IRAQI Academic Scientific Journals
Samarra Journal of Pure and Applied Science
SJPAS
مجلة سامراء للعلوم البحتة والتطبيقية
www.sjpas.com
p ISSN: 2663-7405
e ISSN: 2789-6838

تأثير دقائق الزنك النانوية والمستخلص المائي لمسحوق قشور الرمان على بعض المعايير الحيوية لجرذان المصابة بفايروس روتا

محمد شاكر مرموص *، أمين سلمان بدوي، شيماء عبد محمد
قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة تكريت

https://doi.org/10.54153/sjpas.2021.v3i4.294
البحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الاول

معلومات البحث:

تأريخ الاستلام: 2021/08/02
تأريخ القبــول: 2021/09/13

الكلمات المفتاحية:

الزنك النانوي، قشور الرمان، فايروس الروتا، انزيمات الكبد، الدهون

معلومات المؤلف

الايميل:mhm.ne1985@gmail.com
الموبايل:

الخلاصة:

دُرس تأثير استخدام الدقائق النانوية والمستخلص المائي لقشور الرمان في معالجة فايروس الروتا المُحدث في الجرذان المختبرية. حيث اجريت التجربة في البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري للمدة من 18 شباط 2021 ولغاية 20 نيسان 2021 وذلك باستعمال 28 جرذ ذكر تراوحت اعمارها بين شهرين وثلاث أشهر، وقسمت حيوانات التجربة الى ثلاث مجاميع هي مجموعة السيطرة والتي لم تعامل باي مادة علاجية. فيما عوملت المجموعة الثانية بمزيج مائي حاوي على دقائق الزنك النانوية ZnO nanoparticles واما المجموعة الثالثة فقد عوملت بالمستخلص المائي لقشور الرمان. قِيس تركيز الدهون البروتينية واطئة الكثافة للكولستيرول LDL-C وتركيز الدهون البروتينية عالي الكثافة للكولستيرول HDL-C والدهون الثلاثية والكوليسترول وانزيمات الكبد AST و ALT والصورة الدمية. اظهرت الدراسة عدم وجود فرقاً معنوياً في مستوى الدهون البروتينية واطئة الكثافة للكولستيرول LDL-C بين مجاميع الثلاثة، في حين لوحظ ان مستوى الدهون البروتينية عالي الكثافة للكولستيرول HDL-C قد سجل انخفاضاً معنوياً في كل المجاميع المعاملة مقارنةً مع مجموعة السيطرة، وكذلك لوحظ حصول انخفاض معنوي في الدهون الثلاثية مقارنةً مع مجموعة السيطرة. اما مستوى الكولستيرول فقد لوحظ ان مجموعة السيطرة سجلت اعلى قيمة معنوية عند مقارنتها مع بقية المجاميع في حين سجلت المجموعة المعاملة بدقائق الزنك النانوية ادنى قيمة معنوية عند المقارنة مع المجاميع الاخرى. اما ما يخص انزيمات الكبد (AST و ALT) فنلاحظ انها سجلت ارتفاعاً معنوياً في المجموعة المعاملة بالدقائق النانوية للزنك عند مقارنتها مع المجاميع الاخرى. واظهرت النتائج لمستوى معايير الصورة الدمية انخفاضاً معنوياً للمجموعة المعاملة بدقائق الزنك النانوية عند مقارنتها مع مجاميع الدراسة الاخرى ما عدا كريات الدم البيض سجلت اعلى قيمة معنوية في المجموعة المعاملة بالزنك النانوي.

المقدمة

يعد الإسهال من الامراض الخطيرة والواسعة الانتشار في مختلف انحاء العالم وخاصة بين الاطفال ولاسيما في الدول النامية، ويعد أحد المشاكل الرئيسة للصحة العامة، وهو أحد اهم المشاكل التي يعاني منها الاطفال حديثي الولادة وقد عرفت الاهمية الاقتصادية لهذا المرض [1]. ان حوالي 40% من الحالات مرض الاسهال الحاد في الخمس السنوات الاولى من عمر الطفل سببها فايروس الروتا (Rotaviruses) في حين 30% التي تسببها الفايروسات الاخرى خاصة (Adenoviruses) و (Noroviruses) وحوالي 30% من الاطفال المصابين يكون السبب بكتيري [2]. ينتمي الفايروس العجلي الى عائلة Reoviridae والمقطع

(ريو) مشتق من الاحرف الاولى لـ (Respiratory enteric orphan) [3]، إذ تم التعرف على فايروسات الروتا لأول مرة في البشر في عام 1973 من قبل بيشوب وزملائه في الغشاء المخاطي الاثني عشر للأطفال المصابين بالتهاب المعدة والأمعاء تم ربط جزيئات الفايروس هذه التي حددها Bishop بأوصاف سابقة للفايروسات التي تم تحديدها على أنها تسبب الإسهال الشديد في الحيوانات [4].

تظهر الدقائق النانوية فعالية جيدة كمضادات ميكروبية لما تمتلكه من مساحة سطحية كبيرة إلى نسبة حجمها وخصائصها الكيميائية والفيزيائية المميزة، نشرت العديد من الابحاث حول فعالية الاجسام النانوية , TiO_2, CuO, MgO, ZnO وغيرها كمضادات ميكروبية ، تمت التركيز على الزنك النانوي والنحاس النانوي لانخفاض مستوي السمي والألفة العالية مع الخلايا الحية [5]. وان الية عمل الدقائق النانوية يمكن اجمالها بالآتي:

(1) الارتباط مباشرة بجدار الخلية البكيتيرية مما يعمل على احداث خلل فيه [6].

(2) انتاج أيونات مضادة للبكترية مثل الزنك الثنائي الشحنة [6].

(3) تكوين اصناف الأوكسجين التفاعلية (ROS) [7].

ان آلية السمية للدقائق النانوية تختلف في الامكان المختلفة في الخلية الحية بسبب الخصائص الفيزيائية والكيميائية للجسيمات النانوية [8]. حيث أن فعالية الدقائق النانوية المضاد للبكترية إذ يمكن أن تقلل من قوة الإصابة والتهاب في الخلايا المصابة وتحسين بنية تلك الخلية [9]. استعملت جسيمات الزنك النانوية لمنع نمو بكتريا E. Coli من خلال تدمير غشاء الخلية وزيادة نفاذية الغشاء [10]. تشير بعض البحوث المنشورة الى أن انتاج H_2O_2 بفعل الاجسام النانوية واختراقه الغلاف الحيوي للبكتيريا وعدم انتظام عمل الغشاء بعد ملامسته الدقائق النانوية إذ من المحتمل أن هاتين الأليتين مرتبطتان بتثبيط البكتريا [11].

وكذلك دُرس تأثير الدقائق النانوية على الحيوانات المصابة بفايروس الروتا حيث ذكر العالم Zhong وجماعته ان الدقائق النانوية تزيد بشكل كبير من معدل البقاء على قيد الحياة لفئران المصابة بفايروس الروتا، حيث تعمل الدقائق النانوية على تقليل الحمل الفايروسي بعد العلاج بدقائق الفضة النانوية [12]. وكذلك وجد ان معاملة الفئران المصابة بفايروس الروتا بدقائق الفريتين النانوية ferritin nanoparticles عمل على زيادة الاستجابة المناعية لدى الحيوانات المصابة وعمل على رفع كلاً من الـ IgG وIgA في الحيوانات المصابة وهذا يعزز دور الدقائق النانوية في تعزز الاستجابة المناعية لدى الحيوانات المصابة [13]. وكذلك اشار الباحث Fu وجماعته ان استخدام دقائق الفضة النانوية (AgNPs) في علاج رتق القناة الصفراوية Biliary atresia الناجم عن فايروس الروتا يودي الى انخفاض وتثبيط معدل الفايروسات المسببة للإسهال والالتهابات المعوية علاوة على زيادة الاجسام المناعية [14]. ووجد ان استخدام المستخلصات المائية والكحولية في علاج الفئران المصابة بفايروس الروتا ادى الى تناقص كبير في معدل الوفيات، ومعدل الفايروس، ومدة الإسهال وشدته، وكذلك تم تخفيف الآفة في الأمعاء الدقيقة في الفئران المصابة بالعدوى بفايروس الروتا، مقارنة بتلك المصابة بالفئران بدون علاج [15، 16]. ان استخدام المستخلص الكحولي لقشور الرمان له تاثير على قدرة على تقليل الفعالية البكتيرية والفايروسية زيادة على زيادة مضادات الاكسدة وكذلك وجد ان استخدام المستخلص المائي والكحولي لقشور الرمان يؤدي الى تقليل الاصابة بفايروس الروتا في الظروف المختبرية [17]. وبناءً على ما ذُكر في اعلاه فإنَّ الهدف من البحث هو دراسة تأثير استخدام المستخلص المائي لقشور الرمان في علاج الاسهال الناجم عن الإصابة بفايروس الروتا في الجرذان، فضلا عن دراسة تأثير استخدام جسيمات النانو ZnO في علاج الاسهال الناجم عن الإصابة بفايروس الروتا في الجرذان. وتأثيرهما على عدد من المعايير الحيوية في مصل الدم.

