تأثير بعض المكملات الغذائية في مستوى بروتينات الدم وبعض الانزيمات ودراسة نسجية لأعضاء الكلى والكبد للارانب المدروسة

رونزا فراح الصالحي فريال فاروق العزاوي
كلية الزراعة / جامعة تكريت

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية لتقيم تأثير بعض المكملات الغذائية (الكلوتامين و الكرياتين و بروتين الشرش و اللايبو6 اكس) على مستويات بروتينات الدم و بعض الانزيمات والدراسة النسجية، حيث تم استخدام 20 ارنب من ذكور الارانب البيض بأعمار تتراوح من (7-6) شهور، بمعدل وزن (1500-1700) غم واستمرت فترة التجربة 6 اسابيع وقسمت الى 5 مجاميع وتضمنت كل مجموعة 4 أرانب وكالاتي: مجموعة السيطرة السليمة المستهلكة لماء الشرب الاعتيادي والغذاء القياسي ومجموعة الكلوتامين بتركيز 143 ملغم /كغم من وزن الجسم ومجموعة الكرياتين بتركيز 250 ملغم /كغم من وزن الجسم ومجموعة بروتين الشرش بتركيز 300 ملغم/كغم من وزن الجسم ومجموعة اللايبو 6 اكس بتركيز 250 ملغم/كغم من وزن الجسم.

حيث اظهرت ارتفاعا في مستوى البروتين الكلي Total Protein والكلوبيولين في جميع المعاملات بينما ظهر ارتفاعا في مستوى الالبومين في مكمل الكلوتامين فقط. وكذلك حدوث ارتفاع في مستوى انزيمات ALT و AST و LDH في جميع المعاملات. وشملت الدراسة ايضا تقييم تأثير هذه المكملات على اوزان بعض الاعضاء الداخلية للارانب المدروسة (الكلى و الكبد)، حيث اظهرت هذه المكملات ارتفاعا في اوزان الكلى والكبد في مكمل الكلوتامين واللايبو6 اكس وانخفاض في مكمل بروتين الشرش والكرياتين. وكذلك بينت الدراسة حدوث العديد من التغيرات النسجية غير الطبيعية في اعضاء الكلى والكبد للحيوانات المدروسة، ومنها أضرارا بالكلى والمتمثلة بحدوث تضخم الكبيبة وتنخرها وتمزق المحفظة وارتشاح الخلايا اللمفاوية. وكذلك حصول احتقان و تحلل لكريات الدم الحمرمما يؤدي لظهور حبيبات الهيماتدين باللون النفطي. اما الاضرار في الكبد فتتمثل بحدوث النخر السايتوبلازمي والتحلل النووي للخلايا الكبدية والاحتقان الدموي وارتشاح الخلايا اللمفاوية وكبر خلايا كوبفر وانتفاخ الخلايا الكبدية التي ادت الى تضييق الجيبانيات وظهور احتقانات دموية في الجيبانيات.

الكلمات المفتاحية: المكملات الغذائية و بروتينات الدم و الكلى والكبد

المقدمة

يبحث الرياضيون باستمرار عن وسائل تساعدهم في تحسين ادائهم، وتحقيق الانجازات الرياضية وتغلبهم على منافسيهم من الرياضيين والوصول الى المراكز المتقدمة في مختلف الالعاب الرياضية و نجدهم يلجأون الى استخدام مكملات النمو لتطوير عضلاتهم، و متوفرة في المحلات والاسواق العامة دون وصفة طبية (Ronald واخرون، 2007)، مما ادى الى ادمان استخدامه دون النظر للأضرار والتغيرات الفسلجية والبايلوجية وانعكاساته السلبيه على جسم الرياضي.

