الدور الوقائي والمضاد للأكسدة للكاتشين والأبجنين لبعض من المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحث ببيروكسيد الهيدروجين

رنا طالب إبراهيم

جامعة الموصل/كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم الكيمياء

أ.د. اميرة عزيز محمود

جامعة الموصل/كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم الكيمياء

أ.د. غادة عبد الرحمن طاقة

جامعة الموصل/ كلية طب الأسنان / فرع العلوم الأساسية

تاريخ تسليم البحث : 2020/3/17 ؛ تاريخ قبول النشر : 2020/5/3

ملخص البحث :

هدفت هذه الدراسة الى معرفة التأثير الوقائي والمضاد للاكسدة لمركب الكاتشين المعزول من بذور فاكهة الافوكادو ومركب الأبجنين المعزول من أوراق البقدونس في الحد من تأثيرات الكرب التأكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) خلال الفترات (صفر، اسبوعين واربع اسابيع) من خلال قياس بعض المتغيرات الكيموحيوية التالية في مصل الدم: الكلوكوز، اليوريا، حامض اليوريك، البروتين التفاعلي– سي، الكلوتاثايون، المالونداياألديهايد وجذر البيروكسي نتريت.

استخدم في الدراسة الحالية (48) ذكرا من الجرذان البيض باعمار تراوحت (10 ± 1 إسبوعيا) وبوزن (200 – 250) غراماً وقسمت عشوائيا الى (4) مجاميع بواقع (6) جُرذ/مجموعة وكالتالي:

المجموعة (1): السيطرة السليمة السالبة: التي استهلكت الماء والغذاء الاعتيادي واعطيت الرمز (A) للكاتشين والرمز ($\bar{A}$) للابجنين، المجموعة (2): السيطرة الموجبة: التي

عوملت بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب ويوميا لمدة 4 أسابيع وقد اعطيت الرمز (B) للكاتشين والرمز ($\bar{B}$) للأبجنين، المجموعة الثالثة: مجموعة الجرذان السليمة + المركب: اعطيت ماء الشرب والغذاء الاعتيادي مع إعطائها يوميا ولمدة اربع اسابيع بجرعة (50 ملغم/كغم من وزن الجسم) الكاتشين واعطيت الرمز (C) وجرعة (50 ملغم/ كغم/ من وزن الجسم) من الأبجنين واعطيت الرمز ($\bar{C}$)، المجموعة (4): عوملت بـ (0.5% H_2O_2) مع إعطائها يوميا ولمدة اربع اسابيع جرعة (50 ملغم/ كغم من وزن الجسم) من الكاتشين واعطيت الرمز (D)، وجرعة (50 ملغم/ كغم) من الأبجنين واعطيت الرمز ($\bar{D}$).

أشارت النتائج الى ان هناك ارتفاعاً معنوياً عند مستوى الاحتمالية ($p\leq0.05$) في تركيز كل من الكلوكوز، اليوريا، حامض اليوريك، C-RP، المالونداياالديهايد وجذر البيروكسي نتريت، وانخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في تركيز الكلوتاثايون في مصل دم ذكور الجرذان المعرضين للكرب التأكسدي، وأدت المعاملة بالكاتشين والأبجنين وكلا على انفراد الى حصول تأثيرات ايجابية في الوقاية من الضرر التأكسدي من خلال الارتفاع المعنوي ($P\leq0.05$) في تركيز الكلوتاثايون والانخفاض المعنوي ($P\leq0.05$) في تركيز الكلوكوز، اليوريا، حامض اليوريك،
C-RP، المالونداياالديهايد وجذر البيروكسي نتريت.

الكلمات المفتاحية: الكاتشين، الأبجنين، الاجهاد التأكسدي، بذور الافوكادو، مضادات الاكسدة.

The protective and Antioxidant Effect of Catechin and Apigenin on Some Biochemical Parameters in Blood Serum of Rats Exposed to Oxidative Stress Induced by H_2O_2

Researcher Rana T Ibrahem

Assistant Professor Dr Amera A Mahmmod

Assistant Professor Dr Ghada Abd Taqa

Abstract:

The aim of this study is to determine the protective and antioxidant effect of catechin isolated from avocado (persea Americana) seeds and Apigenin isolated from parsley (prtroselinum crispum) leaves

in preventing of oxidative stress effects exposed by (0.5 % H_2O_2) during periods (0, 2 weeks and 4 weeks) by measuring some biochemicals parameters in blood serum, Glucose, Urea, Uric Acid (UA), C-Reactive Protein (CRP), Glutathione (GSH), Malondialdehyde (MDA), and peroxy nitrate radical ($ONO\dot{O}$). Forty eight males rats with the age of (10 ± 1 week) and weight of ($200 - 250$)gm were randomly divided into 4 groups, 6 Rat/group.

Group (1): control group received drinking tap water and standard diet, given (A) for catechin and ($\bar{A}$) for apigenin, Group (2): received (0.5% H_2O_2) with drinking water for 4 weeks, given (B) for catechin and ($\bar{B}$) for a pigenin, Group (3): received tap water and standard diet and given (50 mg/kg) catechin for 4 weeks, given (C) and (50 mg/kg) Apigenin for 4 weeks, given ($\bar{C}$), Group (4): received (0.5% H_2O_2) with drinking water and given (50 mg/kg) catechin for 4 weeks given (D), and (50 mg/kg) Apigenin, given ($\bar{D}$).

Result showed a significant increase ($P \leq 0.05$) in the concentration of glucose, Urea, UA, CRP, MDA and $ONO\dot{O}$ and a significant decrease in GSH level compared with control group. The treatment with catechin and Apigenin each alone lead to positive effects of oxidative damage through the significant increasing ($P \leq 0.05$) in GSH level and significant decrease ($P \leq 0.05$) in concentration of glucose, Urea, UA, MDA, CRP and $ONO\dot{O}$.

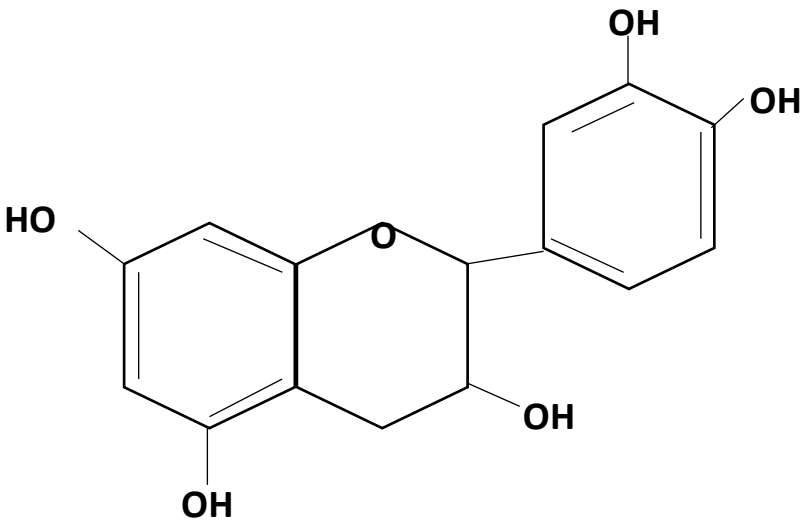
Key words: Catechin, Apigenin, Oxidative Stress, Avocado Seeds, Anti-Oxidants.

المقدمة:

تعتبر النباتات من المصادر الهامة والمتنوعة للعديد من نواتج الايض الثانوي والتي تسمى بالنواتج الطبيعية (Natural products)، التي تضم المركبات الفينولية والفلافونيدات والقلويدات والصابونيات والكلايكوسيدات والتربينات[1]. وتكمن اهمية نواتج الايض الثانوي بالنسبة للنباتات، انها تعد مصدر مهم للعديد من الصبغات والهورمونات النباتية والكلوروفيل، فضلا عن كونها تعد خطاً دفاعيا يحمي النباتات من الامراض والفطريات والبكتريا والحشرات[2]. تتواجد مركبات الايض الثانوي بنسب قليلة في النباتات وفي الآونة الاخيرة زاد الاهتمام بدراسة هذا النوع من المركبات وفصلها ومن ثم تشخيصها من انواع عديدة من النباتات والاعشاب كونها تعد مواداً فعالة من الناحية الطبية، اذ يتم استخدامها في صناعة الادوية والمستحضرات الطبية[3]، وذات تأثير جانبي قليل مقارنة مع مثيلاتها التي يتم تصنيعها في المختبر[4]، فضلا عن كونها تعد من المواد المضادة للاكسدة القوية تعمل على كبح وتثبيط الجذور الحرة والتقاط بقايا الايونات المعدنية المسؤولة عن انتاج اصناف الاوكسجين الفعالة (Reactive Oxygen Species (ROS وتعمل على حماية المادة الوراثية من الطفرات الوراثية وتقلل من خطر الاصابة بأمراض القلب والاوعية الدموية[6,5]. فضلا عن كونها تعد مواداً مضادة للالتهابات والفطريات وتعمل على تثبيط تجمع الصفيحات الدموية وبالتالي تمنع حصول الخثرة الدموية[7].

يعد الكاتشين (Flava−3−OLS) احد مركبات الايض الثانوي وينتمي بالتحديد الى عائلة المركبات الفلافونيدية ويطلق عليه تسميات عديدة منها الكاتيكين، الكاتشين وحامض الكاتشيك، وقد شخص وجوده ولاول مرة في ثمار شجرة السنط الكندي (Acacia catechin, cutch tree) كما شخص وجوده ايضا في الشاي الاخضر والاسود والكيوي والكاكاو والتفاح[8]، فضلا عن وجوده وبكميات كبيرة في بذور فاكهة الافوكادو[9]. يتكون مركب الكاتشين من حلقتي بنزين (B,A) مع حلقة ثالثة غير متجانسة Dihydropyran يطلق عليها الرمز (C) مع وجود مجاميع هيدروكسيل في المواقع $C_{\bar{3}}$ $C_{\bar{5}}$من الحلقة B، كما في الشكل (1)، ويمتلك مركب الكاتشين خصائص مضادة للاكسدة فهو بهذا يعد من المركبات الطبيعية ذات الفائدة الواسعة فيما يخص الصحة العامة[10]، ونظراً للخصائص المضادة للاكسدة التي يتمتع بها مركب الكاتشين فهو يعد قانص للجذور الحرة التي تتكون داخل جسم الكائن الحي ويعمل على

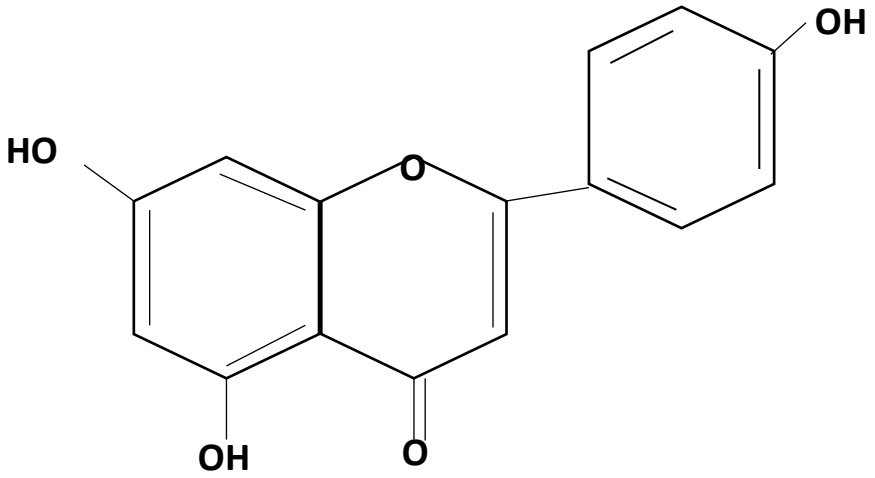
منع حدوث الامراض الناجمة عنها ويساعد في منع مشاركة الايونات المعدنية مثل الحديد والنحاس في تفاعلات الاكسدة من خلال ارتباطه مع ايونات هذه المعادن وتكوين معقدات مخلبية وتحويلها بالنهاية الى الشكل الغير ذائب وتقليل اضرارها على الجزيئات الحيوية كالبروتينات والاحماض النووية[12,11]، وله دور مهم في تقليل المخاطر الناجمة عن امراض القلب والاوعية الدموية من خلال تثبيط تجمع جسيمات (LDL–CH) الحاملة للكوليسترول الضار على جدران الاوعية الدموية[13]، فضلا عن المساهمة في خفض مستوى ضغط الدم وحماية الجلد من تأثير الاشعة الفوق بنفسجية الضارة[14].