المواد وطرائق العمل

المواد المستخدمة للمعالجة

تحضير المستخلص المائي لقشور الرمان

تم الحصول على الرمان من السوق المحلية في مدينة تكريت وبعد التأكد منها، تم فصل القشور عن باقي المحتوى، ثم غسلت القشور غسلاً جيدًا باستخدام الماء المقطر. تم تجفيف القشور جيداً ثم طحنت القشور المجففة لتحويلها مسحوق متجانس باستخدام خلاط منزلي. استخدم ما يقرب من 200 غرام من مسحوق قشور الرمان للاستخلاص بالماء المقطر باستخدام جهاز سكسوليت soxhlet وتم الحصول على مستخلص مائي لقشور الرمان بلون جوزي محمر فاتح [17]. تم تركيز المستخلص تحت الضغط المنخفض باستخدام المبخر الدوار للحصول على الكتلة اللزجة، والتي تم تجفيفها للحصول على المستخلص بشكل صلب (تم اثبات ان المستخلص الجاف كان ضمن حدود الدقائق النانوية من خلال فحص المجهر الماسح الالكتروني SEM وحيود الاشعة السينية للمسحوق XRD بالإضافة الى قياس طيف الاشعة تحت الحمراء له (IR)، وتم تخزين المسحوق لحين استخدامها مرة أخرى في التجربة.

دقائق الزنك النانوية ZnO nanoparticles

تم الحصول على دقائق الزنك النانوية بشكل جاهز والمجهز من قبل شركة سكما الدرج (ميرك Merck حالياً) الالمانية، وبتركيز 97% وبمعدل حجم نانوي يبلغ 50 نانومتر. وتم اثبات الحجم من خلال اجراء التحاليل المطلوبة (فحص المجهر الماسح الالكتروني SEM وحيود الاشعة السينية للمسحوق XRD) بالإضافة الى قياس طيف الاشعة تحت الحمراء له IR.

تصميم التجربة المختبرية

استعمل في التجربة (28) ذكر جرذ بأعمار تتراوح بين شهرين الى ثلاث أشهر والتي تم تجهيزها من قبل البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري، وزعت الحيوانات المختبرية بشكل عشوائي في الاقفاص المخصصة للتجارب وقد تركت الحيوانات لمدة ثلاث ايام لكي تتأقلم على الاقفاص. وقد حقنت جميع الحيوانات بفايروس الروتا وتم التأكد من اصابتها به من خلال الفحص المختبري وتم توفير نفس الظروف للجميع الحيوانات المختبرية، وبعد تأكيد الاصابة تم تقسيم الحيوانات بشكل عشوائي الى ثلاث مجاميع وكما يأتي:

[1] مجموعة السيطرة: وضمت سبعة جرذان مصابة بفايروس الروتا والتي لم تعامل باي مادة علاجية.

[2] المجموعة الثانية: وضمت اربعة عشر جرذان مصابة بفايروس الروتا والتي عوملت بمزيج مائي حاوي على دقائق الزنك النانوية ZnO nanoparticles وتمت المعالجة بواقع مرة واحدة لكل ثلاثة ايام ولمدة اسبوعين (تم الاعتماد على الجرعة 50 مايكروغرام \ مل، حسب ما ذكر من قبل العالمين Yadavalli و Shukla [16]

[3] المجموعة الثالثة: وضمت سبعة جرذان مصابة بفايروس الروتا والتي عوملت بالمستخلص المائي لقشور الرمان وتمت المعالجة بواقع مرة واحدة لكل ثلاثة ايام ولمدة اسبوعين (تم الاعتماد على الجرعة 5 ملغم \ مل، حسب ما ذكره [17].

جمع العينات والفحوصات المختبرية

بعد انتهاء المدة المعاملة التي استمرت لمدة اسبوعين وتم جمع عينات الدم من الحيوانات المختبرية باستخدام محقنة طبية سعة (١٠مل) إذ سحب الدم من منطقة الذيل لكل جرذ. ثم بعدها تم الحصول على المصل وذلك بنبذ نماذج الدم باستخدام جهاز الطرد المركزي وبسرعة مقدارها ٣٠٠٠ دورة بالدقيقة ولمدة ١٥ دقيقة .ثم اخذ المصل وحفظ لحين الاستعمال في اجراء قياس تركيز الدهون البروتينية واطئة الكثافة LDL وتركيز الدهون البروتينية عالي الكثافة HDL والدهون الثلاثية والكوليسترول وانزيمات الكبد AST و ALT والصورة الدمية. فلحساب معدل كريات الدم الحمر تم الاعتماد على ما ذكره [18]، في حين ان العدد الكلي لخلايا الدم البيض حسب بالطريقة التي أشار إليها [19] واما تركيز خضاب الدم فقد حسب ما ذكره [20]. في حين استخدمت الطريقة اللونية لتقدير كل من أنزيم AST وإنزيم ALT وحسب طريقة القياس المرفقة لكل عدة قياس جاهزة.

التحليل الاحصائي

تم تحليل البيانات احصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز وباستخدام نظام التصميم العشوائي الكامل، واختيرت المتوسطات حسب اختبار دنكن، وتم تحديد معنوية الفروق للصفات المدروسة عند المستوى (0.05) [21].

