السلبي في ايض البروتين داخل الخلية (٢)، ولقد لوحظت زيادة في الكرب التاكسدي عند مرضى داء السكر (٣) ،وان الكرب التاكسدي يمكن ان يعمل على زيادة خطورة التعرض لامراض القلب ، ويزداد تكوين اصناف الاوكسجين الفعالة وتحريرها في عدة حالات منها انخفاض مضادات الاكسدة ، الشيخوخة ، عدد من الامراض المعدية ، التلوث البيئي ، التدخين ، الاشعاع ، الفطريات، المبيدات وبعض الادوية مثل Cyclophosphamide (١) . تشمل اصناف الاوكسجين الفعالة الحاوية على جذر (٢) جذر السوبر اوكسايد السالب O^{-} ، وجذر الهيدروكسيل $HO^{\cdot}$ ، وجذر الاوكسيل $RO^{\cdot}$ وجذر البيروكسيل $ROO^{\cdot}$. اما اصناف الاوكسجين الفعالة غير الحاوية جذر فتشمل الاوكسجين المنفرد O_2^1 ، وبيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 ، وبيروكسي نتريت $ONOO^{-}$ ، وهايبوكلوريك OCl^{-} واكسيد النتريك NO (٢).

الحمص محصول قديم ينمو في الهند والشرق الأوسط وأجزاء من أفريقيا و يزرع في تركيا منذ ما يقارب 7400 سنة مضت ، كما يزرع في العراق وخاصة في المحافظات الشمالية (3) .الاسم العلمي للنبات *Cicer arietinum L.* أو يعرف بالعربية بالحمص ، أما في الإنكليزية فيعرف *Chick pea* ، *Bengl Gram* ، *Gram* ، يستعمل الحمص في علاج الحمى ، آلام الحيض ، قابض للدزنتري ، محفز للقئ ، علاج سوء الهضم والإمساك (5) .

يهدف البحث الى دراسة تأثير المستخلصات والمركبات المذكورة أنفا في مستويات الكلوكوز، والكوليستيرول الكلي، والكلسيريدات الثلاثية ، وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وكوليستيرول البروتين الدهني واطئ الكثافة في مصل الدم ، وكذلك مستويات الكلوتاثايون و المالونداياليديهايد في أنسجة الكبد والكلية والقلب في ذكور الأرانب المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين 0.5 % مع ماء الشرب.

المواد المستعملة و طرائق العمل:

تحضير المستخلص المائي الخام:

وزن 500 غم من بذورنبات الحمص، مزج بالماء المقطر بعد غسلها بالماء العادي وبنسب 3:1 وزن/ حجم، ثم قطعت إلى أجزاء صغيرة وسحقت بواسطة جهاز الثرم Blender . جمدت بإضافة النيتروجين المسال وتركت لتذوب في درجة حرارة الغرفة . كررت العملية ثلاث مرات بعد حرك الخليط لمدة ساعتين تحت تأثير المحرك الكهربائي مع مراعاة التبريد في حمام ثلجي . ثم رشح المحلول من خلال عدة طبقات من الشاش وفصل المستخلص بجهاز الطرد المركزي بسرعة 6000xg المبرد للحصول على راشح بشكل رائق (6).

تحضير المستخلص البروتيني وغير البروتيني :

تم إضافة الأسيتون البارد إلى المستخلص المائي البارد وبنسبة 40 : 60 حجم/ حجم ، ثم ترك المزيج في الثلاجة لمدة 24 ساعة . فصل البروتين

المترسب بجهاز الطرد المركزي المبرد وبسرعة 6000xg ولمدة 20 دقيقة (7) . فالجزء الراسب يمثل المستخلص البروتيني والجزء الرائق يمثل المستخلص غير البروتيني بعد التخلص من الأسيتون ،بعدها جفف كل منهما باستخدام جهاز التجفيد بالتبريد Lyophilizer .

فصل وتنقية المركبات البروتينية وإيجاد أوزانها الجزيئية :

نقي البروتين الخام المستحصل علية وقدرت الأوزان الجزيئية للمركبات البروتينة ، باستخدام تقنية الترشيح الهلامي Gel Filtration (8)، من خلال عمود فصل ذو أبعاد (1.8x120) سم ، والحاوي على مادة السيفاديكس (Sephadex G-50) ، حضر محلول مركز من الراسب البروتيني ثم مرر حجم (٢) مل منه على عمود الفصل وتبعه اضافة (٢) مل من الماء المقطر لدفع النموذج داخل العمود ، بعدها تم استرداد المادة البروتينية بمعدل جريان 42 مل / ساعة. وتم متابعة المحتوى البروتيني من خلال قراءة شدة الامتصاص عند 280 نانوميتر وتقدير كمية البروتين بطريقة العالم لاوري المحورة (٩) .