شكل (1): التركيب الكيميائي للكاتشين

يعد الأبجنين (Apegenin: $\bar{4}, 5, 7 - Trihydroxy\ Flavone$) عضو من مجموعة مركبات طبيعية من الفلافونيدات (شكل: 2) ذات الاهمية الحيوية الكبيرة[15]، وقد اجريت اولى الدراسات حول الاهمية الحيوية لمركب الأبجنين عام 1960 وبعدها تم تشخيصه كمادة كيميائية وقائية (Chemo–preventive) عام 1980، ثم توالت الدراسات حول مركب الأبجنين نظراً لما يتمتع به من فوائد حيوية كبيرة[16]. يتواجد مركب الأبجنين بكميات كبيرة في الخضراوات والفواكه، كما يكثر تواجده وبنسب عالية في أوراق البقدونس حيث يتواجد بتركيز يقدر بحوالي 45.035 ملي غرام/ غرام من الوزن الجاف للبقدونس[18,17] . يعد مركب الأبجنين من مضادات الاكسدة القوية التي تقوم بمحاربة الجذور الحرة التي تتكون داخل الجسم، فضلا عن كونه مركباً مضاداً للالتهابات والفايروسات والبكتريا والفطريات ويعمل على محاربة الخلايا

السرطانية، كما له دوراً في تنشيط الذاكرة ومحاربة الخلايا السرطانية، كما له دورا في تنشيط الذاكرة ومحاربة مرض الزهايمر[19]. وله دورا وقائيا يتمثل في خفض المستويات العالية للكوليسترول الكلي والدهون الثلاثية وكوليسترول–البروتين الدهني الواطئ الكثافة (الكوليسترول الضار) مقابل رفع مستويات كوليسترول– البروتين الدهني العالي الكثافة (الكوليسترول الحميد). فضلا عن خفض مستويات الكلوكوز العالية في الدم والمساعدة في تقليل الوزن وتنظيم مستويات ضغط الدم العالية[20,19].



شكل (2): التركيب الكيميائي للأبجنين

تعد فاكهة الافوكادو (Persea american Mill) وموطنها الاصلي امريكا اللاتينية من الفواكه المفيدة للصحة العامة، وتكون بشكل ثمرة خضراء اللون ذات شكل يشبه الكمثري وبحجم قبضة اليد (شكل: 3)، وتنتمي فاكهة الافوكادو الى فصيلة الغاريات (Lauraceae) وتعد من الفواكه الغنية بالمغذيات الطبيعية المفيدة لصحة الجسم، اذ يحوي لب فاكهة الافوكادو على نسبة عالية من الاحماض الدهنية غير المشبعة احادية الاصرة المزدوجة مثل حامض الأوليك والمفيدة لصحة الجسم بصورة عامة والقلب بصورة خاصة مثل حامض الأوليك، فضلا عن نسبة قليلة من الاحماض الدهنية غير مشبعة متعددة الاواصر المزدوجة مع نسبة ضئيلة من الاحماض الدهنية المشبعة[21]، فضلا عن تواجد بعض من العناصر المعدنية مثل البوتاسيوم (K) الذي يتواجد بكميات كبيرة في لب فاكهة الافوكادو مقابل نسبة ضئيلة من عنصر الصوديوم (Na)، بالاضافة الى الخارصين (Zn) والنحاس (Cu) والكالسيوم (Ca) والمغنسيوم (Mg) والحديد (Fe) والفسفور (P) بالاضافة الى بعض من الفيتامينات مثل (C,B,A وحامض الفوليك) وبيتا كاروتينات[22]. توجد داخل فاكهة الافوكادو بذرة كبيرة (عادة

يتم رميها والتخلص منها باعتبارها من النفايات) تشكل حوالي 13–18% من وزن الفاكهة الكلي (شكل: 4) وتحوي على العديد من المواد المغذية والفيتامينات والعناصر المعدنية المشار اليها في اعلاه، فضلا عن احتوائها على مضادات الاكسدة الطبيعية وبكميات غزيرة مثل المركبات الفينولية والفلافونيدات، اذ تحتوي بذور فاكهة الافوكادو على نسب عالية من مركب الكاتشين (Catechin) والكورستين (Quercetin) والروتين (Rutin) والكامفيرول (Kampferol) وهي مركبات معروفة بخصائصها القوية المضادة للأكسدة، فضلا عن احتواء البذور على نسبة معقولة من الالياف الغذائية والتي تعطي الشعور بالشبع لفترة طويلة[24,23].

شكل (3): بذرة فاكهة الأفوكادو

شكل (4): فاكهة الأفوكادو

يعد البقدونس او المعدنوس parsley واسمه العلمي (petroselinum crispum) من النباتات العشبية التي تنتمي الى العائلة الخيمية (Apiaceae Family) وهو نبات عشبي ثنائي الحول له سيقان كثيرة تصل ارتفاعها الى (30–60) سنتيمتر تحمل أوراقا مركبة خضراء اللون زاهية ذات ملمس ناعم[25].

ويعد البقدونس من النباتات العشبية الغنية بمضادات الاكسدة الطبيعية والتي منها المركبات الفلافونيدية مثل مركب الأبجنين الذي يتواجد بتراكيز عالية في أوراق البقدونس، فضلا عن تواجد مركب الكامفيرول والليوتيولين (LuteoLin) والكورسيتن في أوراق نبات البقدونس[26]. كما تحتوي أوراق البقدونس على بعض من الفيتامينات والمعادن والزيوت الطيارة[27].

يتسبب الاجهاد التأكسدي Oxidative Stress بإحداث العديد من الامراض التي تصيب الكائن الحي مثل السرطان وامراض القلب والاوعية الدموية وداء السكر وغيرها من الامراض[28].

ويعرف الاجهاد التأكسدي بانه اختلال وعدم توازن بين الانظمة الدفاعية للجسم والتي تعرف عادة بمضادات الاكسدة Antioxidants ومولدات الاكسدة pro-oxidants، والذي يكون سببه في الغالب هو النقص الحاصل في المغذيات الحاوية على مضادات الاكسدة وانتاج مولدات الاكسدة بكميات كبيرة نتيجة الالتهابات والتعرض الى عوامل البيئة التي تسبب حصول هذا الاختلال مثل المعادن السامة والمبيدات والاشعة فوق البنفسجية الضارة التي تؤدي في النهاية الى انتاج الجذور الحرة Free Radicals والتي تكون بشكل ذرات او جزيئات حاوية في غلافها الخارجي على الكترون منفرد مما يجعلها بالتالي غير مستقرة وتميل الى اكتساب الكترون من الجزيئات المحيطة بها[29]. ولخطورة الجذور الحرة، وجدت مضادات لها (مضادات الاكسدة) في جسم الكائن الحي والتي تكون بشكل مضادات اكسدة انزيمية مثل انزيم الكتاليز Catalase وسوبر اوكسيد الدسميوتيز super oxide dismutase وكلوتاثايون بيروكسيديز glutathione peroxidase، او بشكل مضادات اكسدة غير انزيمية مثل الكلوتاثايون وفيتامين C,E وحامض اليوريك والكاروتينات[31,30]، فضلا عن مضادات الاكسدة الطبيعية التي توجد في العديد من الاغذية مثل المركبات الفينولية والفلافونيدات التي تعمل على حماية ودعم النظام المناعي لجسم الكائن الحي من الاثار السمية والسلبية الناجمة عن الجذور الحرة من خلال ايقاف وانهاء تفاعلاتها المتسلسلة وتحويلها الى الحالة المستقرة[12].

تهدف هذه الدراسة الى عزل وتشخيص مركب الكاتشين من بذور فاكهة الافوكادو، وعزل وتشخيص مركب الأبجنين من أوراق نبات البقدونس والتحري عن دورهما الوقائي والمضاد للاكسدة لبعض من المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم ذكور الجرذان المعرضين للكرب التأكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2 0.5%).

المواد وطرائق العمل:

النباتات المستخدمة في الدراسة:

تم استخدام فاكهة الافوكادو (Preesea americana Mill) ونبات البقدونس (Petroselinum crispum)، وتم الحصول على فاكهة الافوكادو من الاسواق المحلية في مدينة اربيل ومدينة الموصل، كما تم الحصول على نبات البقدونس من الاسواق المحلية لمدينة الموصل. جرى تنظيف فاكهة الافوكادو من الاتربة والغبار وغسلت جيداً بالماء العادي ثم الماء المقطر وجففت جيداً بقطعة من الشاش الطبي، ثم جرى فصل القشرة الخارجية واللب لاجل الحصول على البذور.

قُطعتْ البذور الى قطع صغيرة ووضعت في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 40° م ولمدة ست ساعات للتخلص من الرطوبة[32]، بعد ذلك تم طحن البذور الجافة بوساطة الة طحن القهوة وتم الحصول على مسحوق جاف ناعم تم وضعه في اكياس بلاستيكية وحفظه في المجمدة لحن استعماله في التجارب اللاحقة[33]. تم تنظيف أوراق البقدونس بعد ان فصلت عن السيقان وغسلت بالماء العادي ثم الماء المقطر وجففت جيداً ثم اتبعت نفس الطريقة أعلاه، للحصول على مسحوق جاف لأوراق البقدونس، تم وضعه في اكياس بلاستيكية وحفظ بالمجمدة لحين اجراء التجارب اللاحقة.

عزل مركب الكاتشين:

تم عزل مركب الكاتشين من المسحوق الجاف لبذور فاكهة الافوكادو بالاعتماد على طريقة الباحث[34]، اذ تم مزج (50) غراماً من مسحوق البذور الجافة مع (500) ملليلتر من الماء المقطر ووضع المزيج في الحمام المائي بدرجة حرارة 50°م ولمدة 4 ساعات مع التحريك المستمر، بعد ذلك رشح المزيج باستعمال ورقة ترشيح واتمان(1) ثم طرد مركزي لمدة (15) دقيقة وعلى سرعة (2500 rpm) لاجل التخلص من العوالق والشوائب، ثم نقل الراشح الرائق الى قمع فصل جاف ونظيف واضيف له كلوروفورم بنسبة (1 حجم الراشح: 1 حجم كلوروفورم) لاجل ازالة المركبات اللاقطبية وتم خلط المزيج بصورة جيدة ثم ترك لمدة ساعة واحدة لانفصال طبقتين، الطبقة العلوية تمثل المائية والطبقة السفلية هي طبقة الكلوروفورم (تهمل). نقلت الطبقة المائية الى قمع فصل ثانٍ جاف ونظيف واضيف اليها خلات الاثيل (1 حجم الراشح: 1 حجم

خلات الاثيل) لاجل التخلص من المركبات ذات القطبية الواطئة، وتم خلط المزيج بصورة جيدة ثم ترك لمدة 24 ساعة لانفصال طبقتين، الطبقة العلوية تمثل خلات الاثيل (تهمل) والطبقة السفلية تمثل طبقة الانموذج (الكاتشين) والتي تم جمعها وتركيزها الى تقريبا ثلث حجمها الاصلي بوساطة المبخر الدوار Rotary Evaporator تحت الضغط المخلخل وعلى درجة حرارة 50°م، ثم جفف المحلول المركز الذي تم الحصول عليه بوساطة جهاز المجفد (التجفيف بالتبريد) (Loyophilizer) وتم الحصول على مسحوق بني غامق تم جمعه في قناني معتمه محكمة السد وحفظ في التبريد لحين اجراء التجارب اللاحقة عليه.