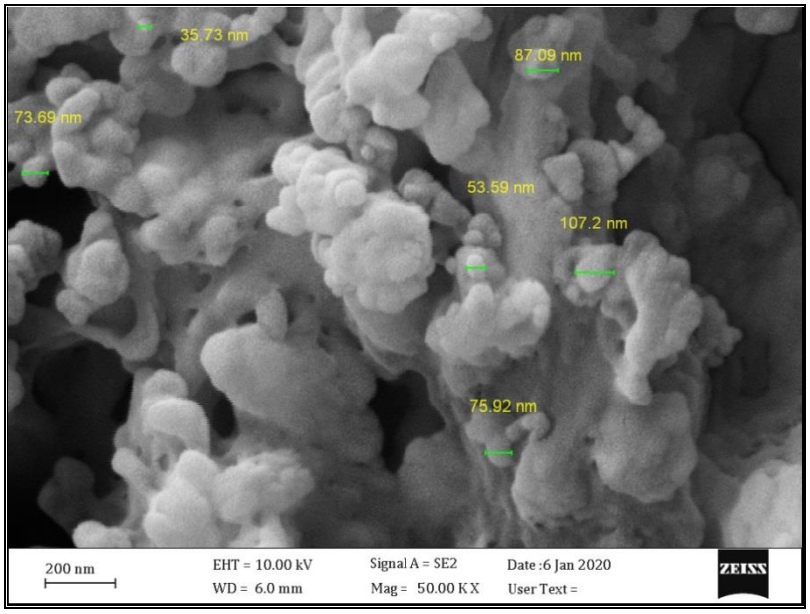
النتائج والمناقشة

دراسة الخصائص النانوية للمستخلصات النباتية ودقائق الزنك النانوية

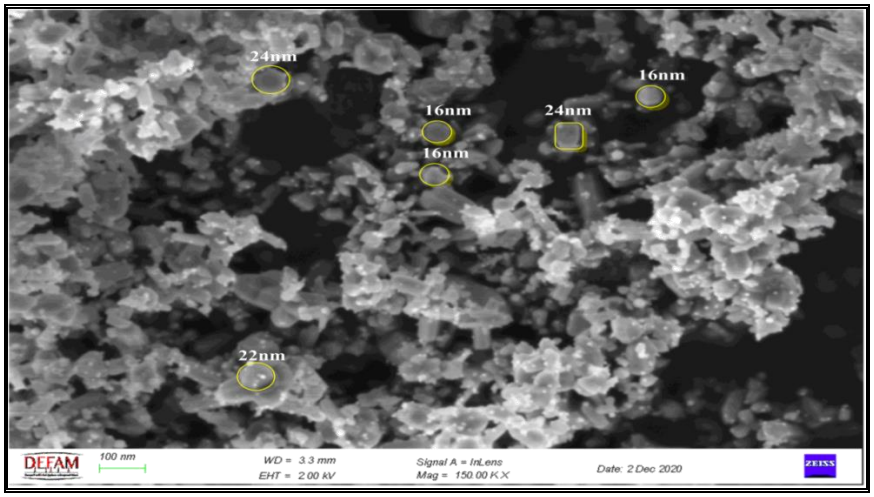
تم الحصول على دقائق الزنك النانوية (اوكسيد الزنك النانوي) بشكل مسحوق جاهز وتم اثبات الحجم من خلال اجراء التحاليل المطلوبة. اما المستخلص المائي لقشور الرمان فقد حضر حسب الطريقة المذكورة في الفقرة 2-1-1 واثبت ان المستخلص الجاف كان ضمن حدود الدقائق النانوية نانوي القياسات المختبرية المتاحة.

فحص المستخلص المائي لقشور الرمان ودقائق الزنك النانوية

تم فحص السطح الخارجي والظاهري للمستخلص المائي لقشور الرمان ودقائق الزنك النانوية المستخدمة في الدراسة بوساطة المجهر الإلكتروني الماسح SEM بعد تجفيف المستخلص المدروس. اظهرت نتائج الفحص المخبري لمستخلص قشور الرمان (**الشكل1**) بشكل كرات نانوية متجمعة ذات سمك نانوي يمتد بين35.73 – 107.2 نانوميتر مع وجود شرائح نانوية اخرى مختلفة الحجم، اما لـ ZnO (**الشكل 2**) فقد ظهرت البنية النانوية بشكل كرات نانوية مدمجة ومكعبات نانوية بمعدل قطر يصل الى 50 نانومتر.

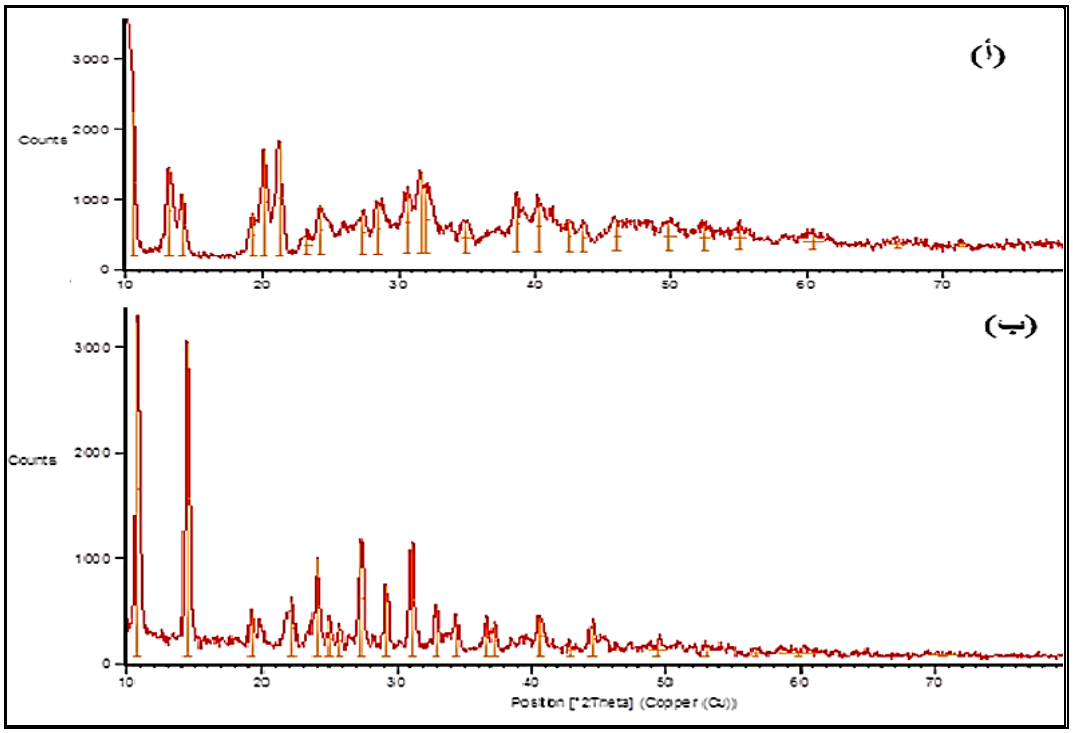


الشكل (1): صورة السطح الخارجي لمستخلص قشور الرمان باستخدام الـ (SEM) تحت قوة تكبير 200nm



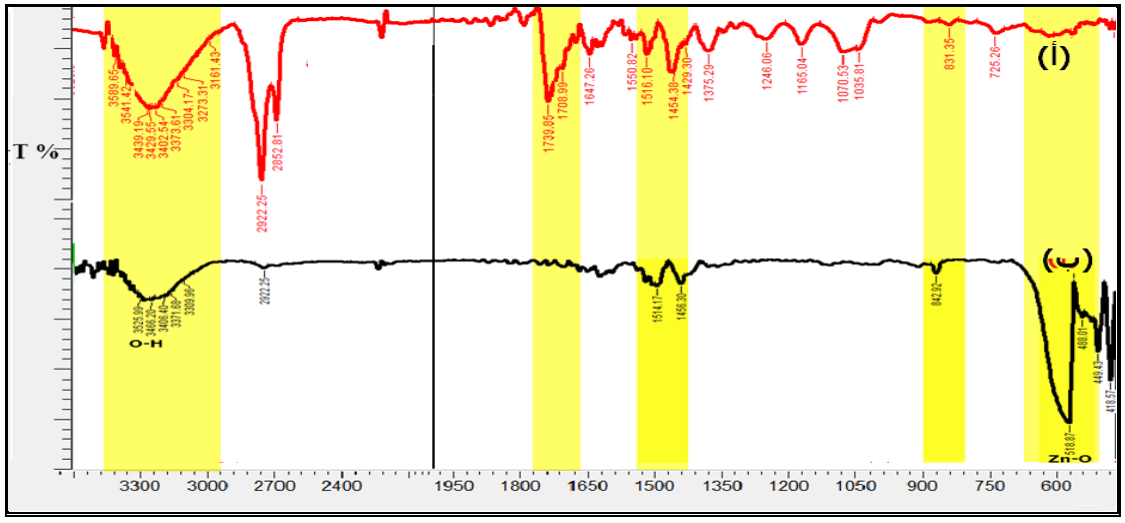
الشكل (2): صورة السطح الخارجي لدقائق الزنك النانوية باستخدام الـ (SEM) تحت قوة تكبير 100nm

اظهر تحليل حيود الاشعة السينية للمسحوق (XRD) لمستخلص قشور الرمان المقاس ضمن المدى 10-80° (الشكل 3 أ) وجود تركيب بلوري للمستخلص نظراً لإعطائه العديد من الحزم في الطيف، وأظهر الطيف وجود حزم ذات شدة عالية في المدى 10-35°. وتشير قيم إشارات FWHM الى وجود تركيب هندسي ذي مسامات وبأحجام بلورية صغيرة للغاية وبلغ معدل الحجم النانوي للمستخلص هو 48.93 نانوميتر. فيما أظهر تحليل الـ XRD لدقائق الزنك النانوية ZnO والمقاس ضمن المدى 10-80° (الشكل 3 ب) قمم الحيود لمسحوق ZnO بلوري بطبيعته. أكدت النتائج نقاء المساحيق المصنعة إذ لم تكن هناك قمم للشوائب. تم تقدير معدل الأحجام البلورية ب 20 نانوميتر.