الحيوانات المستخدمة :

استخدمت في هذه الدراسة ذكور الأرانب تراوحت أوزانها بين (-800 700)غم. وضعت في أقفاص خاصة مجهزة ومعدة لهذا الغرض وزودت بالماء والعلف الحيواني الخاص بها.

تحديد الجرعة المؤثرة :

استخدمت ارانب سليمة تراوحت أوزانها (700-800) غم قسمت إلى مجاميع تضم كل مجموعة (5) ارانب ، عوملت كما يأتي :

1. المجموعة الاولى حقنت في التجويف البريتوني بـ (1) مل من المحلول الملحي الفسلجي (Normal Saline) وعدت مجموعة سيطرة Control .

2. المجاميع من (2-5) حقنت في التجويف البريتوني بالجرع (٢٥٠، ٥٠٠، ٧٥٠، ١٠٠٠) ملغم / كغم من وزن الجسم على التوالي من المستخلص المائي الخام لثمرة نبات الحمص ، وبعد ساعتين من اجراء عملية الحقن تم سحب الدم من الارانب ، قيس مستوى الكلوكوز في الدم باستخدام عدة التحليل (Kit) وهي طريقة انزيمية نوعSyrbio)،(France (١٠) ، ثم اختيرت الجرعة الأكثر تأثير في خفض مستوى كلوكوز الدم وعدت جرعة مؤثرة .

حقن الحيوانات المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث بـ H_2O_2 :

استخدمت ذكور الأرانب ووزنت قبل بدء التجربة وقسمت عشوائيا إلى (8) مجاميع ، كل مجموعة تضم (5) حيوانات. عوملت هذه الارانب باعطائها بيروكسيد الهيدروجين وبتركيز 0.5 % عن طريق الفم ولمدة (15) يوم ، مع حقنها في اليوم (8) ولمدة اسبوع بالمستخلص المائي الخام ، وغيرالبروتيني ، والراسب البروتيني والمركبات البروتينية المفصولة منه في التجويف البريتوني وبجرع (٧٥٠، ٧٢٤، ٢٥,٩٨، ١,٥٤، ١,٤٨١) ملغم/ كغم من وزن الجسم على التوالي.

تقدير المتغيرات :

قدر مستوى الكلوكوز ، والكوليستيرول الكلي ، والكلسيريدات الثلاثية وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وواطئ الكثافة باستخدام عدة التحليل (Kit) نوع (Syrbio, France) (١٠) ، كما قدر الكلوتاثايون في أنسجة الكلية والقلب والكبد بطريقة المان المحورة(11) ، في حين قدر المالونداياليديهايد في الأنسجة المدروسة بالطريقة المتبعة من قبل الباحث فولكن (12).

النتائج والمناقشة:

أيجاد كمية البروتينات الكلية ونسبتها المئوية وكفاءة الترسيب بالأسيتون في المستخلص المائي الخام :

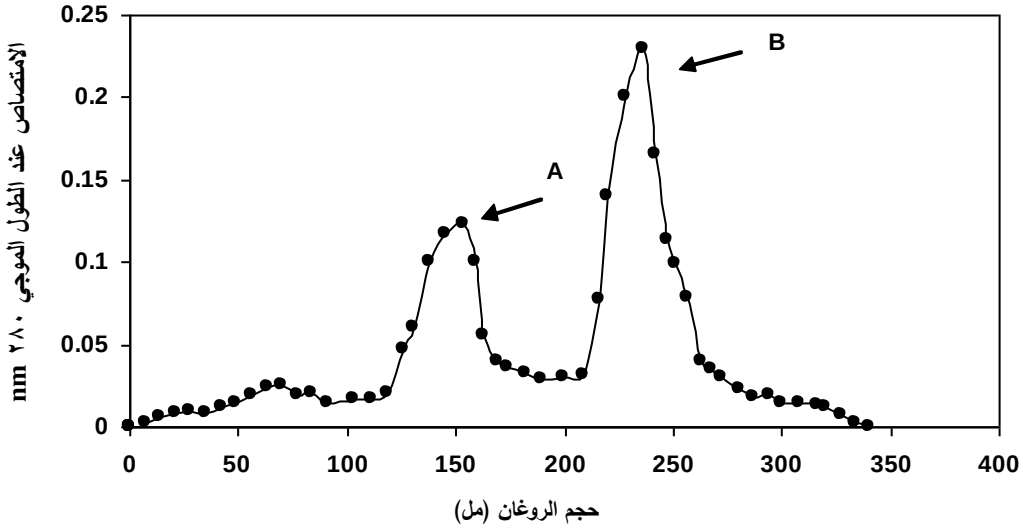
يوضح الجدول (1) كمية البروتينات المقدرة بطريقة العالم لاوري المحورة ونسبتها المئوية وكفاءة ترسيبها بالأسيتون في المستخلص المائي الخام.

