تأثير المستخلصات المائية والكحولية لثمار الليمون البصرة في بعض المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية لدم ذكور الجرذان البيض

عدنان محمد أحميد الدليمي

مديرية تربية صلاح الدين، وزارة التربية ، تكريت ، العراق

(تاريخ الاستلام: 2013/5/27 ---- تاريخ القبول: 2013/7/16)

الملخص

أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير التجريع الفموي لمدة ثمانية أيام من المستخلصات المائية والكحولية لثمار الليمون بصرة بتراكيز 25 ,50 , 100 ملغم/ غم من وزن الجسم في المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية لدم ذكور الجرذان البيض ، بينت النتائج حصول ارتفاع معنوي ($p\leq 0.05$) في العدد الكلي لكريات الدم البيض ومعدل تركيز خضاب الكرية بزيادة تركيز المستخلص، والزيادة عند تركيز 50 و100 في خضاب الدم والعدد الكلي لكريات الدم الحمر وحجم الخلايا المرصوصة والخلايا وحيدة النواة والعدلات والحمضات و High density lipoprotein cholesterol (HDL-C). وانخفض معنوياً الكلوكوز واليوريا الكولسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية و Low density lipoprotein (LDL-C) cholesterol و(VLDL-C) وفعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي و Alanine amino transferase (ALT), Aspartate amino transferase (AST). ولم يختلف معنوياً معدل حجم الكرية ومعدل خضاب الكرية والخلايا اللمفية والالبومين بزيادة تركيز المستخلص 25, 50 و 100 ملغم/غم من وزن الجسم. وكذلك لم يختلف معنوياً البروتين الكلي والكلوبيولين عند تركيز 25 و 50 وازداد عند تركيز 100 في المستخلص المائي مقارنة مع مجموعة السيطرة. اما المستخلص الكحولي كانت له نفس التاثيرات اعلاه ماعدا حصول زيادة معنوية في الخلايا وحيدة النواة واللمفية والعدلات ولم يختلف معنوياً خضاب الدم والعدد الكلي لكريات الدم الحمر وحجم الخلايا المرصوصة وخلايا الحمضات والبروتين الكلي والكلوبيولين بزيادة تركيز المستخلص مقارنةً مع مجموعة السيطرة والـ DMSO. أستنتج من ذلك أن المستخلصات المائية والكحولية لثمار الليمون بصرة سببت تحسين المتغيرات الدموية والكيموحيوية لدم ذكور الجرذان البيض.

كلمات المفتاح: الليمون بصرة، الممستخلصات المائية والكحولية، المتغيرات الفسلجية ، الكيموحيوية

المقدمة

عرفت أهمية النباتات الطبية منذ ألاف السنين ، فقد ربط الإنسان الأول العلاقة بين النباتات البرية وبين الأمراض التي يصاب بها ، والنباتات الطبيعية بصورة عامة يتقبلها الجسم ومفيدة في علاج بعض الأمراض ، لذا فأنها تحتل عن جدارة مركزاً مهماً في عالم العلاج ، وان كنوز المملكة النباتية لم تكتشف كلها بعد، والعلاج بالنباتات طريقة ينتظرها مستقبل باهر وهذا ما بشرت به الاكتشافات الحديثة، ولكن جمع النباتات الطبية واستعمالها لا يمكن أن يكون عشوائياً ودون أن يتركز على المعارف العلمية المتخصصة بالعلم النبات، الكيميائية والصيدلانية ، أما إذا روعي في استعمال النباتات في التداوي هذا الشرط فانه سيحافظ على مكانته المرموقة،ولقد أثبتت الأبحاث العلمية الحديثة الفاعلية الدوائية لكثير من النباتات التي استعملتها الشعوب المختلفة منذ القدم لعلاج العديد من الأمراض[1]. ومن بين هذه النباتات تم اختيار ثمار الليمون بصرة *Citrus aurantifolia* يعود إلى العائلة السذابية Rutaseae، وذكرت الدراسات بأن ثمار الليمون بصرة تحتوي على المركبات الفعالة التي تشمل Limonin بنسبة (90%) و Citral بنسبة (3.5%) أما النسبه الباقية فهي Flavonone و glycosides, و Eriocitrin و Hesperidins و Ascorbic acid و Citric acid و Malic acid وزيوت طيارة وكذلك Terpinol والتانينات Tannins واكسالات الكالسيوم Callcium oxalate [2] و[3] . وأشار[4] إلى أن ثمار الليمون بصرة يحتوي على Limonene, بنسبة (31.64%) و citronellalبنسبة (25.96%) و b-pinene بنسبة (30.48 %) و sabinene بنسبة (22.75 %) و citronella بنسبة 15.66) (%. وأكد [5] في دراسة إن الليمون بصرة يحتوي قلويدات بنسبة(0.22-1)%، صابونيات بنسبة (0.30-0.98)%، فلافونات بنسبة(0.30-0.89)%، فينولات بنسبة (0.02-0.64)% والتانينات بنسبة (0.23-1.45)%. ونظراً لاحتوائه على هذه المواد الفعالة فقد استعمل في كثيرا من التحضيرات الدوائية ، كمادة مدررة للبول والصفراء، ومضاد للروماتيزم ويزيد من إفرازات المعدة والكبد ويستخدم كمقوي للشعر، وهو منعش ومشهي للغذاء ومعطر أو مطيب للشاي ومضاد للجراثيم [3] و[6]. ومضاد للفطريات [7] وخافض لسكر الكلوكوز [8]. وقد ذكر[9] إن المركبات الفعالة في مستخلص الليمون بصرة التي تشمل (neohesperiden – hesperidin- hesperitin – limonexic acid – isolimonexic acid – limonin) تثبط نمو خلايا سرطان البنكرياس . وأشار[10] إلى إن الزيوت الطيارة الموجودة في مستخلص الليمون بصرة تمنع تكاثر خلايا سرطان القولون. وتوصل في دراسة لـ[11] إلى إن تجريع الزيوت الأساسية لقشرة الليمون بصرة للجرذان بتراكيز 25 و 50 و 100 مايكرولتر /كغم من وزن الجسم، أدى إلى انخفاض الكولسترول والكليسيريدات الثلاثية TG والبروتينات الدهنية الواطئة الكثافة LDL-C . وذكر[12] و [13] انه عند أعطاء مستخلص الـ Hesperidin للجرذان المستحدث فيها داء السكر بوساطة Streptozotocin لمدة

