



أختبار فعالية العسل المضادة للأكسدة وتأثيره في عملية البلعمة

سارة سعيد حسن، هيام عبد الرضا كريم العواد

قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كربلاء، العراق

تاريخ الاستلام: 6 / 1 / 2016

تاريخ قبول النشر: 12 / 3 / 2016

Abstract

The present study aimed to know the anti-oxidants effectiveness of honey and the output of free radicals and the damage caused by them and knowing its effect on the process of phagocytosis in vitro, it was used (120) male of the White Rats were divided randomly into two groups, The first group of (30) rats considered to set the control and the second group of (90) rats were the develop of oxidative stress have by dosage with hydrogen peroxide (H_2O_2) concentration of (0.5%) with drinking water for (30) days, After that, Estimate the levels of each of enzyme Super Oxide Dismutase (SOD1) and Glutathione (GSH) In the blood serum of the rats by estimating levels of technology ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). The results showed a significant increase in the concentration rates of the enzyme Super Oxide Dismutase which value (0.40) pg/ml compared to control amounting to (0.22) pg/ml, while there was a significant decrease in the concentration of the Glutathione where value (0.53) pg/ml compared to control amounting to (1.34) pg/ml.

After that was isolated (30) rats of a group of rats which dosage by hydrogen peroxide considered a positive control group, The remaining group of (60) rats were divided depending on body weight into six groups each group of (10) rat where dosage the first four groups with different concentrations of honey (25%, 50%, 75%, 100%) at a dose of (500) mg/kg of weight body while the fifth group dosage combination of honey a concentration of (50%) with vitamin C as for the sixth group dosage at a dose of (200) mg/kg of body weight of vitamin C for (14) days. The results showed reduced levels of SOD1 and the high level of GSH significant in animal groups that dosage different concentrations of honey and vitamin C as compared to the positive control, and Through this study it was assess extent to effect of honey on the phagocytosis process against *Staphylococcus aureus*. The results showed that the blood sample honey treated showed an increase in the percentage of phagocytosis compared to the negative control sample, The presented results of the study were conclude that honey has antioxidant effect in rats exposed to oxidative stress induced hydrogen peroxide and stimulates the phagocytosis.

*Search unsheathed from the first Master Researcher

Keywords

Honey , Antioxidant , Phagocytosis.



الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى معرفة فعالية العسل المضادة للمؤكسدات وما تنتجه من جذور حرة والاضرار الناتجة عنها ومعرفة تأثيره على عملية البلعمة خارج الجسم الحي، تم استخدام (120) حيوان من ذكور الجرذ الابيض حيث تم تقسيمهم عشوائيا الى مجموعتين، المجموعة الاولى (30) جرذ عدت مجموعة سيطرة و المجموعة الثانية (90) جرذ تم استحداث الاجهاد التأكسدي لديهم عن طريق تجريعهم بمادة بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز (0.5 %) مع ماء الشرب لمدة (30) يوم، بعد ذلك تم قياس مستويات كل من انزيم السوبر اوكسايد دسميوتيز SOD1 والكلوتاثايون GSH في مصل دم هذه الجرذان من خلال تقدير مستوياتهم بتقنية الأليزا (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) واظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي في معدلات تركيز انزيم السوبر اوكسايد دسميوتيز SOD1 والذي بلغت قيمته (0.40) بيكو غم/مل مقارنة بمجموعة السيطرة البالغة (0.22) بيكو غم/مل بينما كان هناك انخفاض معنوي في تركيز الكلوتاثايون GSH حيث بلغت قيمته (0.53) بيكو غم/مل مقارنة بمجموعة السيطرة البالغة (1.34) بيكو غم/مل.

بعد ذلك تم عزل (30) جرذ من مجموعة الجرذان المجرعة بيروكسيد الهيدروجين وعدت مجموعة سيطرة موجبة، اما المجموعة المتبقية من الجرذان و البالغ عددها (60) جرذ تم تقسيمهم اعتمادا على وزن الجسم الى ست مجاميع لكل مجموعة (10) جرذ حيث جرعت المجاميع الاربعة الاولى بتركيز مختلفة من العسل (25%، 50%، 75%، 100%) بجرعة (500) ملغم/كغم من وزن الجسم في حين جرعت المجموعة الخامسة بمزيج من العسل بتركيز 50% مع فيتامين C اما المجموعة السادسة فجرعت بجرعة (200) ملغم / كغم من فيتامين C لمدة (14) يوم. اظهرت النتائج انخفاض مستوى SOD1 وارتفاع مستوى GSH وبشكل معنوي في مجاميع الحيوانات التي جرعت بالتركيز المختلفة للعسل و بفيتامين C مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة، ومن خلال هذه الدراسة تم تقييم مدى تأثير العسل على عملية البلعمة ضد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus aureus وبينت النتائج بان عينة الدم المعاملة بالعسل اظهرت ارتفاعا في النسبة المئوية للبلعمة مقارنة بعينة السيطرة السالبة، وفي ضوء ما قدمته نتائج الدراسة نستنتج ان للعسل تأثيرا مضادا للأكسدة في الجرذان المعرضة للاجهاد التأكسدي المستحث بيروكسيد الهيدروجين وفي تحفيز عملية البلعمة.

الكلمات المفتاحية

العسل، مضاد للأكسدة، البلعمة.