ومن هذه المكملات يعتبر الكلوتامين من الاحماض الامينية الغير الاساسية لكثرة انتاجه في انسجة الجسم (Lobley واخرون، 2001). وبالاخص في العضلات الهيكلية حيث يبنى من اتحاد حامض الكلوتاميك مع الامونيا بفعل انزيم Glutamine synthetase. الكثير من الدراسات اوضحت بأن استهلاك الكلوتامين يكون امن، فقد لاحظ Clemmesen واخرون، (2000) بأن تناول جرع كبيرة من الكلوتامين يبقي قدرة الكبد على بناء اليوريا كافية للمحافظة على مستوى امونيا الدم ضمن المستوى الطبيعي ،لذا اقترحوا في دراستهم اعلاه بأن تناول الكلوتامين يعتبر أمن ماعدا في حالة مرضى عجزالكبد الحاد حيث يسبب زيادة ملحوظة في مستوى امونيا الدم ، وهذا ماتوصل اليه Oppong واخرون، (1997) ايضا في حالة تشمع الكبد. اما التأثير على الكلى لقد لوحظ بأن تعاطي الحيوانات للجرع العالية من البروتينات

والكلوتامين تزيد من معدل الترشيح الكبيبي وسرعة جريان البلازما الكلوية و انتاج الامونيا والاحماض الامينية واليوريا وربما يعود ذلك الى زيادة المحتوى البروتيني للكلية بهذه الحيوانات (Holecek و Kovarik، 2011).

تاريخ تسلم البحث 2014/12/8 وقبوله 2015/10/26

ويمثل الكرياتين المكمل الاخر والذي يعتبر من المركبات الغذائية غير الاساسية حيث يؤخذ من مصادر خارجية كالاسماك واللحوم الحمراء، وداخليا من قبل الكبد والكلى من الاحماض الامينية الكلايسين والارجنين والمثيونين. وقد اوضحت الدراسات العديد من التأثيرات السلبية لهذا المكمل، فقد لاحظ Gualano واخرون، (2008) بان اعطاء الكرياتين للاشخاص الاصحاء ادت الى خفض مستوى بروتين Cystatin c بمرور الوقت مما يعني زيادة في معدل الترشيح الكبيبي للكلية، في حين اوضح Yoshizumi و Tsourounis، (2004) حدوث خللا وظيفيا في الكلية للاشخاص الذين يتناولون الكرياتين، حيث تلعب الكلية دورا مهما في ايض الكرياتين من خلال انجازها لطرح الكرياتنين بالبول والذي يعتبر الناتج النهائي لايض الكرياتين. بينما توصل Taner واخرون، (2010) الى ضرورة عدم تعاطي الاشخاص المصابين بأمراض الكلى لهذا المكمل الغذائي ويرجع سبب ذلك هو ماتبين في خزعة الكلية من ظهور حالة نخر النبيبات الحاد Acute Tubular necrosis.

اما بروتينات الشرش فتمثل البروتينات ذات النوعية العالية المعزولة من حليب البقر، وتحتوي هذه البروتينات على احماض امينية ذات فعالية لبناء الكلوكوز Glugneognic amino acids، حيث تحتوي على تراكيز عالية من الاحماض الامينية الاساسية وغير الاساسية، ومنها المتفرعة السلسلة والتي تعمل على زيادة بناء البروتين وبالاخص بروتينات العضلات، وكذلك مصدر للطاقة في الانسجة العضلية (Blomstrand واخرون، 2006). التأثيرات الصحية لبروتينات الشرش تتمثل بتقليل خطورة الاصابة بامراض القلب والسرطان والسكري (Krissanen، 2007)، بينما لوحظ من قبل العديد من الاشخاص المصابين بعدم تحمل اللاكتوز الموجود في الحليب ومنتجات الالبان الاخرى ، يعانون من تفاعلات الحساسية بعد تناولهم بروتينات الشرش المعزولة من الحليب ،كذلك فأن بروتينات الشرش المستهلكة بتراكيز عالية تؤثر سلبا على فعالية الكلى. والتراكيز العالية منها تسبب ايضا تلف للكبد، ويمكن لها ان تسبب عدم توازن المعادن في العظام مما يسبب فقدان الكثافة المعدنية للعظم وبالتالي هشاشة العظام وكذلك تسبب ارتفاع في PH الدم (Tunick، 2008).

