تأثير حامض الستريك على بعض المتغيرات الكيموحيوية في ذكور الأرانب

انتصار غانم طه

قسم العلوم/ كلية التربية الأساسية/ جامعة الموصل

(أستلم 29/ 9 /2013 ؛ قُبل 10 /3 /2014)

الملخص

تضمن البحث دراسة التأثيرات الجانبية لحامض الستريك من خلال إعطاء تراكيز مختلفة وبفترات زمنية على بعض المتغيرات الكيموحيوية التي لها علاقة بوظائف الكبد في مصل ونسيج الكبد.

استخدمت في هذا البحث ذكور الأرانب المحلية السليمة بعمر 6 أشهر تراوحت أوزانها ما بين 1- 1.5 كغم حيث تم توزيعها بصورة عشوائية على مكررات لأربع مجاميع بواقع ستة أرانب لكل مجموعة، شملت المعاملات الآتية:

المجموعة الأولى تم تجريعها ماء مقطر واعتبرت كمجموعة سيطرة، المعاملة الثانية جرعت حامض الستريك بتركيز 250 ملغم حامض الستريك /كغم من وزن الجسم، المعاملة الثالثة جرعت 500 ملغم حامض الستريك /كغم من وزن الجسم والمعاملة الرابعة جرعت 1000 ملغم حامض الستريك /كغم من وزن الجسم، تمت إضافة الحامض مع ماء الشرب لكل المجاميع لمدة 30 يوم مع توفير العلف بصورة حرة أمام الحيوانات طيلة فترة البحث.

ثم سحب الدم وفصل بعد 15 يوم و30 يوم من المعاملة لأجل الحصول على المصل لإجراء الفحوصات الكيموحيوية ثم قتل الحيوانات بعد انتهاء المعاملة للحصول على عضو الكبد بعد 30 يوم من المعاملة.

أظهرت النتائج عدم وجود اختلاف معنوي لمستوى البروتين الكلي والألبومين للحيوانات المعاملة بتراكيز حامض الستريك المستخدمة وبفترات مختلفة مقارنة مع مجموعة السيطرة.

كذلك أظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً لفعالية الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين (الالانين ترانس امينز ALT والاسبارتيت ترانس امينز AST في مصل الدم)، ومستوى المالنوالديهايد MAD في نسيج الكبد بزيادة تراكيز حامض الستريك مع زيادة فترة المعاملة (15 يوم و30 يوم) مقارنة مع مجموعة السيطرة. في حين حدث انخفاض معنوي بمستوى الكلوثاينون GSH في نسيج الكبد بزيادة تراكيز الحامض وزيادة فترة المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة.

الكلمات الدالة: حامض الستريك، البروتين الكلي، الألبومين، الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين، المالنوالديهايد، الكلوثاينون.

The Effect of Citric Acid on some Biochemical Parameters in Male Rabbit

Intisar G. Taha

Department of Science/ College of Basic Education/ University of Mosul

ABSTRACT

The research includes the study of side effect of citric acid by giving different concentrations at various duration time on some biochemical parameters which has related to the liver function in serum and tissue of liver.

Six month aged healthy male rabbits with weight ranged between 1-1.5 kg were used in this research. They were distributed randomly into four groups; The first group was given distilled water as a control group, the second group was given a dose of 250 mg/kg of body weight of citric acid,

the third group was given a dose of 500 mg/kg of body weight of citric acid and the fourth group was given a dose of 1000 mg/kg of body weight of citric acid.

Acid was added to drinking water of all groups for 30 days with providing food freely to the animals as long as the experiment lasted. After blood was drawn out and serum was taken male rabbits were killed.

The results showed that no signification in level of total protein and albumin in different concentration and different duration time comparing with the control group. Also the results showed significant increase of alanine aminotransferase ALT and aspartate aminotransferase AST activity, and malonaldehyd MAD in liver tissue compared with the control group. A significant decrease in the level of glutathione GSH in liver tissue was also seen comparing with the control group with increase concentration of citric acid and increase duration time of treatment.

Keywords: Citric Acid, Total protein, Albumin, ALT, AST, MAD, GSH.

المقدمة

يتعرض الإنسان يومياً إلى العديد من المركبات والمعادن الكيميائية في طعامه وشرابه، وقد تكون هذه المواد طبيعية أو يتم إضافتها لبعض الأطعمة والمشروبات كالمواد المضادة للأكسدة والتي تدعى بالمواد الحافظة Protective Materials ومن هذه المواد التي يتم اضافتها هو حامض الستريك وهو عبارة عن حامض عضوي ضعيف موجود طبيعياً بالفواكه مثل الليمون (Penniston *et al.*, 2008; Lotfy *et al.*, 2007; Garden *et al.*, 2003).