فصل المادة البروتينية بتقنية الترشيح الهلامي :

تعد طريقة الترشيح الهلامي احدى الطرائق المتبعة عالميا لفصل المركبات اعتمادا على الاختلاف في حجم جزيئاتها، فالجزيئات الكبيرة تمر اولا من خلال عامود الفصل اما الجزيئات الصغيرة فسوف تتمكن من اختراق الهلام لذلك فانها تستغرق مدة زمنية اطول فتظهر اخيرا (١٣) .اذ اعطى روغان مادة الراسب البروتينية المعزولة من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص قمتين واضحتين عند امرار محلولها في عمود الفصل المذكور أنفا والمبينة في الشكل(1).

الجدول (1) : كمية البروتينات ونسبتها المئوية وكفاءة الترسيب بالأسيتون للمستخلص المائي الخام لبذور نبات الحمص

نوع المستخلص	تركيز البروتين (ملغم/مل)	الحجم الكلي (مل)	كمية البروتين الكلي في المستخلص (ملغم)	نسبة البروتين في النبات (%)	وزن النبات (غرام)	كمية البروتين المتحصل عليها عمليا (ملغم)	كفاءة الترسيب (%)
المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	10.82	1600	17312	3.40	500	15823	91.35



الشكل (1) :المظهر الجانبي لروغان الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص بتقنية الترشيح الهلامي باستخدام عمود الفصل ذي الأبعاد (120 x 1.8) سم والحاوي على الهلام من نوع Sephadex G-50 ، الأسهم A،B تمثل حجم الروغان للقمم الأولى (154) مل والثانية(236) مل على التوالي للمركبات البروتينية المفصولة ، حجم كل جزء 7 مل وبمعدل جريان (42 مل / ساعة).

أيجاد كمية البروتين الكلي في مواد الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام البارد قبل التمرير في عمود الفصل والحزم (المركبات) البروتينية الناتجة عن تقنية الترشيح الهلامي :

بعد فصل المركبات (الحزم) البروتينية من المحلول المركز لمواد الراسب البروتيني التي مررت في عمود الفصل كما ذكر آنفا . قدرت كمية البروتين بطريقة العالم لاوري المحورة ، ومن ثم تم أيجاد كفاءة الفصل في العمود المستخدم بتقنية الترشيح الهلامي ، والجدول (2) يبين النتائج التي تم الحصول عليها.

الأوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية المفصولة:

لغرض تعين المركبات الجزيئية للمركبات المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي استخدم عمود الفصل ذي الأبعاد (1.8x120) سم إذ تم امرار عدد من المواد المعلومة الوزن الجزيئي ، تراوحت أوزانها الجزيئية بين-(2000000 204) دالتون ، بعد ذلك تم تعين حجوم الروغان لهذه المواد كما هو مبين في الجدول (3).

عند رسم حجم الروغان (Elution volume) لكل مادة مقابل لوغارتم الوزن الجزيئي تم الحصول على المنحني القياسي لتقدير الوزن الجزيئي كما هو مبين في الشكل (2) والذي من خلاله يمكن تحديد الوزن الجزيئي التقريبي للمركبات المفصولة .