اما المكمل الاخير فيمثل اللايبو 6 اكس والذي يعتبر من اكثر المكملات الغذائية الحارقة للدهون Fat burner supplements انتشارا، حيث يسرع من تفاعلات الايض بالجسم مما يزيد من انتاج الطاقة من خلال حرق اكبر كمية من الدهون، ويحتوي Lipo 6X على العديد من المركبات ومن اهمها : السينفرين Synephrine و اليوهمبين Yohimin HCL، المعقد التركيبي المحفز لتوليد الطاقة Synthetic Thermogenesis Activating Complex (والذي يشمل العديد من المركبات واهما: Phenyl ethylamine HCL و Tyramin HCL و Hordenine و Guggulsterones Z&E و Caffine) ahydrous

وهنالك العديد من الدراسات المتعلقة بتاثيرات هذه المكونات للمكمل Lipo 6X على الانسان. و لليوهامبين العديد من التاثيرات الجانبية الخطيرة والتي تشمل النوبات الفجائية Seizures والعجز الكلوي، لذا يجب عدم تعاطيها من قبل الاشخاص الذين يعانون امراض الكبد والكلى والقلب (Balch، 2010).

ان تعاطي الكافيين العديد من التاثيرات الايجابية حيث الاستخدام الطويل الامد لهذه المادة يقلل من الاصابة بالامراض القلبية الوعائية والسكري (Thompson واخرون، 2004)، وكذلك يقلل الامراض المرتبطة بالشيخوخة ومنها مرض الزهايمر (Cao واخرون، 2012). بينما لوحظ العديد من التاثيرات السلبية للكافيين حيث يعمل على زيادة ضغط الدم المرتبط بالامراض القلبية الوعائية (Cornelis و

Elsohemy، 2007) . وكذلك فأن التراكيز العالية من الكافيين 300 ملغم فما فوق يمكن ان تزيد من افراز الكورتيزول وتسبب القلق (Cornelis و Elsohemy، 2007)، وبالتالي يمثل الكافيين نوعا من الادمان لذا فأن ايقاف تعاطي الكافيين ينتج عنه الصداع والارهاق.

ولم يؤخذ التعاطي المزمن لهذه المكملات من قبل الاشخاص الاصحاء بمحمل الجد وذلك لقلة الدراسات والمعلومات المتعلقة بالتاثيرات الجانبية للاستخدام الطويل الامد لها، لذا فأن دراستنا الحالية هدفت الى معرفة اوزان الاعضاء الداخلية للارانب مثل الكلى و الكبد، والتعرف على بروتينات الدم والتي تشمل Total Protein و Albumin و Globulin، وكذلك التعرف على تأثير المكملات المستخدمة في مستوى الانزيمات والتي تشمل ALT و AST وLDH، و التعرف ايضا على الاثار التي تسببها المكملات في بعض اعضاء ذكور الارانب المدروسة والتي تشمل (الكبد والكلى).

مواد وطرائق البحث

استخدمت في بداية التجربة 40 حيوان من ذكور الارانب البيض نوع (Albino) واختيرت بعمر (6-7) شهور وبمعدل وزن (1500-1700 غم)، واستمرت فترة التجربة 6 اسابيع وبواقع تركيزين من المكملات لكل مجموعة وبالجرع التالية؛ مجموعة الكلوتامين 214.5 ملغم /كغم من وزن الجسم ومجموعة الكرياتين 375 ملغم / كغم من وزن الجسم ومجموعة بروتين الشرش 450 ملغم / كغم من وزن الجسم ومجموعة اللايبو 6 اكس 375 ملغم / كغم من وزن الجسم، وبعد مرور اسبوعين من التجريع لوحظ كثرة الوفيات للارانب لذا تم الغاء التركيز العالي واعتماد التراكيز الموصى بها من قبل الشركات المنتجة لهذه المكملات الغذائية والموضحة ادناه حيث تم استخدام 20 من ذكور الارانب البيض وقسمت الى خمس مجاميع 4 حيوانات لكل مجموعة وكما يلي:

المجموعة الاولى: مجموعة السيطرة Control تم معاملة هذه المجموعة طول فترة الدراسة باعطائها ماء الشرب العادي والعليقة القياسية.