ويعتبر حامض الستريك مادة حافظة طبيعية تستخدم لإضافة المذاق الحامضي للأطعمة والمشروبات ويدخل كذلك في صناعة مواد التجميل والعطور والمنظفات (Berovic and Legisa, 2007; Frank and Venhoff, 2005).

أكتشف حامض الستريك في القرن الثامن الميلادي من قبل العالم العربي جابر بن حيان وهو وسط مهم لدورة حامض الستريك أو دورة كريبس أو ما تسمى بدورة الحامض الثلاثي الكربوكسيل، وتعد هذه الدورة مهمة لأبيض المركبات الحياتية مثل السكريات والدهون والبروتينات داخل جسم الكائن الحي بالإضافة الى كونه كمادة محمضة ومخليبيه ومضادة للأكسدة (Berg and Thmocykal, 2002).

الاسم النظامي للحامض هو 2-Hydroxypropante او 1,2,3 Tricarboxylic Acid

(Derewenda and Zygmunt, 2007; Hu *et al.*, 2010).

تعد الكميات العالية من حامض الستريك مؤثرة على الشعر والجلد وتآكل مينا الأسنان وكذلك يلعب دوراً مهماً في تنظيم ضغط الدم والفشل الكلوي (Frank and Venhoff, 2005) واستناداً إلى ما تقدم فقد هدف البحث إلى معرفة تأثير التراكيز المختلفة من حامض الستريك وبفترات مختلفة على بعض المتغيرات الكيموحيوية التي لها علاقة بوظائف الكبد في دم ونسج ذكور الأرانب المحلية.

المواد وطرائق العمل

استخدم في هذه الدراسة 24 حيوانا من ذكور الأرانب المحلية بعمر 6 أشهر وتراوحت أوزانها ما بين 1 - 1.5 كغم ووضعت في أقفاص بلاستيكية خاصة وتحت ظروف مختبرية جيدة من التهوية والحرارة والضوء وغذيت الحيوانات طوال فترة الدراسة على العليقة التجارية، وبعدها قسمت الحيوانات إلى أربع مجاميع وبواقع 6 حيوان لكل مجموعة.

المجموعة الأولى: جرعت ماء مقطر واعتبرت كمجموعة سيطرة.

المجموعة الثانية: جرعت حامض الستريك بتركيز 250 ملغم/كغم من وزن الجسم.

المجموعة الثالثة: أعطيت حامض الستريك بتركيز 500 ملغم/كغم من وزن الجسم.

المجموعة الرابعة: أعطيت حامض الستريك بتركيز 1000 ملغم/كغم من وزن الجسم.

تمت إضافة الحامض مع ماء الشرب لكل المجاميع لمدة 30 يوم.

جمع النماذج وحفظ العينات

بعد معاملة الأرانب وانتهاء مدة المعاملة، تم الحصول على عينات الدم من قلب الأرانب باستخدام محقنة طبية سعة 5 مل جمعت عينات الدم بعد مرور 15، 30 يوم لغرض الحصول على مصل الدم لإجراء الفحوصات الكيموحيوية المختلفة، وفي نهاية فترة المعاملة ذبحت الحيوانات عن طريق الخلع العنقي واستخراج الكبد لغرض تقدير مستوى الكلوتاينون والمالونالديهايد.

الفحوصات الكيموحيوية

1- تقدير البروتين في مصل الدم

قدرت كمية البروتين في مصل الدم بالاعتماد على طريقة بايوريث باستخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة BioMerieux الفرنسية (Kingsley, 1949)

2- تقدير الألبومين في مصل الدم

قدرت كمية الألبومين في مصل الدم وباستخدام بروموكريسول الاخضر بالاعتماد على عدة التحليل الجاهزة من شركة BioMerieux الفرنسية التي اعتمدها (Jennifere and Findar, 1982).

3- تقدير فعالية انزيم الانين ترانس امينز (ALT)

قدرت فعالية الانزيم باستخدام طريقة اللونية وبالاعتماد على عدة التحليل الجاهزة من شركة BioMerieux (Reitman and Frankel, 1957).

4- تقدير فعالية انزيم الاسبارتيز ترانس امينز (AST)

تم تقدير فعالية انزيم AST باستخدام الطريقة اللونية المعتمدة من قبل الباحثان (Reitman and Frankel, 1957) وباستخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة BioMerieux الفرنسية.

