

تأثير المركب البروتيني المفصول من درنة نبات البطاطا *Solanum Tubersum.L*

في الفئران المعرضة للكرب التأكسدي التجريبي

نشان إبراهيم عيو

قسم الكيمياء، كلية التربية، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(تاريخ الاستلام: ١١ / ٢ / ٢٠٠٨ ، تاريخ القبول: ٢٩ / ٤ / ٢٠٠٨)

الملخص

تضمنت هذه الدراسة تحضير مستخلص مائي لدرة نبات البطاطا (Potato)، اذ تم عزل ودراسة المركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي من الراسب البروتيني، كما تم تحديد الوزن الجزيئي لهذا المركب وكان (٣٩٠٨) دالتون تقريبا. وهدف البحث الى دراسة تأثير المستخلص المائي الخام، غير البروتيني، الراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول في مستويات الكلوكوز، والكوليستيرول الكلي، والكليسيريدات الثلاثية، وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وكوليستيرول البروتين الدهني واطئ الكثافة في مصل الدم، وكذلك مستويات الكلوتاثاين والمالوندايديهايد في أنسجة الكبد والكلى والقلب في اناث الفئران المعرضة للكرب التجريبي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين. أشارت النتائج بعد أسبوع من المعاملة إلى أن المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني قد أدت إلى انخفاض معنوي في مستوى الكلوكوز، والكوليستيرول الكلي، والكليسيريدات الثلاثية وكوليستيرول البروتين الدهني واطئ الكثافة في مصل الدم ومستوى المالوندايديهايد في أنسجة الكبد والكلى، بينما احدثت المعاملة ارتفاع معنوي في مستوى الكلوتاثاين في أنسجة الكبد والكلى والقلب، وفي مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة بالمركب البروتيني فقط في مصل الدم في اناث الفئران المعرضة للكرب التأكسدي. اخيرا يمكن ان نستنتج ان معظم المستخلصات وخاصة المركب البروتيني تعمل كمواد مضادة للأكسدة وخافضة لمستوى الكلوكوز في الدم .

المقدمة

الكثير من الامراض ومنها داء السكر بدلا من العلاج بالمواد الكيماوية مما لها من اثار جانبية ، فقد تناولت الدراسة تحضير مستخلصات لدرة نبات البطاطا لعلاج الكرب التأكسدي وبضمنه ارتفاع الكلوكوز في الدم .

المواد وطرائق العمل

النبات المستخدم

البطاطا (Solanum Tubersum.L) Potato (٨)

الحيوانات المستخدمة

استخدمت في هذه الدراسة إناث الفئران البيض 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 المغلي الخام

تم وزن (500) غم من درنة نبات البطاطا ، سحقته بواسطة جهاز الثرم Blender ، بعدها مزجت بالماء ونسب (٣:١) وزن/حجم لمدة عشرة دقائق . سحقته جدران الخلايا باستخدام التجميد والتذويب ثم الأمواج فوق الصوتية Ultra sound لمدة (٣٠) دقيقة . بعد ذلك غلي الخليط في وعاء زجاجي لمدة (٣٠) دقيقة وترك ليبرد. ثم رشح المحلول من خلال عدة طبقات من الشاش وفصل المستخلص بجهاز الطرد المركزي المبرد للتخلص من المواد الغير ذائبة و بواسطة جهاز التجفيد (Lyophilizer) قلص الحجم إلى الثلث وبذلك تم الحصول على المستخلص المائي الخام المغلي (9) .