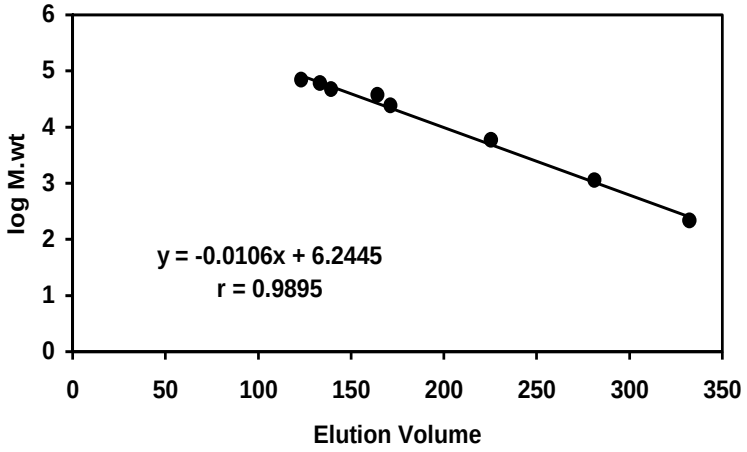
ومن خلال إسقاط حجوم الروغان للمركبات البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي على المنحني القياسي (الشكل٢) تم تقدير الأوزان التقريبية كما مبين في الجدول(4) .

الجدول(2) : كمية البروتين للمحلول المركز قبل تمريره في عمود الفصل والمركبات البروتينية الناتجة من الترشيح الهلامي في عمود الفصل ذي الأبعاد (1.8x 120) سم الحاوي على الهلام من نوع Sephadex G-50 .

نوع المادة	تركيز البروتين (ملغم/مل)	الحجم الكلي (مل)	كمية البروتين الكلي (ملغم)	النسبة المئوية (%)	كفاءة الفصل (%)
الراسب البروتيني الناتج من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص قبل التمرير على عمود الفصل	10.52	2	21.04	100	91.3
المركب البروتيني A المفصول بتقنية الترشيح الهلامي من مادة الراسب البروتيني	0.32	32	10.24	48.6	
المركب البروتيني B المفصول بتقنية الترشيح الهلامي من مادة الراسب البروتيني	0.18	50	9.00	42.7	

الجدول (3): حجوم الروغان للمواد المعلومة الوزن الجزيئي والتي مررت على عمود الفصل ذي الأبعاد (120 x 1.8) والحاوي على الهلام Sephadex G-50

المادة	الوزن الجزيئي (دالتون)	حجم الروغان (مل)
الدكستران الازرق Blue dextran	2000000	106
البومين مصل البقر Bovine serum (B SA) albumin	67000	128
الفا–امايليز α-amylase	58000	136
البومين البيض Eggs albumin	45000	143
ببسين Pepsin	36000	168
تربسين Trypsin	23000	173
هرمون الانسولين Insulin Hormone	5750	223
هرمون الاوكسيتوسين Oxytocin Hormone	1051	280
التربتوفان Tryptophan	204	337



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

الجدول (4) : الأوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي.

المركب البروتيني	حجم الروغان	الوزن الجزيئي
المركب البروتيني A المفصول من مادة الراسب البروتينية للمستخلص المائي الخام لبذور نبات الحمص	154	40935
المركب البروتيني B المفصول من مادة الراسب البروتينية للمستخلص المائي الخام لبذور نبات الحمص	236	5495

تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام البارد:

يوضح الجدول (5) تحديد الجرع الأكثر تأثيرا في خفض مستوى الكلوكوز في ذكور الأرانب السليمة للمستخلص المائي الخام لثمرة نبات الحمص . وقد تبين من خلال هذه الجدول أن قيمة الجرعة المؤثرة هي (750) ملغم/كغم من وزن الجسم.

تأثير المستخلص المائي الخام وغيرالبروتيني والراسب البروتيني والمركبات البروتينية المفصولة منه:

من الجدول (6) يتبين إن لبيروكسيد الهيدروجين تأثير رافع لمستوى الكلوكوز و الكوليستيرول الكلي في مصل الدم ، وهي تتفق مع نتائج دراسة الكناني في أفراخ الدجاج (14) ، وربما يعود سبب الارتفاع إلى تحطيم جزر لانكرهانز البنكرياسية وتعطيل عمل الأنسولين الناتج عن زيادة أصناف الأوكسجين بسبب بيروكسيد الهيدروجين والتي تؤدي بالتالي إلى عملية حل الكلوكوز Glycolysis وتحفيز عملية تكوين الكلوكوز وحل الكلايكوجين (15) .أما سبب الارتفاع في مستوى الكوليستيرول فقد يعود إلى أكسدة apo B-100 الموجود في البروتين الدهني واطئ الكثافة والتي تؤدي بالتالي إلى تراكمه ثم زيادة الكوليستيرول الكلي (16) .