عزل مركب الأبجنين:

الخطوة الاولى: تم عزل مركب الأبجنين من المسحوق الجاف لأوراق البقدونس بالاعتماد على طريقة الباحث[35]، مع اجراء بعض التعديلات فقد استخدم (25) غراما من المسحوق الجاف لأوراق البقدونس ووضعت في كشتبانة سليلوزية (Thimple) جافة ونظيفة ووضعت في جهاز الاستخلاص التام (Soxhlet) مع مذيب الايثانول 70% واستمرت عملية الاستخلاص مدة (5) ساعات اجري بعدها عملية ترشيح للسائل الناتج من عملية الاستخلاص ثم عملية طرد مركزي على سرعة (2500 rpm) ولمدة 30 دقيقة، ثم وبدرجة 50°م للتخلص من الايثانول. جفف المحلول المركز (المستخلص الخام) بوساطة المجفد (التجفيف بالتبريد) وتم الحصول على مسوق اخضر اللون والذي وضع في قناني معتمة اللون محكمة السد وحفظفي التبريد لحين اجراء التجارب اللاحقة عليه.

الخطوة الثانية: اكملت عملية فصل مركب الأبجنين باستعمال عمود الفصل الكروماتوغرافيا والذي تراوح طوله 60سم وقطره 2سم ومعبأة بمادة هلام السليكا (Mesh 60–120)، وقد حضر العمود بمزج 10 غرام من هلام السليكا مع كمية مناسبة من مذيب الهكسان مع مراعاة المزج بصورة جيدة ثم تمت تعبئة العمود بمقدار (3/1) من طوله، بعد ذلك اكملت عملية الفصل بأخذ (10 غرام) من مسحوق المستخلص الجاف ومزجت مع كمية قليلة جدا من هلام السليكا كمادة إدمصاص وحقنت أعلى العمود بحذر واستخدم نظام المذيبات (n– بيوتانول: ماء مقطر: حامض الخليك) بنسب حجمية (12: 2: 1) على التوالي كطور متحرك، وتم الحصول على اجزاء Fractions ركزت بوساطة المبخر الدوار تحت الضغط المخلخل وجرى فحص اولي للأجزاء المفصولة بوساطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) للكشف عن وجود مركب الأبجنين في الاجزاء المفصولة وباستخدام صفائح رقيقة من الالمنيوم المانية المنشأ مطلية بطبقة رقيقة من هلام السليكا وبابعاد (20 * 20)سم وبسمك

(0.2) ملم، تم وضع الانموذج اسفل الصفيحة على شكل بقع صغيرة وباستعمال ماصة مايكروية وباستعمال نظام الفصل المكون من (n – بيوتانول: ماء مقطر: حامض الخليك) وبنسب حجمية (12: 2: 1) على التوالي كطور متحرك، واستخدم مركب الأبجنين القياسي لمقارنة وجوده في النماذج المعزولة، وتم تظهير البقع بوساطة كلوريد الحديديك (1%) وحسب معامل الانسيابية (Rf) للبقع المفصولة للنماذج وللمركب القياسي بتطبيق المعادلة التالية:

Rf = المسافة التي يقطعها الانموذج / المسافة التي يقطعها المذيب

جمعت الاجزاء التي اعطت قيم (Rf) مقاربة او مساوية لقيمة (Rf) لمركب الأبجنين القياسي وركزت بالمبخر الدوار وجففت بوساطة المجفد (تجفيف بالتبريد) وتم الحصول على مسحوق جاف حفظ في قناني معتمة محكمة السد وضعت في التبريد لحين اجراء التجارب اللاحقة.

جرى تشخيص مركب الكاتشين المعزول من بذور فاكهة الافوكادو ومركب الأبجنين المعزول من أوراق البقدونس باستعمال جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء (HPLC) نوع SYKAM الماني المنشأ في مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا/ دائرة البيئة والمياه في محافظة بغداد وباستعمال عمود فصل نوع C_{18}–OSD بابعاد 4.6 ملم 25 X سم، وقد استخدم كاشف نوع **S2340**–UV عند طول موجي 360 نانوميتر وسرعة جريان 1 مل/ دقيقة والطور المتحرك بتركيزين مختلفين مكون من مزيج محلول A (ميثانول: ماء مقطر: حامض الخليك) وبنسب (25: 13: 2) على التوالي مع المحلول B (ميثانول: ماء مقطر: حامض الخليك) وبنسب (25: 70: 5) على التوالي وقد استخدم مركب الكاتشين ومركب الأبجنين القياسيين[36].

الحيوانات المستخدمة في الدراسة الحالية:

استخدم في هذه الدراسة 48 من ذكور الجرذان البالغة من نوع Albino Rats وبعمر (10 ± 1 أسبوعياً) وباوزان تراوحت (200 – 250) غراما وتم الحصول عليها من بيت الحيوانات المختبرية في كلية الطب البيطري / جامعة الموصل وتم تربية الحيوانات في حقل الحيوانات في كلية الطب البيطري / جامعة الموصل في غرفة خاصة متوفرة فيها الشروط الصحية لتربية الحيوانات من تغذية واضاءة وتهوية ودرجة حرارة، كما جرى مراعاة النظافة لاقفاص الحيوانات وتعقيمها وتبديل نشارة الخشب كل 4 أيام وتركت الحيوانات لمدة اسبوعين

دون معاملة للتأكد من خلوها من الامراض، ثم قسمت عشوائياً الى اربع مجاميع بواقع 6 جرذ لكل مجموعة وكالتالي:

المجموعة الاولى (مجموعة السيطرة السالبة السليمة): اعطيت العلف والماء الاعتيادي ولمدة اربع اسابيع وقد اعطيت الرمز A لمركب الكاتشين والرمز $\bar{A}$ لمركب الأبجنين.

المجموعة الثانية (مجموعة سيطرة H_2O_2): اعطيت العلف وماء الشرب الحاوي على (H_2O_2 0.5%) ولمدة اربع اسابيع. وقد اعطيت الرمز B لمركب الكاتشين والرمز $\bar{B}$ لمركب الأبجنين.

المجموعة الثالثة (مجموعة الجرذان السليمة + المركب المعزول): مع إعطائها ولمدة أربعة أسابيع من مركب الكاتشين بجرعة (50 ملغم/كغم من وزن الجسم) وقد اعطيت الرمز C ، اما مجموعة مركب الأبجنين فقد أعطيت ولمدة أربعة أسابيع جرعة مقدارها (50 ملغم/كغم من وزن الجسم) من مركب الأبجنين واعطيت الرمز $\bar{C}$.

المجموعة الرابعة (مجموعة H_2O_2 + المركب المعزول): مع إعطائها ولمدة أربعة أسابيع من مركب الكاتشين بجرعة (50 ملغم/كغم من وزن الجسم) وقد اعطيت الرمز D ، اما مجموعة مركب الأبجنين فقد أعطيت ولمدة أربعة أسابيع جرعة مقدارها (50 ملغم/كغم من وزن الجسم) من مركب الأبجنين واعطيت الرمز $\bar{D}$.

جمع نماذج الدم:

تم جمع نماذج الدم من مجاميع الحيوانات والخاصة بكل مركب خلال الفترات: قبل المعاملة (الزمن صفر)، بعد مرور اسبوعين، بعد مرور اربع اسابيع عن طريق تخدير الجرذان بالايثر ولبضع ثوان تم سحب الدم من محجر العين بوساطة انابيب شعرية خاصة وسمح للدم بالانسياب الى انابيب جافة ونظيفة ومعقمة وخالية من المواد المانعة للتخثر وترك الدم ليتخثر وبعدها وضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي على سرعة (3500 rpm) ولمدة (10) دقائق لفصل مصل الدم عن الجزء المتخثر[37] . وتم تقسيم مصل الدم ولكل عينة الى ثلاث اقسام وتم وضعها في انابيب بلاستيكية صغيرة نظيفة (Eppendrof Tube) وتم تقدير تركيز الكلوكوز مباشرة في مصل الدم بعد فصل المصل عن الجزء المتخثر، ثم حفظ المصل لاحقا في المجمدة لحين استعماله في التحاليل لاحقاً.

الطرائق المستخدمة لقياس المتغيرات الكيموحيوية المحددة في الدراسة:

تم تقدير تركيز الكلوكوز في مصل دم ذكور الجرذان باستعمال عدة التحاليل الجاهزة من شركة (Biolabo) الفرنسية، اذ تتأكسد مجموعة الالديهايد في جزيئة الكلوكوز بفعل انزيم كلوكوز اوكسيديز ليتكون حامض الكلوكونيك و H_2O_2 والذي بدوره يتفاعل مع الفينول و 4–امينو انتي بايرين وبوجود انزيم البيروكسيديز ليعطي صبغة الكوينون امين الوردية اللون، وتتناسب شدة اللون للصبغة مع تركيز الكلوكوز في العينة[37] وقدر تركيز اليوريا في مصل دم ذكور الجرذان باستعمال عدة التحاليل الجاهزة من شركة (BioLabo) الفرنسية، اذ يقوم انزيم اليوريز Urease بتحرير الامونيا وفي وسط قاعدي، وتتفاعل بعدها الامونيا المتحررة مع مركب الهايبوكلورايت والسالسليت فيتكون معقد ملون والذي تتناسب شدة امتصاصيته مع تركيز اليوريا في العينة[38].

وقد قدر تركيز حامض اليوريك (UA) في مصل دم ذكور الجرذان باستعمال عدة التحاليل الجاهزة من شركة (spinreact) الاسبانية حيث يقوم انزيم اليوريكيز Urecase باكسدة حامض اليوريك الى مركب ذائب Allantoine و H_2O_2 والذي بدوره يتفاعل مع 2–4– ثنائي كلوروفينول حامض السلفونيك 4–امينو فينازون وبوجود انزيم البيروكسيديز فيتكون صبغة وردية اللون تتناسب شدة امتصاصها للضوء في جهاز المطياف الضوئي مع تركيز حامض اليوريك في العينة[39]. وقد تم تقدير تركيز بروتين سي التفاعلي (CRP) في مصل دم باستعمال عدة التحاليل الجاهزة من شركة (Plasmatec) الفرنسية، اذ يعتمد القياس فيها على التفاعل المناعي الحاصل بين جسيمات اللاتكس (Latex Particles) والمصنوعة من مادة بولي ستايرين والمغطاة بمضاد الاجسام المضاد للبروتين التفاعلي البشري سي (Anti–Human CRP Antibodies) نتيجة لتكوين معقد الضد–مستضد وظهور التلازن Agglutination دليل على ارتفاع مستوى (CRP 6< mg/L) في مصل الدم عن مستواه الطبيعي[40]. وقد قدر تركيز الكلوتاثايون GSH في العينة بالاعتماد على طريقة كاشف إيلمان[41]، وقدر تركيز المالونداياليديهايد MDA في مصل دم ذكور الجرذان عن طريق استعمال طريقة تفاعل حامض الثايوباربيوتريك TBA[42]. وقدر تركيز جذر البيروكسي نتريت ($ONOO\dot{}$) بالاعتماد على طريقة نترتة الفينول[43].

التحليل الاحصائي:

اجري التحليل الاحصائي باستعمال برنامج التحليل الاحصائي $SPSS_{17}$ لايجاد المعدل Mean والخطأ القياسي Standard Error وتم اختيار Duncan Test بتحليل ANOVA للمقارنة بين أكثر من متغيرين وايجاد الاختلاف بين القيم والتي ظهرت من خلال قيم الاحتمالية

(P (P–Value والتي عدت عند ($P\leq0.05$) اختلافاً معنوياً، أما عند ($P>0.05$) فهي اختلافا غير معنوي[44].