تشمل اصناف الأوكسجين الفعالة Reactive Oxygen Species (ROS) الجذور الحرة Free Radicals الحاوية على عدد فردي من الإلكترونات في مدارها الخارجي مثل جذر السوبر اوكسايد السالب والهيدروكسيل والبيروكسيل واوكسيد النتريك وجذر الالوكيل والجذور غير المحتوية على العدد الفردي من الاليكترونات مثل الالوكسجين المنفرد وبيروكسيد الهيدروجين وبيروكسي نترت(١)، تتولد ROS استجابة لظروف فسلجية عدة، كما ان الخلية يمكن ان تكونها خلال العمليات الحياتية (٢)، حيث تعتبر المايوتوكندريا المصدر الرئيسي داخل الخلية الحية المنتج للجذور الحرة اثناء تجهيز الخلية بالطاقة من خلال سلسلة نقل الاليكترونات (٣). يشير الكرب التأكسدي Oxidative Stress الى زيادة مستوى ROS عن مستواها الطبيعي في الخلية، ومن الظروف التي تؤدي الى زيادة مستواها هو خلل النظام الدفاعي لمضادات الأكسدة (٤). تتحرر الجذور الحرة خلال مرحلة الكرب التأكسدي ولها تأثيرات سلبية كثيرة منها اكسدة الأحماض الدهنية Lipid peroxidation غير المشبعة الموجودة في جدران الخلايا والألبومين وبروتين الخلية بالإضافة الى تلف DNA (٥)، تحدث بيروكسدة الدهن في العديد من الحالات المرضية منها داء السكر والسكتة الدماغية والأورام السرطانية (١). ان فقدان السيطرة على مستوى الكلوكوز المرتفع كما في داء السكر يؤدي وبوجود الجذور الحرة الى فقدان الالبومين خاصيته كمضاد للأكسدة من خلال تسكر البروتين Glycation (٦). يشمل النظام الدفاعي ضد الأكسدة على مضادات اكسدة انزيمية كاسحة للجذور Free radical scavenging مثل سوبر اوكسايد دسميوتيز (SOD) وغير انزيمية كالفيتامينات مثل A, C, E او مضادات اكسدة كاسرة للسلاسل Chain breaking antioxidant مثل فيتامين E (٧). ونظرا للتوجه الحالي الى اعتماد النباتات كمصدر لعلاج

عزل البروتينات وترسيبها

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

فصل وتنقية البروتين

تم تنقية البروتين الخام المستحصل عليه بالخطوة اعلاه باستخدام تقنية الترشيح الهلامي Gel Filtration، من خلال عمود فصل ذو أبعاد (1.8x120) سم ، والحاوي على مادة السيفاديكس (Sephadex G-50) . وبمعدل جريان ٤٨ مل/ساعة .

التقدير الكمي للبروتين

قيست كمية البروتينات في المستخلص المتحصل عليه من كل خطوة باستخدام طريقة الباحث لوري Lowry المحورة (10). استخدم البومين مصل البقر BSA بوصفه محلولاً قياسياً له امتصاصية تساوي ٠,٦٧ عند طول موجي ٢٨٠ نانوميتر أي ان التركيز هو (١٠٠ ملغم/١٠٠ مل) .

تعيين الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول

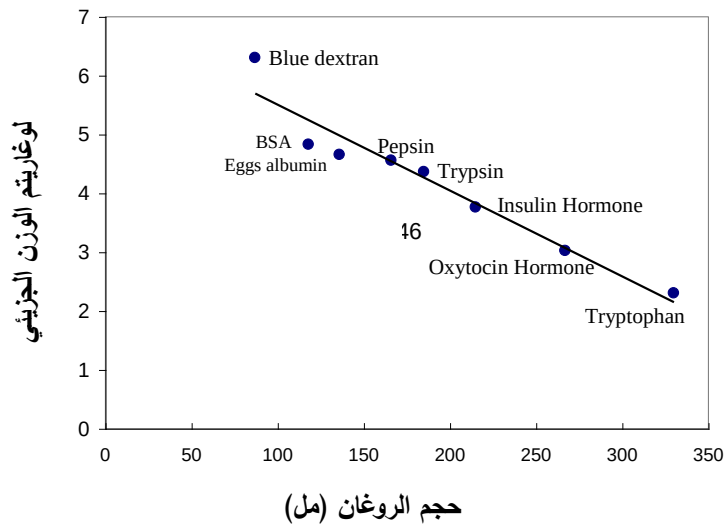
استخدم عمود الفصل ذي الأبعاد (1.8x120) سم. عين الوزن الجزيئي للمركب البروتيني المفصول لدرة نبات البطاطا، اعتمادا على حجم العمود الذي يساوي (315) مل، حيث بلغ ارتفاع السيفاديكس-G (Sephadex G-50) فيه (١١٠) سم والذي يكون جاهزا لإمرار المحاليل القياسية ومحلول البروتين الخام (١١).