كما يوضح الجدول (٦) تأثير المعاملة بالأنسولين حيث تظهر النتائج أن حقن الأنسولين في الأرانب المعرض للكرب التاكسدي أدى إلى خفض مستوى الكلوكوز وبشكل معنوي وكذلك جعل مستوى الكوليسترول يعود إلى مستواه الطبيعي بالمقارنة مع السيطرة السليمة ، قد يكمن سبب الانخفاض إلى قدرة الأنسولين على زيادة عملية حل الكلوكوز من خلال زيادة نشاط الانزيمات المسؤولة عن ذلك وهي الكلوكوكاينيز Gluco kinase وفوسفوفركتوكاينيز Phosphofructo kinase فضلا عن تثبيط

الأنزيمات المسؤولة عن تكوين الكلوكوز وهي بايروفيت كاربوكسيليز وفركتوز–1،6–ثنائي فوسفاتيز (17).

في حين أظهرت نتائج حقن المستخلص المائي الخام والراسب البروتيني والمركب البروتيني A وبجرع (٧٥٠، ٢٥,٩٨، ١,٥٤) ملغم/كغم وزن الجسم على التوالي إلى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى كلوكوز الدم ويمكن أن يعزى السبب إلى قدرة هذه المستخلصات على زيادة استهلاك الكلوكوز المحيطي وتثبيط عملية حل الكلاكوجين في الكبد (18) ، أو أنها تعمل على إفراز الأنسولين من خلايا بيتا البنكرياسية . بينما أدى حقن المركب البروتيني B وبجرعة (1.48) ملغم/كغم إلى زيادة مستوى كلوكوز الدم وربما يعزى سبب ذلك إلى تحفيز خلايا ألفا على إفراز الكلوكاكون ، أو إن هذه المواد تزيد من حساسية الخلايا الهدف ضد الأنسولين ومن ثم تعمل على زيادة مستوى كلوكوز الدم ، في حين لم يود المستخلص غير البروتيني وبجرعة (٧٢٤) ملغم/كغم وزن الجسم الى فرق معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الكلوكوز ، وكما مبين في الجدول (6) . أن حقن المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركبات المفصولة منها A)،(B المتحصل عليها من نبات الحمص ادت إلى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى الكوليستيرول الكلي، والكلسيريدات الثلاثية وكلوليستيرول البروتين الدهني واطئ الكثافة عند المقارنة مع السيطرة المصابة ، على عكس ذلك أظهرت النتائج أن حقن نفس المستخلصات وبنفس الجرع إلى ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة ، وقد يعود سبب التأثير الخافض في مستوى الكوليستيرول عند حقن المستخلصات إلى قدرة هذه المستخلصات على أن تعمل عمل الأنسولين إذ تثبط إنزيم بيتا–هيدروكسي مثيل كلوتاريل مساعد الإنزيم A ريدكتيز β-hydroxy methyl glutaryl CoA reductase (19).

تأثير المستخلص المائي الخام وغيرالبروتيني والراسب البروتيني والمركبات البروتينية المفصولة منه على مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية والقلب:

أدت المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وبنسبة 0.5 % مع ماء الشرب إلى انخفاض معنوي ($P< 0.05$) في مستوى الكلوتاثايون في انسجة الكبد والكلية والقلب وهذا يطابق نتائج عبد السعدون (20) . إن التأثير الخافض لبيروكسيد الهيدروجين على مستوى الكلوتاثايون ربما يعود إلى استنزاف الكلوتاثايون بسبب زيادة الجذور الحرة نتيجة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب. في حين أدت المعاملة بالأنسولين إلى ارتفاع معنوي ($P< 0.05$) في مستوى الكلوتاثايون عند المقارنة بمجموعة السيطرة المصابة .

كما يتبين من الجدول (7) إن المعاملة بالمستخلص المائي الخام وغيرالبروتيني والراسب البروتيني والمركبات البروتينية المفصولة منه وبجرع (٧٥٠، ٧٢٤، ٢٥,٩٨، ١,٥٤، ١,٤٨١) ملغم/كغم وزن الجسم على التوالي عن طريق الحقن في التجويف البريتوني ادت إلى ارتفاع معنوي ($P< 0.05$) في مستوى الكلوتاثايون وبشكل واضح بالمقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة ، حيث اظهر المركب البروتيني B أعلى نسبة ارتفاع ، وربما يعزى سبب هذا الارتفاع إلى قدرة هذه المستخلصات على خفض مستوى الكلوكوز وبالتالي رفع مستوى الكلوتاثايون لان العلاقة بينهما عكسية (21) ، أو يعزى السبب إلى قدرة المستخلصات وخاصة المركبات البروتينية على زيادة فعالية انزيم كلوتاثايون رديكيتز الذي يعمل على زيادة اختزال الكلوتاثايون المؤكسد إلى شكله المختزل باستخدام NADPH كعامل مختزل (22) .