النتائج والمناقشة:

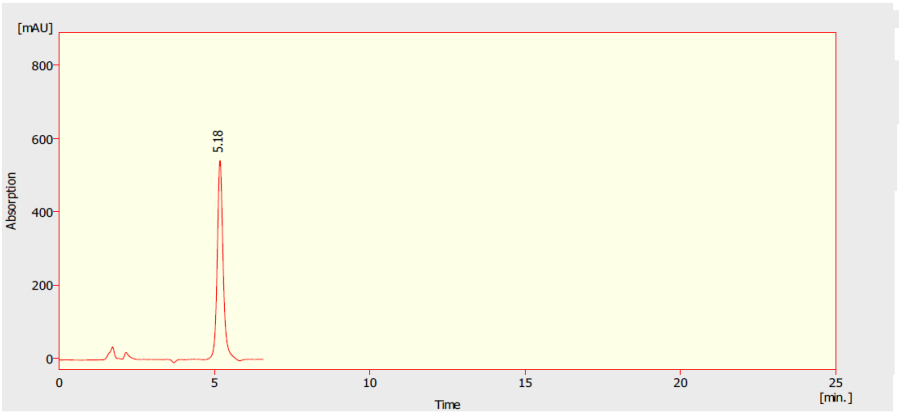
تعتبر بذور فاكهة الافوكادو (التي عادة تكون من المخلفات ويتم رميها) من الاجزاء المهمة فضلا عن اللب وقشرة البذور، كونها تعد مصدراً غنياً بمضادات الاكسدة الطبيعية من صنف المركبات الفلافونيدية مثل الكاتشين والكورستين والكامفيرول والروتين وغيرها، والتي تساهم في كبح وقنص الجذور الحرة وبالتالي تعمل على التقليل من عملية بيروكسدة الدهون Lipid Peroxidation والوقاية من السرطان من خلال منع نمو وتكاثر الخلايا السرطانية[45]. وقد تم عزل مركب الكاتشين من المسحوق الجاف لبذور فاكهة الافوكادو بالاعتماد على طريقة التجزئة وعلى مرحلتين، إذ اعتمد في طريقة الفصل على الاختلاف في درجات القطبية والتي تُعد من العوامل المهمة التي تتحكم في قابلية ومدى ذوبانية المركبات في المذيبات، فعند مزج المستخلص الخام الذي يحوي على مركب الكاتشين مع الماء المقطر والكلوروفورم، أدى ذلك الى عزل وازالة المركبات اللاقطبية عن المركبات القطبية (مثل الكاتشين) وفي المرحلة الثانية وعند مزج الانموذج الذي نتج من خطوة الفصل الاولى مع خلات الايثل، فان المحصلة النهائية هي ازالة المركبات ذات القطبية الواطئة. تم تركيز الطبقة المائية التي تم الحصول عليها من الخطوة الاخيرة وجففت بوساطة المجفد ووضع في التبريد حتى اجراء الخطوة اللاحقة[34].

يعتبر الأبجنين من المركبات الفلافونيدية والتي تتواجد بغزارة وبكميات كبيرة في أوراق نبات البقدونس، وتم عزل الأبجنين من المسحوق الجاف لأوراق البقدونس على مرحلتين، اذ تضمنت المرحلة الاولى استخدام عملية الاستخلاص المستمر مع مذيب الايثانول 70% للحصول على مستخلص خام والذي يكون مركب الأبجنين من ضمن مكوناته وبعد عملية تركيز المستخلص الخام الذي نتج من الخطوة الاولى، تم اكمال عملية الفصل بوساطة عمود فصل الكروماتوغرافيا والتي من خلالها تم الحصول على اجزاء مفصولة والتي اجري لها فيما بعد اختبار اولي للكشف عن وجود مركب الأبجنين وباستعمال تقنية TLC وتم حساب معامل الانسيابية Rf للاجزاء المفصولة ومقارنتها مع معامل الانسيابية Rf للابجنين القياسي والذي كان مساويا الى (0.83)، جمعت الاجزاء التي احتوت على الأبجنين وركزت بالمبخر الدوار تحت الضغط المخلخل وتم تجفيف المحلول المركز بوساطة المجفد وحفظ المسحوق الجاف الذي تم الحصول عليه في التبريد لحين اجراء التجارب اللاحقة عليه[35].

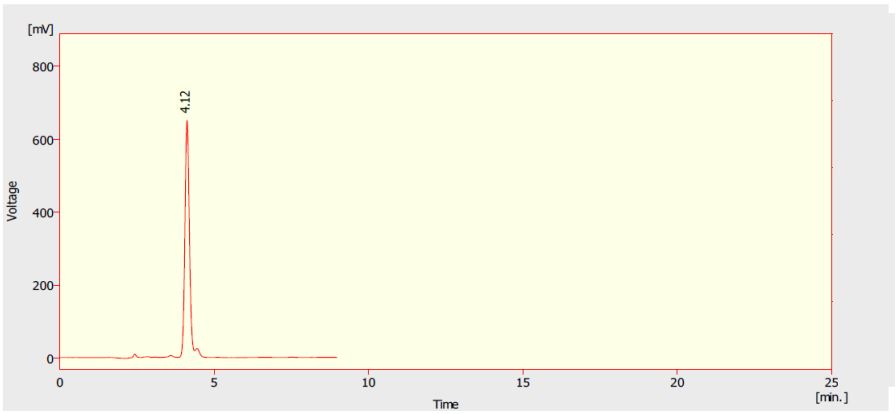
تم تشخيص مركب الكاتشين ومركب الأبجنين المعزلين بوساطة تقنية HPLC عن طريق مقارنة زمن الاحتباس (Rt) لقمة مركب الكاتشين مع (Rt) لقمة مركب الكاتشين القياسي، و (Rt) لقمة مركب الأبجنين المعزول مع (Rt) لقمة مركب الأبجنين القياسي وكما موضح في جدول (1)، وقد ظهرت قمة واحد لمركب الكاتشين وقمة واحدة لمركب الأبجنين مما يدل على نقاوة المركبات المعزولة وعدم وجود مركبات اخرى وكما موضح في شكل (5).

جدول (1): زمن الاحتجاز للمركبات القياسية (الكاتشين والأبجنين) والكاتشين والأبجنين المعزولين

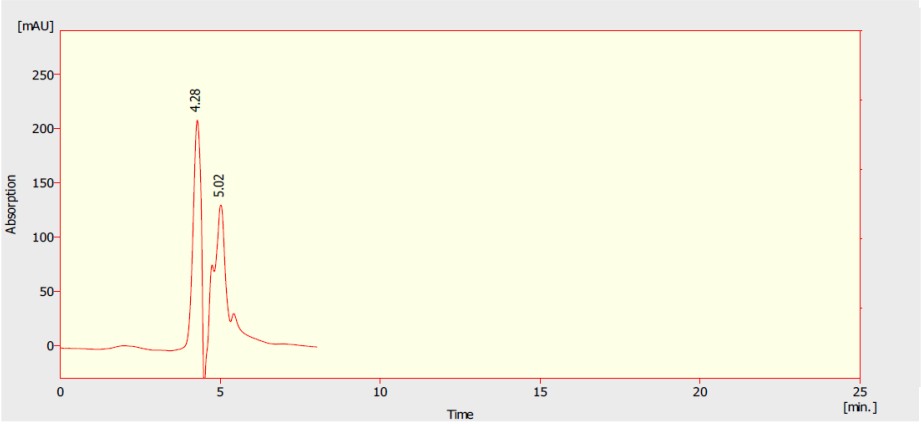
رقم القمة	زمن الاحتجاز Rt/ دقيقة للمركبات المعزولة	زمن الاحتجاز Rt/ دقيقة للمركبات القياسية	تشخيص القمة
1	4.280	4.124	مركب الأبجنين
2	5.020	5.177	مركب الكاتشين



شكل (5): كروماتوكرام **HPLC** مركب الكاتشين القياسي



شكل (6): كروماتوكرام **HPLC** مركب الأبجنين القياسي



شكل (7): كروماتوكرام HPLC المركبات المعزولة (كاتشين وأبجنين)

المتغيرات الكيموحيوية المدروسة:

1. الكلوكوز Glucose

اشارت النتائج الموضحة في الجدول (2) والجدول ($\bar{2}$) حصول ارتفاعا معنويا في تركيز الكلوكوز ولجميع فترات المعاملة في المجموعة المعاملة بمادة بيروكسيد الهيدروجين (B) مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة (A)، فضلا عن حصول ارتفاع معنوي في تركيز الكلوكوز في المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين ($\bar{B}$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة $\bar{A}$. تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج الباحث[46]، اذ ان المعاملة بمادة بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب تؤدي الى احداث حالة الكرب (الاجهاد) التأكسدي كرد فعل على زيادة الجذور الحرة ومنها اصناف الاوكسجين الفعالة ROS والتي تعمل على مهاجمة خلايا بيتا البنكرياسية في جزر لانكرهانز مما يؤدي الى تحطمها وايقاف عملية تصنيع وافراز الانسولين وهذا يؤدي في النهاية الى ايقاف التقاط الكلوكوز من قِبل الخلايا مما يعمل على رفع مستوى كلوكوز الدم، فضلا عن تنشيط عملية تكوين الكلوكوز من مصادر غير كاربوهيدراتية لسد النقص الحاصل في الطاقة وزيادة في عملية تحلل الكلايكوجين[47]. وقد أدت المعاملة بمركب الكاتشين ومركب الأبجنين وكلا على انفراد الى حصول انخفاض غير معنوي في تركيز الكلوكوز في مصل دم المجموعة (C) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السليمة (A) وانخفاضا معنويا في تركيز الكلوكوز في مصل دم المجموعة ($\bar{C}$) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السليمة ($\bar{A}$) وهذا يشير الى الدور الوقائي للكاتشين والأبجنين كونهما من مضادات الاكسدة الطبيعية التي تعمل على

الحد من انتاج وتراكم الجذور الحرة في الجسم وتنشيط الانزيمات المضادة للأكسدة[48] ،واظهرت النتائج في الجدولين (2، $\bar{2}$) حصول انخفاضا معنويا في تركيز الكلوكوز في مصل الدم ذكور الجرذان المعاملين ببيروكسيد الهيدروجين 0.5% مع مركب الكاتشين (مجموعة C) ولفترة المعاملة اسبوعين واربع اسابيع بالمقارنة مع السيطرة الموجبة (B)، وحصول انخفاضا معنويا في تركيز الكلوكوز في مصل دم ذكور الجرذان المعاملين ببيروكسيد الهيدروجين 0.5% مع مركب الأبجنين (مجموعة $\bar{C}$) ولفترة المعاملة اسبوعين واربع اسابيع عند مقارنتها مع السيطرة الموجبة ($\bar{B}$) وقد يعزى الانخفاض في تركيز الكلوكوز في مصل دم ذكور الجرذان الى ان مركب الكاتشين والأبجنين يعدان من المركبات الفلافونيدية المضادة للاكسدة التي تقوم بقنص وكبح الجذور الحرة الناتجة من تاثير بعض المعادن كالحديد والنحاس وتحويلها الى معقدات مخلبية غير ذائبة وبالتالي تقليل اضرارها على خلايا بيتا البنكرياسية[7]، وبوجود الكاتشين والأبجنين قد تستعيد خلايا بيتا البنكرياسية نشاطها من خلال افراز كميات منتظمة من الانسولين لاجل تقليل المستويات العالية للكلوكوز، فضلا عن تحسين عمل المستقبلات الخلوية للانسولين مما يؤدي بالتالي الى زيادة التقاطها للكلوكوز وخفض مستواه في الدم[49].

جدول (2): تأثير مركب الكاتشين على تركيز الكلوكوز في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز الكلوكوز (ملي مول/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة weeks 2	فترات المعاملة weeks 4
1	السيطرة السالبة A	0.133±4.500 Aa	0.272±4.602 Ba	0.283±4.400 Ba
2	السيطرة الموجبة B	0.186±4.640 Aa	0.127±5.962 Cb	0.148± 6.780 Cc
3	الحيوانات السليمة +الكاتشين C	0.186± 4.640 Ab	0.225± 3.907 Aba	0.061± 3.470 Aba
4	مجموعةH_2O_2+الكاتشين D	0.170± 4.407 Ab	0.200± 4.010 ABa	0.251±3.625 Aa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدلMean ± الخطأ القياسي

**الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

جدول ($\bar{2}$): تاثير مركب الأبجنين على تركيز الكلوكوز في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	**المعاملات**	**تركيز الكلوكوز (ملي مول/ لتر)**		
		قبل المعاملة Zero time	**فترات المعاملة weeks 2**	**فترات المعاملة weeks 4**
1	السيطرة السالبة $\bar{A}$	0.190±4.672 Aa	0.301±4.599 Aa	0.248±4.399 Aa
2	السيطرة الموجبة $\bar{B}$	0.209±4.572 Aa	0.299±6.017 Bb	0.183± 6.982 Cc
3	الجرذان السليمة +الأبجنين $\bar{C}$	0.213± 4.745 AC	0.174± 3.933 Ab	0.117± 3.375 Aa
4	مجموعةH2O2+ الأبجنين $\bar{D}$	0.245± 4.985 Ac	0.219± 4.295 Ab	0.090±3.360 Aa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي

** الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

2. اليوريا Urea

اظهرت النتائج في جدول (3) وجدول ($\bar{3}$) حصول ارتفاع معنوي في تركيز اليوريا ولجميع فترات المعاملة في مصل الدم لذكور الجرذان المعاملين بـ (H_2O_2 0.5%) مجموعة(B) ومجموعة($\bar{B}$) بالمقارنة مع مجاميع السيطرة السليمة (A) و ($\bar{A}$) وكل على انفراد تتفق هذه النتائج مع نتائج الباحث[51,50].