1. المقدمة:

Reactive Oxygen Species (ROS) وبضمنها الجذور الحرة Free Radical المتزايدة [6] ويعد الجهد التأكسدي عاملاً مهيباً للعديد من الأمراض المزمنة والتي يكون الأساس فيها ارتفاع معايير أنواع الاوكسجين الفعالة [7] حيث يمثل حالة الخلايا المتميزة بوجود ارتفاع في تراكيز العديد من جذور الأوكسجين الفعالة مثل جذور الهيدروكسيل (OH[•]) hydroxyl radicle والسوبر اوكسايد Superoxid anion radical وبيروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide (H₂O₂) و بكميات تفوق قابلية دفاعات الأنسجة المضادة للأكسدة للتخلص من هذه الجذور محدثاً الضرر والتخريب في الأنسجة [8].

تمثل المركبات الفينولية في العسل مضادات أكسدة طبيعية حيث تلعب دوراً هاماً في الحفاظ على صحة الإنسان وهناك مجموعة واسعة من المكونات الفينولية الموجودة في العسل مثل الكيرستين، حامض الكافيك، Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)، Acacetin، Chrysin، Galangin، Kaempferol يكون لها اثر واضح في علاج بعض الأمراض المزمنة، بشكل عام فإن المكونات الفينولية الأكثر شيوعاً الموجودة في العسل هي الفلافونيدات و الاحماض الفينولية [9] يعود الفعل المضاد للأكسدة للمركبات الفلافونيدية الموجودة في العسل الى تركيبها الكيميائي الذي يحتوي على المجاميع الهيدروكسيلية التي تقوم بمنح ذرة الهيدروجين الى الجذور الحرة و تجعلها مركبات قليلة الفعالية، بالإضافة الى قابلية المركبات الفلافونيدية على تقييد الايونات الحرة مثل Cu²⁺ و Fe²⁺ المحفزة على نشوء انواع جديدة من الجذور الحرة عند تفاعلها مع جذر فوق الاوكسجين السالب، و بذلك تكون قادرة على كسر سلسلة تفاعلات الأكسدة للجذور الحرة أذ تتراوح فعالية الفلافونيدات المضادة للأكسدة بما يعادل (4)

يعد عسل النحل أحد الأغذية التي أشاد الله تعالى بفوائدها للبشر و خصها بسورة كاملة بأسم النحل اذ قال تعالى عز وجل بسم الله الرحمن الرحيم {ثُمَّ كُلِي مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ} صدق الله العلي العظيم (سورة النحل 69). يدخل في تركيب العسل مواد مختلفة أهمها السكريات التي تعد المكون الرئيسي للعسل، ويحتوي على العديد من العناصر المعدنية التي تزيد من قيمته الغذائية، ويوجد في العسل فيتامينات قد تكون هي كل ما يحتاجه جسم الإنسان [1] كما يحتوي على انزيات وأحماض هامة جداً لحيوية الإنسان وحياته، ويوجد فيه كمية ضئيلة من الدهون ونسبة ضئيلة أيضاً من البروتينات، وهو غني بمضادات الأكسدة التي تقي الإنسان من الأمراض، كما أنه يحتوي على مادة مضادة للسرطان [2].

يتألف العسل من الكلوكوز والفركتوز وهما لا يتواجدان في العسل بالصيغة المفتوحة وإنما بشكل حلقي خاص يستطيع أن يعمل مضاداً حيوياً حقيقياً إذ لا تستطيع البكتيريا العيش فيه وهو قاتل لها أيضاً، كما يحتوي العسل على مركبات فينولية ذات تركيب حلقي تلعب دور كمضاد أكسدة [3,4] تأتي أهمية العسل كمضاد للأكسدة من احتواءه على مركبات مانعة للأكسدة Antioxidant مثل انزيم الكاتاليز Catalase وكذلك الفلافونيدات Flavanoids والفينولات والاحماض العطرية Aromatic acids ذات المنشأ النباتي التي لها أهمية في ازالة الجذور الحرة الأوكسجينية و التي تسبب الالتهاب والضرر للأنسجة [5] حيث إن الاجهاد التأكسدي Oxidative stress يمثل عدم كفاءة الانظمة المضادة للأكسدة في الجسم على اختلاف انواعها في الحد من التأثيرات الضارة التي تمارسها انواع الاوكسجين الفعالة



كمية الجرعات المناسبة لكل مجموعة، تتألف كل مجموعة من (10) جرذ جرعت المجاميع الاربعة الاولى بالعسل بجرعة مقدارها (500) ملغم / كغم من وزن الجسم وبتراكيز (25 - 100)% من التركيز الاصيل [14] اما المجموعة الخامسة فقد جرعت بمزيج من العسل بتركيز (50%) مع فيتامين C في حين جرعت المجموعة السادسة بفيتامين C بجرعة مقدارها (200) ملغم/ كغم من وزن الجسم [15]، بعد مرور [14] يوم على التجريع بالعسل وفيتامين C تم سحب الدم من الحيوانات حيث تم فصل المصل لأستخدامه في العدة التشخيصية لقياس مستويات كل من SOD1 وGSH بعد التجريع بالتراكيز المختلفة للعسل وفيتامين C .

قياس مستويات مضادات الأكسدة في مصل الدم: أعتمدت طريقة ELISA لقياس مستويات كل من انزيم السوبر اوكسايد دسميوتيز SOD1 والكلوتاثايون GSH في مصل الدم .