تأثير المستخلص المائي الخام وغيرالبروتيني والراسب البروتيني والمركبات البروتينية المفصولة على مستوى المالونداياليديهايد في أنسجة الكبد والكلية والقلب :

يتبين من الجدول (8) إن لبيروكسيد الهيدروجين تأثيرا رافعا لمستوى المالونداياليديهايد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة وتتفق هذه النتائج مع نتائج عبد السعدون (20) ، وربما سبب الارتفاع يعود إلى عدم تحمل هذه الأنسجة للكرب التاكسدي المستحدث وهو يعكس زيادة عملية بيروكسدة الدهون في هذه الأنسجة ، كما تبين من الجدول أدناه أن للأنسولين تأثير خافضا لمستوى المالونداياليديهايد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة . كما أظهرت نتائج حقن المستخلص المائي الخام وغيرالبروتيني والراسب البروتيني والمركبات البروتينية المفصولة منه وبجرع (٧٥٠، ٧٢٤، ٢٥,٩٨، ١,٥٤، ١,٤٨١) ملغم/كغم وزن الجسم على التوالي عن طريق الحقن في التجويف البريتوني إلى انخفاض معنوي في مستوى المالونداياليديهايد بالمقارنة مع السيطرة المصابة ، وربما يعزى سبب ذلك الى قدرة هذه المستخلصات على أن تعمل على تنشيط مضادات الأكسدة مثل إنزيم سوبر اوكساييد ديسموتيز SOD أو إنزيم الكاتاليز CAT (20) .

الجدول (5): تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام لبذور نبات الحمص

	السيطرة	جرع المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص بالملغم/كغم وزن الجسم			
		250	500	750	1000
تركيز الكلوكوز ملي مول/لتر	٠,١٠± 6.03	٠,٠٩±5.42	٠,١٠±6.22	٠,١٥±4.88	٠,١١±6.09
نسبة التغيير %	_	-10.1	3.1	-19.07	0.99

تشير قيم الكلوكوز إلى المعدل ± الخطأ القياسي.

الجدول (6): تأثير المستخلص المائي الخام وغيرالبروتيني والراسب البروتيني والمركبات البروتينية المفصولة منه لبذور نبات الحمص على مستوى الكلوكوز ، الكوليستيرول الكلي ،الكلسيريدات الثلاثية ، كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وواطئ الكثافة في مصل دم ذكور الأرانب المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين.

المعاملات	الكلوكوز (ملي مول /لتر)	الكوليستيرول الكلي (ملي مول/لتر)	الكلسيريدات الثلاثية (ملي مول / لتر)	كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة (ملي مول/لتر)	كوليستيرول البروتين الدهني واطئ الكثافة (ملي مول/لتر)
السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي)	0.4 ± 6.44 d	0.15 ± 2.32 d	0.25±1.67 e	0.1 ± 1.49 f	0.1±1.49 f
السيطرة المصابة (معرضة للكرب التاكسدي)	0.35±7.13 f	0.2 ± 3.01 e	0.5±2.38 f	0.45 ± 2.28 g	0.45±2.28 f
سيطرة مصابة + أنسولين	0.15 ± 3.31 a	0.25 ± 2.31 d	0.25±1.44 d	0.12± 0.91 b	0.2 ± 1.22 e
المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	0.7 ± 6.85 e	0.5 ± 2.47 d	0.15±1.59 e	0.4 ± 1.74 c	0.2 ± 1.39 f
الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	0.25 ± 5.22 c	0.25 ± 1.02 a	0.15±0.47 a	0.1 ± 0.59 a	0.1 ± 0.33 b
المستخلص غيرالبروتيني المعزول من المستخلص المائي لخام البارد لبذور نبات الحمص	0.25 ± 7.02 f	0.15 ± 1.01 a	0.11±0.6 b	0.15 ± 0.65 a	0.09 ± 0.21 a
المركب البروتيني A المفصول من الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	0.25 ± 4.82 b	0.15 ± 1.55 b	0.09±0.78 c	0.11 ± 0.84 b	0.11 ± 0.57 c
المركب البروتيني B المفصول من الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	0.45 ± 7.64 g	0.20 ± 1.98 c	0.15±0.77 c	0.21 ± 0.83 b	0.21 ± 0.94 d