تؤدي المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) ولفترة طويلة الى حصول اضراراً بالغة لنسيج الكلى ويؤدي في النهاية الى حدوث قصور في وظائف الكلى وارتفاعاً في بعض المؤشرات الكيموحيوية في الدم ومنها اليوريا[52]. وقد تؤدي الزيادة في تراكيز جذر ($\dot{O}_2^-$) وجذر ($O\dot{H}$) الى احداث تلف في التركيب النسيجي للكبيبات الكلوية مؤديا الى حصول اعتلالات مرضية تؤدي بالتالي انخفاض في عدد وحدات الترشيح الكبيبي مما يؤثر بالنهاية على مستوى الترشيح الكلوي وعملية الافراز واعادة الامتصاص في النبيبيات الكلوية ويعمل على منع طرح اليوريا الفائضة مع الادرار وبالتالي زيادة مستواها في الدم[53]، كما ان فقدان المصدر الرئيسي للطاقة والبحث عن مصادر اخرى ومنها البروتينات كمصدر بديل للطاقة يؤدي بالتالي الى تحرر كميات كبيرة من الامونيا[54].

ادت المعاملة بالكاتشين والأبجنين وكل على انفراد الى حصول انخفاض غير معنوي في تركيز اليوريا في مصل دم المجموعة (C) عند مقارنتها مع (A) والمجموعة ($\bar{C}$) عند مقارنتها مع المجموعة ($\bar{A}$) وهذا يشير الى الدور الوقائي للكاتشين والأبجنين في المحافظة على مستويات منتظمة ومعتدلة لليوريا في مصل الدم من خلال تأثيرهما الايجابي والواقي على نسيج الكلى، واظهرت النتائج في جدول (3) وجدول ($\bar{3}$) حصول انخفاضاً معنوياً ولجميع فترات المعاملة في تركيز اليوريا في مصل دم ذكور الجرذان للمجموعة (D) عند مقارنتها مع نظيرتها مجموعة السيطرة الموجبة (B) والمجموعة ($\bar{D}$) عند مقارنتها مع نظيرتها المجموعة ($\bar{B}$). ويعزى السبب الى التأثير الواقي للكاتشين والأبجنين لانسجة الكلى اذ تعمل هذه المركبات على كسح وازالة الجذور الحرة ومنع تراكمها على نسيج الكلى وبالتالي تحسين وظيفة الكلى مما يؤدي في النهاية الى زيادة طرح اليوريا مع الادرار[55]. فضلا عن ان هذه المركبات ونظراً لخصائصها المضادة للاكسدة القانص للجذور الحرة وبالتالي تسهم في توفير مصدر الطاقة للكلوكوز مما يقلل من استخدام البروتينات كمصدر للطاقة وبالتالي منع تحرر كميات كبيرة من اليوريا[50].

جدول (3): تاثير مركب الكاتشين على تركيز اليوريا في مصل دم ذكور الجذران

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز اليوريا (ملي مول/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة	
			weeks 2	weeks 4
1	السيطرة السالبة A	0.447±6.432 Aa	0.326±5.705 ABa	0.264±5.762 Aa
2	السيطرة الموجبة B	0.309±6.172 Aa	0.286±8.137 Cb	0.745±12.090 Bc
3	الجرذان السليمة +الكاتشين C	0.603±7.215 Ab	0.453±5.925 Bba	0.434± 4.525 Aa
4	مجموعةH_2O_2 + الكاتشين D	0.325±5.850 Ab	0.143± 4.912 Aa	0.110±4.685 Aa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي

** الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

جدول ($\bar{3}$): تأثير مركب الأبجنين على تركيز اليوريا في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز اليوريا (ملي مول/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة	
			weeks 2	weeks 4
1	السيطرة السالبة $\bar{A}$	0.476±5.975 Aa	0.577±6.112 Aa	0.403±5.497 Ba
2	السيطرة الموجبة $\bar{B}$	0.288±5.877 Aa	0.307±9.122 Bb	0.819±13.175 Cc
3	الجرذان السليمة +الأبجنين $\bar{C}$	0.128± 6.005 Ab	0.204± 5.190 Aa	0.308± 4.497 Aba
4	مجموعة H2O2+ الأبجنين $\bar{D}$	0.464± 6.562 Ab	0.323±6.152 Ab	0.258±4.627 Aba

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي

** الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$.

3. حامض اليوريك: Uric Acid (UA)

اظهرت نتائج الدراسة الموضحة في جدول (4) وجدول ($\bar{4}$) حصول ارتفاعا معنويا في تركيز حامض اليوريك (UA) ولفترات المعاملة اسبوعين واربع اسابيع للمجاميع المعاملة بـ B) H_2O_2 0.5%) و($\bar{B}$) عند مقارنتها مع مجاميع السيطرة السليمة (A) و ($\bar{A}$) وكل على انفراد، يُعد حامض اليوريك الناتج الاخير في مسار ايض البيورينات ويتم طرحه خارج الجسم مع الادرار تحت الظروف الفسيولوجية الطبيعية لجسم الكائن الحي ويعد من مضادات الاكسدة الداخلية المنشأ ويعمل على قنص ومنع الجذور الحرة [56].

وقد يعزى السبب في الارتفاع المعنوي في تركيز UA للمجاميع المعاملة بـ (H_2O_2 0.5%) الى حالة الكرب التأكسدي التي عملت على انهاك انظمة الدفاع المضادة للاكسدة وادت بالتالي الى الحاق اضراراً بالغة في مكونات الخلية ومنها الاحماض النووية والقواعد النتروجينية وزيادة تفكك البيورينات ، كما ان الانخفاض الحاصل في عدد وحدات الترشيح الكبيبي نتيجة الخلل في وظائف الكلى كرد فعل على حالة الاجهاد التأكسدي وحصول التنخرات والالتهابات في الكبيبات الكلوية يؤدي بالتالي الى تراكم نواتج العمليات الايضية ومنها UA ومنع طرحها خارج الجسم مع الادرار وبالتالي زيادة مستواها في مصل الدم [58,57].

بينت نتائج التحليل الاحصائي الموضحة في الجدولين (4، $\bar{4}$) حصول انخفاض معنوي في تركيز UA في مصل دم المجموعة (C) ولجميع فترات المعاملة والمعاملين بمركب الكاتشين عند مقارنتها مع نظيرتها المجموعة (A)، وانخفاضا غير معنويا في مصل دم المجموعة ($\bar{C}$) المعاملة بمركب الأبجنين عند مقارنتها مع نظيرتها ($\bar{A}$)، كما ادى معاملة المجموعة (D) بمركب الكاتشين الى حصول انخفاضا معنويا ولجميع فترات المعاملة عند مقارنتها مع نظيرتها المجموعة (B) وحصول انخفاضا معنويا في مصل دم المجموعة ($\bar{D}$) المعاملة بالأبجنين ولجميع فترات المعاملة عند مقارنتها مع نظيرتها ($\bar{B}$) ويعزى السبب الى الخصائص المضادة للاكسدة للكاتشين والأبجنين وعملها على تحسين وتعديل مستويات المؤشرات الحيوية لوظائف الكلى والحد من الاكسدة الفوقية التي تحصل لنسيج الكلى وحمايته من اضرار الجذور الحرة من خلالها قنصها ومنع تفاعلاتها المتسلسلة ووصولها الى نواتجها النهائية الضارة ورفع وتحسين كفاءة الكلى في طرح حامض اليوريك[59]. فضلا عن دورهما الايجابي في تحسين افراز

الانسولين من خلايا بيتا البنكرياسية والذي يكون له دور فعّال في المساعدة لزيادة بناء البروتينات مما يؤدي بالتالي الى تقليل مستويات UA في الدم [60].

جدول (4): تأثير الكاتشين على تركيز حامض اليوريك في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز حامض اليوريك (مايكرو مول / لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة weeks 2	فترات المعاملة weeks 4
1	السيطرة السالبة A	0.055±1.942 Aa	0.317±1.837 Ca	0.188±1.700 Ba
2	السيطرة الموجبة B	0.043±1.935 Aa	0.191±3.570 Db	0.745±12.090 Cc
3	الجرذان السليمة +الكاتشين C	0.189±1.500 Ab	0.102±1.290 ABab	0.152± 4.367 Ab
4	مجموعةH_2O_2+ الكاتشين D	0.050±1.390 Ab	0.043± 1.060 Ab	0.091±0.760 ABa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي.

** الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

جدول ($\bar{4}$): تأثير مركب الأبجنين على تركيز حامض اليوريك في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز حامض اليوريك (مايكرو مول/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة weeks 2	فترات المعاملة weeks 4
1	السيطرة السالبة $\bar{A}$	0.061±1.737 Aa	0.039±1.922 Ba	0.098±1.697 Aa
2	السيطرة الموجبة $\bar{B}$	0.410±1.597 Aa	0.201±2.542 Cb	0.103±3.755 Bc
3	الجرذان السليمة+الأبجنين $\bar{C}$	0.039± 1.873 Ac	0.056±1.713 Bb	0.381± 1.060 Aa
4	مجموعةH_2O_2 + الأبجنين $\bar{D}$	0.299±2.755 Ab	0.542±1.266 Aa	0.179±0.933 Aa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي.

**الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$.

4. بروتين سي التفاعلي (C-Reactive protein (CRP

اظهرت النتائج الموضحة في الجدول (5) والجدول (5) حصول ارتفاعاً معنوياً ولفترة المعاملة اربع اسابيع في مستوى CRP لمجاميع ذكور الجرذان (B) عند مقارنتها مع السيطرة السليمة (A) وأرتفاعاً معنوياً في مصل دم المجموعة ($\bar{B}$) عند مقارنتها مع السيطرة السليمة ($\bar{A}$). يُعد بروتين سي التفاعلي من انواع بروتينات الطور الحاد Acute phase protein والتي ترتفع مستوياتها في مصل الدم كرد فعل للحالات الالتهابية، اذ يتم افرازه من خلايا الكبد وتكون تحت سيطرة السايتوكينات الاولية (الموالية للالتهابات) Pro-inflammatory cytokines ومنها TNF-α, IL-$_6$, IL-$_1$ والتي تقوم بتنشيط التعبير الجيني لزيادة استنتساخ جين CRP في الخلايا وبالتالي رفع مستواه في الدم خلال (2) ساعة من حصول الالتهابات [61,57]، كما ان عملية الاجهاد التاكسدي المستحثة ببيروكسيد الهيدروجين تؤدي الى تنشيط العامل النووي كابا KF-kB) Nuclear Factor Kappa-Light Chain Enhancer of Activated B) .Cells

الذي يتواجد في سايتوبلازم الخلايا الكبدية ويتنشط كرد فعل لزيادة الحالات الالتهابية ويعمل على زيادة تنشيط التعبير الجيني لتكوين [62] .CRP)

أدت المعاملة بالكاتشين والأبجنين وكل على انفراد الى حصول انخفاض غير معنوي في مستوي CRP وللمجاميع ($\bar{C}$) (C) عند مقارنتها مع نظيرتها السيطرة السليمة ((A، $\bar{A}$)) كما ادت المعاملة بالكاتشين الى حصول انخفاض معنوي ولفترة المعاملة اربع اسابيع في مصل دم المجموعة (D) عند مقارنتها مع نظيرتها المجموعة (B) وحصول انخفاض معنوي في مصل دم المجموعة ($\bar{D}$) ولفترة المعاملة اربع اسابيع عند معاملتها مع الأبجنين مقارنة مع نظيرتها المجموعة ($\bar{B}$) وقد يعود السبب الى الخصائص المضادة للاكسدة للكاتشين والأبجنين من خلال تثبيط العامل النووي (KF-kB) الذي يتحفز بالحالات الالتهابية مما يؤدي في التالي الى عدم انتاج السايتوكينات الالتهابية التي تساهم في زيادة مستوى CRP، فضلا عن دورهما الايجابي في تنشيط العامل (NrF-2) Nuclear Factor Erythroid 2-Relateed والذي يعمل على تنظيم عملية استنتساخ الجينات المسؤولة عن تصنيع مضادات الاكسدة من نوع Phase II Antioxidant Detoxifying Enzymes مثل انزيم كلوتاثايون S-ترانسفيريز

وكوينون اوكسيدو ريداكيتز وايضا انزيم الكتاليز والذي يعمل على تجزئة بيروكسيد الهيدروجين الى ماء واوكسجين وبالتالي التقليل من اثاره السامة على خلايا الكائن الحي[63,62].