28 يوم أدى إلى انخفاض مستوى كل من سكر الدم و والكلسترول والكليسيريدات الثلاثية TG وكوليستيرول البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة LDL-C وكوليستيرول البروتينات الواطئة الكثافة جداً VLDL-Cوارتفاع مستوى كولسترول البروتينات الدهنية عالية الكثافة HDL-C. لذا هدفت الدراسة لمعرفة مدى تأثير فعالية المستخلصات المائية والكحولية لثمار الليمون بصرة وبتراكيز مختلفة في بعض الصفات الدموية والكيموحيوية لذكور الجرذان المختبرية.

المواد وطرائق العمل

جمع وتحضير العينات: تم الحصول على ثمار الليمون بصرة *Citrus aurantifolia* من الأسواق المحلية ، وكانت جديدة وجافة ، بعدها طحنت باستخدام طاحونة كهربائية مختبريه Electrical blender من نوع. National (اليابان) للحصول منها على مسحوق ناعم .

الكشف عن المركبات الفعالة في مستخلص الثمار:

تم الكشف عن كل من المركبات الفعالة التالية كما ورد في [14]

الراتنجات Resins – الصابونينات Saponins – التانينات (العفصيات) Tannins– الكلايكوسيدات Glycosides – القلويدات Alkaloids– الكومارين Coumarin– الفلافونات Flavonoids– الفينولات Phenols.

تحضير المستخلصات لثمار ليمون البصرة

المستخلص المائي : تم الحصول على المستخلص المائي بإتباع طريقة [15] ، أذ تم وزن 100 غم من مسحوق كل عينة في ميزان حساس Analytical balance ، ووضع في دورق أضيف له 200 مل من الماء المقطر وترك لمدة 24 ساعة في الثلاجة بعدها حرك المزيج ، ورشح بوساطة الشاش الطبي ، ثم أعيدت عملية الغسل باستخدام 100 مل من الماء المقطر وأعيد الترشيح ، ثم أعيدت عملية الغسل والترشيح مرة أخرى ولكن باستخدام 50 مل من الماء المقطر . عرض الراشح للتبخير باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator المجهز من شركة Heidolph ألماني المنشأ Germany، على درجة حرارة 70 م° لحين الحصول على سائل كثيف مركز، وأخيرا وضع المركز في علب بلاستيكية معلومة الوزن في التجميد عند درجة (20–) م° لحين الاستعمال.

المستخلص الكحولي: تم الاستخلاص بالكحول على نفس الطريقة السابقة ماعدا استبدال الماء المقطر بكحول الايثانول بتركيز 95 % وعلى درجة حرارة 40 م° في المبخر الدوار.

الحيوانات المستخدمة في الدراسة: تم الحصول على الحيوانات المختبرية من كلية الطب البيطري/جامعة الموصل وهي ذكور الجرذان Albino Adult male Rats من النوع *Sprague-Dawley* وضعت بصورة انفرادية في أقفاص ذات أبعاد (25.5 ×19 ×21) سم مصنوعة من سبيكة Stainless Steel . قسمت الحيوانات عشوائياً إلى 8 مجاميع تحتوي كل مجموعة على 4 حيوانات. تم أخذ الوزن الابتدائي بعد يوم من تغذيتها على علف معاملات التجربة لكل حيوان انفرادياً التي كانت بمعدل أوزان (200±5) غم ، وكانت مكونات الغذاء كما جاء في [16] للكازين 158.5غم/كغم من الغذاء والكلوكوز 100 غم/كغم من الغذاء والسيليلوز 50 غم/كغم من الغذاء وزيت عباد الشمس 100 غم/كغم من الغذاء وخليط الفيتامينات 5 غم/كغم من الغذاء وخليط الأملاح المعدنية 50 غم/كغم من الغذاء والنشأ 536.5غم/كغم من الغذاء. وكانت درجة الحرارة بين (20– 25) م° ومدة الإضاءة 12 ساعة في اليوم. وجرعت المستخلصات حقن عن طريق الفم باستخدام التغذية الأنبوبية، الماء والغذاء كان حراً ولمدة 8 أيام . وكان تقسيم مجاميع التجربة كالأتي: 1– مجموعة سيطرة . 2– مجموعة جرعت بـ DMSO . 3 – مجموعة المستخلص المائي قسمت إلى ثلاث مجاميع (أ– مجموعة جرعت بتركيز 25 .ب– مجموعة جرعت بتركيز 50 .جـ – مجموعة جرعت بتركيز 100 ملغم /غم من وزن الجسم من المستخلص المائي). 4– مجموعة المستخلص الكحولي قسمت إلى ثلاث مجاميع أيضا كما في المستخلص المائي.