اختبار فعالية البلعمة بأضافة العسل خارج الجسم الحي: تم اختبار كفاءة عملية البلعمة باضافة العسل بتركيز (25%) حيث تم أخذ عينات دم بشري و قسمت العينات الى مجموعتين، المجموعة الاولى لم يضاف اليها العسل حيث أعدت سيطرة سالبة اما المجموعة الثانية فتم اضافة العسل اليها بتركيز (25%) لاختبار كفاءة عملية البلعمة وحسب ما ورد في (16) .

قرأت الشرائح الزجاجية بالمجهر الضوئي الاعتيادي على قوة 100X وحسبت النسبة المئوية للبلعمة حسب المعادلة التالية / النسبة المئوية للبلعمة = $100 \times$

حللت النتائج احصائيا [17] وتمت مقارنة المتوسطات بأستخدام اختبار t-test لعينتين مستقلتين واختبار ANOVA table واختبار اقل فرق معنوي Least Significant Difference L.S.D على مستوى احتمالية (10.0) .

او 5 مرات من فعالية فيتامين C و E على التوالي [10،11]. كما أشارت العديد من الدراسات الى ان العسل يعمل على تحفيز الجهاز المناعي حيث ينشط الخلايا البلعمية ويعمل على رفع القدرات الدفاعية للجسم اذ يزيد نسبة الهيموغلوبين و عدد كريات الدم الحمراء ويقوي عملية البلعمة التي تقوم بها الكريات الدموية البيضاء [12] وقد أشار [13] في دراسة الى ان الفلافونيدات الموجودة في العسل تعمل على تنبيه كريات الدم البيضاء و Lymphocyte داخليا لانتاج الانترفيرون وهو مادة البروتين الطبيعي المقوية لجهاز المناعة.

2. المواد و طرائق العمل:

حيوانات التجربة: تم استخدام (120) حيوان من ذكور الجرذ الابيض بأعمار تتراوح بين (3-4) اشهر وأوزان تتراوح بين (365 – 490) غم، وضعت هذه الحيوانات في اقفاص خاصة مع مراعاة نظافة مياه الشرب والعلف وتعقيم الاقفاص بين الحين والآخر وتركت لمدة اسبوعين حتى تتأقلم من ظروف المختبر.

تصميم التجربة: قسمت حيوانات التجربة الى مجموعتين بواقع (30) جرذ للمجموعة الاولى انتخبت بطريقة عشوائية باعتبارها مجموعة سيطرة سالبة. أما المجموعة الثانية و البالغ عددها (90) جرذ فقد جرعت بمادة بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز (0.5%) لمدة (30) يوم حيث تم اعطاها هذه المادة مع ماء الشرب، ثم سحب (3) مل دم وفصل المصل وحفظ في المجمدة بدرجة - (20°) م لحين استخدامه في العدة التشخيصية لقياس مستويات كل من أنزيم السوبر اوكسايد دسميوتيز SOD1 والكلوتاثايون GSH. بعد ذلك تم عزل (30) جرذ وعدت هذه المجموعة سيطرة موجبة معاملة بمادة بيروكسيد الهيدروجين اما باقي الحيوانات فتم تقسيمها الى (6) مجاميع وفقاً لمعدلات اوزانهم للتأكد من



3. النتائج والمناقشة:

بتركيز (0.5%) لمدة (30) يوم مقارنة بمجموعة السيطرة بينما أظهرت النتائج انخفاض في تركيز الكلوتاثايون GSH في الحيوانات المعاملة بيروكسيد الهيدروجين مقارنة بمجموعة السيطرة.

تبين النتائج في الجدول (1) ارتفاع في فعالية انزيم السوبر أوكسايد دسميوتيز SOD1 في الحيوانات المعاملة بيروكسيد الهيدروجين

جدول (1): تراكيز السوبر أوكسايد دسميوتيز SOD1 و الكلوتاثايون GSH في أمصال الحيوانات المعالجة بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%).

المجاميع التجريبية	تركيز SOD1، GSH بيكو غم / مل Mean $\pm$ S.D
SOD1	السيطرة السالبة 0.22 ± 0.10
	السيطرة الموجبة 0.40 ± 0.15 *
GSH	السيطرة السالبة 1.34 ± 0.48
	السيطرة الموجبة 0.53 ± 0.15 *

* تدل على وجود فروق معنوية

الدفاعية لمضادات الأكسدة وبالتالي زيادة فعالية الأنزيم للتخلص من الجذور الحرة المتولدة، اذ يحفز أنزيم SOD تحويل جذر السوبر أوكسايد إلى بيروكسيد الهيدروجين الذي يتحول إلى ماء بوساطة أنزيم الكاتاليز Catalase [21]. ووضحت النتائج انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في تركيز الكلوتاثايون GSH يتفق مع نتائج [18] الذين أشاروا إلى انخفاض مستوى GSH في الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي بيروكسيد الهيدروجين وكذلك تتفق مع النتائج التي توصل إليها الباحث [19] فقد أشاروا إلى انخفاض مستوى GSH في دم ذكور الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي المحدث بواسطة (4) ملغم / كغم من وزن الجسم من الفوسفين (3)، وتتفق أيضاً مع نتائج الباحث [22] الذين أشاروا إلى انخفاض مستوى GSH في دم ذكور الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي بواسطة