5- مستوى الكلوتاينون في نسيج الكبد

تم تقدير مستوى الكلوتاينون في نسيج الكبد باستخدام طريقة المان المحورة (Moron et al., 1979).

6- تقدير مستوى المالونالديهايد في نسيج الكبد

تم تقدير مستوى المالونالديهايد في نسيج الكبد باستخدام طريقة حامض الثايوباربيتورك بالاعتماد على طريقة الباحث

(Gilbert et al., 1984).

التحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائياً بمقارنة مجاميع حامض الستريك مع مجموعة السيطرة: unpaired t-Test وعدت النتائج معنوياً عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$) (Steel and Torrir, 1980).

النتائج والمناقشة

يبين الجدول (1) ان معاملة الأرناب بتركيز مختلفة من حامض الستريك 250-1000 ملغم/كغم من وزن الجسم يؤدي الى زيادة طفيفة غير معنوية بمستوى البروتين الكلي والايومين في مصل دم الحيوانات المعاملة بفترات مختلفة مقارنة مع مجموعة السيطرة، وقد يعود هذا الى ان حامض الستريك يعمل على تحليل البروتينات في الكبد وهذه النتائج تتفق مع النتائج التي توصل إليها الباحثون (Rouhoiiah et al., 2010) عند إدخال الحامض بتركيز 3%، 6% إلى عليقة الدجاج حيث أدى إلى زيادة تركيز البروتين في دم الحيوانات.

ولتشخيص الضرر الذي يلحق بالكبد من خلال قياس فعالية الانزيمات الناقلة لمجموعة الأمين الالنين ترانس امينز ALT والاسبارتيت ترانس امينز AST لذا اهتمت الدراسة الحالية على دراسة فعالية هذين الانزيمين لانهما يعدان مؤشراً خطيراً للضرر الذي يحدثه حامض الستريك في عضو الكبد باعتباره العضو الفعال والمصنع لمعظم المواد الكيموحيوية داخل الجسم والمزيل للعديد من المواد السمية من خلال العمليات الايضية التي يقوم بها.

أشارت النتائج في الجدول (2) إلى وجود ارتفاع معنوي في فعالية انزيمي (AST, ALT) عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) بزيادة تراكيز الحامض وبفترات مختلفة مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ بلغت فعالية انزيم ALT بعد مرور 30 يوم من المعاملة بتركيز 1000 ملغم/كغم من وزن الجسم 7.21 ± 95 وحدة/لتر مقارنة مع مجموعة السيطرة 2.31 ± 50.7 وحدة/لتر وبلغت فعالية انزيم AST 8.1 ± 137 وحدة/لتر بعد مرور 30 يوم من المعاملة بتركيز 1000 ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة 4.3 ± 93.1 وحدة/لتر، ويعود هذا الارتفاع الى تراكم الحامض في نسيج الكبد مسبباً التسمم وتلف الخلايا مما يؤدي الى تسرب هذه الأنزيمات من خلايا الكبد الناتجة من فعل تأثير الحامض السلبي إلى مجرى الدم وهذا يدل على مدى التخریب الحاصل في نسيج الكبد وهذا يتفق مع نتائج الباحث (Tulin, 2002) عند إعطاء الحامض بتركيز 480 ملغم/كغم من وزن الجسم للفئران المختبرية لمدة 10 أيام وكذلك حدث انخفاض بوزن عضو الكبد للحيوانات المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة (Aktac et al., 2003; Aktac et al., 2002).

كما أدت معاملة الأرناب بحامض الستريك بتركيز مختلفة وبفترات مختلفة ارتفاعاً معنوياً بمستوى المالنالديهيد MAD في نسيج الكبد مقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) إذ بلغ الارتفاع 4.5 ± 195 نانومول/غم بعد مرور 30 يوم من المعاملة بتركيز 1000 ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة 1.3 ± 172 نانومول/غم، كما موضح في الجدول (3) وهذا يشير الى توليد الجذور الحرة او بيروكسيد الدهن وتحطم الأغشية الخلوية مع ارتفاع كميات الدهون الفوسفاتية فضلاً عن حدوث ارتفاع بكميات الأوكسجين وهذا يتفق مع ما توصل إليه الباحثون (Xiaoguang et al., 2013) من ان إضافة حامض الستريك بتركيز مختلفة أدى إلى ارتفاع مستوى المالنالديهيد في نسيج الكبد الرطب وارتفاع مستوى تركيز بيروكسيد الهيدروجين في نسيج الكبد الرطب.