الجدول (٢): حجم الروغان للمواد المعلومة الوزن الجزيئي التي مررت على عمود الفصل ذي الابعاد (١,٨x١٢٠) سم والحاوي على

Sephadex G-50 الهلام

المادة	الوزن الجزيئي	حجم الروغان (سم ^٣)
الدكستران الازرق Blue dextran	2000000	٨٧
البومين مصل البقر (B SA) Bovine serum albumin	67000	١١٨
البومين البيض Eggs albumin	45000	١٣٦
بيبسين Pepsin	36000	١٦٦
ترسين Trypsin	23000	١٨٥
هرمون الانسولين Insulin Hormone	5750	٢١٥
هرمون الأوكسيتوسين Oxytocin Hormone	1051	267
التريتوفان Tryptophan	204	٣٣٠

وتم الحصول على المنحني القياسي لتقدير الوزن الجزيئي من رسم العلاقة بين حجم الروغان ولوغاريتم الوزن الجزيئي الشكل (1) والذي من خلاله



الشكل (1) : المنحني القياسي لتقدير الوزن الجزيئي التقريبي للبروتين

قسمت الفئران المستخدمة في التجارب إلى مجاميع تضم كل مجموعة (4)

تحديد الجرعة المؤثرة

فئران ، عوملت كما يأتي :

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

2. المجاميع من (2-7) حقنت في التجويف البريتوني بالجرع (١٠،٢٥،٥٠،٧٥،١٠٠،١٢٥) ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي من

حقن الحيوانات المعرضة للكرب التاكسدي التجريبي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين

استخدمت في هذه الدراسة إناث الفئران البيض والتي تراوحت أوزانها بين (٢٥-٣٠) غم و قسمت إلى (7) مجاميع تضم كل مجموعة (٤) وكما يأتي :

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

ب. مجموعة (٢) عرضت للكرب التاكسدي باعطائها بيروكسيد الهيدروجين (١%) مع ماء الشرب لمدة (١٥) يوم.

ج. المجاميع من (٣-٧) عرضت للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين بنسبة (١%) لمدة (١٥) يوم مع ماء الشرب ، مع حقنها في اليوم السابع ويومياً لمدة اسبوع في التجويف البريتوني بكل من المستخلص المائي الخام ، غير البروتيني (الراشح المتبقي من المستخلص المائي الخام بعد ترسيب البروتين منه)، الراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه بتقنية الترشيح الهلامي العائدة له بجرع مقدارها (0.068, 0.182, 99.8, 100 ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي .

تقدير المتغيرات

قدر مستوى الكلوكون والكوليستيرول الكلي (Total cholesterol(T.C) والكليسيريدات الثلاثية Triglyceride(T.G) وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وواطى الكثافة High density and low density lipoprotine (HDL-C, LDL-C) في مصل الدم ، باستخدام عدة

المستخلص المائي الخام المغلي لدرة نبات البطاطا والمذاب في المحلول الملحي الفسلجي اعلاه، وبعد ساعتين من إجراء عملية الحقن تم سحب الدم من الفئران من جيب محجر العين ، قيس مستوى الكلوكون في مصل الدم ، ثم اختبرت الجرعة الأكثر تأثير في خفض مستوى كلوكون الدم وعدت جرعة مؤثرة.

التحليل Kit نوع (Syrbio,France) وهي طريقة انزيمية . كما قدر مستوى الكلوتاثاينون (GSH) في انسجة الكبد والكلى والقلب بطريقة المان (١٢) . في حين قدر مستوى المالوندايديهايد (MDA) في الانسجة المدروسة بالطريقة المتبعة من قبل الباحثون (١٣) .