الشكل (3) تحليل حيود الاشعة السينية للمسحوق (XRD) (أ) لمستخلص قشور الرمان (ب) دقائق الزنك النانوية

وكذلك دُرس المستخلص النباتي ودقائق الزنك النانوية بواسطة مطيافية الاشعة تحت الحمراء IR (الشكل 4)، حيث اظهر طيف الاشعة تحت الحمراء لمستخلص قشور الرمان حزمة قوية عند 3439 سم$^{-1}$ اعزيت لمجموعة الهيدروكسيل (OH) المائية لمستخلص والتي تعزز وجود المركبات الفعالة في المستخلصين مثل Ellagitannins و Dihydroflavonol وHydroxycinnamic acid و غيرها من المركبات الفعالة في مستخلص قشور الرمان. وظهور حزمتي امتصاص ضمن المدى (2852 – 2922) سم$^{-1}$ والتي تعزي الى مجاميع الـ (CH) الاليفاتية، وظهور حزمتي عند (1739 سم$^{-1}$) والتي اعزيت الى مط مجموعة الكاربونيل (C=O) مع ظهور حزمتي امتصاص ضمن المدى (1456-1618) سم$^{-1}$ تعود لمط مجموعة (C=C) الأروماتية، فضلا عن ظهور حزمة ضمن المدى (1035-1070) سم$^{-1}$ تعزى لمط مجموعة (C-O). طيف الاشعة تحت الحمراء لدقائق الزنك النانوية حزمة عند (3466 سم$^{-1}$) والتي تشير الى مجموعة الهيدروكسيل (OH) للماء في دقائق الزنك النانوي، وكذلك ظهرت حزمة عند (518) سم$^{-1}$ اعزيت لمط مجموعة (Zn-O).



الشكل (4): طيف الأشعة تحت الحمراء (أ) لمستخلص قشور الرمان (ب) دقائق الزنك النانوية

تأثير دقائق الزنك النانوية ومستخلص قشور الرمان على مستويات الـ LDL-C و HDL-C و الدهون الثلاثية و الكوليستيرول في الجرذان المصابة بفايروس الروتا.

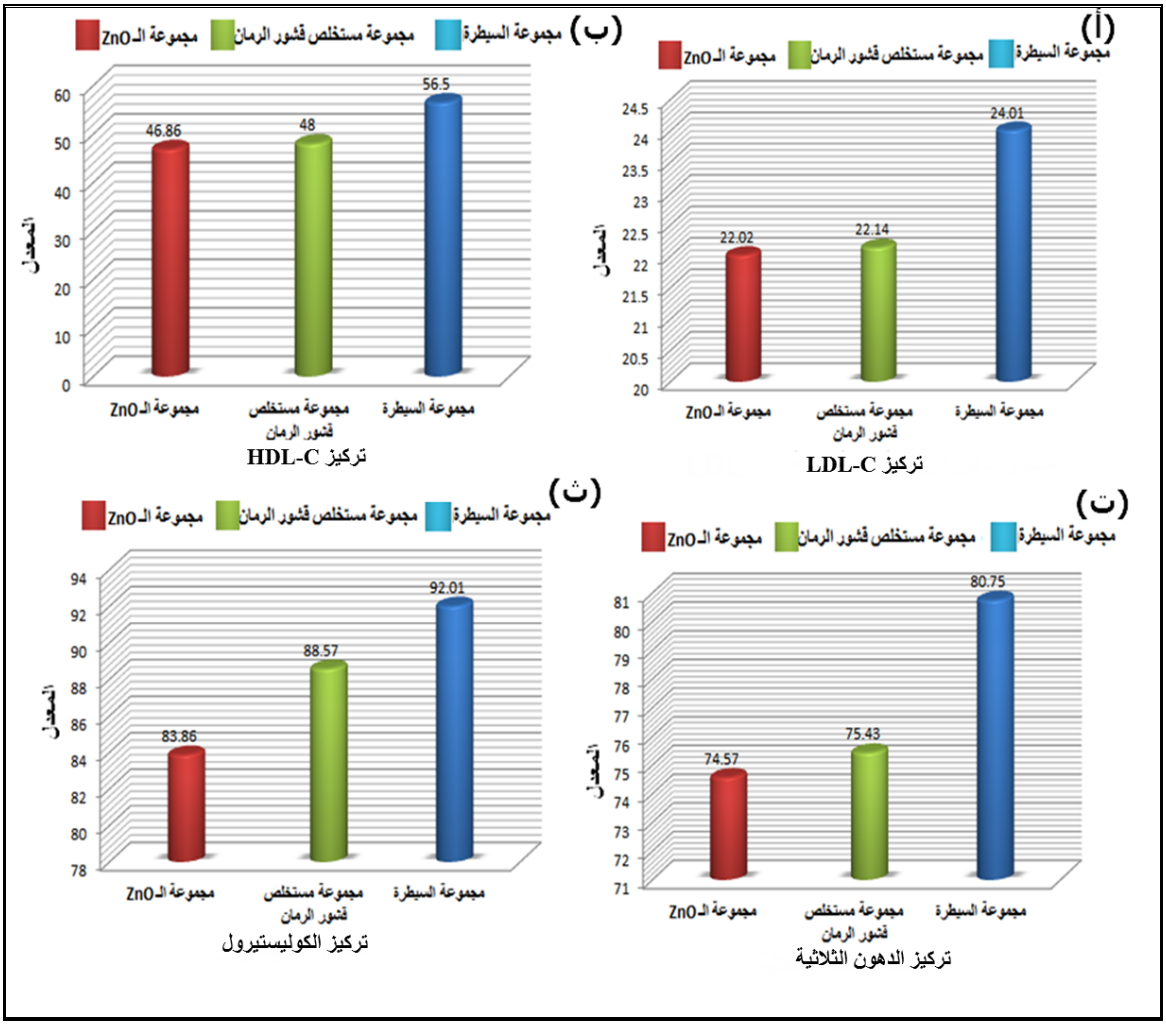
دُرس تأثير دقائق الزنك النانوية والمستخلص المائي لقشور الرمان على تركيز الدهون البروتينية واطئة الكثافة للكوليستيرول LDL-C وتركيز الدهون البروتينية عالية الكثافة للكوليستيرول HDL-C وكذلك تركيز كل من الدهون الثلاثية والكوليسترول في مصل الدم للجرذان المصابة بفايروس الروتا وسجل النتائج التي تم الحصول عليها بعد المعاملة بالجرع المحددة في الجزء العملي للمجاميع الثلاثة ومقارنتها مع مجموعة السيطرة وادرجت النتائج في الجدول (1). حيث اظهرت الدراسة الحالية عدم وجود فرقاً معنوياً عند ($P\leq0.05$) في تركيز الدهون البروتينية واطئة الكثافة للكوليستيرول LDL-C بين مجاميع الدراسة عند المقارنة بين مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة بدقائق الزنك النانوية والمستخلص المائي لمسحوق قشور الرمان (انظر الشكل 5أ). في حين لوحظ ان تركيز الدهون البروتينية عالية الكثافة للكوليستيرول HDL-C قد سجل انخفاضاً معنوياً في كل المجاميع المعاملة مقارنةً مجموعة السيطرة، حيث الباحث Lie وجماعته [22] ان مستخلص قشور الرمان يسبب انخفاضا في تركيز البروتينات الدهنية عالية الكثافة وعزا ذلك الى المحتوى العالي لقشور الرمان من مضادات الاكسدة والفينولات الاخرى وهذا ما وجدناه في دراستنا الحالية.