ان الارتفاع المعنوي ($P < 0.01$) في تركيز أنزيم SOD1 يتفق مع نتائج [18] الذين أشاروا إلى ارتفاع فعالية أنزيم SOD1 في مصّل الدم للجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي بيروكسيد الهيدروجين وكذلك يتفق مع نتائج [19] حيث أشاروا إلى ارتفاع فعالية أنزيم SOD في دم الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي لمدة (30) دقيقة بواسطة الفوسفين (3)، في حين أشار [20] إلى أن معاملة الجرذان مرتين يومياً ولمدة (28) يوماً بواسطة الإيثانول (3) غم/ كغم من وزن الجسم أدى إلى انخفاض معنوي في فعالية أنزيم SOD في الدم، وعزى ذلك إلى ظهور حالة من عدم التوازن تغلبت فيها أصناف الأوكسجين الفعالة ومنها جذر $O_2^{\cdot-}$ على قابلية الأنظمة الكابحة لهذه المؤكسدات. وتعزى هذه الزيادة إلى زيادة الجذور الحرة وخاصة جذر السوبر أوكسايد نتيجة الإجهاد التأكسدي الذي سببه حالة عدم التوازن بين عوامل الأكسدة والأنظمة



الإيثانول بتركيز (8.9) ملي مول / لتر لمدة [4] أسابيع فضلاً عن ذلك لوحظ انخفاض مستوى GSH في مصل مرضى السكري من النوع الثاني [23] وفي مصل مرضى الفشل الكلوي [24] وفي مصل مرضى تصلب الشرايين [25]. وقد يعود السبب إلى دور الـ GSH الحيوي في تفاعلات الأكسدة والاختزال وأن إعطاء بيروكسيد الهيدروجين في ماء الشرب يعمل على إفراغ GSH في الدم والأنسجة [26] وأشار [27] إلى أن حالة الإجهاد التأكسدي تؤدي إلى زيادة أكسدة GSH إلى الشكل الثنائي الكبريت GSSG عن طريق تثبيط مسار تحويل السكر الخماسي- Pentose phosphate shunt مما يحدد من إنتاج NADPH الضروري لفعالية أنزيم كلوتاثاينون ريدكتيز لإعادة تخليق GSH من شكله المؤكسد، لذا يعزى سبب هذا الانخفاض إلى مشاركة GSH الفعالة في منع الأكسدة المحدثه ببيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 من خلال الإزالة المباشرة لتأثيرات الجذور الحرة [28].

تبين نتائج الجدول (2) انخفاض معنوي في تركيز انزيم السوبر اوكسايد دسميوتيز في مجاميع الحيوانات المجرعة بالعسل لمدة [14] يوم مقارنة بمجموعة الحيوانات المصابة بالاجهاد التأكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) ويلاحظ من النتائج انه كلما ازداد تركيز العسل كلما كان الانخفاض اكثر في تركيز الانزيم، كذلك تبين النتائج وجود انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في مجموعة الحيوانات المجرعة بفيتامين C ومجموعة الحيوانات المجرعة بالعسل بتركيز (50%) وفيتامين C معاً مقارنة بمجموعة الحيوانات المعرضة للاجهاد التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين.

جدول (2): تراكيز انزيم السوبر اوكسايد دسميوتيز SOD1 في أمصال الحيوانات المجرعة بتراكيز مختلفة للعسل و فيتامين C.

تركيز SOD1 بيكو غم/ مل Mean + S.D	المجاميع التجريبية المجرعة ب H_2O_2 لمدة 30 يوم
0.22 ± 0.10	السيطرة
0.40 ± 0.15	H_2O_2 %0.5
$* 0.21 \pm 0.03$	فيتامين C
$* 0.19 \pm 0.10$	عسل بتركيز 50% + فيتامين C
$* 0.31 \pm 0.16$	عسل بتركيز 25%
$* 0.21 \pm 0.01$	عسل بتركيز 50%
$* 0.16 \pm 0.04$	عسل بتركيز 75%
$* 0.14 \pm 0.08$	عسل بتركيز 100%

0.05

L.S.D

* تدل على وجود فروق معنوية



[31] وهذا يتفق مع نتائج [32] حيث اشارت الى تأثير فيتامين C في بعض مستويات مضادات الاكسدة في ذكور الجرذان البالغة المعاملة بخلات الرصاص و بينت ان معاملة الجرذان بفيتامين C قد ادى الى انخفاض فعالية انزيم SOD في مصل دم و دماغ هذه الجرذان. وفي دراسة مقارنة قام بها الباحث [33] بينت تأثير تناول (1.5) غم/ كغم من وزن الجسم من شراب الذرة أو العسل على الفعالية المضادة للأكسدة، إذ زادت محتويات البلازما من مضادات الأكسدة الفينولية بنسبة أعلى بعد تناول العسل عنها بعد تناول شراب الذرة كما بينت الدراسة أن مضادات الأكسدة الفينولية الموجودة في العسل فعالة في زيادة مقاومة الجسم ضد الاجهاد التأكسدي. Oxidative Stress. تبين نتائج الجدول (3) ارتفاع معنوي في تركيز الكلوتاثايون في مجاميع الحيوانات المجرعة بالعسل لمدة (14) يوم مقارنة بمجموعة الحيوانات المصابة بالاجهاد التأكسدي المحدث بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) ويلاحظ من النتائج انه كلما ازداد تركيز العسل كلما كان الارتفاع اكثر في تركيز الكلوتاثايون، كذلك تبين النتائج وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مجموعة الحيوانات المجرعة بفيتامين C ومجموعة الحيوانات المجرعة بالعسل بتركيز (50%) وفيتامين C معاً مقارنة بمجموعة الحيوانات المعرضة للاجهاد التأكسدي بيروكسيد الهيدروجين. و الحد من إنتاج جذر السوبر أوكسايد [30].