المستخلصات النباتية : تم إذابة المستخلصات المائية بالماء المقطر والمستخلص الكحولي بـ(Dimethyl sulphoxide (DMSO، وقسم كل مستخلص إلى ثلاث تراكيز 25 ,50 و 100 ملغم/غم من وزن الجسم ، وأعطيت المستخلصات بواقع مرتين في اليوم صباحاً ومساءً ولمدة 8 أيام، وكانت حجم الجرعة الواحدة من المستخلص المائي 2 مل ، أما جرعة المستخلص الكحولي فكانت 1 مل .

مكونات الدم: في اليوم الأخير من التجربة تم سحب الدم من محجر العين للحيوانات المعاملة وقسم إلى مجموعتين من أنابيب جمع الدم ،المجموعة الأولى احتوت على مادة مانعة لتخثر الدم (EDTA) Ethylene diamine tetraacetic acid لإجراء دراسة صفات الدم الفسلجية، متمثلة بالعدد الكلي لكريات الدم الحمر Red Blood Corpuscular Count (RBC) ($10^6/mm^3\times$) والعدد الكلي لخلايا الدم البيض Total Leucocyte (WBC)($10^{3/}mm^3$) باستعمال العداد الدموي Hemocytometer وخضاب الدم Hemoglobin (Hb) (ملغم/100مل) وحجم الخلايا المرصوصة Packed Cell Volume (PCV) (%) باستخدام أنابيب شعرية زجاجية مفتوحة الطرفين التي تملأ بالدم إلى الثلثين ومن ثم تسد إحدى نهايتيها بوساطة الصلصال ومن ثم توضع في جهاز الطرد المركزي الدقيق Micro-Hematocrit Centrifuge لمدة 15 دقيقة وبسرعة 3000 دورة في الدقيقة، ومن ثم يقرأ الأنبوب الشعري في مقراء الراسب الدموي Haematocrit reader والذي يمثل النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة، وحساب العدد التفريقي لخلايا الدم البيض Differential Leucocyte Count (DLC) (%) وحساب معدل حجم كرية الدم (مايكرون مكعب)(MCV) Mean Corpuscular Volume ومعدل خضاب الكرية(Pg) Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) ومعدل تركيز خضاب الكرية (ملغم/ديسلتر) Mean Corpuscular Hemoglobin Concetration (MCHC) وكما ورد في [17]. أما المجموعة

الثانية في الانابيب يتم تحضير فيها بلازما الدم فلا تحتوي على مانع التخثر التي تم طردها مركزياً باستخدام جهاز الطرد المركزي Centrifuge على سرعة 3000 دورة لمدة 15 دقيقة للحصول على البلازما الذي تم حفظه على −20 م° لحين دراسة الصفات الكيموحيوية.

المتغيرات الكيموحيوية في بلازما الدم: استخدمت عدد التحاليل الجاهزة (Kits) من شركة Biolabo الفرنسية لتقدير تراكيز كل من المتغيرات التالية: البروتين الكلي Total Protein والألبومين Albuminواليوريا والكلوكوز Glucose والكولسترول الكلي Total Cholesterol والكليسيريدات الثلاثية Triglycerides والبروتينات الدهنية عالية الكثافة High density lipoprotein (HDL-C) (ملغم/ديسلتر) كما في**[18]**، وحسب تركيز كولسترول البروتينات الدهنية واطئة الكثافة Low density lipoprotein LDL-C) فاستخرجت حسب معادلة Fried كما ذكرها[19] كذلك تم احتساب البروتينات الدهنية واطئة الكثافة جدا Very low density lipoprotein VLDL حسب ما جاء في[18] وفق المعادلة الآتية ،

VLDL-C= Triglycerides/5

LDL –C = Total cholesterol - (HDL-C + VLDL-C)

تقدير فعالية الإنزيمات: تم تقدير فعالية الأنزيمات التي شملت كل من أنزيم ناقل أمين الالنين Alanine amino transferase (ALT) وناقل أمين الاسبارتيت Aspartate amino transferase (AST) و فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (AP) باستخدام عدد التحاليل الجاهزة من شركة Biolabo الفرنسية كما في[18] .

التحليل الإحصائي: حللت النتائج احصائياً باستخدام طريقة النموذج الخطي العام (Model General Linear) ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز **[20]** لدراسة تأثير العوامل وفق التصميم العشوائي الكامل Complete Random Design(CRD) مع التداخلات، كما أجري اختبار دنكن **[21]** لتحديد معنوية الفروق ما بين متوسطات العوامل المؤثرة على الصفات المدروسة عند مستوى ($P\leq0.05$) .