جدول (4): تأثير مركب الكاتشين على مستوى CRP في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز CRP (غم/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة weeks 2	فترات المعاملة weeks 4
1	السيطرة السالبة A	0.645±2.500 Aa	0.288±2.500 Aa	0.707±3.000 Aa
2	السيطرة الموجبة B	0.912±4.000 Aa	1.732±9.000 Aa	3.000±21.000 Bb
3	الجرذان السليمة +الكاتشين C	0.707±3.000 Aa	0.957±3.500 Aa	0.478± 2.750 Aa
4	مجموعةH_2O_2 + الكاتشين D	0.816±4.000 Aa	1.500± 10.500 Aa	0.500±5.500 Aa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي.

** الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

جدول ($\bar{5}$): تأثير مركب الأبجنين على مستوى CRP في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز CRP (غم/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة weeks 2	فترات المعاملة weeks 4
1	السيطرة السالبة $\bar{A}$	0.645±2.500 Aa	0.288±2.500 Aa	0.707±3.000 Aa
2	السيطرة الموجبة $\bar{B}$	0.912±4.000 Aa	1.732±9.000 ABa	3.000±21.000 Bb
3	الجرذان السليمة+الأبجنين $\bar{C}$	1.108±3.250 Aa	0.707±3.000 Aa	0.500± 2.500 Aa
4	مجموعةH_2O_2+الأبجنين $\bar{D}$	0.853±3.250 Aa	1.500±7.500 ABb	0.645±4.500 Aa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي.

**الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

5. الكلوتاثايون (Glutathione (GSH

ادت معاملة ذكور الجرذان بـ H_2O_2 0.5% الى حصول انخفاضاً معنوياً في تركيز GSH ولفترة المعاملة اسبوعين واربع اسابيع في مصل دم المجموعة (B) عند مقارنتها مع المجموعة السليمة (A)، وحصول انخفاضا معنويا في تركيز GSHولفترة المعاملة اربع اسابيع في مصل دم المجموعة ($\bar{B}$) عند مقارنتها مع المجموعة السليمة ($\bar{A}$) ووكما موضح من نتائج الجدولين ($\bar{6}$،6). تتفق النتائج مع دراسات سابقة اشارت الى حصول انخفاض معنوي في تركيز GSHفي مصل دم الجرذان المعرضين للكرب التأكسدي المستحث ببيروكسيد الهيدروجين[64]. وقد يعود السبب الى عملية الكرب (الاجهاد) التأكسدي والتي تؤدي الى استنزاف الكلوتاثايون في الدم وكذلك في الانسجة اذ يزداد اكسدة الكلوتاثايون مؤدياً الى زيادة انتاج الشكل المؤكسد GSSG، كما ان النقص الحاصل في (NADPH) نتيجة لتوقف مسار pentose phosphate shunt كرد فعل لانخفاض فعالية انزيم كلوكوز 6–فوسفات ديهيدروجيز (G–$_6$PH) يؤدي الى تثبيط فعالية انزيم كلوتاثايون ريدكيتز الذي يعمل على تحويل GSSG الى GSH ويؤدي بالتالي الى انخفاض تراكيز GSH[65]. كما يعد ببروكسيد الهيدروجين من العوامل المؤكسدة القوية التي تعمل على حث عملية الكرب التأكسدي من خلال زيادة تكون وتراكم الجذور الحرة التي تؤثر في الانظمة الدفاعية المضادة للاكسدة في الجسم ومنها الكلوتاثايون[64].

ادت معاملة مجموعة ذكور الجرذان (C) بالكاتشين ومجموعة ذكور الجرذان ($\bar{C}$) بالأبجنين الى حصول ارتفاع معنوي ولفترات المعاملة اسبوعين واربع اسابيع عند مقارنتها مع نظيرتها (A) و ($\bar{A}$) على التوالي، كما حصل ارتفاع معنوي في تركيز GSH ولفترات المعاملة اسبوعين واربع اسابيع في مصل دم المجموعة (C) المعاملة بالكاتشين عند مقارنتها مع نظيرتها المجموعة (B)، وارتفاع معنوي في تركيز GSH ولفترات المعاملة اسبوعين واربع اسابيع في مصل دم المجموعة ($\bar{C}$) المعاملة بالأبجنين عند مقارنتها مع نظيرتها المجموعة ($\bar{B}$)، وبعزى السبب الى الخصائص المضادة للاكسدة للمركبين اذ يعدان من مركبات الايض الثانوي (الفلافونيدات) التي تقوم بمحاربة وقنص الجذور الحرة و ROS من خلال ميكانيكية تكمن في ازالة الجذور الحرة و ROS بصورة مباشرة او بطريقة غير مباشرة عن طريق القيام بتنشيط

التعبير الجيني لزيادة استنتساخ وانتاج الانزيمات المانعة (مضادة) للاكسدة مثل الكتاليز (CAT) وسوبر اوكسيد دسيموتيز (SOD) وكلوتاثايون بيروكسيديز (GSH-Px)، فضلا عن تحفيز انتاج مضادات الاكسدة الغير انزيمية ومنها الكلوتاثايون[66,7].

جدول (6): تأثير مركب الكاتشين على تركيز GSH في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز GSH (مايكرومول/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة	
			weeks 2	weeks 4
1	السيطرة السالبة A	0.232±3.067 Aa	0.248±3.027 Ba	0.121±3.627 Ba
2	السيطرة الموجبة B	0.381±3.785 Aa	0.095±2.385 Aa	0.217±1.697 Aa
3	الجرذان السليمة +الكاتشين C	0.189±3.760 Aa	0.141±5.865 Db	0.609± 7.100 Dc
4	مجموعةH_2O_2+ الكاتشين D	0.134±3.305 Aa	0.276± 4.127 Ca	0.392±5.127 Cb

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي.

**الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

(6̄): تأثير مركب الأبجنين على مستوى GSH في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز GSH (مايكرومول/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة	
			weeks 2	weeks 4
1	السيطرة السالبة $\bar{A}$	0.099±3.863 Aa	0.131±2.995 Bca	0.149±4.099 Ba
2	السيطرة الموجبة $\bar{B}$	0.472±4.463 Ac	0.104±2.530 Ab	0.199±1.817 Aa
3	الجرذان السليمة +الأبجنين $\bar{C}$	0.116±4.288 Aa	1.015±6.738 Cb	0.323± 7.533 Cb

4	مجموعةH_2O_2+ الأبجنين $\overline{D}$	0.133±4.333 Aa	1.620±5.873 Cb	0.424±7.475 Cc

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي.

**الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

6. المالونداياًلديهايد MDA) MalondiALdehyde)

بينت النتائج في الدراسة الحالية تأثير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 0.5% على تركيز MDA في ذكور الجرذان المعاملة به، وتحسن تركيز MDA في المجاميع المعاملة بمركب الكاتشين ومركب الأبجنين وكما موضح في جدول (7) وجدول ($\overline{7}$)، ان معاملة ذكور الجرذان ببيروكسيد الهيدروجين ادى الى حصول ارتفاعاً معنوياً في مستوى بيروكسيده الدهون (MDA) ولفترة المعاملة اربع اسابيع في مصل دم ذكور المجموعة (B) عند مقارنتها مع المجموعة السليمة (A) وحصول ارتفاعا معنويا في مستوى (MDA) ولفترة المعاملة اسبوعين واربع اسابيع في مصل ذكور الجرذان المجموعة ($\overline{B}$) عند مقارنتها مع السيطرة السليمة ($\overline{A}$). ان اعطاء بيروكسيد الهيدروجين وعن طريق الفم ولفترة طويلة (اربع اسابيع) ادى الى حصول تأثيرات هدامة (تأكسدية)، اذ يعد H_2O_2 من العوامل المؤكسدة القوية التي تعمل على حث عملية الكرب التأكسدي وتزيد من عملية الاكسدة الفوقية للاحماض الدهنية غير المشبعة متعددة الاواصر المزدوجة في الاغلفة الخلوية والتي تعد الهدف الاكثر تعرضا لتفاعلات الجذور الحرة الناتجة من المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ويؤدي بالتالي الى انتاج العديد من المركبات ذات التأثير السام ومنها MDA[67,64]. أدت معاملة الجرذان بالكاتشين (مجموعة C) وبالأبجنين (مجموعة $\overline{C}$) الى حصول انخفاض معنوي ولفترة المعاملة اسبوعين واربع اسابيع في مستوى MDA بالمقارنة مع مجاميع السيطرة السليمة (($\overline{A}$،A)) وكل حسب مجموعته كما ادى المعاملة بمركب الكاتشين الى حصول انخفاض معنوي في مستوى MDA لفترة المعاملة اسبوعين واربع اسابيع في مصل دم المجموعة (D) عند مقارنتها مع نظيرتها (B) وحصول انخفاض معنوي في مستوى MDA في مصل دم المجموعة ($\overline{D}$) المعاملة بالأبجنين ولفترة المعاملة اسبوعين واربع اسابيع عند مقارنتها مع نظيرتها ($\overline{B}$) وقد يعزى السبب الى الخصائص المضادة للاكسدة للمركبين، اذ يعملان على تقليل حالة الكرب التأكسدي وحماية الاغشية الخلوية والمادة الوراثية فيها من عملية التأكسد الضارة من خلال قنص الجذور الحرة الغيرة مستقرة وتحويلها الى الحالة المستقرة عبر الية نقل الالكترونات لها، فضلا عن دورهما في منع فقدان مضادات الاكسدة الذائبة في الدهون ومثل فيتامين E والذي يعمل على حماية الاغشية الخلوية من تاثير الجذور الحرة[29]. كما تقوم

بتقليل امتصاص الحديد فوق الحد المسموح والذي له دورا ايجابيا في زيادة تراكيز جذر السوبر اوكسايد السالب وجذر الهيدروكسيل وهما من اصناف الاوكسجين الفعالة تؤدي الى حث حالة الاجهاد التأكسدي وتهاجم الاحماض الدهنية الغير مشبعة في الاغشية الخلوية وتكون النتيجة النهائية انتاج مركبات سامة ومنها (MDA[10]).

جدول (7): تأثير مركب الكاتشين على تركيز MDA في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز MDA (مايكرومول/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة	
			weeks 2	weeks 4
1	السيطرة السالبة A	0.170±1.525 Aa	0.100±1.625 Ba	0.173±1.467 Ba
2	السيطرة الموجبة B	0.0.75±1.020 Aa	0.131±1.850 Ba	0.280±2.987 Cc
3	الجرذان السليمة+الكاتشين C	0.307±1.550 Ab	0.166±1.137 Aab	0.149± 0.647 Aa
4	مجموعةH_2O_2+ الكاتشين D	0.045±1.270 Ab	0.029± 1.122 Ab	0.067±0.887 Aa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي.

**الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

جدول ($\bar{7}$): تاثير مركب الكاتشين على تركيز MDA في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز MDA (مايكرومول/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة	
			weeks 2	weeks 4
1	السيطرة السالبة $\bar{A}$	0.112±1.335 Aa	0.100±1.467 Ba	0.173±1.625 Ba
2	السيطرة الموجبة $\bar{B}$	0.101±1.140 Aa	0.177±2.600 Cb	0.091±3.237 Cc
3	الجرذان السليمة+ الأبجنين $\bar{C}$	0.088±1.230 Ac	0.306±0.875 Ab	0.047±0.630 Aa
4	مجموعةH_2O_2+ الأبجنين $\bar{D}$	0.042±1.235 Ab	0.060±1.017 Ab	0.100±0.707 Aa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي.

**الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$.

7. جذر البيروكسي نتريت Peroxy Nitrite Radical

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي والمبينة في جدول (8) وجدول ($\bar{8}$) حصول ارتفاع معنوي في مستوى البيروكسي نتريت ولفترات المعاملة اسبوعين واربع اسابيع في مصل دم المجموعة (B) عند مقارنتها مع المجموعة السليمة (A)، ومصل دم المجموعة ($\bar{B}$) عند مقارنتها مع المجموعة السليمة ($\bar{A}$). تتفق النتائج في الدراسة الحالية مع نتائج دراسات سابقة [68,64]، والذين اشاروا الى حصول ارتفاع معنوي في مستوى جذر البيروكسي نتريت في مصل دم الجرذان المعرضين للكرب التأكسدي المستحث بوساطة بيروكسيد الهيدروجين، حيث يؤدي زيادة تكون الجذور الحرة الى زيادة انتاج السايتوكينات الالتهابية ويزداد معها انتاج وتحرر جذر السوبر اوكساید السالب ($O_2^{\cdot-}$) الذي يتفاعل مع اوكسيد النتريك (NO) منتجاً جذر البيروكسي نتريت[28]. وادت معاملة ذكور الجرذان بالكاتشين والأبجنين وكل على انفراد الى حصول انخفاض معنوي ولفترة المعاملة اسبوعين واربع اسابيع للمجاميع ((C، $\bar{C}$)) عند مقارنتها مع مجاميع السيطرة السليمة العائدة لكل مجموعة معاملة (A) و ($\bar{A}$)، فضلا عن حصول انخفاض معنوي في مستوى البيروكسي نتريت ولفترات المعاملة اسبوعين واربع اسابيع في مصل دم المجموعة (D) المعاملة بالكاتشين عند مقارنتها مع نظيرتها المجموعة (B)، وحصول انخفاض معنوي في مستوى البيروكسي نتريت في مصل دم ($\bar{D}$) ولفترة المعاملة اسبوعين واربع اسابيع عند مقارنتها مع نظيرتها المجموعة ($\bar{B}$).

تعمل المركبات الفلافونيدية والتي منها الكاتشين والأبجنين على منع تكوين وانتاج جذر البيروكسي نتريت من خلال منح الالكترونات للجذور الحرة الغير مستقرة ومنها جذر ($O_2^{\cdot-}$) وجذر ($O\dot{H}$) وبالتالي العمل على منع ارتباطهما وتكوينه، فضلا عن قيامهما بتثبيط انتاج انزيم (NADPH–Oxidase) المسئول عن انتاج اصناف الاوكسجين الفعالة ومنها جذر ($O_2^{\cdot-}$) من خلال وقف الية استنتساخ للجين المكون للانزيم[7,66] وتثبيط انتاج الانزيمات الموالية للالتهابات (Pro–Inflammatory Enzymes) والتي منها انزيم اللايبأوكسجنينز (LOX) والسايكلو اوكسجينينز 2– (COX–2) وانزيم اوكسيد النتريك سنثيز المحرض (iNOS) وهذا الاخير يعمل على زيادة انتاج (NO) الذي يرتبط مع جذر السوبر اوكساید السالب مؤديا الى تكوين جذر

البيروكسي نتريت، فضلا عن تنشيط الانزيمات المضادة للاكسدة من خلال تنشيط عامل النسخ النووي (NrF-2) الذي يقوم بدور مهم في النظام الخلوي المانع للأكسدة اذ يرتبط مع عوامل الاستجابة لمضادات الاكسدة (Antioxidant Responsive Elements (AREs على منطقة المعزز promotor للجين الذي يستنسخ وبالتالي العمل على بدء عملية استنتساخ الانزيمات المضادة للاكسدة وزيادة تراكيزها مما يسهم في تقليل الاثار السامة والسلبية للجذور الحرة والعوامل المؤكسدة ويؤدي الى انخفاض مستوى جذر البيروكسي نتريت[69].

جدول (8): تاثير مركب الكاتشين على مستوى جذر البيروكسي نتريت في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز جذر البيروكسي نتريت (مايكرومول/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة	
			weeks 2	weeks 4
1	السيطرة السالبة A	0.665±50.540 Aa	1.734±50.223 Ca	3.671±47.337 Ba
2	السيطرة الموجبة B	1.347±50.786 Aa	0.697±63.963 Bd	2.137±69.145 Cc
3	الجرذان السليمة+الكاتشين C	0.882±49.542 Ab	1.183±35.980 Aa	2.347±32.020 Aa
4	مجموعةH_2O_2+الكاتشين D	1.484±52.540 Ab	4.390±42.086 BCab	2.358±36.155 Aa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي.

**الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

جدول ($\bar{8}$): تاثير مركب الكاتشين على مستوى جذر البيروكسي نتريت في مصل دم ذكور الجرذان

رقم المجموعة	المعاملات	تركيز جذر البيروكسي نتريت (مايكرومول/ لتر)		
		قبل المعاملة Zero time	فترات المعاملة	
			weeks 2	weeks 4
1	السيطرة السالبة $\bar{A}$	0.837±50.392 Aa	1.226±50.222 Ba	3.674±47.337 Ba
2	السيطرة الموجبة $\bar{B}$	1.732±50.915 Aa	1.475±62.572 Cb	2.137±69.145 Cc
3	الجرذان السليمة +الأبجنين $\bar{C}$	2.454±50.007 Ab	1.731±44.000 ABab	2.268±38.872 Aab
4	مجموعةH_2O_2+ الأبجنين $\bar{D}$	2.287±48.007 Ab	1.661±39.540 Ab	1.117±34.145 Aa

*تشير القيم في الجدول اعلاه الى المعدل Mean ± الخطأ القياسي.

**الاحرف الصغيرة المختلفة افقيا والاحرف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى الاختلاف المعنوي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

الاستنتاجات:

بينت الدراسة الدور المهم (الواقي والعلاجي والمضاد للأكسدة) لمركب الكاتشين المعزول من بذور فاكهة الافوكادو ومركب الأبجنين المعزول من أوراق البقدونس واللذان يعدان من المركبات الفلافونيدية المضادة للأكسدة في تقليل الكرب (الاجهاد) التأكسدي المتسبب عن مادة بيروكسيد الهيدروجين في ذكور الجرذان المعاملة، وعملت على تحسن معظم الاضطرابات الحاصلة في جسم الحيوانات المختبرية المعاملين بمادة بيروكسيد الهيدروجين والمعرضين للكرب التأكسدي.

المصادر

[1] Al-Ta'ee, M.J.(2014). Speration and Identification of Many Natural Products of Four Iraqi Medical Plants and study of their activity of Antioxidant and cancer. Ph.D., Thesis, College of Education for Pure Science, Mosul Univ. Iraq.

[2] خلود، بديار (2018). دراسة تأثير المذيبات على التركيب الكيميائي لمستخلصات نبتتي الكرفس *Apium graveolens L*. والبقدونس *Petroselinum crispium* رسالة ماجستير. كلية العلوم الدقيقة. جامعة الشهيد حمه لخضر. الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية.

[3] عبود، عبدالله صبار و حيدر، حسام كنعان. (2017). اهمية النباتات الطبية واستعمالاتها في الحضارات القديمة. مجلة كلية الآداب. العدد 123: 337–392.

[4] John, A.A.; Stephen, O.A.; Lyndy, J.Mc.; Sanah, M.N. Adeyemi, O.A. and Wilfred, O.M. (2019). Antimicrobial Activity, Antioxidant potential, cytotoxicity and phyto chemical profiling of four plants Locally used against Skin Diseases. *Plants J.* 3(350): 1-19.

[5] Veeramuthu, W.R.; Naif, A.D. and Savarimuthu, I. (2017). Flavonoid: Anticancer properties. In: Flavonoids- From Biosynthesis to Human Health, chapter 13. (ed.) Goncalo, C. Justino, wwww.Intechopen.com., pp:278-303.

[6] Duangja, T.; Areeya, Th.; Apinan, Ph. and Aujana, y. (2018). Flavonoids and other phenolic compounds from Medicinal plants for pharmaceutical and Medical Aspects: an overview. *Medicines J.*, 5(93): 1-16.

[7] Jurga, B. and Dalia, M. (2018). The role of catechins in cellular responses to oxidative stress, *Molecules*, 965 (23): 1- 20.

[8] Bruno, M. and Isabel, C.R. (2018). Bioactive characterization of *persea Americana Mill*. By-products: Arich source of Inherent Antioxidants. *Industrial crops and products*. 111: 212-218.

[9] Toure, A.; kabLan , A.L.; kabran, A.F.; Adiko, N.M.; kablan, R.J. et al. ,(2018). isolation of (+) – Catechin and (-) – Epicatechin

from the leaves of Amaranthus Cruentus L. *(Amaranthaceae). Inter. Nat. J. of chemical studies.* 6(2): 3697-3700.

[10] Rasheed, R.M.; Hassan, H.F. and Hameed, M.J. (2017). The effect of Tea Extract on Lipid profile, Total protein and Malondialdehyde in Mice Mus Musculus. *Al-Anbar J. of veterinary sciences* 10(2): 24-33.

[11] Guerguer, L.; Labidi, N.S. and kacemi, A. (2018). Theoretical Evalution of Antioxidant Activity of tea catechins. *J. of Material & Environmental sciences.* 9(1): 326-333.

[12] Xiao-Qiang, Ch., Ting, H.; Yu. H.; Wei, H.; Hai-Bo, Y.; Yun-Tian, Z., Yu. D. and Young-wen, J. (2016). Preventive Effects of Catechins on CardioVascular Disease. *Molecules.* 21 (1759): 1-7.

[13] Gemma, D. (2014). Impact of oral Green Tea catechins on UVR-Induced skin inflammation. M.Sc. Thesis, School of Medicine. University of Manchester.

[14] Blay, J. and Lefort, E.C. (2013). Apigenin and its Impact on Gastrointestinal Cancers. *Molecular Nutrition & food Research.* 57(1): 126-144.

[15] Wang, M.; Firrman, J.; Liu, L. and yam, K.(2019). A review on Flavonoid Apigemin: Dietary Intake, ADME, Antimicrobial Effects, and Interactions with Human Gut microbiota. *Bio Med. Resea.Inter.* (2012), Article ID7010467 https://doi.org/10.115/2019/7010467.

[16] Sung, B. Chung, H.Y. and Kim, N.D. (2016). Role of Apigenin in Cancer Prevention via the Induction of Apoptosis and Autophagy. *J. of cancer prevention*. 21(4):216-226.

[17] Ali, E.H.(2012). The Effect of Apigenin on Gram Positives and Negative Bacteria. *Engineering and Technology Journal.* 30(2): 18-23.

[18] Khudiar, k.k.; Al-Mezain, A.K.A. and Al-Mezain, K.A.(2017). Hypolipidemic Effect of Apigenin Extracted from Parsley (*petroselinum sativum L.*) Leaves in Cadmium Choloride Treated Rats (part II). *J. of Kerbala for Agricultural sciences* third scientific conference of the faculty of Veterinary Medicine, University of Kerbala.

[19] Al-Ishaq R.K.; Abotaleb, M.; Kubatka, P.K. and Busselberg, D.(2019). Flavonoids and their Anti-Diabetic Effects: Cellular

Mechanisms and Effects to Improve Blood Sugar Levels. Bioimolecules 9(430):1-20.

[20] Hossain, M.K.; Abdal Dayem, A.; Han, J.; Yin, Y.Y.; kim, K.; Saha, S.k.; yang, G.M.; choi. H.Y. and cho, S.G. (2016). Molecular Mechanisms of the Anti-Obesity and Anti-Dabetic Properties of Flavonoids. *Int. J. mol. Sci.* 17(569): 1- 37.

[21] Maria, L.; Del-Rio, I.G; Yague, P; Manteca, A.; Villar, C. J. and Lombo, F. (2017). E-novo Biosynthesis of Apigenin, Luteoline and Eriodictyol in the Actinomycete Streptomces Albus and Production Improvement by Feeding and Spore Conditioning. *Frontiers in Microbiology*. 8(921): 1-2.

[22] Pavan, C.; Jainik, K. and Dhrubo, J.S. (2015). Avocado: the Holistic source as a Natural Doctor. *World J. of pharmaceutical* Research. 4(8): 748-761.