يعد السوبر أوكسايد دسميوتيز SOD من مضادات الاكسدة الانزيمية التي لها دور فعال في التخلص من الجذور الحرة و الاضرار التي تسببها حيث بينت الدراسة الحالية ارتفاع مستويات هذا الانزيم بعد معاملة الحيوانات بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب وبعد تجريع الحيوانات بالتراكيز المختلفة للعسل انخفضت مستويات هذا الانزيم ويعود سبب انخفاض فعالية أنزيم SOD إلى خصائص المركبات الفينولية المضادة للأكسدة في العسل وقدرتها على إزالة أصناف الأوكسجين الفعالة ومنها جذر السوبر أوكسايد الذي يعد مادة أساس لأنزيم السوبر أوكسايد دسميوتيز SOD، فضلاً عما أشار إليه [29] من قدرة البروانثوسيانيدين على إزالة الجذور الحرة من خلال تكوين جذر الفينوكسي Phenoxy radical المستقر نسبياً،

كما ان تجريع مجموعة من الحيوانات بفيتامين C ادى الى انخفاض معنوي في مستوى انزيم SOD ويعود ذلك الى قدرة فيتامين C على ازالة اصناف الاوكسجين الفعالة وخاصة جذر السوبر أوكسايد السالب فضلاً عن تحويله لجذر فيتامين E المؤكسد الى شكله المختزل الفعال وبالتالي فهو يعمل على تقليل الاكسدة الحاصلة بفعل بيروكسيد الهيدروجين ومن ثم تقليل الجهد التأكسدي وتلف الانسجة و بهذا فهو يعزز حالة مضادات الاكسدة الموجودة في الجسم

جدول (3): تراكيز الكلوتاثايون GSH في أمصال الحيوانات المجرعة بتراكيز مختلفة للعسل و فيتامين C .

تركيز GSH بيكو غم/ مل Mean $\pm$ S.D	المجاميع التجريبية المجرعة ب H ₂ O ₂ لمدة 30 يوم
1.34 $\pm$ 0.48	السيطرة
0.53 $\pm$ 0.15	H ₂ O ₂ %0.5
* 0.61 $\pm$ 0.04	فيتامين C



* 1.11 ± 0.26	عسل بتركيز 50% + فيتامين C
* 0.83 ± 0.10	عسل بتركيز 25%
* 0.99 ± 0.11	عسل بتركيز 50%
* 1.08 ± 0.30	عسل بتركيز 75%
* 1.37 ± 0.59	عسل بتركيز 100%

0.16

L.S.D

* تدل على وجود فروق معنوية

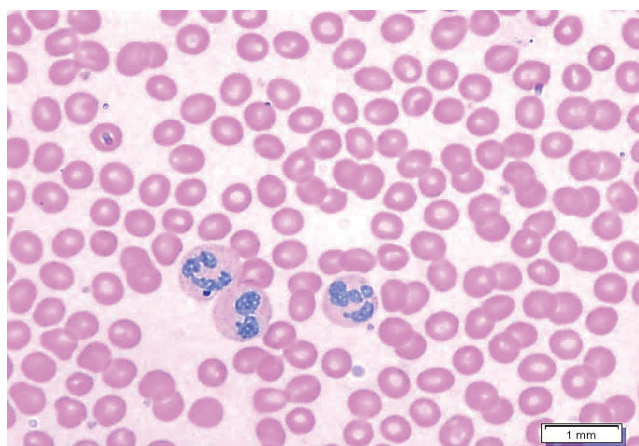
كما اشارت [39] الى ان العسل الطبيعي له تأثير وقائي ضد الضرر في خلايا الكبد و الكلى من الاجهاد التأكسدي المستحث بالرصاص في الجرذان وأشار [40] إلى أن الكلوتاثايون هو المادة الأساس لبعض الأنزيمات مثل الكلوتاثايون بيروكسيداز (Gpx) الذي له دور مهم في المحافظة على الخلية من الأذى التأكسدي، اذ يعمل GSH على تحويل H_2O_2 إلى ماء بتحفيز أنزيم Gpx وبذلك ينخفض مستواه في المصل. كما اشار [41] الى ان سبب ارتفاع الكلوتاثايون هو فاعلية المركبات الفينولية خاصة مجاميع الهيدروكسيل في البروانثوسيانيدن على إزالة أصناف الجذور الحرة وبالتالي حماية مجموعة الثايول (SH-) في الكلوتاثايون من الأكسدة، ومنع استنزافه ومنع تحويله إلى الشكل المؤكسد ثنائي الكبريت، لذا يرتفع مستواه في المصل. كما ان تجريب مجموعة من الحيوانات بفيتامين C ادى الى ارتفاع معنوي في مستوى الكلوتاثايون GSH ويعزى سبب ذلك الى دور فيتامين C في الحد من التأثيرات السامة التي يحدثها بيروكسيد الهيدروجين، اذ يعد فيتامين C من مضادات الاكسدة غير الانزيمية حيث يعمل على ازالة اصناف الاوكسجين الفعالة [42] وهذا يتفق مع نتائج [32] حيث اشارت الى تأثير فيتامين C في بعض مستويات مضادات الاكسدة في ذكور الجرذان البالغة المعاملة بخلات