النتائج والمناقشة

بينت نتائج الكشف الكيميائي للمجاميع الفعالة لمستخلصات ثمار الليمون بصرة المثبته في الجدول (1) احتوائها على كل من الراتنجات والصابونيات والتانينات والقلويدات والكلايكوسيدات والفينولات والفلافونات والكومارين. تتفق هذه النتائج مع ماذكره كل من[5] و[22] الذين توصلوا إلى أن ثمار الليمون بصرة تحتوي على كل المركبات الفعالة أعلاه.

يبين الجدول (2) إن تأثير التجريع الفموي لمستخلصات ثمار الليمون بصرة المائية والكحولية في مكونات الدم بعد أعطائها لمدة ثمانية أيام في الجرذان، أظهرت النتائج أن وجود المستخلص المائي لثمار الليمون بصرة بتراكيز 25, 50, 100 ملغم/غم من وزن الجسم ، أدى إلى ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في قيم كل من خضاب الدم والعدد الكلي لكريات الدم الحمر وحجم الخلايا المرصوصة في تركيز 50 و 100 ولم يختلف معنوياً عند تركيز 25، في حين لم يختلف معنوياً معدل حجم الكرية ومعدل خضاب الكرية ورافق ذلك زيادة معنوية في معدل تركيز خضاب الكرية بزيادة تركيز المستخلص مقارنة مع مجموعة السيطرة. من جانب أخر تبين من نتائج تجريع المستخلص الكحولي بنفس التراكيز أعلاه حيث لوحظ انه بزيادة تركيز المستخلص لم يختلف معنوياً كل من خضاب الدم والعدد الكلي لكريات الدم الحمر وحجم الخلايا المرصوصة ومعدل حجم الكرية ومعدل خضاب الكرية وازداد معنوياً معدل تركيز خضاب الكرية مقارنة مع مجموعة السيطرة والـ DMSO. تتفق هذه النتائج مع ما ذكره [23]. إن هذه الزيادة في مكونات الدم قد تعود إلى احتواء المستخلص على حامض الاسكوربيك الذي له دور غير مباشر في تكوين الهيموكلوبين في الدم عن طريق زيادة وتشجيع امتصاص الحديد عن طريق الأمعاء وعن طريق تحويل أو اختزال ايونات الحديديك غير الذائبة وغير القابلة للامتصاص إلى ايونات الحديدوز القابلة للامتصاص [24].

وأدى تأثير مستخلصات ثمار الليمون بصرة في العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض إلى زيادة معنوية في العدد الكلي لخلايا الدم البيض في حين لم تختلف معنوياً الخلايا اللمفية بزيادة تركيز المستخلص المائي، وازدادت معنوياً الخلايا وحيدة النواة والعدلات والحمضات عند تركيز 50 و 100، ولم تختلف معنوياً عند تركيز 25 مقارنة مع مجموعة السيطرة. أما المستخلص الكحولي أدى إلى زيادة معنوية في العدد الكلي لخلايا الدم البيض ووحيدة النواة واللمفية والعدلات، ولم تختلف معنوياً الحمضات بزيادة تركيز المستخلص، مقارنة مع مجموعة السيطرة والـ DMSO الجدول (3). إن نتائج الخلايا وحيدة النواة والعدلات واللمفية اتفقت مع ما ذكره [23]. إن زيادة هذه الخلايا ربما يعود إلى وجود الفلافونات المضادة للأكسدة. أو قد يكون دور مضادات الأكسدة في حث نخاع العظم على زيادة أعداد هذه الخلايا. وان لهذه المركبات الفعالة في المستخلصات القدرة على تعزيز الحالة المناعية في جسم الحيوان مما أدى إلى زيادة العدد الكلي لخلايا الدم البيض.

كما أدى تأثير التجريع الفموي لمستخلصات ثمار الليمون بصرة في تراكيز مرتسم الدهون في بلازما ذكور الجرذان لمدة ثمانية أيام إلى انخفاض معنوياً في كل من الكولستيرول والكليسيريدات الثلاثية و LDL-C و VLDL-C بزيادة تركيز المستخلص، ولم يظهر اختلاف معنوي للـ HDL-C عند تركيز 25 وازداد معنوياً عند تركيز 50 و 100 مقارنة مع مجموعة السيطرة في المستخلص المائي. أما في المستخلص الكحولي لم تظهر اختلافات معنوية في قيم كل من الكولستيرول والكليسيريدات الثلاثية و LDL-C و VLDL عند تركيز 25 وانخفضت معنوياً عند تركيز 50 و 100 ورافق ذلك زيادة معنوية للـ HDL-C في تركيز 25 و 50 ولم تختلف معنوياً عند

تركيز 100، مقارنة مع قيم حيوانات مجموعة السيطرة والـ DMSO. الجدول (4). تتفق هذه النتائج مع ما ذكره[12] و[13] الذين أوضحوا إن انخفاض مرتسم دهون في الدم ربما يعود إلى وجود المادة الفعالة الفلافونات ومنها الـ Hesperidin التي يعتقد انه لها دور في انخفاض الدهون وسكر الدم في الجرذان المصابة بداء السكر. أو قد يكون هذا الانخفاض ناتج من احتواء المستخلص على الصابونيات بتكوينه معقدات غير ذائبه مع الكوليسترول في تجويف الأمعاء مما يثبط أعادة امتصاصه، وبذلك يزداد تحول الكوليسترول في الكبد إلى احماض صفراء جديدة مسبباً انخفاض مستواه في المصل.