كذلك حدث انخفاض معنوي بمستوى الكلوتاينون في نسيج الكبد عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) لدى الحيوانات المعاملة بحامض الستريك بتركيز 250، 500، 1000 ملغم/كغم من وزن الجسم وبفترات مختلفة كما موضح في الجدول (3) إذ بلغ الانخفاض بعد 30 يوم من المعاملة بتركيز 1000 ملغم/كغم من وزن الجسم 0.009 ± 0.51 نانومول/كغم من وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة 0.12 ± 0.62 وقد يعزى سبب هذا الانخفاض إلى مشاركة الكلوتاينون كمضاد أكسدة غير انزيمي (داخلي المنشأ) في منع الأكسدة الذي أحدثه حامض الستريك من خلال الإزالة المباشرة للجذور الحرة ولزيادة بيروكسيد الهيدروجين داخل نسيج الكبد إذ يعد الخط الدفاعي ضد سمية عدد كبير من المركبات الكيميائية والعقاقير التي تدخل جسم الكائن الحي

المتتمثلة بعدد من الآليات الخلوية من خلال الدفاع الخلوي عن ذلك النسيج المعرض للجذور الحرة، ان الكلوتايثون يلعب دورا مهما في تفاعلات الأكسدة والاختزال وباعتبار الكبد المصدر الرئيسي للكلوتايثون الموجود خارج الخلايا ولتحول الكلوتايثون في الشكل المختزل GSH إلى الشكل المؤكسد GSSG بزيادة تراكيز بيروكسيد الهيدروجين في نسيج الكبد وهذا المركب ينتج الشكل المؤكسد من الكلوتايثون (احمد والهلالى، 2010).

الجدول 1: تأثير تركيز حامض الستريك على مستوى البروتين الكلي والألبومين في مصل الدم

فترة المعاملة المجاميع		مستوى البروتين الكلي (غم/100مل) المعدل ± الخطأ القياسي		مستوى الألبومين (غم/100مل) المعدل ± الخطأ القياسي	
		15 يوم	30 يوم	15 يوم	30 يوم
مجموعة السيطرة		1.17±7.20	1.18±7.21	2.6±4.5	2.4±4.3
مجموعة الحيوانات المعاملة بحامض الستريك 250 ملغم/كغم من وزن الجسم		3.7±7.40	2.5±7.6	3.1±4.2	1.7±4.3
مجموعة الحيوانات المعاملة بحامض الستريك 500 ملغم/كغم من وزن الجسم		3.1±7.2	*2.7±7.6	2.8±4.7	*1.9±4.6
مجموعة الحيوانات المعاملة بحامض الستريك 1000 ملغم/كغم من وزن الجسم		4.1±7.6	*3.9±7.9	3.6±4.9	3.7±4.8

المعدل والخطأ القياسي لستة مكررات.

عدد الحيوانات لكل مجموعة = 6.

* تشير الى وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$).

** تشير الى وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.01$).

الجدول 2: تأثير تراكيز حامض الستريك على فعالية انزيمي ALT و AST

فترة المعاملة المجاميع		فعالية انزيم ALT (U/L) المعدل ± الخطأ القياسي		فعالية انزيم AST (U/L) المعدل ± الخطأ القياسي	
		15 يوم	30 يوم	15 يوم	30 يوم
مجموعة السيطرة		2.21±50.2	2.31±50.7	3.5±90.81	4.3±93.1
مجموعة الحيوانات المعاملة بحامض الستريك 250 ملغم/كغم من وزن الجسم		3.27±65.16	*2.7±70.13	5.3±192.13	7.2±115
مجموعة الحيوانات المعاملة بحامض الستريك 500 ملغم/كغم من وزن الجسم		*4.25±79.1	**2.25±80.9	7.4±107.1	*8.3±125
مجموعة الحيوانات المعاملة بحامض الستريك 1000 ملغم/كغم من وزن الجسم		*5.1±85.3	*7.21±95	*8.2±115	*8.1±137

عدد الحيوانات لكل مجموعة = 6.

المعدل والخطأ القياسي لستة مكررات.

* تشير إلى وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$).

($P \leq 0.01$).