[23] Francisco, J.S.; Gador, I.H.; Juliana, V.; Xavier, R. and Maria, P.A.(2018). Avocado Seed: Acomparative Study of Antioxidant Content and Capacity in Protecting Oil Models from Oxidation. *Molecules*. 23(10): 1- 20.

[24] Leonia, N.H.; Upendo, Y.m. and Catherine, C.K.(2015). Nutritional efficacy of Avocado. *GJFST*. 3(5): 192-196.

[25] Chauhan, E.S. and Aishwarya, J.(2018). Nutraceuticals Potential of Petroselinum crispum: A Review *J. of CAM*. 7(2): 1-6.

[26] Papuc, C.; Predescu., C.; Nicroescu; V.; Stefan , G. and Nicorescu, I.(2016). Antioxidant Properties of a Parsley (*petroselinum crispum)* Juice Rich in Polyphenols and Nitrites, *CRNFS.* 4(si.2): 114-118.

[27] AL-Saqqa, Gh.; Alian, A.; Ismail, F. and Ramzy, SH. (2018). Chemical Composition of Rocket Thyme and Parsley Essential Oils and their Effect on Some Fungi and Aflatoxin Production. *Mojt.*4(4): 277-282.

[28] Noori, A.K. and Abdulrahman, S.J. (2015) Study the Balance Stystem Between Oxidants/Antioxidants in Patients with Peptic Ulcer in City of Tikrit and it's Suburb *tjps*. 20(1):63-70.

[29] Grzesik, M.; Naparlo, K.; Bartosz, G. and Bartosz, I.S. (2018). Anti-Oxidant Properties of Catechins: Comparsion with Other Antioxidants. *food chem.* 241:480-492.

[30] Ibrahim, M.K.(2017). Effect of Aqueous Extract *Law Sonia inermis* leaves on urea, creatinine and Histological of kidneys in white male rats exposed to oxidative stress of H_2O_2. *TJPS.* 22(1):24-30

[31] Jasim, L.A.(2016). Study of paraoxonase Enzyme for Women with Breast Cancer (Biochemical and Molecular Genetics study) Ph.D. Thesis. College of Education for Pure Science. University of Mosul.

[32] Imafidon, K.E. (2010). Liver function Status of Hypertensive and Normotensive rats Administered *Persea americana Mill* (Avocado) seeds. *AJPS.* 3(3): 130-133.

[33] Ejofor, N.C.; Ezeagu, I.E. and Ayoola, M.B. (2018). Determination of the chemical composition of Avocado (*Persea americana Mill*) seeds. AFTNSO.J. 2018 (Se.2):51-55.

[34] Al-Jumaily; E.F.; Yasir, A.J. and Nasser, N.E. (2011). Extraction of Catechin from Green Tea Plants Camellia Sinesis. J. of *Bio.Tech. Resea.* Cen. 5(3): 9-14.

[35] Radhakrishnam, K.; Rettinaraja, T.; Mohan, A. and Jainulabideen, S.S.(2017). Synthesis of Silver Nanoparticles using Flavonoid: Apigenin and it's Antibacterial Effect. *EJPMR.* 4(1):422-426.

[36] Mradu, G.; Saumyakanti, S.; Sohini, M. and Aup, M. (2012). HPLC Profiles of Standard Phenolic Compounds Present in Medicinal Plants. *Int J of pharm and phy Res.* 4(3):162-167.

[37] Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. and Bruns, D.E.(2012). Tietz textbook of clinical chemistry and Molecular Diagnostics. By saunders, an imprint of Elsevier Inc. USA.

[38] Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. and Bruns, D.E. (2015). Tietz textbook of clinical chemistry ad molecular Diagnostics By saunders, an imprint of Elsevier Inc.

[39] Mazeikien, A. and Kaminskas, A. (2012). Biochemistry Laboratory Manual Arvyolas Kaminsskas, Asta, Mazeikiene, Vilnius University. Pp:28,1,11,33.

[40] Hayashi, H. and Loggrippo, G.A. (1972). C-Reactive Protein: Potential Significance of Quantitation in Patients with Chronic Disease. *H.ford Hosp. Med.J.* 20(2): 91-96.

[41] Sedlak, J. and Lindsay, R.H.(1968). Estimation of Total Protein Bond and Non Protein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. *Anal. Biochem.* 25:192-205.

[42] Muslish, R.K,; Al-Nimer, M.S. and Al-Zamely, O.M.Y.(2002) The level of Malondialdehyde after Activation with H_2O_2 and $CuSo_4$ and inhibition by Deferoxamine and Myocardial Infraction. *Nat. J. of chem.* 5: 139-148.

[43] vanuffelen, B.F.; Van.Derzo, J. and Dekoster, B.M. (1998). Intracellular but not Extracellular Conversion of Nitroxyl Anion in to Nitric Oxide Leads to Stimulation of Human Neutrophil Migration. *Biochem. J.* 330:719-722.

[44] Hinton, P.P, (2004). Statistics Explained 2nd Edition by Routledge Printed in the USA and Canada. Pp:85-125.

[45] Ifesan, B.O.; Olorunsola, B.O. and Ifesan, B.T. (2015). Nutritional Composition and Acceptability of Candy from Avocado Seed (*Persea americana Mill). Inter. Nat. J. of Agr. Inno. And Res.* 3(6):1631-1634.

[46] Kitlle, M.; Beyreies, M.; Tumukhun, M.; Furst, J. Helma, K.; Pitschmam, A.; Gaisberger, G.S; Ritter, M. and Jakab, M. (2016): Quercetin Stimulates Insulin Secretion and Reduces the Viability of Rat INS-1 Beta-Cells. *Cell. Phy. Biochem*. 39:278-293.

[47] عبدالوهاب، وجدان ابراهيم عباس و المهداوي، زيد محمد مبارك و الحميش، موسى جاسم محمد (2012). دراسة تأثير زيت الزيتون في بعض مضادات الاكسدة (الكلوتاثايون والسيرلوبلازمين) والمؤكسدات (المالونداياالديهايد وجذر البيروكسي نتريت) في ذكور الجرذان السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي والمعرضة للاجهاد التاكسدي. المؤتمر العلمي الثاني– كلية العلوم– جامعة تكريت 331–338.

[48] Pedro, A.C.; Maciel, G.M.; Ribeiro, V.R. and Isidoro, C.W.(2019). Fundamental and Applied Aspects of Catechins from Different Sources: A review. *Inter. J. of food Sci. and tech.* 55(2): 1- 14.

[49] Sharma, P. and Goyal, P. (2015) Anti-Oxidative and Anti-Metalotoxic Properties of Green Tea Catechin: A Preliminary Study. *Amer. J. of Ethnomdicine.* 2(1): 21-38.

[50] Abdul-Qader, S.A.; Abdul-Rahman, S.J. and AL-khesrah, T. (2013). Antioxidative Effect of Heliotropium Europium Al-

cohelic Leaves Extract in Albino Male Rats Exposed to Oxidative Stress. J. of university of Anbar of Pure Scientific. 7(2): 102-114.

[51] Weng, H.; Dan, M.; Yang, y.; Lyu, J.; Sho, A. and Cheng, X. (2017) Acute Toxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in rats. *POLS one* 12(9): 1-20.

[52] Hassan, O.A.; Saod, A.H. and Hamouda, A.H. (2019). Silver Nanoparticles Induced Multiple Organ Toxicity in Mice. *Egypt. J. forensic. Appli. Toxical.* 19(4): 31-47.

[53] السامرائي، سعدية جمال قادر (2012). دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات الحناء *Lawsonia inermis* كمضاد للاكسدة في ذكور الجرذان البيض المعرضة للاجهاد التاكسدي. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة تكريت.

[54] Deben, R.A. and Jwad, S.M. (2017). Histo-Physiological Study for the Effect of Leaves Ethanolic Extract of Green and Black Tea in Female Albine Rats Induced by Gentamicin Antibiotic. *Al-kuffa University J. for Biology*. 9(1): 13-42.

[55] الظفيري، سولاف حاتم حسين (2019). التأثير الوقائي لجذور نبات الجنسنغ الابيض (الكوري) وفيتامين D3 ضد الاجهاد التأكسدي المستحث بالاشعة السينية على بعض المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية في ذكور الارانب المحلية *Lepus cuniculus domestica*. رسالة ماجستير. كلية التربية للعلوم الصرفة. جامعة تكريت.

[56] Roumeliotis, S.; Roumeliotis, A.; Dounousi, E.; Eleftheriadis, Th. and Liakopoulos, V.(2019). Dietary Antioxidant supplements and Uric Acid in Chronic Kidney Disease: A review. *Nutrients.* 11(1911): 1-18.

[57] الحيالي، فرح محمد غزال. (2016). دراسة التأثيرات الكيموحيوية والنسيجية لانابيب الكاربون النانوية مفردة ومتعددة الجدار في الارانب. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، قسم علوم حياة جامعة الموصل.

[58] خديجة، العايب و بداوي، شيماء، و قوت، ريمة (2019). دراسة السمية الكلوية للايثانول: الدور الوقائي للمستخلص البيتانولي (n-butanoliajune) لنبات طبي جزائري. رسالة ماجستير، كلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة الاخوة منتوري قسطنطينية، الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية.

[59] Salehi, B.; Venditti, A.; Rad, M.S.; Kregiel, D.; Rad, J.S.; Durozzo, A. et al.(2019). The Therapeutic Potential of Apigenin. *Inter. J. of Molecular sciences.* 2(1): 1305-1320.

[60] Mousa, R. M., & Jankeer, M. H. (2019). The Protective Effect of Pomegranate and Lemon Juices in Number of Biochemical Parameters in Blood Serum and Tissue of Local Rabbits Infected by Experimental Urolithiasis. Rafidain Journal of Science, 28(4), 23-39.

[61] Al-Nakeeb, G. D., & Fatheel, N. M. (2017). Effect of the Silver Nanoparticles on the Histology of Albino Mice Ovaries. *Baghdad Science Journal*, 14(4), 662-668.

[62] Szulińska, M.: Stępień, M.; Kręgielska-Narożna, M.; Suliburska, J.; Skrypnik, D.; *et al.*, (2017). Effects of Green Tea Supplementation on Inflammation Markers, Antioxidant Status and Blood Pressure in NaCl-induced Hypertensive Rat Model. *Food & Nutrition research*, 61:1-16.

[63] الجبوري، نجلاء عبيس هلال. (2016). دور الثايمو كوينون في مستوى التعبير الجيني وانتاج بعض مضادات الاكسدة ومستوى بروتين (HSP70) في انسجة كبد ذكور الجرذان المجهدة حرارياً. اطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة القادسية.

[64] Sulaiman, Y.A.; Al-Saeedy, A.H. and Al-Anzy, M.M. (2017). Effect of Aqueous *Extract of Asparagus Officinals* on Some Antioxiidants in Rats Exposed to Oxidative Stress Induced by Hydrogen Peroxide. *TJPS*. S(22): 103-109.

[65] Hassan, A.A., and Al-Ma'atheedi. (2012). Effect of Some Antioxidants on Blood Picture and Antioxidants Status in Roosters Exposed to Oxidative Stress. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 26(2), 55-61.

[66] Salehi, B.; Azzini, E.; Zucca, P., Varoni; E. M.; Kumar; N.; Dini, L. panzarini, E.; Rajkovic, J. *et al*. (2020). Plant-Derived Bioactives and Oxidative Stress-Related Disorders: a Key Trend Towards Healthy Aging and Longevity Promotion. Applied Sciences 10(947): 1-26.

[67] Al-Abdullah, S.W.K. (2017) Physiological and Biochemical and Histological Effects by Used Thymoqunion and Quercetin Materials and Compored with Cisplatin and Oxaliplation Drugs in

AOM Induced Cancered Rats. Ph.D. Thesis, College of Sciences, Tikrit University.

[68] Zuberek, M.; Paciorek, P.; Bartosz, G.; and Grzelak, A. (2017). Silver Nanoparticles can Attenuate Nitrative Stress. *Applied sciences*. 10(947):1-26

[69] Kurutas, E. B. (2016). The Importance of Antioxidants Which Play the Role in Cellular Response Against Oxidative/Nitrosative Stress: Current State. *Nutrition Journal*. 15(71): 1-22.