وفيما يخص تأثير التجريع الفموي لمستخلصات ثمار الليمون بصرة المائية والكحولية في بعض المعايير الكيموحيوية في دم ذكور الجرذان . وتبين انه بزيادة تركيز المستخلص المائي انخفض معنوياً كل من الكلوكوز واليوريا ولم يختلف معنوياً الالبومين إذ كانت قيمتها 3.94, 3.74 و3.99 على التوالي، في حين لم يختلف معنوياً البروتين الكلي والكلوبيولين في تركيز 25 و 50 وازداد معنوياً في تركيز 100 مقارنة مع مجموعة السيطرة. وكان للمستخلص الكحولي انخفاض معنوياً في قيم كل من الكلوكوز واليوريا ولم تختلف معنوياً قيم البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين بزيادة تركيز المستخلص، مقارنة مع مجموعة السيطرة والـ DMSO، الجدول (5). إن انخفاض السكر اتفق مع [8] الذي أشار إلى احتواء المستخلص على الفلافونات ومنها الـ Hesperidin التي لها دور في انخفاض الكلوكوز من خلال تحفيز البنكرياس على إفراز هرمون الأنسولين في الجرذان المستحدث فيها داء السكر. أو قد يكون هذا الانخفاض ناتج عن انخفاض الكلوكونيوجنيزز في الكبد[25]. أو قد يعود إلى وجود مضادات الأكسدة في المستخلصات التي لها القابلية على كسح الجذور الحرة، أو قد يعود إلى وجود القلويدات التي تعمل على تحفيز نشاط البنكرياس وتنشيط هرمون الأنسولين، وان زيادة البروتين الكلي والالبومين اتفقت مع [23]. وان هذه الزيادة ربما نتجت من وجود حامض الاسكوربيك الذي يعتقد إن له دور مهم في عمليات تمثيل الأحماض الامينية [24].

وقد وضح الجدول(6). تأثير التجريع الفموي لمستخلصات الليمون بصرة المائية والكحولية في فعالية الأنزيمات في دم ذكور الجرذان .إذ أشارت النتائج انه بزيادة تركيز المستخلصات المائية والكحولية انخفض معنوياً فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي AP وفعالية أنزيمات AST و ALT في مصل دم الجرذان المعاملة بالمستخلص المائي والكحولي مقارنة مع مجموعة السيطرة والـ DMSO . إن انخفاض الأنزيمات قد يعود إلى احتواء المستخلص على الفلافونات التي بدورها تنشط عمل الكبد والتخلص من السموم والعمليات الايضية [26]. أو ربما يكون دور هذه الفلافونات ومنها مضادات الأكسدة التي تعمل على خفض فعالية أنزيمات الكبد.

الجدول 1 . نوع المركبات الفعالة الموجودة في المستخلصين المائي والكحولي لثمار الليمون بصرة

نوع العينة	نوع المستخلص	الراتنجات	الصابونيات	التانينات	القلويدات	الكلايكوسيدات	الفينولات	الفلافونات	الكومارين
الليمون بصرة	مائي	+	+	+	+	+	+	+	+
	كحولي	+	+	+	+	+	+	+	+

+ تعني وجود المركب في النبات .

الجدول 2. تأثير التجريع الفموي لمستخلصات ثمار الليمون بصرة (ملغم/غم من وزن الجسم) في مكونات دم ذكور الجرذان البيض لمدة 8 أيام

المعايير المقاسة / نوع		المعدل ± الخطأ القياسي *					
المعاملة	التركيز	تركيز خضاب الدم (gm/dl)	العدد الكلي لكريات الدم الحمر (10^6×/mm^3)	حجم الخلايا المرصوصة (%)	معدل حجم الكرية (µm)	معدل خضاب الكرية (Pg)	معدل تركيز خضاب الكرية(g/dl)
سيطرة	صفر	8.45 bc ±0.05	14.00 b ±0.50	30.00 cd ±0.40	21.45 b ±0.77	6.08 ab ±0.22	28.17 c ±0.17
DMSO	2 مل/حيوان	8.10 c ±0.10	13.95 b ±0.05	29.50 d ±0.50	21.15 b ±0.46	5.81 ab ±0.06	27.46 c ±0.86
المستخلص المائي (ملغم/غم من وزن الجسم)	25	9.65 abc ±0.65	14.25 b ±1.25	32.0 abc ±2.00	22.50 ab ±0.57	6.78 ab ±0.14	30.15 b ±0.15
	50	10.60 a ±0.30	15.00 a ±0.04	34.5 ab ±0.50	22.99 ab ±0.34	7.06 ab ±0.20	30.72 b ±0.43
	100	10.75 a ±0.45	15.25 a ±0.25	35.0 a ±1.00	22.94 ab ±0.28	7.04 ab ±0.18	30.70 b ±0.41
المستخلص الكحولي (ملغم/غم من وزن الجسم)	25	9.30 abc ±0.30	13.60 c ±0.10	28.5 d ±0.50	20.96 b ±0.53	6.84 ab ±0.28	32.62 ab ±0.48
	50	9.80 abc ±1.40	14.10 b ±0.40	30.0 cd ±0.50	21.29 b ±0.61	6.98 ab ±1.19	32.67 ab ±4.67
	100	10.15abc ±1.45	14.00 b ±1.00	30.5 cd ±0.50	21.92 ab ±1.92	6.98 ab ±1.18	33.21 a ±4.21