الجدول 3 : تأثير تراكيز حامض الستريك على مستوى الكلوتايثون والمالونالديهيد في نسيج الكبد بعد 30 يوم

المجاميع	فترة المعاملة	مستوى الكلوتاثيون في نسيج الكبد (نانومول/غم) المعدل $\pm$ الخطأ القياسي	مستوى المألونالديهايد في نسيج الكبد (نانومول/غم) المعدل $\pm$ الخطأ القياسي
مجموعة السيطرة		0.12 $\pm$ 0.62	1.3 $\pm$ 172
مجموعة الحيوانات المعاملة بحامض الستريك 250 ملغم/كغم من وزن الجسم		0.07 $\pm$ 0.60	*2.09 $\pm$ 180
مجموعة الحيوانات المعاملة بحامض الستريك 500 ملغم/كغم من وزن الجسم		*0.01 $\pm$ 0.58	**4.1 $\pm$ 186
مجموعة الحيوانات المعاملة بحامض الستريك 1000 ملغم/كغم من وزن الجسم		**0.009 $\pm$ 0.51	**4.5 $\pm$ 195

المعدل والخطأ القياسي لستة مكررات.

عدد الحيوانات لكل مجموعة = 6.

* تشير الى وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$).

** تشير الى وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.01$).

المصادر العربية

احمد، طارق يونس، الهاللي، لؤي عبد، (2010). "الكيمياء الحياتية". الجزء الثاني، دار ابن الأثير للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق، ص 118.

المصادر الأجنبية

- Aktac, T.; Kaboglu, A.; EvtanK, F.; Elcinci, F., Huseyn, G. (2002). The effect citric acid oxidant and benzoic acid cantimicro biaa gent on mose liver biochemical and histopathological .
- Aktac, T.; Kaboglu, A.; Balcur, E.; Kavakas, S. (2003). The short-term effect of single toxic dose of citric acid in mice. *J. Cell. Mole. Bio.*, **2**, 19-23.
- Berg, J.M.; Thmocycal, S. (2002). "Biochemistry". 5th ed. Wh. Freeman and company. 144p.
- Berovic, M.; Legisa, M. (2007). Citric Acid production. *Bio. Ann. Rer.*, **13**, 303-343.
- Derewenda, A.; Zygmunt, S. (2007). On wine chirality and crystal ography. *Actacrys*. **64**(1), 246-258.
- Frank, H.; Venhoff, D. (2005). "Citric Acid Uillmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry". WeinheimWiley. Rch. pp.13-19.
- Garden, J.; Robert, D.; Robinson, A.; Taylor, S. (2003). Evaluation of the provision of single use citric acid sacthesto injection drng user Scottish center forin fection and environmental helth cross. *Proc. Nat. Aca.*, **92**, 22-29
- Gilbert, H.S.; Stnmp, P.P.; Reth, E.F. (1984). Method to correct for errors caused the generation of intrefering compound injuring eruthrocyte lipid peroxidation. *Analyt. Bioch*. **72**, 282-286.
- Jennifer, D.; Findar, D.P. (1982). Albumin bromocresol green a case of laboratory conservatism. *Clin. Chem*, **28**(6), 1407-1408.
- Kingsley, G.R. (1949). The direct biuret method for determination of serum protein. *J. Clin. Lab.*, **9**(27), 840-847.
- Lotfy, W.A.; Ghanenk, A. (2007). Citric acid production and isolate optimization of processs parameters through statistical expermental desigus. *Bio. Sou. Tech.*, **30**, 90-94.
- Moron, M.SD.; Eriewe, J.; Wmennervik, E.F. (1979). Level of glutathione, glutathione redutase and glutathione stranderase activities in rat luag & liver. *Bio. Bio Phs. Acta.*, **852**, 67-78.
- Penniston, S.Y.; Holmes, RP.; Assimios, D.G. (2008). Quantitive lime juice and commercially avalible. *J. Endo* **22**(3), 567-570.

- Reitman, S.; Frankel, S.A. (1957). Colometric method for the determination of serum glutaminoxaloacetic and glutamicpyrovictransam. nase ". *Am. J. clin.* **28**, 56-63.
- Rouhoiiiah, N.; Onr Mohammad, I.; Seyed, M.; Hosseinal, H. (2010). Effect of dietary acidfaction on some blood parameters and weekly performance broiler chickens. *J. Animal. Rete. Adv.*, **9**(24), 3092-3097.
- Steel, G.; Torrir, J. (1980). "Principle and Procedure of Statistics". 2nd ed. New York Mc. Graw Hill Book. Co Inc 64P.
- Toro, G.; Tckenaan, P.G. (1975). "Pracical Clinical Chemistry, Little Brown and Company". (Inc) USA. pp. 497-506.
- Tulin, S. (2002). Effect of citric acid on tissue in mice. *Animal. Chem.*, **8**(22), 3012-3015.
- Xiaoguang, C.; Qiongxia, L.V.; Yumei, L.; Wen Deng, K. (2013). Study injury effect of food additive citric acid on liver tissue in mice. *Cytotechnology*. **3** (4), 211.