يعد الكلوتاثايون GSH واحد من مضادات الاكسدة الطبيعية التي تحمي الخلايا من سموم الجذور الحرة وقد بينت الدراسة الحالية الى انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في مستواه بعد معاملة الحيوانات بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب والذي يعد مؤشرا على زيادة الاجهاد التأكسدي [34] وقد ادى تجريب الحيوانات بالتركيزات المختلفة للعسل لمدة (14) يوم الى ارتفاع مستوى الكلوتاثايون GSH ويعزى ذلك الى تأثير العسل المضاد للاكسدة الذي يأتي من مكوناته مثل العناصر النادرة المضادة للاكسدة ومركبات الفلافونويد لذا فان العسل يعمل على خفض بيروكسيد الدهون [35] كما ان النشاط المضاد للاكسدة للعسل يأتي من احتوائه على المركبات الفينولية و الانزيمات (الكلوكوز اوكسيداز والكاتالاز و البيروكسيداز) [36] كما ان محتوى العسل من حامض الاسكوربك له تأثير كبير على نشاط العسل المضاد للاكسدة [37].

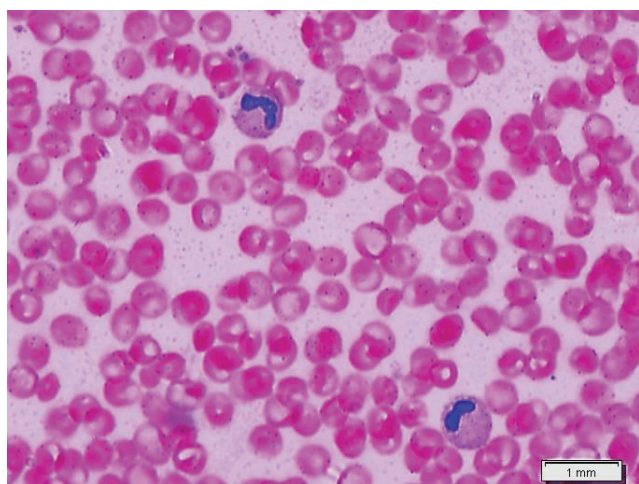
تتفق نتائج هذه الدراسة مع [38] اللتان اشارتا في دراسة الى تأثير العسل كواقي للتسمم الكلوي المستحث بالاميكاسين حيث بينتا ان استخدام العسل مع الاميكاسين قلل و بشكل واضح من عملية التأكسد حيث عمل العسل على اقتناص الجذور الحرة مما وفر حماية للكليتين من التأثير السمي للاميكاسين.



يزيد من فعالية الخلايا العدلة Neutrophils المعزولة من الانسان خارج الجسم الحي وقد عزوا ذلك الى زيادة فعالية ونشاط الخلايا العدلة نتيجة الجزيئات ذات الطاقة العالية الموجودة في العسل. وذكر [45] في دراسته ان عسل المانوكا النيوزلندي الطبيعي قد اعطى دعماً كبيراً للجهاز المناعي في الجرذان البالغة من خلال زيادة البلعمة من قبل الخلايا العدلة وقد لوحظ نفس الشيء من قبل [43] وقد اشار [48] الى ان العسل يعمل على تقوية عملية البلعمة - Phagocytosis بفعل اشتغاله على المواد الاثرية والصمغية مما يعزز قدرات الجسم الدفاعية ويحفز الاستجابة المناعية في حالة الاصابة بالامراض المزمنة وفي مرحلة النقاهة بعد المرض.



شكل (1): مجموعة سيطرة (كفاءة عملية البلعمة بدون اضافة العسل)



شكل (2): (كفاءة عملية البلعمة مع اضافة العسل) 100X

الخصائص و بينت ان معاملة الجرذان بفيتامين C قد ادى الى ارتفاع الكلوتاثاين GSH في مصل دم ودماغ هذه الجرذان. يبين الجدول (4) تأثير اضافة العسل بتركيز (25%) على عملية البلعمة لبكتريا Staph aureus. خارج الجسم الحي حيث ارتفعت النسبة المئوية للبلعمة بعد اضافة العسل مقارنة بالعينة غير المضاف اليها العسل.

جدول (4): النسب المئوية للبلعمة بعد اضافة العسل.

نوع العينة	النسبة المئوية للبلعمة %
مع العسل بتركيز 25 %	59.6
السيطرة السالبة	39.7

ان خط الدفاع الاول الاكثر اهمية ضد بكتريا aureus Staph. هي عملية البلعمة، حيث يعمل العسل على تحفيز تكاثر الخلايا اللمفاوية B و T في الدم والخلايا البلعمية بتركيز يصل الى (0.1%) [43] وقد اشارت العديد من الدراسات والبحوث الى ان العسل يعمل على تقوية وتعزيز جهاز المناعة اذ انه يحتوي على حامض الكافيك وحامض السيناميك وهذين الحامضين يعملان على التأثير على الحامض النووي للخلايا السرطانية، فضلاً عن احتوائه على العديد من الصبغات النباتية ومن اشهرها الكاروتين والكلوروفيل ومشتقاته والتي تدخل ضمن مواد Phyto-chemicals والتي ثبت حديثاً ان لها دور هاماً في مكافحة بعض الامراض المزمنة وتعزيز جهاز المناعة [44] كما ان محتوى العسل من الكلوكوز والدالة الحامضية له والتي تبلغ (3) او (4) هي التي تساعد على تحطيم البكتريا داخل الخلايا البلعمية [45].