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

تشير قيم إلى المعدل ± الخطأ القياسي

الجدول (7): تأثير المستخلص المائي الخام وغيرالبروتيني والراسب البروتيني والمركبات البروتينية المفصولة منه لبذور نبات الحمص على مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية والقلب لذكور الارانب المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين .

المعاملات	الكلوتاثايون(نانو مول / غم)

	كبد	كلية	قلب
السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي)	12.3±5188 b	34.8±1916 b	5.31±3160 e
السيطرة المصابة (معرضة للكرب التاكسدي)	8.1±3069 a	4.7±1434 a	12.6±2152 b
سيطرة مصابة + أنسولين	14.9±5611 c	35.4±2334 c	9.9±3150 e
المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	49.8±7716 f	7.7±3517 f	5.9±2986 c
الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	5.3±5165 b	11±3066 e	7.5±2018 a
المستخلص غيرالبروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	20.4±6260 d	8.3±3126 e	4.8±4105 g
المركب البروتيني A المفصول من الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	10.2±6530 e	14.6±2981 d	15.6±3115 d
المركب البروتيني B المفصول من الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	9.8±7830 f	7.9±5152 g	19.9±4011 f

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

تشير قيم إلى المعدل ± الخطأ القياسي

الجدول (8): تأثير المستخلص المائي لخام وغيرالبروتيني والراسب البروتيني والمركبات البروتينية المفصولة منه لبذور نبات الحمص على مستوى المالوندايالديهايد في أنسجة الكبد والكلية والقلب لذكور الأرانب المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين .

المعاملات	المالوندايالديهايد (نانومول / غم)		
	كبد	كلية	قلب
السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي)	25.4±385 b	13.2±592 b	38.8±506 bc
السيطرة المصابة (معرضة للكرب التاكسدي)	18.3±907 d	18.4±1105 c	28.4±995 d
سيطرة مصابة + أنسولين	17.1±581 c	22.3±461 ab	28.8±522 c
المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	18.5±375 b	20.2±940 c	10.1±530 c
الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	12±228 a	42.1±259 a	5.1±315 a
المستخلص غير البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	8.2±342 b	12.3±366 a	7.3±444 b
المركب البروتيني A المفصول من الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	13.3±242 a	12.2±328 a	4.5±283 a
المركب البروتيني B المفصول من الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات الحمص	14.1±249 a	24.1±425 ab	9.4±311 a

*ااالأحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية 0.05.

تشير قيم إلى المعدل ± الخطأ القياسي

المصادر:

1. Dukic N.M. (2003), Antioxidants in health and disease, Atherosclerosis, 15(2): 423-611.
2. Thum T. and Borlak J. (2004), Mechanistic role of cytochrome P450 monooxygenases in oxidized low