اما الباحث Aviram وجماعته [23] فقد بين ان السبب في قابلية قشور الرمان على خفض البروتينات الدهنية عالية الكثافة بسبب تأثيره على ايض الكوليستيرول فيزيد من ايض الاخير ويخفض من تركيز البروتينات الدهنية عالية الكثافة (انظر الشكل 5ت). اما الدهون الثلاثية فقد سجلت المجاميع المعاملة انخفاضاً معنوياً مقارنة بمجموعة السيطرة، في حين لم تختلف المجاميع المعاملة فيما بينها [24] وهذا يعزز ان المعاملة بقشور الرمان يسبب الحد من زيادة تركيز الدهون الثلاثية بسبب احتوائه على كم هائل من مضادات الاكسدة التي تمنع بدورها زيادة تركيز الدهون الثلاثية في الدم. وتشير الدراسات الى ان استخدم فيها دقائق الزنك النانوية الى ان هذه الدقائق تمتلك فعلا مضاداً لارتفاع السكر في الدم فبالنتيجة تسبب انخفاضاً لتركيز السكر وانخفاضاً لتركيز الاحماض الدهنية وخصوصا الدهون الثلاثية [25] (الشكل 5ت)، اما بالنسبة للكوليستيرول فقد سجلت المجاميع المعاملة انخفاضاً معنوياً مقارنة بمجموعة السيطرة،، في حين سجلت المجموعة المعاملة بدقائق الزنك النانوية ادنى قيمة معنوية عند المقارنة مع المجاميع الاخرى وقد اتفق نتائجنا مع ما توصل اليه الباحث Wahyuni وجماعته [26] الذي اجرى دراسته على الرمان وبين ان قشور الرمان تحتوي على فيتامين C ومجموعة من الالياف والتي تسبب خفض تركيز الكوليستيرول في الدم وتساعد هذه الالياف على طرح الكوليسترول غير الممتص خارج الجسم عن طريق البراز. وان استخدم فيها دقائق اوكسيد الزنك النانوية ان استخدام هذه الدقائق ربما يؤثر على التشفير الجيني المسؤول عن انتاج المواد الستيرويدية فيعمل على تغيير مسار هذا التشفير فيسبب نقصان في تركيز الكوليستيرول عن الحد الطبيعي [6] وهذا ما وجدناه في دراستنا الحالية (الشكل 5 ث).

الجدول (1): تأثير دقائق الزنك النانوية ومستخلص قشور الرمان في تركيز الدهون في مصل دم للجرذان البيض المصابة بفايروس روتا

المعيار الحيوي	المعدل ± الخطأ القياسي		
	مجموعة الـ ZnO	مجموعة مستخلص قشور الرمان	مجموعة السيطرة
LDL-C (mg/dl)	$22.02^{a}\pm$ 1.922	$22.14^{a}\pm2.67$	$24.01^{a}\pm2.94$
HDL-C (mg/dl)	$46.86^{b}\pm$ 4.85	$48.00^{b}\pm$ 3.65	$56.50^{a}\pm$ 4.20
الدهون الثلاثية (mg/dl)	$74.57^{b}\pm3.546$	$75.43^{b}\pm5.65$	$.75^{a}\pm2.2280$
الكوليستيرول (mg/dl)	$83.86^{c}\pm$ 3.739	$88.57^{b}\pm4.58$	$92.01^{a}\pm$ 2.58

- الحروف غير المتشابهة في الصف تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى $P\leq0.05$.



الشكل (5): تأثير دقائق الزنك النانوية ومستخلص قشور الرمان في تركيز (أ) LDL-C ، (ب) HDL-C ، (ث) الدهون الثلاثية ، (ت) الكوليسترول لجرذان البيض المصابة بفايروس الروتا

مستوى انزيم أسبارتات أمينـو ترانسفيريـز AST وانزيم ألانين أمينـو ترانسفيريـز ALT

ويعد أنزيم أسبارتات أمينـو ترانسفيريـز(AST) Aspartate aminotransferase من الأنزيمات المهمة التي لها دور فعال في العمليات الأيضية التي تحدث داخل أنسجة جسم الإنسان. يوجد أنزيم AST بتراكيز عالية في عدد من أنسجة الجسم كالقلب والكبد والكلية وبتراكيز أقل في أنسجة أخرى منها العضلات وكريات الدم الحمراء وغيرها من اجزاء الجسم [26]. فيما يعد ألانين أمينو ترانسفيريز (ALT) Alanine aminotransferase الأنزيم الثاني الناقل لمجموعة الأمين ويعرف سابقاً بـ كلوتامات بايروفات ترانس أمينيز(GPT) Glutamate pyruvate transaminase . يوجد أنزيم ALT بكميات عاليـة في الكبد ويوجد أيضاً بكميات أقل في القلب والعضلة الهيكلية وغيرها، يرتفع أنزيمALT في أمراض الكبد واحتشاء عضلة القلب وفي أمراض العضلة ويرتفع عند حصول مشاكل في قناة الصفراء وعند ممارسة التمارين الشاقة وعند التعرض للمواد السامة [26].

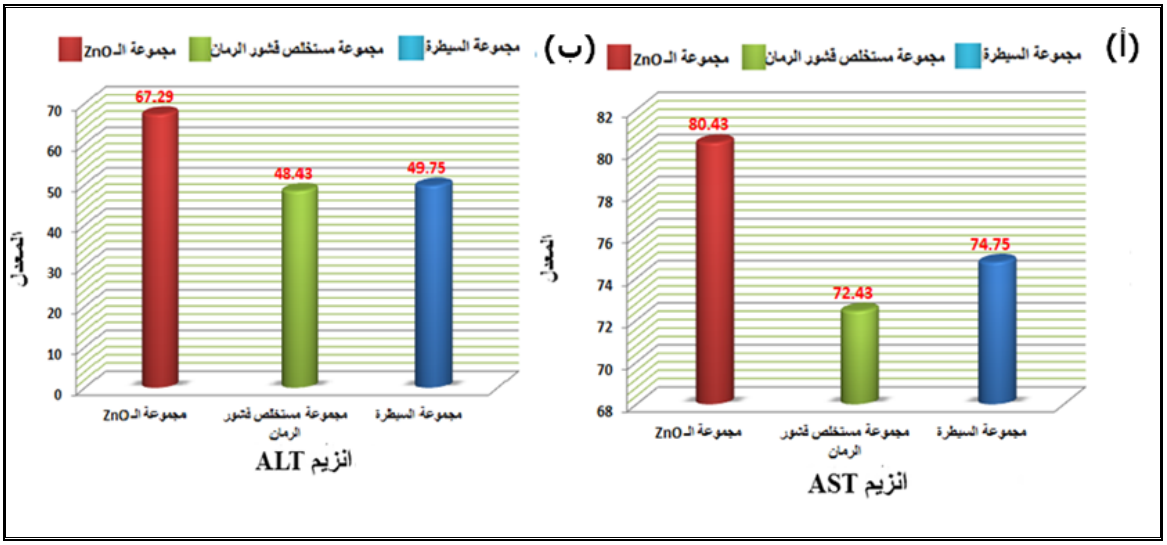
يوضح الجدول (2) والشكل (6أ) تأثير دقائق الزنك النانوية ومستخلص قشور الرمان في مستوى على انزيم AST في مصل الدم للجرذان المصابة بفايروس الروتا. إذ نلاحظ انها سجلت ارتفاعاً معنوياً في المجموعة المعاملة بالدقائق النانوية للزنك عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة وقد اتفقت نتائجنا التي حصلنا عليها مع ما وجده الباحث Watson وجماعته [27] الذي بين ان السبب في ارتفاع انزيمات الكبد انفة الذكر عند المعاملة بالدقائق النانوية للزنك ان هذه الدقائق تترك مخلفات Residues في انسجة الجسم المختلفة بما فيها الكبد اذ ان هذه المخلفات المتراكمة في الكبد تقود الى تلف في الخلايا الكبدية فيسبب هذا التلف تحرر لهذه الانزيمات إذ كانت القيمة هي 80.43 a±3.610 وحدة \التر مقارنة مع قيمتها في مجموعة السيطرة التي كانت قيمتها 74.75 b± 3.86 وحدة\التر. فيما كان تأثير المستخـلص المائي لقشور الرمان اقل مقارنة مع مجموعة السيـطرة إذ كان القيمـــة هي 72.43 b± 4.58 وحدة\التر. ويتضح من النتائج اعلاه بان دقائق الزنك النانوية له القابلية على تقليل الاصابة او تلف الكبد او الاعضاء التي يمكن ان تحدث ارتفاعا في قيمة AST. فيما اظهرت النتائج الموضحة في الشكل (6 ب) ان المجموعة المعاملة بدقائق الزنك سجلت ارتفاعاً معنوياً عند مقارنتها مع المجاميع الاخرى المستخدمة في الدراسة وقد اتفقت نتائجنا التي حصلنا عليها