التحليل الإحصائي

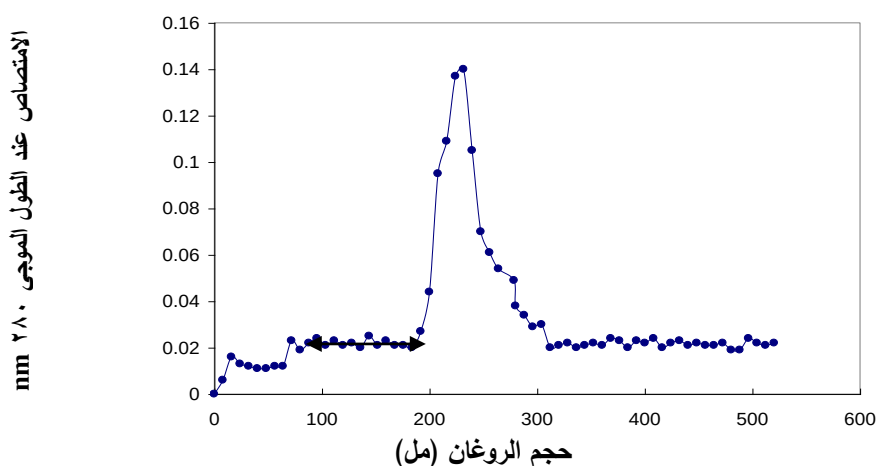
حللت نتائج مستوى Glucose, T.C, T.G, HDL-C, LDL-C, GSH and MDA إحصائياً وذلك باستخدام تحليل التباين الأحادي (One way analysis of variance) ، كما تم تحديد الاختلافات الخاصة بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن (Duncan) (14) . وكان مستوى التميز الإحصائي المقبول 5% (P<0.05) .

النتائج والمناقشة

فصل مادة الراسب البروتيني:

تعد طريقة الترشيح الهلامي احدى الطرائق المتبعة عالمياً لفصل المركبات اعتماداً على الاختلاف في حجم جزيئاتها، فالجزيئات الكبيرة تمر اولاً من خلال عمود الفصل اما الجزيئات الصغيرة فسوف تتمكن من اختراق الهلام لذلك فانها تستغرق مدة زمنية اطول فتظهر أخيراً (١٥).

وأعطى روغان مادة الراسب البروتينية المعزولة من المستخلص المائي الخام المغلي لدرة نبات البطاطا قمة واضحة عند امرار محلولها في عمود الفصل المذكور سابقاً والمبينة في الشكل (1) .



الشكل (1) :المظهر الجانبي لروغان الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام لدرة نبات البطاطا بتقنية الترشيح الهلامي ويشير السهم الى حجم الروغان وهو (٢٣١) مل للمركب البروتيني المفصول ، حجم كل جزء ٧,٨ مل ويمعدل جريان (٨.8 مل/ساعة) .

أيجاد كمية البروتين الكلي في مواد الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام لدرة نبات البطاطا قبل التمرير في عمود الفصل

بطريقة العالم لاوري المحورة ، ومن ثم تم إيجاد كفاءة الفصل في العمود المستخدم بتقنية الترشيح الهلامي ، والجدول (1) يبين النتائج التي تم الحصول عليها.

والحزمة (المركب) البروتينية الناتجة عن تقنية الترشيح الهلامي
بعد فصل المركب (الحزمة) البروتيني من المحلول المركز لمواد الراسب البروتيني التي مررت في عمود الفصل كما ذكر أنفا . قدرت كمية البروتين

الجدول (١): كمية البروتين للمحلول المركز قبل تمريره على عمود الفصل والمركب البروتيني الناتج من الترشيح الهلامي في عمود الفصل ذو الأبعاد (1.8x120) 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 لدرة نبات البطاطا قبل التمرير على عمود الفصل	1.67	2	3.34	100	٨٠,٥0
المركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي من مادة الراسب البروتيني	0.023	١١٧	2.٦٩١	٨٠,٥	

الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول

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

الجدول (2) : الأوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية المفصلة بتقنية الترشيح الهلامي

المركب البروتيني	حجم الروغان	الوزن الجزيئي
المركب البروتيني المفصول من مادة الراسب البروتينية للمستخلص المائي لدرة نبات البطاطا	231	3908

تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام المغلي

نبات البطاطا . وقد تبين من خلال الجدول ان قيمة الجرعة المؤثرة هي (١٠٠) ملغم/كغم من وزن الجسم.