density lipoprotein-induced vascular injury, Cir.Res., 94 :312-319.
3. Cooke C.L. and Baker P.N. (2002), The receptors for advanced glycation and products is elevated in women with preclampsia, Atherosclerosis, 62 :721-742.
4. Opligner E.S., Hardman L.L., Oelke E.A., Kaminshi A.R. and Doll J.D. (1990), Chick pea (garbanzo bean) http:// FAO, chick pea. Htm.
٥.مهند جميل، محمود وهاشم، مجيد سامي، (١٩٨٨)، النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي. دار الثورة، بغداد، ص 27.
6. Abdel-Hassan I.A., Abdel-Barry J.A. and Mohammed S. (2000), The hypoglycamic and antihyperglycaemic effect of citrullus colocynthis frluit aqueous extracts in normal and diabetic rabbits. J. Ethnophar., 71, pp. 325-330.
7. Ropyt F.J. and White J.B. (1987), Biochemical techniques, theory and practice. Brookes/cloe publishing company, Monterey, California, pp115-118.
8. Toro G. and Ackermann P.G. (1975), practical clinical chemistry. Little, Brown and Company, Boston, p 354.
9. Schacterle G.R. and Pollak J.K. (1973), A simplified method for the quantitative assay of small amount of protein in biological materials. Anal. Biochem., 51: 654-655.
10. Burtis C.A. and Ashwood E.R. (1999), Tietz Textbook of clinical chemistry, 3rd ed., W.B Saunders Company, London, pp. 840-841.
11. James R.C., Goodman D.R. and Harbison R.D. (1982), Hepatic glutathioneand hpatotoxicity, changes induced by selected marcortics. J. Pharmac. Therap., Vol. 221, pp 708-714.
12. Volken E., Nurperi G. and Ahmet B. (2001), Nacetyl cystine reduces cerebral lipid peroxidation in arat model of in fantile hydrocephalus. J. Neurol. Sci. Issue: pp 1302-1310.
13. Voet D., Voet J. and Pratt C.W., Biochemistry, John Wiley and Sons Inc., New York, USA, p. 46.
١٤.انتصار رحيم عبيد، الكناني (١٩٩٨)، دراسة قابلية الأذى التاكسدي لبيروكسيد الهيدروجين في أحداث آفات التصلب العصيدي تجريبيا في أفراخ الدجاج. أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، موصل، العراق.
15. Edwards C.R. and Bouchier I.A. (1999), Davidson's principles and practice medicine. 18th ed., Churchill Livingstone, London, pp 724-764.
16. Sobenin I.A., Tertov V.V. and Orekhov A.N. (1996), Atherogenic modified LDL in diabetes, 45(suppl 3), pp 535-539.
17. Murray R.K., Granner D.K., Mayer P.A. and Rodwell V.W. (2000), Harper's Biochemistry. 25th ed., Appleton and Lange, USA, pp 155-156.
18. Matti M.C. (2001), Some biochemical effects of neem seed oil in normal and alloxan induced diabetic mice. J. Edu. Sci., 50, pp 55-61.
19. Walia M. and Grover A.Y. (2003), Effect of free radical on coronary artery. Med. Prin. Pract., 12 (1): 1-9.
٢٠.محمد بحري حسن عبد السعدون، (٢٠٠٥)، عزل المستخلصات من بذور نبات الكرفس *Apium graueolens* ودراسة تأثيرها في الفئران المعرضة للكرب التاكسدي . أطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة الموصل، موصل، العراق.
21. Loven D.P. and Oberley L.W. (1985), Free radicals, insulin action and diabetes. In: Oberley L.W., ed., Superoxide dismutase III. Disease state. Boca Raton FL, CRC, pp 151-190.
22. Lomaestro B. and Malone M. (1995), Glutathione in health and disease pharmacothera peutic issuer. Ann. Pharmacother., 24, pp 1263-1273.

Isolation and studing the effect of proteinous and non- proteinous fractions of Pea fruit plant (*Cicer arietinum L.*) exposed rabbits to oxidative stress

M.B. Alsaadon[1] , O.Y. Al-Abbasi[2] and S.A. Al-Bajari[3]

[1] Department of Chemistry, College of Science, University of Mosul, Mosul, Iraq
[2] Department of Chemistry, College of Education, University of Mosul, Mosul, Iraq
[3] Pathological Analytics, Technical Institute, Mosul, Iraq

Abstract :

This study was included prepare a cold aqueous extract of fruit plant . The study also comprised the isolation and study the proteinaceous compounds, One of the techniques used isolation was the gel filtration technique which was isolated two compound A (40935) Dalton and B (5495) Dalton. Extracts were administrated interaperitioneally.

After one week from the treatment the results were indicated that the crude aqueous non proteinaceous extract, proteinaceous precipitate and proteinaceous compound (A) at the doses of (750, 25.98, 1.54) mg/Kg body weight, which were caused a significant decrease ($P < 0.05$) in serum glucose, total cholesterol (TC), triglyceride (TG) low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) levels and malondialdehyde (MDA) content of the liver , kidney and heart tissues , with an associated significant increase ($P < 0.05$) in serum high density lipoprotein-cholestesrol (HDL-C) level and glutathione (GSH) level in liver, kidney and heart tissues in exposed rabbits to oxidative stress . The proteinaceous compound (B) at the dose of (1.48) mg\kg body weight produced a significant increase ($P< 0.05$) in serum glucose level ,while the non-proteinaceous precipatite at the dose of (724) mg\kg body weight which had no changes significant ($P< 0.05$) on glucose level in exposed rabbits to oxidative stress .