مع ما وجده الباحث Watson وجماعته [27] الذي بين ان السبب في ارتفاع انزيمات الكبد انفة الذكر عند المعاملة بالدقائق النانوية للزنك كما ذكرنا في اعلاه إذ كانت القيمة هي 67.29 a± 3.85 وحدة\لتر مقارنة مع قيمتها في مجموعة السيطرة التي كانت قيمتها 49.75 b± 2.99 وحدة\لتر. فيما كان تأثير المستخـلص المائي لقشور الرمان اقل مقارنة مع مجموعة السيـــطرة إذ كان القيمـــة هي 48.43 b± 2.637 وحدة\لتر.

الجدول (2): تأثير دقائق الزنك النانوية ومستخلص قشور الرمان في فعالية انزيمات الكبد (AST وALT) لجرذان البيض المصابة بفايروس الروتا

المعيار الحيوي	المعدل ± الخطأ القياسي		
	مجموعة الـ ZnO	مجموعة مستخلص قشور الرمان	مجموعة السيطرة
A S T وحدة\لتر	80.43 ^{a} ±3.610	72.43 ^{b} ± 4.58	74.75 ^{b} ± 3.86
A L T وحدة\لتر	67.29 ^{a} ± 3.85	48.43 ^{b} ± 2.637	49.75 ^{b} ± 2.99

- الحروف غير المتشابهة في الصف تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى P≤0.05.



الشكل (6): تأثير دقائق الزنك النانوية ومستخلص قشور الرمان في فعالية انزيمات الكبد (AST وALT) لجرذان البيض المصابة بفايروس الروتا

مستوى بعض معايير الصورة الدمية للمصل الدم للجرذان البيض

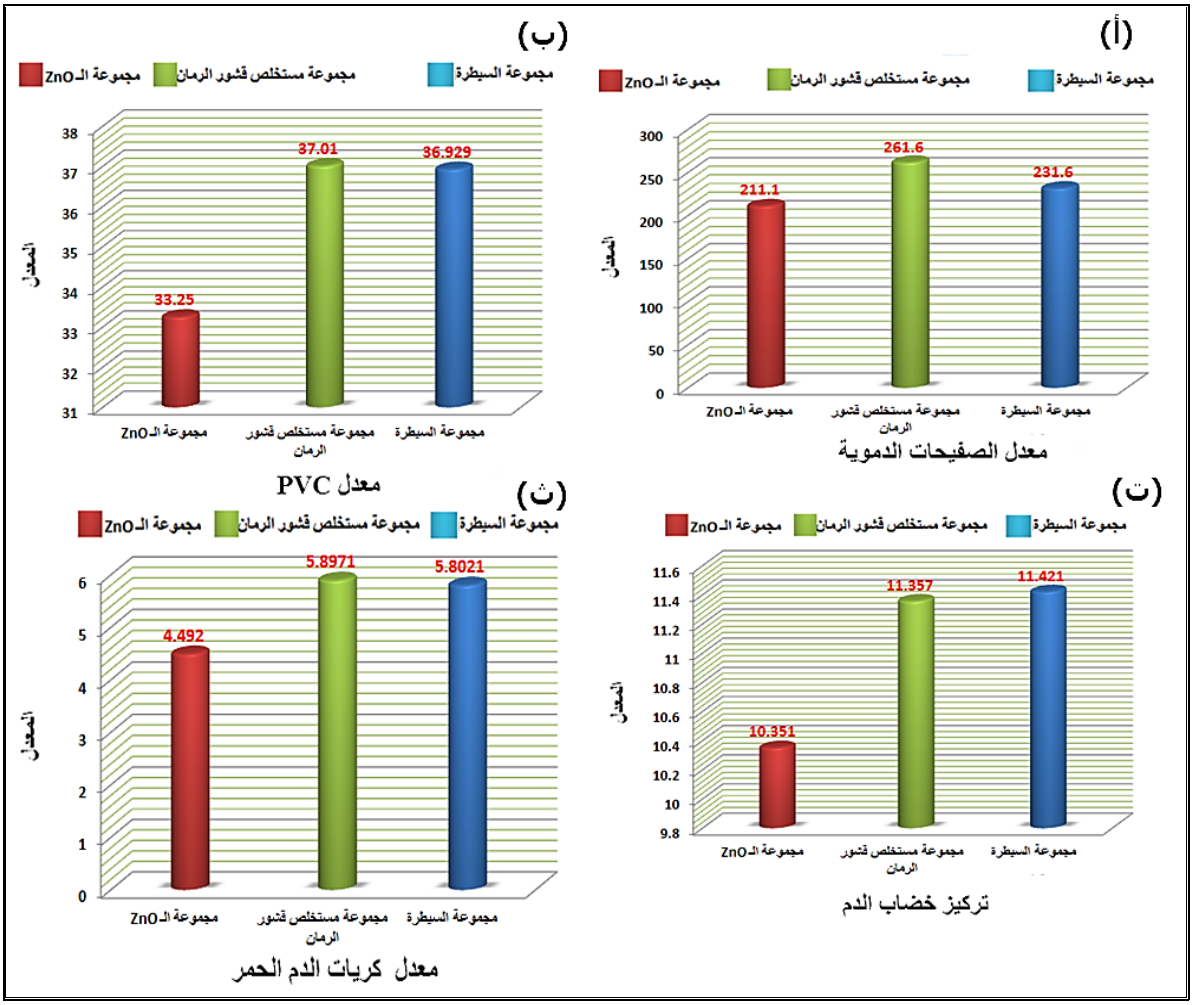
اظهر الجدول (3) تأثير دقائق الزنك النانوية ومستخلص قشور الرمان في مستوى معايير الصورة الدمية (كريات الدم الحمراء، كريات الدم البيضاء، حجم الخلايا المرصوصة، الصفيحات الدموية وتركيز خضاب الدم) في مصل الدم للجرذان المصابة بفايروس الروتا تأثيراً واضحاً لدقائق الزنك النانوية على قيم تلك المعايير مقارنةً مع مجموعتي السيطرة والمستخلص المائي لقشور الرمان (الشكل 7). حيث لوحظ انخفاض معنوي للمجموعة المعاملة بدقائق الزنك النانوية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة وقد اتفقت النتائج التي حصلنا عليها مع الباحث Ramadhan, [28] الذي وجد في دراسته التي استخدم فيها دقائق الزنك النانوية ان كل المعايير (كريات الدم الحمر , حجم الخلايا المرصوصة , الصفيحات الدموية وتركيز خضاب الدم) سجلت انخفاضا معنويا عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة إذ كانت قيمتها بالنسبة لصفيحات الدموية هي 211.0 (10^{5}×) 38.1 ^{c}± \ملليلتر) مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت قيمتها هي 231.6 (10^{5}×) 50.4 ^{b}± \ملليلتر)، فيما كانت قيمتها حجم الخلايا المرصوصة هي 33.250 (10^{5}×) 0.957 ^{b}± \ملليلتر) مقارنة مع قيمتها في مجموعة السيطرة والتي كانت تساوي 36.929 ±2.235 ^{a} وحدة دولية. في حين ان معدل كريات الدم الحمراء في الحيوانات المصابة بفايروس الروتا والمعاملة مع دقائق الزنك النانوية هو 4.4920 (10^{6}×) 0.355 ^{b}± خلية\ملليلتر) مقارنةً مع معدلها في مجموعة السيطرة والذي كان يساوي 5.8021 ±0.3219 ^{a} (10^{6}×) خلية\ملليلتر). في حين ان مجموعتي الحيوانات المصابة بفايروس الروتا والمعاملة بالمستخلص المائي لقشور الرمان لم تظهر أي فروقات معنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة والسبب في ذلك يعود الى انخفاض مستوى الاوكسجين في الدم Hypoxia بسبب تحطم كريات الدم الحمر بسبب هذه المركبات النانوية فبعد تكسر هذه الكريات سيقل مستوى الدم ويتحرر الحديد

الموجود فيه مما يسبب انخفاض خضاب الدم وبقية مكونات الدم الاخرى وكل ما سلف يعزى الى تأثير هذه الدقائق النانوية على الخلايا الجذعية المنتجة لمكونات الدم في نخاع العظم فيكون هنالك اخفاقا في تصنيع كريات الدم الحمر.