الارقام المتبوعة باحرف مختلفة عموديا تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ($P\leq0.05$)

الجدول 3 . تأثير التجريع الفموي لمستخلصات ثمار الليمون بصرة (ملغم/غم من وزن الجسم) في العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض في دم ذكور الجرذان لمدة 8 أيام

المعايير المقاسة / نوع المعاملة		المعدل ± الخطأ القياسي *				
	التركيز	العدد الكلي لكريات الدم البيض mm^3	وحيدة النواة (%)	اللمفية (%)	العدلات (%)	الحمضات (%)
السيطرة	صفر	3800 c ±0.20	50 e ±0.04	55 bc ±0.05	37 cd ±0.05	2.0 bc ±0.07
DMSO	2 مل/حيوان	3800 c ±0.20	51 e ±0.05	55.5 bc ±0.15	37 cd ±0.05	2.0 bc ±0.05
المستخلص المائي (ملغم/غم من وزن الجسم)	25	4700 b ±2.00	50 e ±0.10	55 bc ±0.50	38 bc ±0.40	1.5 c ±0.05
	50	5400 a ±3.10	60 c ±0.10	55 bc ±0.50	41 ab ±0.11	3 a ±0.10
	100	5400 a ±7.00	70 a ±0.20	57.5 ab ±0.25	42 a ±0.15	3 a ±0.05
المستخلص الكحولي (ملغم/غم من وزن الجسم)	25	4300 b ±3.00	65 b ±0.05	60 a ±0.05	32 e ±0.10	1.5 c ±0.05
	50	4800 b ±4.00	65 b ±0.05	61 a ±0.35	31 e ±0.35	1.5 c ±0.05
	100	4850 b ±4.00	55 d ±0.05	61 a ±0.10	41 ab ±0.25	2.5 bc ±0.10

الارقام المتبوعة باحرف مختلفة عمودياً تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ($P\leq0.05$)

جدول 4 . تأثير التجريع الفموي لمستخلصات ثمار الليمون بصرة (ملغم/غم من وزن الجسم) في تركيز مرتسم الدهون في بلازما ذكور الجرذان البيض لمدة 8 أيام

المعايير المقاسة / نوع المعاملة	التركيز	المعدل ± الخطأ القياسي *				
		تركيز الكولسترول (mg/dl)	تركيز الكليسيريدات الثلاثية (mg/dl)	تركيز HDL-C (mg/dl)	تركيز LDL-C (mg/dl)	تركيز VLDL-C (mg/dl)
سيطرة	صفر	114.7 a ±1.55	130.5 ab ±0.52	49.50 efg ±0.50	39.05 ab ±1.95	26.1 ab ±0.10
DMSO	2 مل/حيوان	114.9 a ±0.65	131.5 a ±0.50	48.25 g ±0.25	40.30 a ±0.50	26.3 a ±0.10
المستخلص المائي (ملغم/غم من وزن الجسم)	25	106 bc ±1.00	115.5 de ±0.50	51.00 def ±1.00	31.90 cd ±1.90	23.1 de ±0.10
	50	93.5 de ±1.50	108.0 f ±1.00	56.00 c ±1.00	15.90 e ±0.30	21.6 f ±0.20
	100	87.5 fg ±1.50	106.0 f ±1.50	59.50 b ±0.50	6.70 f ±0.70	21.3 f ±0.30
المستخلص الكحولي (ملغم/غم من وزن الجسم)	25	111.5 a ±1.50	128.5 ab ±1.50	51.50 d ±1.50	34.30 bc ±2.70	25.7 ab ±0.30
	50	103.5 c ±1.50	116.5 cd ±0.50	51.50 d ±1.50	28.80 cd ±3.00	23.3 cd ±0.10
	100	84.5 g ±3.95	113.5 de ±0.50	48.50 fg ±0.50	13.25 e ±4.35	22.7 de ±0.10

الارقام المتبوعة باحرف مختلفة عمودياً تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ($P\leq0.05$)

الجدول 5 . تأثير التجريع الفموي لمستخلصات ثمار الليمون بصرة (ملغم/غم من وزن الجسم) في بعض المعايير الكيموحيوية في دم ذكور الجرذان البيض لمدة 8 أيام