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع [46] حيث اشارت الى ان عينات الدم المعاملة بالعسل اظهرت زيادة معنوية في عملية البلعمة للبكتريا مقارنة بمجموعة السيطرة، كما لاحظ [47] في دراستهم الى ان العسل الطبيعي المحلي بتركيز معينة



الاستنتاج:

نستنتج من هذه الدراسة بأن الحيوانات المصابة بالاجهاد التأكسدي عند تجريعها بالعسل بتركيزه الاربعة قد سبب انخفاض معنوي في مضاد الاكسدة السوبر اوكسايد دسميوتيز SOD1 وارتفاع معنوي في مضاد الاكسدة الكلوتاثايون GSH وكان للعسل ايضاً تأثير تحفيزي لعملية البلعمة خارج الجسم الحي.

المصادر:

- 176-81.(2009).
- [6] Dukic, N. M. Antioxidants in health and diseases. *Atherosclerosis*, 15(2). 423-611. (2003).
- [7] Thum, T.; Borlak, J. and Rous, S. P Mechanistic role of cytochrome P450 monooxygenases in oxidized low density lipoproteins- induced vascular injury. *Cir. Res.*, (94): 312-319.(2004).
- [8] Halliwell, B. Antioxidants and human disease : a general introduction. *Nutr. Rev.* 55 : S44 – S49. (1997).
- [9] Lianda, R.L.P. ; Sant'Ana, L.D.O. ; Echevarria, A. and Castro, R.N. Antioxidant activity and phenolic composition of Brazilian honeys and their extracts. *J. Braz. Chem. Soc.*, 23: 618-627.(2012).
- [10] Shi, J., Y. U. Jianmuls, E. Joseph and Kakudas, Y. O. Polyphenolics in seeds biochemistry and functionality. *J. Med. Food*, 6: 291-299.(2003).
- [11] Roback, J. ; Winder, C. K. and Gryglewski, R. J. Bioactivity of flavonoides. *Cir.*, 93(2): 170-177. (2004).
- [12] جعفر، حسان عدنان العلاج بعسل النحل الطبيعي، دار ومكتبة الهلال، بيروت، لبنان . (2006).
- [13] Havsteen, B.C. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.*, 32(7):1141-1148.(1983).
- [14] Ana, C. S. ; Montserrat, G. ; Cristina, D. L. ; Isabe, M. C. and Jesus,S. Estimation of the honeydew ratio in honey samples.
- [1] Alvarez-Suarez, J. M. ; Gonzalez-Param'as, A. M. ; Santos-'Buelga, C. and Battino, M. Antioxidant characterization of native monofloral Cuban honeys. *J. Agric. Food. Chem.*, 58(17): 9817–9824. (2010).
- [2] الحسيني، أيمن عاليج نفسك بالعسل. دار الطلائع للنشر والتوزيع، القاهرة، جمهورية مصر العربية، ص112. (2002).
- [3] Brudzynski, K. and Miotto, D. The relationship between the content of maillard reaction- like products and bioactivity of Canadian Honeys. *Food Chem.*, 124(3):869-874. (2011).
- [4] Tsao, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutr.*, 2, 1231-1246. (2010).
- [5] Baghel, P.; Shukla, S.; Mathur, R. and Randa, R. A comparative study to evaluate the effect of honey dressing and silver sulfadiazine dressing on wound healing in burn patients. *Indian J Plast Surg.*, 42:



- antioxidants. *Exp. Physiol.*, 82, 291. (Abstract).(1997).
- [22] Colell, A.; Garcia-Ruiz, C.; Morales, A. and Ballesta, A. Transport of reduced glutathione in hepatic mitochondria and mitoplasts from ethanol-treated rats: effect of membrane physical properties and S-adenosyl-L-methionine, *Hepatology*, 26(3):699-708. (1997).
- [23] الجراح، إسراء عبد الحق حمودي عثمان (2005). دراسة كيموحيوية لمضادات الأكسدة في مرضى داء السكر. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.
- [24] حسن، ظافر صابر خلف تأثير الديليزة الدموية على بعض المتغيرات الكيموحيوية في محافظة نينوى. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل. (2005).
- [25] Ismail, M. K. (2006). Ph.D. Thesis in Biochemistry, University of Mosul.
- [26] Reed, D. J. and Fariss, M. W. Glutathione depletion and susceptibility. *Pharmacol. Rev.*, 36: 255-355. (1994).
- [27] Nakhaee, A.; Bokaeian, M.; Akbarzadeh, A. and M. Hashemi Sodium tungstate attenuate oxidative stress in brain tissue of streptozotocin-induced diabetic Rats. *Biol. Trace Elements Res.*, 136(2): 221-231. (2010).
- [28] Berndt, C.; Lilling, C.H. and Holmgren, A. Thiol-Baseal mechanisms of the thio-redoxin and glutaredoxin system: implication for disease in the cardiovascular system. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 292:H1227-H1236. (2007).
- ples from their physicochemical data and from their volatile composition obtained by SPMP and GC-MS. *Sci. Agric. food*, 85: 817-824.(2005).
- [15] Derakhshanfar, A. ; Roshanzamir, M. and Bidadkosh, A. Dose-related protecting effects of vitamin C in gentamicin-induced rat nephrotoxicity: a histopathologic and biochemical study. *Comp. Clin. Pathol.* (2012).
- [16] Mackie and Mc-Cartney *Practical Medical Microbiology* 4th ed. edited by Colle, et al. New York .USA.p:650-651. (1995).
- [17] الامام، محمد محمد طاهر تصميم وتحليل التجارب، دار المريخ، السعودية. (2007).
- [18] الكاتب، سميرة محمد و ذنون، احمد محمد زكي تأثير التاورين في مستويات عدد من مضادات الأكسدة في الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي بيروكسيد الهيدروجين. مجلة التربية والعلم، المجلد (21) العدد (2). (2008).
- [19] Hsu, C. H.; Chi, B. C.; Liu, M. Y.; Li, J. H.; Chen, C. J. and Chen, R.Y. Phosphine - induced oxidative damage in rats: role of glutathione. *Toxicology*, 30: 179(1-2): 1-8. (2002).
- [20] Pushpakiran, G., Mahalakshmi, K. and Anuradha, C. V. Taurine restores ethanol-induced depletion of antioxidant and attenuates oxidative stress in rat tissues. *Biochem. Amino acids*, 27(1): 91-96. (2004).
- [21] Sies, H. Oxidative stress, oxidants and