الجدول (3): تأثير دقائق الزنك النانوية ومستخلص قشور الرمان في بعض معايير الصورة الدمية في مصل دم للجرذان البيض المصابة بفايروس روتا

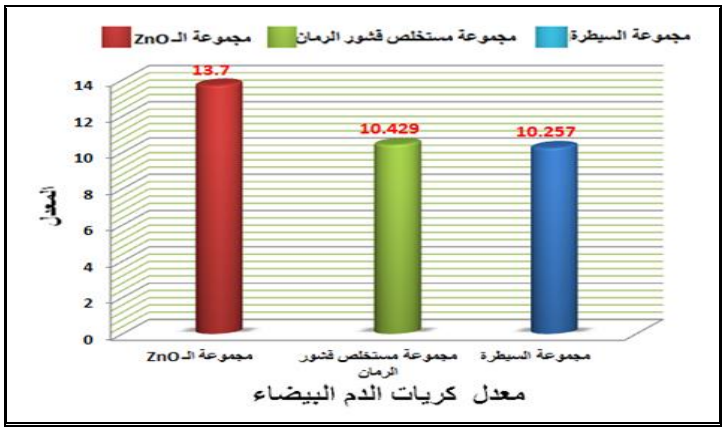
المعيار الحيوي	المعدل ± الخطأ القياسي		
	مجموعة الـ ZnO	مجموعة مستخلص قشور الرمان	مجموعة السيطرة
كريات الدم الحمراء (خلية\مليلتر ×10^6)	4.4920 ^{b}± 0.355	5.8971 ^{a}±0.1526	5.8021 ^{a}±0.3219
كريات الدم البيض (خلية\مليلتر ×10^3)	13.700 ^{a}±0.845	10.429 ^{b}±0.345	10.257 ^{b}±0.537
حجم الخلايا المرصوصة (%)	33.250 ^{b}±0.957	37.000 ^{a}±1.528	36.929 ^{a}±2.235
الصفيحات الدموية (مليلتر\ ×10^5)	211.0 ^{c}± 38.1	261.6 ^{a}±46.0	231.6 ^{b}±50.4
تركيز خضاب الدم (غم \ ديسلتر)	10.350 ^{b}±0.238	11.357 ^{a}±0.369	11.421 ^{a}±0.430

- الحروف غير المتشابهة في الصف تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى P≤0.05.



الشكل (7): تأثير دقائق الزنك النانوية ومستخلص قشور الرمان على (أ) كريات الدم الحمراء (ب) حجم الخلايا المرصوصة، (ت) الصفيحات الدموية (ث) تركيز خضاب الدم لجرذان البيض المصابة بفايروس الروتا

واظهرت النتائج ان خلايا الدم البيض سجلت اعلى قيمة معنوية في المجموعة المعاملة بالزنك النانوي وقد اتفقت نتائجنا مع الادبيات التي تشير ان استخدام الدقائق النانوية للزنك تسبب اجهادا تأكسديا في الانسجة فيسبب هذا الاجهاد التهابات في الاوعية الدموية والتي بالمقابل تبعث بإشارات عبر الوسائط الكيميائية لكي تسبب ارتفاع مستوى خلايا الدم البيض كاستجابة دفاعية ضد الالتهابات والاجسام الغريبة المتكونة والداخلة الى الجسم [29]. ولوحظ من الدراسة الحالية ان مستويات المعايير المدروسة لكريات الدم الحمر والبيض لم تختلف اختلافا معنويا بين مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة بالمستخلص المائي لقشور الرمان اذ اتفقت النتائج التي حصلنا عليها مع الادبيات التي تشير (Youdim *et al.*, 2010) الذي بين ان استخدام المستخلصات المائية لبعض النباتات ومنها الرمان يساهم في الحفاظ على كريات الدم الحمر والبيض من التحطم بسبب الجذور الحرة المتكونة اثناء حدوث الاجهاد التأكسدي في انسجة الجسم ويمكن ان يعود الى احتواء هذه النباتات على الكلوتاثيون ومركبات الفلافونيد التي ترتبط بمكونات الدم فتحميها من التحطم من خلال تصديها لعمليات الاكسدة التي تحدث في الانسجة [30] لذا فاننا لم نلاحظ فرقا معنويا بين المجاميع المعاملة بالمستخلصات المائية وبين مجموعة السيطرة (الشكل 8) .



الشكل (8): تأثير دقائق الزنك النانوية ومستخلص قشور الرمان في معدل كريات الدم البيضاء لجرذان البيض المصابة بفايروس الروتا

الاستنتاجات

تبين من خلال النتائج التي اظهرتها الدراسة ان دقائق الزنك النانوي الأكثر فعالية من المستخلص المائي لقشور الرمان في تثبيط الاسهال، وكذلك اظهرت النتائج الدارسة وجود فروق معنوية بالنسبة للمعايير الدموية كمستوى خضاب الدم وحجم خلايا الدم المرصوصة والمعايير الكيموحيوية مثل إنزيمات الكبد ومستوى الدهون مقارنة بنتائج مجموعة السيطرة. وخلصت الدراسة الى انه يمكن علاج مسببات الاسهال الفايروسي بواسطة المستخلص النباتي من قشور الرمان وأوكسيد الزنك النانوي.

References

1- Brade, L.; Schmidt, W. A. K. and Gattert, I. (1981). Relative effectiveness of disinfectants against Rota viruses. Zentralbl Bakteriol. Hyg. 174: 151-159.

2- Koletzko, S., & Osterrieder, S. (2009). Acute infectious diarrhea in children. *Deutsches Ärzteblatt International*, *106*(33), 539.

3- White, D. E., White, D. O., White, D. O., & Fenner, F. J. (1994). *Medical virology*. Gulf Professional Publishing.

4- Jawetz, M. J.; Melnick, B. K. and Adelbery, F. (2001). Reo viruses and Rota viruses. Medical Microbiology. 22ed ed. 433-440. Prentice Hall international.; U. K. London.

5- Magdolenova, Z., Collins, A., Kumar, A., Dhawan, A., Stone, V., & Dusinska, M. (2014). Mechanisms of genotoxicity. A review of in vitro and in vivo studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, *8*(3), 233-278.

6- Komatsu, T.; Tabata, M.; Kubo-Irie, M.; Shimizu, T.; Suzuki, K.-i.; Nihei, Y.; Takeda, K.(2017). The effects of nanoparticles on mouse testis Leydig cells in vitro. Toxicol. Vitr. 22, 1825–1831.

7- Jalal, R., Goharshadi, E. K., Abareshi, M., Moosavi, M., Yousefi, A., & Nancarrow, P. (2010). ZnO nanofluids: green synthesis, characterization, and antibacterial activity. *Materials Chemistry and Physics*, *121*(1-2), 198-201.

8- Li, Z., Cui, K., Wang, H., Liu, F., Huang, K., Duan, Z., ... & Liu, Q. (2019). A milk-based self-assemble rotavirus VP6–ferritin nanoparticle vaccine elicited protection against the viral infection. *J. nanobiotechnology*, *17*(1), 1-13.