المعايير المقاسة / نوع المعاملة	التركيز	المعدل ± الخطأ القياسي *				
		تركيز الكلوكوز (mg/dl)	تركيز البروتين الكلي (g/dl)	تركيز الألبومين (g/dl)	تركيز الكلوبيولين (g/dl)	تركيز اليوريا (mg/dl)
سيطرة	صفر	98.00 a ±1.00	7.74 bc ±0.14	3.88 ab ±0.25	3.86 bcd ±0.16	50.03 a ±0.52
DMSO	2 مل/حيوان	97.25 a ±0.75	7.49 c ±0.39	3.75 ab ±0.05	3.74 bcd ±0.34	49.82 a ±0.71
المستخلص المائي (ملغم/غم من وزن الجسم)	25	96.65 a ±0.45	8.28 abc ±0.88	3.74 ab ±0.10	4.54 abc ±0.88	40.91 c ±1.20
	50	88.00 b ±2.50	8.30 abc ±0.11	3.94 ab ±0.20	4.36 abc ±0.09	39.04 c ±4.72
	100	77.00 cd ±5.20	9.30 a ±0.64	3.99 ab ±0.13	5.30 a ±0.51	39.10 c ±4.81
المستخلص الكحولي (ملغم/غم من وزن الجسم)	25	88.10 b ±5.60	7.96 abc ±0.15	4.40 ab ±0.23	3.56 cd ±0.09	45.00 b ±3.75
	50	82.60 bc ±1.10	7.68 c ±0.40	4.63 a ±0.22	3.05 d ±0.62	43.67 b ±2.10
	100	77.45 cd ±0.65	8.81abc ±0.95	4.64 a ±0.63	4.18abcd ±0.32	38.55 d ±2.96

الارقام المتبوعة باحرف مختلفة تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ($P\leq0.05$)

الجدول 6. تأثير التجريع الفموي لمستخلصات ثمار الليمون بصرة (ملغم/غم من وزن الجسم) في فعالية الإنزيمات في بلازما دم ذكور الجرذان البيض لمدة 8 أيام.

المعايير المقاسة / نوع المعاملة	التركيز	المعدل ± الخطأ القياسي *		
		فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي (IU/L)	فعالية انزيم AST (IU/L)	فعالية انزيم ALT (IU/L)
سيطرة	صفر	19.46 a ±1.35	39.80 ab ±0.30	35.80 a ±0.30
DMSO	2 مل/حيوان	18.31 a ±0.20	39.60 ab ±1.90	34.80 a ±0.70
المستخلص المائي (ملغم/غم من وزن الجسم)	25	14.93 c ±0.53	19.35 d ±1.85	29.35 c ±6.55
	50	14.18 c ±0.67	18.05 d ±0.45	26.55 d ±1.85
	100	12.38 d ±2.16	16.90 d ±1.30	16.15 e ±0.65
المستخلص الكحولي (ملغم/غم من وزن الجسم)	25	17.15 b ±3.00	25.35 cd ±7.75	31.60 b ±0.40
	50	17.13 b 0.15	32.50 c 0.80	31.50 b ±1.50
	100	14.94 c ±1.66	32.90 c ±2.30	31.65 b ±0.65

الارقام المتبوعة باحرف مختلفة تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ($P \leq 0.05$)

المصادر

1 – قبيسي، حسان . (2007) معجم الأعشاب والنباتات الطبية. لبنان ، دار الكتب العلمية – بيروت : الطبعة السابعة (4 الوان): ص7 .

2- Chakracarvarty, H. L. (1976). Plant wealth of Iraq (A dictionary of economic plant)
. Vol.1 Botany Directorate Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Iraq.

3- Ibrahim, M. & Homa, Z. (2004). In vitro antimicrobial and cytotoxicactivity of *Citrus aurantifolia* and *Dioscorea alata*. Pharmacy, Bang.

4- Chanthaphon,. S.; Chanthachum, S. and Hongpattarakere, T. (2008**).** Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* spp. against food-related microorganisms. Songklanakarin J. Sci. Technol. 30 :pp 125-131.

5- Okwu,D.E.;Awurum,A.N. and Okoronkwo, J.I. (2007).Phytochemical composition and in vitro antifugal activity screening of extract from citrus plant against *Fusarium oxysporium* of okra plant(*Hibiscus esculentus*). African Crop sci.Egy. 8: 1755-1758.

6- Johann, S. Oliveira, V. Pizzolatti, M G. Schripsema, J. Braz-Filho, R. Branco, A. Smania, A. (2007). Antimicrobial activity of wax and hexan extract from *Citrus* spp. Peels. Men inst Oswaldo cruz, Rio de janeiro, vol 102(6): 681- 685.

7- Jazet Dongmo, P. M. Tatsadjieu, L. N. Tchinda Sonwa, E. Kuate, J. Amvam Zollo, P. H. Menut, C. (2009). Essential oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal activity against phaeoramularia angolensis. African Journal of Agricultural research vol. 4(4): 354- 358.

8- Ibrahim, S, S. (2008). Protective effect of hespridin a citrus bioflavonoid on diabetes- induced brain damage in rats. Journal of Applied Sciences research, 4(1): 84- 95.

9- Patil, J. R.; Murthy, K .N .C.; Jayaprakasha, G .K.; Chett, M. B.and Patil, B.S. (2009). Bioactive compounds from Mexican Lime (*Citrus aurantifolia*) juice induce apoptosis in human pancreatic cells, J. Agric. Food Chem., 57 (22), pp 10933- 10942.

10- Patil, J. R.; Jayaprakasha, G .K.; Murthy, K. N. C.; Tichy, S. E.; Chetti, M. B. and Patil,B. S. (2009). Apoptosis- mediated proliferation inhibition of human colon cancer cells by volatile principles of *Citrus aurantifolia*, J. Food Chemistry., 114. pp 1351 – 1358.