- Malaysia gave intermediate glycemic index values when tested among healthy individuals. *Maced. J. Med. Sci.*, 153(2):145-148. (2009).
- [36] Vilma, B.; Petras, V. and Violeta, C. Radical scavenging activity of different floral origin honey and bee bread phenolic extracts. *Elsevier*, 30:1-6. (2007).
- [37] Aldina, k.; Mazalovic, M.; Crnkic, A.; Catovic, B.; Hadzidedic, s. and Dragos-
evic, G. The influence of L-ascorbic acid content on total antioxidant activity of bee-honey. *Eur. J. Scie.* (2009).
- [38] Res., 32(1): 96-102. 38-Abd Ali, A. R. and Ismail, S. H. The Protective Effect of Honey Against Amikacin- induced Nephrotoxicity in Rats. *Iraqi J Pharm Sci.*, 21(2). (2012).
- [39] Halawa, H. M.; El-Nefrawy, N. E.; Makhlof, N. A. and Mady, A. A. Evaluation of Honey Protective Effect on Lead Induced Oxidative Stress in Rats. *JASMR.*, 4 (2): 197-209. (2009).
- [40] Loven, O.; Schedl, H.; Wilson, H.; Daabees, T.; Stegink, L.; Diekus, M. and Oberley, L. Effect of insulin and oral glutathione levels and superoxide dismutase activity in organs of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes*, 35, 503-507. (1986).
- [41] Alas, B.; Wachowicz, B.; Tomczak, A.; Erler, J.; Stochmal, A. and Oleszek, W. Comparative antiplatelet and antioxidant [29] Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J. and Panganga, G. Structure oxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acid. *Free Radical Biol. Med.*, 20, 933-956. (1996).
- [30] Bagchi, D.; Bagchi, M.; Stohs, S. J.; Das, D. K.; Ray, S. D.; Kuszynski, C. A.; Joshi, S.S. and Pruess, H.G. Free radical and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, 148:187-197. (2000).
- [31] Patrick, L. The Role Of Free Radical Damage and The Use Of Antioxidants In The Pathology and Treatment Of Lead Toxicity *Altern Med. Rev.*, 11(2): 114-127. (2006).
- [32] احمد، سناء عبد الاله تأثير فيتامين C والمثيونين في بعض مستويات مضادات الاكسدة لذكور الجرذان البالغة المعاملة بخلات الرصاص. *مجلة ابحاث كلية التربية الاساسية، المجلد (12)، العدد (4).* (2013).
- [33] Schramm, D.D.; Karim, M.; Schrader, H.R.; Holt, R.R.; Cardetti, M. and Keen, C.L. Honey with high level of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. *J. Agric. Food. Chem.*, 12, 51(6), 1732-1735. (2003).
- [34] McLennan, S.; Hafernan, S.; Wright, L. and Rae, C. Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. *Diabetes*, 40(3), 344-348. (1991).
- [35] Sathyasurya, D. R. and Al-Safi, A. I. Two varieties of honey that are available in



- properties of poly phenol-rich extract from, berries of aronia melanocarpa, seed of grape and bark of yucca schidigera in Vitro. Platelets. 19 (1):70-77. (2008).
- [42] Tariq, S.A. Role of Ascorbic Acid in Scavenging Free Radicals and Lead Toxicity From Bio Systems. Molecular Biotechnol., 37 (1): 62-65. (2007).
- [43] Abuharfeil, N. ; Al-Oran, R. and Abo-Shehadeh, M. The effect of bee honey on the proliferative activity of human B- and T-lymphocytes and the activity of phagocytes. Food Agric Immun., 11:169-177. (1999).
- [44] قاسم، صبحي ابراهيم (2000). كتاب النحلة طبيبتنا. على الموقع الالكتروني WWW.elshefaa.net.
- [45] Chepulis, L. M. The Effects of Honey Compared With Sucrose and a Sugar-free Diet on Neutrophil Phagocytosis and Lymphocyte Numbers after Long-term Feeding in Rats. J. Compl. Integ. Med., 4: Iss. 1, Article 8. (2007).
- [46] Abd Alsaheb, Z. A. The effects of honey on phagocytic activity against Staphylococcus aureus. J. Kerb. Univ., 9(3). (2011).
- [47] Lafi, S. A. ; Al-Dulaimy, H. R. S. and Al-Aloosi, M. M. Honey depots phagocytosis in vitro. Anb. Med. J., 10(1). (2012).
- [48] Ceyhan, N. and Ulqur, A. Investigation of in vitro antimicrobial activity of honey. Riv. Biol. 94(2):363-371. (2001).