9- Pati, R., Mehta, R. K., Mohanty, S., Padhi, A., Sengupta, M., Vaseeharan, B., ... & Sonawane, A. (2014). Topical application of zinc oxide nanoparticles reduces bacterial skin infection in mice and exhibits antibacterial activity by inducing oxidative stress response and cell membrane disintegration in macrophages. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *10*(6), 1195-1208.

10- Huh, A. J., & Kwon, Y. J. (2011). "Nanoantibiotics": a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *J. controlled release*, *156*(2), 128-145.

11- Yan, G., Huang, Y., Bu, Q., Lv, L., Deng, P., Zhou, J., ... & Zhao, Y. (2012). Zinc oxide nanoparticles cause nephrotoxicity and kidney metabolism alterations in rats. *J. Environmental Science and Health, Part A*, *47*(4), 577-588.

12- Zhang, R., Lin, Z., Lui, V. C., Wong, K. K., Tam, P. K., Lee, P., ... & Xia, H. (2017). Silver nanoparticle treatment ameliorates biliary atresia syndrome in rhesus rotavirus inoculated mice. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *13*(3), 1041-1050.

13- Zhipeng L., Cui, K., Wang, H., Liu, F., Huang, K., Duan, Z., ... & Liu, Q. (2019). A milk-based self-assemble rotavirus VP6–ferritin nanoparticle vaccine elicited protection against the viral infection. *J. nanobiotechnology*, *17*(1), 1-13.

14- Fu, M., Lin, Z., Lin, H., Tong, Y., Wang, H., Chen, H., ... & Zhang, R. (2018). A Silver Nanoparticle Method for Ameliorating Biliary Atresia Syndrome in Mice. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (140).

15- Shaheen, M. O. H. A. M. E. D., Borsanyiova, M. A. R. I. A., Mostafa, S. A. M. Y., Chawla-Sarkar, M. A. M. T. A., Bopegamage, S. H. U. B. H. A. D. A., & El-Esnawy, N. A. G. W. A. (2015). In vitro effect of Dodonaea viscosa extracts on the replication of coxackievirus B3 (Nancy) and rotavirus (SA-11). *J Microbiol Antimicrob Agents*, *1*(2), 47-54.

16- Yadavalli, T., & Shukla, D. (2017). Role of metal and metal oxide nanoparticles as diagnostic and therapeutic tools for highly prevalent viral infections. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *13*(1), 219-230.

17- AL-Ballawi Z. F. S., Redhwan N. A., and Ali M. (2017), In Vitro Studies of Some Medicinal Plants Extracts for Antiviral Activity against Rotavirus, *J.Pharmacy and Biological Sciences*, 12(2), PP. 53-59.

18- Bregman, B. S. (1987). Spinal cord transplants permit the growth of serotonergic axons across the site of neonatal spinal cord transection. *Developmental Brain Research*, 34(2), 265-279.

19- John, V. D. and Lewis, S. M. (1984). *Basic hematological techniques*, *Practical Hematology*; 6th (ed) Pp: 22-45.

20- Schottelius, B. A.; Thomson, J. D. and Schottelius, D. D. (1988) . *Physiology laboratory manual 4th.; Mosby company; Saint Louis. science and technology*, 52(6): 3756-3762.

21- Lei, F.; Xing, D.M.; Xiang, L.; Zhao, Y. N.; Wang, W.; Zhang, L. J. and Du, L. J. (2014). Pharmacokinetic study of ellagic acid in rat after oral administration of pomegranate leaf extract. *J. Chromatogr. Br. Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, 796: 189 - 194.

22- Aviram, M.; Dornfield, L. and Coleman, R. (2017). Pomegranate juice polyphenols inhibit low-density lipoprotein oxidation in cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs Exp. Clin. Res.*, 28: 49 - 62.

23- Nge, S. T., M. Martosupono, and F. F. Karwur (2015). The Polyphenolics and Health Effects of Pomegranate. *Sains Medika*, 6(1); 30

24- Raguraman, V., Jayasri, M.A., Suthindhiran, K., 2020. Magnetosome mediated oral Insulin delivery and its possible use in diabetes management. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 31, 1–9. https://doi.org/10.1007/s10856-020-06417-2

25- Wahyuni, F. D., I. N. Asyiah, and S. Hariyadi (2013). Pengaruh Ekstrak Heksana Daging Buah Delima Putih (Punica granatum) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Darah pada Tikus Putih (Rattus norvegicus L(.dan Pemanfaatannya sebagai Buku Suplemen. *Pancaran Pendidikan*, 2(4); 89-99.

26- Lustig V. V., (1977), Activation of alanine aminotransferase in serum by pyridoxal phosphate. *Clinic Chem*., 23: 175-177.

27- Watson, C. Y., Molina, R. M., Louzada, A., Murdaugh, K. M., Donaghey, T. C., & Brain, J. D. (2015). Effects of zinc oxide nanoparticles on Kupffer cell phagosomal motility, bacterial clearance, and liver function. *International journal of nanomedicine*, *10*, 4173.

28- Ramadhan, S. A. (2021). Hematological Alterations Induced by Zinc Oxide Nanoparticles and Preventive Role of Moringa Oleifera: In vivo. *Indian J.Forensic Medicine & Toxicology*, *15*(2).

29- Tabish, T. A., Ashiq, M. N., Ullah, M. A., Iqbal, S., Latif, M., Ali, M., ... & Iqbal, F. (2016). Biocompatibility of cobalt iron oxide magnetic nanoparticles in male rabbits. *Korean J. Chemical Engineering*, *33*(7), 2222-2227.

30- Yadavalli T., Shukla D., (2017) Role of metal and metal oxide nanoparticles as diagnostic and therapeutictools for highly prevalent viral infections, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13(1), PP. 239-25039-250. https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.08.016.

IRAQI Academic Scientific Journals

Samarra Journal of Pure and Applied Science

SJPAS

www.sjpas.com

p ISSN: 2663-7405
e ISSN: 2789-6838

Effect of Zn-nano-particles and aqueous extract of pomegranate peel on some biochemical parameters of rats infected with Rotavirus

Maohammed S. Marmoss *, Amin S. Badawy and Shima A. Mohammed
Department of Food Science, College of Agriculture, Tikrit University, Iraq.
https://doi.org/10.54153/sjpas.2021.v3i4.294

Article Information

Received: 02/08/2021
Accepted: 13/09/2021

Keywords:
Zn-nano-particle, *pomegranate peel*, *Rotavirus*, *Liver enzymes*, *Lipid*

Corresponding Author

E-mail: mhm.ne1985@gmail.com
Mobile:

Abstract

The effect of using nanoparticles and aqueous extract of pomegranate peel in treating rotavirus induced in laboratory rats was studied. The experiment was conducted at the animal house of the College of Veterinary Medicine -Tikrit University for the period from 18 February 2021 and by 20 April 2021 by using 28 rats that the age of rats ranged from two months and three months and the experimental animals were divided into three groups, the control group and not treated with any treatment substance. While the second group was treated with an ZnO nanoparticles, whereas the third group was treated with the aqueous extract of pomegranate peels. The study showed that there was no significant difference in the concentration of LDL-C between the three groups, while it was noted that the concentration of high-density lipoprotein-cholesterol HDL-C recorded a significant decrease in all treated groups when compared with the control group. As for the triglycerides, it was noted that the control group recorded The highest significant value when compared with the rest of the groups, while the treated groups did not differ among themselves. As for cholesterol level, it was noted that the treated groups recorded a significant decrease compared with control group, while the group treated with zinc nanoparticles recorded the lowest significant value when compared with other groups. As for liver enzymes (AST and ALT), we note that they recorded a significant increase in the group treated with zinc nanoparticles when compared with control group. The results also showed a significant decrease for the blood picture parameters for the group treated with zinc nanoparticles when compared with other study groups except for white blood cells, which recorded the highest significant value in the group treated with nanoparticles..