يوضح الجدول (٣) تحديد الجرعة الأكثر تأثيراً في خفض مستوى الكلوكون في إناث الفئران البيض السليمة للمستخلص المائي الخام المغلي لدرة

الجدول (3) : تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام المغلي لدرة نبات البطاطا.

السيطرة	جرع المستخلص الخام المغلي لدرة نبات البطاطا بالملغم/كغم من وزن الجسم					
	١٠	٢٥	٥٠	٧٥	١٠٠	١٢٥
تركيز الكلوكون ملي مول/لتر	5.471	4.079	5.079	4.06	2.824	4.733
نسبة التغيير %	-	١٤,٧٨	٣٦,٤٦	٢٠,٨٨	٣٦,٧٦	٥٦,٠١

تأثير المستخلص المائي الخام المغلي وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه لدرة البطاطا على مستوى الكلوكون والكوليستيرول الكلي والكلستيريدات الثلاثية وكوليستيرول البروتين الدهني عالي واطى الكثافة

اظهر المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه وبجرع (100, 99.8, 0.182, 0.068) ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي في التجويف البريتوني للفئران انخفاضاً معنوياً (p<0.05) في مستوى كلوكون الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة المعرضة للكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين كما مبين في الجدول (٤)، وكان المركب البروتيني A اكثر المركبات تأثيراً في خفض مستوى كلوكون مصل الدم ، يمكن ان يعود السبب في ذلك الى امتلاك المركب البروتيني A تركيب بتسلسل احماض امينية مشابه لتلك الموجودة

في هورمون الأنسولين حيث يرتبط مع مستقبلات الأنسولين مما يؤدي بالتالي الى خفض مستوى الكلوكون في الدم ، اما بالنسبة لبقية المستخلصات فقد يعزى سبب الانخفاض الى قدرتها على تثبيط انزيم كلوكون-٦- فوسفاتيز (١٦) . كما ادى الحقن بنفس المستخلصات المذكورة اعلاه وبالجرع ذاتها الى انخفاض معنوي وينسب متفاوتة في مستوى الكوليستيرول الكلي وكوليستيرول البروتين الدهني واطى الكثافة والكلستيريدات الثلاثية وتتفق هذه النتائج مع الجوكا وعيد السعدون (9,17) وقد يكون السبب بالنسبة الى T.C هنا الى ارتفاع فعالية انزيم ٧-الفا-هيدروكسيلز المسؤول عن تحويل الكوليستيرول الى املاح الصفراء ، والى زيادة انتاج apoB100 من قبل خلايا الكبد (18) الذي يزيد من استقباله كوليستيرول البروتين الدهني واطى الكثافة . اما فيما يخص الكلستيريدات الثلاثية فقد يعزى سبب الانخفاض الى زيادة فعالية انزيم ليبوبروتين لايباز (18) الذي يزيد من استقبال البروتين الدهني واطى الكثافة ، او الى زيادة

تكوين الليسيثين Lecithine الذي يقلل من قابلية انتشار الكليسيريدات الثلاثية (١). أما بالنسبة الى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة فقد اظهر المركب A فقط زيادة معنوية ($p < 0.05$) في مستواه وقد يكون السبب

في قدرة المركب على تحفيز تكوين كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة في الكبد والأمعاء (١٩).

الجدول (٤) تأثير المستخلص الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه لدرة نبات البطاطا على مستوى

الكلوكوز والكوليستيرول الكلي والكليسيريدات الثلاثية وكوليستيرول البروتين الدهني عالي واطئ الكثافة