11- Yaghmaie, P.; Parivar, K. and Haftsavar, M. (2011). Effect of *Citrus aurantifolia* peel essential on serum cholesterol levels in wistar rats, Journal of paramedical Sciences .V 2(1): 2008- 4978.

12- Kakadiya, J.; Mulani, H. and Shah, N. (2010). Protective effect of hesperidin on cardiovascular complication in experimentally induced myocardial infarction in diabetes in rats, Journaln of Basic and Clinical pharmacy. V1(2).

13- Akiyama, S.; Katsumata, S.; Suzuki, K.; Ishimi, Y.; Wu, Jian. and Uehara, M. (2010). Dietary hesperidin exerts hypoglycemic and hypolipidemic

21- Duncan, D. B. (1955). Multiple range and F; test. Biomertic 11: 42 .
22- Okwu, D. E. (2008). Citrus fruits : a rich source of phytochemicals and their roles in human health. Int. J. Chem. Sci, 6(2): 451-471.
23- Chunlarathanaphorn, S. Lertprasertsuke, N. Srisawat, U. Thuppia, A. Ngamjariyawat, A. Suwanlikid, N. Jaijoy, K. (2007). Acute and subchronic toxicity study of the water extract from root of *Citrus aurantifolia* (christm. Et paz) Swingle in rats. Songklanakarin J. Sci. Technol, 29(1): 125-139.
24 –الزهيري، عبدا لله محمد ذنون . (2000). تغذية الإنسان، دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل.
25- Jung, U J. Lee, M K. Jeong, K S. and Choi, M S. (2004). The hypoglycemic effect of hespridin and naringin are party mediated by hepatic glucoseregulating enzymes in C57BL/Ks-db/db mice . J. Nutr. Oct, 134(10): 2499- 503.
26- Manthey, J A. Guthrie, N. Grohmann, K. (2001). Biological properties of *citrus* flavonoids pertaining to cancer and inflammation . current medicinal chemistry, v8(2): 135-153.
effects in streptozotocin- induced marginal type 1 diabetic rats, J. Clin Biochem Nutr . 46 (1): 87- 92.
14- Shihata, I . M . (1951) . Apharmacological study of Anagallis arvensis . M. D. Vet. thesis , Cairo Univ .
15- Harborne, J. B. (1984). Phytochemical Methods , A guide to modern techniques of plant analysis . 2nd. ed. Chapman and Hail Ltd. , London .
16-NRC, National Research Council (1995) Nutrient Requirements of Laboratory Animals, 4th ed. National Academy Press, Washington, DC.
17- Coles, E . H. (1986) Veterinary clinical pathology 4th ed , WB saunders Company Washington , USA.
18- Tietz, N. W. (1999). Text book of clinical chemistry , 3rd Ed . C. A. Burtis, E. R. Ashwood. W .B. Saunders . 826-835.
19- Faas, F. H.; Earlewine, A.; Smith, G. and Simmons, D. L.(2002). How should low-density lipoprotein cholesterol concentration be determined. J . Fam . Pract. 51:973-975.
20- SAS Version, Statistical Analysis system. (2001). SAS Institute Inc, Cary, NC. 27512-8000, U . S . A.

Effect of aquatic and alcohol extracts *Citrus aurantifolia* fruit on some Physiological and Biochemical parameters in blood of males albino rats

Adnan mohammed Ahmeed Al-Dolemy
The directorate general of education in Salah Al-deen , Ministry of Education , Tikrit , Iraq
(Received: 27 / 5 / 2013 ---- Accepted: 16 / 7 / 2013)

Abstract
The study carried out to investigate the effect of orally providing for eight days from each *Citrus aurantifolia* fruit aquatic and alcoholic extracts at 25, 50 and 100mg/g concentration of animal body weight on some physiological and biochemical parameters in male rats. The results showed asignificant increase ($p \leq 0.05$) in Total Leucocyte (WBC) , Mean Corpuscular Hemoglobin Concetration (MCHC), with increasing concentration of extract , and increasing in Hemoglobin (Hb), Red Blood Corpuscular Count (RBC), Packed Cell Volume (PCV), Monocyte, Neutrophil, Eosinophil Count, HDL-C, at 50 and 100 mg/g concentration. Also the a significantly decreased in cholesterol, triglycerides, LDL-C, VLDL-C, Glucose, Urea, and activity of ALT, AST and AP. Whereas it did not show significant in the Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH), Lymphocyte, and Albumin, with the increased concentration of extract. Also it did not shows significant in total protein and globulin at 25, 50 concentration, but increased at concentration 100, in aquatic extract , When compared with the same values in control group. The alcoholic extract showed same values of aquatic extract except asignificant increasing obtained in Monocyte, Neutrophil, Lymphocyte. It did not show significant in Hb, RBC, PCV, Eosinophil, total protein and globulin, with increasing concentration of extract. When compared with aprovided value of control group Dimethyl Sulfoxide (DMSO) alone. The study conclution is the *Citrus aurantifolia* fruit aqueous and alcoholic extracts improved the blood and biochemical changes of albino male rats.

Key words: *Citrus aurantifolia* , aquatic and alcoholic extracts, physiological biochemical, parameters.