المعاملات	الكلوكوز (ملي مول/لتر)	الكوليستيرول الكلي (ملي مول/لتر)	الكليسيريدات الثلاثية (ملي مول/لتر)	كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة (ملي مول/لتر)	كوليستيرول البروتين الدهني واطئ الكثافة (ملي مول/لتر)
السيطرة (المحلول الملحي الفسلي)	0.21 ± 8.32 c	0.06 ± 3.093 bc	0.14 ± 1.062 d	0.077 ± 1.217 bc	0.11 ± 1.356 bc
السيطرة المصابة (معرضة للكرب التاكسدي)	0.81 ± 13.77 d	0.10 ± 4.03 d	0.083 ± 0.83 bc	0.015 ± 0.935 ab	0.155 ± 2.734 d
المستخلص المائي الخام لدرة نبات البطاطا	0.12 ± 6.29 b	0.20 ± 1.66 a	0.8 ± 1.00 cd	0.08 ± 0.605 a	0.12 ± 0.732 a
المستخلص غير البروتيني المفصول من المستخلص المائي الخام	0.77 ± 6.63 b	0.20 ± 2.74 b	0.09 ± 0.794 b	0.29 ± 1.259 bc	0.11 ± 1.121 b
الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام	0.34 ± 8.92 c	0.55 ± 2.58 b	0.10 ± 0.569 a	0.144 ± 0.986 ab	0.286 ± 1.608 b
المركب البروتيني المفصول الراسب البروتيني	0.32 ± 4.59 a	0.37 ± 3.40 c	0.12 ± 0.529 a	0.204 ± 1.732 d	0.236 ± 1.594 c

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

تشير القيم إلى المعدل ± الانحراف القياسي .

تأثير المستخلص الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني

والمركب البروتيني المفصول منه على مستوى الكلوتاتايون

من الجدول (٥) تبين بان تعريض الفئران الى الكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين ادى الى انخفاض معنوي ($p < 0.05$) بمستوى الكلوتاتايون في انسجة الكبد والكلية والقلب، تتفق هذه النتائج مع السعدون والجوكا في ذكور الفئران المعرضة للكرب التاكسدي (9,17) والكناني وياسين (19) في انسجة الابهر والقلب والكبد لإثبات الجرذان المعرضة للكرب التاكسدي عند المقارنة مع مجاميع السيطرة السليمة. يمكن ان يعزى السبب هنا إلى انخفاض فعالية انزيم كاما-كلوتاميل- سستين سنثيتيس او عدم توفر المواد الضرورية لبنائه . كما ادى حقن الفئران بالمستخلص

الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه ويجرع (100, 99.8, 0.182, 0.068) ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي في التجويف البريتوني ارتفاعا معنويا ($p < 0.05$) في مستوى الكلوتاتايون في الأنسجة المدروسة يمكن ان يكون السبب في امتلاك المستخلصات وخاصة المركب A آلية مشابهة للأوسولين في تنشيط انزيم كلوكوز -6- فوسفيت ديهيدروجينيز مما يؤدي الى تكوين وفرة من NADPH الضرورية لتحويل GSSG المؤكسد الى GSH المختزل (20)، وربما يعود زيادة مستواه الى زيادة فعالية انزيم كلوتاتايون ريديكتيز GSH-rd الذي يعمل على توفير الكلوتاتايون بشكله المختزل بتركيز عالية (٢).

الجدول (٥) تأثير المستخلص الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه لدرة نبات البطاطا على مستوى

الكلوتاتايون

الكلونيات (نانومول/غم)			المعاملات
قلب	كلية	كبد	
449.99±3882.933 c	146.15±6451.5 b	59.5±10328.1 c	السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي)
67.66±2205.166 a	173.28±3876.5 a	197.44±3910.66 a	السيطرة المصابة (معرضة للكرب التاكسدي)
192.04±4760.166 d	327.36±9780.73 e	791.5±11224.43 d	المستخلص المائي الخام لدرة نبات البطاطا
100.6±2287.366 a	185.94±7736.56 d	30.44±8951.76 b	المستخلص غير البروتيني المفصول من المستخلص المائي الخام
229.59±3236.1 b	903.94±10395.7 d	143.19±12811.1 e	الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام
234.03±3530.1 bc	148.64±6836.866 bc	275.21±15521.03 g	المركب البروتيني المفصول الراسب البروتيني

الأحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية 0.05 .
تشير القيم إلى المعدل ± الانحراف القياسي.

والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه ويجرع (0.068, 100, 99.8, 0.182) ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي في التجويف البريتوني انخفاضا معنويا ($p < 0.05$) في مستواه في نسيج الكبد والكلية وأقل في القلب عدا الراسب البروتيني في الكبد والمستخلص الخام في القلب . وقد يكون السبب في الانخفاض الى قدرة المستخلصات على إخماد فعالية الجذور الحرة حيث تعتبر البطاطا من النباتات التي تمتلك خاصية مضادة للأكسدة كبيرة مقارنة ببعض النباتات (8) في حين المركب البروتيني A أحدث انخفاض معنوي بمستواه في الانسجة المدروسة ، قد يكون السبب بقدرته على تنشيط الأنزيمات المسؤولة عن النظام الدفاعي ضد الجذور الحرة مثل GSH-rd و GSH-px و SOD (١).

تأثير المستخلص الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه على مستوى المالوندايالديهايد

تبين من الجدول (٦) ان تعريض الفئران الى الكرب التاكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين ادى الى ارتفاع في مستوى المالوندايالديهايد معنويا ($p < 0.05$) في انسجة الكبد والكلية والقلب، تتفق هذه النتائج مع ماوجنته الجوكا(9) اذ لاحظت حدوث ارتفاع معنوي في مستوى المالوندايالديهايد عند تعريض الفئران الى الكرب التاكسدي بالمقارنة مع السيطرة السليمة. قد يعزى السبب الى انه بوجود وفرة من الجذور الحرة وعدم السيطرة على مستوى الكوكوز المرتفع يؤدي الى فشل عمل الالبومين كمضاد اكسدة كما في حالة تسكر البروتين glycation (٦)، مما يؤدي الى زيادة عملية بيروكسدة الدهن. ادى حقن الفئران بالمستخلص الخام وغير البروتيني

الجدول (٦) تأثير المستخلص الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه لدرة نبات البطاطا على مستوى المالوندايالديهايد

المالوندايالديهايد (نانومول/غم)			المعاملات
قلب	كلية	كبد	
2.053±134.667 a	4.49±256.83 d	4.93±149.27 c	السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي)
10.49±205.127 c	5.33±308.119 e	18.62±248.717 d	السيطرة المصابة (معرضة للكرب التاكسدي)
25.73±212.818 c	3.60±256.837 d	11.17±141.025 c	المستخلص المائي الخام لدرة نبات البطاطا
2.47±196.215 c	12.18±264.95 d	3.79±66.66 a	المستخلص غير البروتيني المفصول من المستخلص المائي الخام
15.02±190.598 bc	7.40±325.469 c	2.43±91.879 b	الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام
4.94±127.35 a	7.40±118.375 a	9.10±89.249 b	المركب البروتيني المفصول الراسب البروتيني

الأحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية 0.05 .
تشير القيم إلى المعدل ± الانحراف القياسي .

المصادر

11. Robyt F.J. and White J.B. (1987). " Biochemical techniques, theory and practice". Brookes/Cole publishing company , Monterey, California , pp. 115-118.
12. James R.C., Goodman D.R. and Harbison R.D. " Hepatic glutathione and Hepatotoxicity , changes induced by selected marcortics ". J. Pharmacol. Therapy.,1982, 221: 708-714 .
13. Volken E., Nurperi G. and Ahmet B. " N-acetyl cystine reduces cerebral lipid peroxidation in a rat model of infantile hydrocephalus ". J .Neurol . Sci., Issue .2001, 1302-1310 .
14. Steel R.G. and Torrie J.H . " Principles and procedures of statistics biometrical approach". 2nd ed., Mc Graw .Hill Inc ., Singapore , 1984, p. 183.
15. Plummer D.T., AnIntroduction of Practical Biochemistry, 2nd ed ., McGraw-Hill Book Company, UK, 1978, p 61.
16. 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. 2005, 88(8) :1244-1254.
١٧. السعدون، محمد بحري حسن. " عزل المستخلصات من بذور نبات الكرفس *Apium graveolens* ودراسة تأثيرها في الفئران المعرضة للكرب التأكسدي " اطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة الموصل. ٢٠٠٥ .
18. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A. and Rodwell V.W" Harpers' Biochemistry ". 25th ed., Appleton and Lange ,USA., 2000, pp. 260-264 .
١٩. الكنانى، انتصار رحيم، ياسين، اسرار اسماعيل " دور الاجهاد التأكسدي المستحدث تجريبياً ببيروكسيد الهيدروجين على نشوء وتطور افات التصلب العصيدي في اناث الجرذان البالغة . " المجلة العراقية للعلوم البيطرية . ٢٠٠٦، المجلد ٢٠، العدد ١، ص ١٥١-١٣٩ .
20. Lands L.C., Grey V.L. and Smountas A. A. " Effect of supplementation with acysteine donar on muscular performance". J. Appl. Physiol., 1999, 87: 1381 – 138
1. Lee J., Koo N. and Min D.B. Reactive oxygen species, Aging and antioxidative nutraceuticals. Comprehensive reviews in food science and food safety .2004, 3: 21-33 .
2. Morgan J.M., Kim Y. and Liu Z., Lipid rafts and oxidative stress induced cell death. Antioxidant & Redox Sinaling. Vol,9. 2007., No.9, pp.1471-1483.
3. Codenas E., Boveais A., Rangan C.I. and Stoppani A.O. Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase a biaoquinol -cytochrom C reductase from beef heart mitochondria. Arch. Biochem. Biophys. 180:248-257. 1977.
4. Sies H. Oxidative stress: Oxidant and anti oxidant .Exp. Physiol. 1997.88:291-295.
5. Krylov A.S., Ivanova M.V., Shurmaer C. B. and Konovalova G. G., Investigation of anti oxidant and Triglycerid status of rats consuming a diet enriched by complex phytonutrient supplement, Nano Greens¹⁰. 2006.
6. Bauradon E., Loreau N. and Blache D., Glucose and free radicals impair the antioxidant properties of serum albumine. FASEB. J .1999. 13:pp.233-244.
7. Patil S.B., Kodliwadmth M.V. and Kodliwadmth S.M., Study of oxidative stress and enzymatic antioxidants in normal pregnancy. Ind. J. Clin. Biochem. 2007.22(1):pp 135-137.
8. Al- Saikhan M.S., Howard L.R. and Miller JR J.C., Antioxidant activity and total phenolics in defferent genotyps of Potato (*Solanum Tubersum*, L.). J of food Scie. 2003, 60(2), 341-343.
٩. الجوكا، ايمان سعيد شمعون. فصل ودراسة المركبات الفعالة من بذور البازاليا *Pisum sativum* في الفئران المصابة بداء السكر و المعرضة للكرب التأكسدي. رسالة ماجستير ، كلية التربية، جامعة الموصل، (٢٠٠٧) .
10. Schacterle G. R. and Pollack J.K. , A simplified method for the quantitative assay of small amount of protein in biological materials . Anal Biochem., 1973, Vol. 51 :pp 654- 655 .

Effect of isolated proteinous compound of *Solanum Tubersum*.L in exposed oxidative stress Mice

Nashwan Ibraheem Abo AL-Lehebe

Chem. Dept., College of Education, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

This study was concerned with preparation of boiled aqueous extract of Potato tuber plant, and also comprised the isolation and study the proteinous compounds, the proteinous compound was isolated from boiled proteinous precipitate by using gel filtration technique and the molecular weight approximated was (3908) Dalton

The effects of crud aqueous and non proteinous extracts , proteinous precipitate and proteinous compound were studied on serum

glucose, total cholesterol(TC), triglyceride (TG), high and low density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) (LDL-C) levels, also glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels in liver, kidney and heart tissues in female albino mice which was exposed of oxidative stress induced by hydrogen peroxide. Extracts were administrated interaperitoneally.

The results indicated that after one week of treatment these extracts and compounds mentioned above caused significant decrease in serum glucose, TC, TG, LDL-C levels and MDA level in liver and kidney tissues, with an associated significant increase in GSH level in liver kidney and heart tissues, and only compound leads to increase HDL-C level in female mice which were exposed to oxidative stress. Finally, the results suggest that the most of extracts isolated from the tuber plants especially proteinous compound have an antioxidants and decrease blood glucose level.