المجموعة الثانية: مجموعة الكلوتامين Glutamine بتركيز (143 ملغم/ كغم من وزن الجسم)

المجموعة الثالثة: مجموعة الكرياتين Creatine بتركيز (250ملغم / كغم من وزن الجسم).

المجوعة الرابعة: مجموعة بروتين الشرش Whey protein بتركيز (300 ملغم/ كغم من وزن الجسم).

المجموعة الخامسة: مجموعة اللايبو6 اكس Lipo6 X بتركيز (250 ملغم / كغم من وزن الجسم).

تقدير اوزان الاعضاء الداخلية (الكلى و الكبد):

اخذت اوزان الاعضاء الداخلية المدروسة الكبد والكلى في نهاية فترة التجربة والبالغة (6) اسابيع من خلال المعادلة الاتية:

الوزن النسبي للأعضاء الداخلية (الكبد والكلى) = وزن العضو / وزن الحيوان × 100

تقدير تركيز البروتين الكلي TP:

تم تقدير تركيز البروتين الكلي في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة Biolabo الفرنسية (Tietz، 1995) والمعتمدة على الطريقة اللونية (طريقة البايوريت)، اذ يحصل تفاعل بين الأواصر الببتيدية للبروتين مع ايونات النحاس في المحلول القاعدي (محلول ترترات البوتاسيوم النحاسيك القاعدي) لتكوين معقد لوني تعتمد شدته على عدد الأواصر الببتيدية الموجودة في البروتين والتي تقاس شدته امتصاصيته عند الطول الموجي 550 نانوميتر.

تقدير تركيز الالبومين:

تم تقدير تركيز الألبومين في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الخاصة الجاهزة من شركة Biolabo الفرنسية، والمعتمدة على ارتباط الألبومين مع الكاشف رباعي بروموكريسول الأخضر (3,3,5,5-Bromocresol green, BCG) ليكون معقداً لونياً هو البومين بروموكريسول الأخضر (BCG-albumin complex) تقاس شدة امتصاصيته عند الطول الموجي 630 نانوميتر (Doumas واخرون، 1971).

تقدير تركيز الكلوبيولين:

تم تقدير تركيز الكلوبيولين وفق المعادلة الاتية: (Tietz، 1987)

تركيز الكلوبيولين (غم/100مل) = تركيز البروتين الكلي- تركيز الألبومين.

تقدير فعالية انزيم الاسبارتيت امينو ترانسفيريز (AST):

تم استخدام طريقة Frankel and Reitman اللونية لقياس فعالية إنزيم AST في مصل الدم بأستخدام عدة التحليل الجاهزة (Kit) من شركة Biolabo الفرنسية والتي تعتمد على قدرة الإنزيم بالعمل على المادة الأساس حامض الاسبارتيك وحامض ألفا كيتوكلوتاريت وتحويل الحامض الاميني الاسبارتيك إلى حامض كيتوني (البايروفيك). (Tietz، 1970).

تقدير فعالية تقدير فعالية انزيم ناقل امين الالنين (ALT):

تم قياس فعالية الانزيم باستعمال عدة التحليل الجاهزة من شركة Biolabo الفرنسية، حيث يعمل إنزيم ALT على المادة الأساس (حامض الألنين وحامض ألفا كيتوكلوتاريك) ليتحول الحامض الاميني الألنين الى البايروفيت مباشرة. (Tietz، 1970).

تقدير فعالية انزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز (LDH):

تم قياس فعالية الانزيم باستعمال عدة التحليل الجاهزة من شركة Biolabo الفرنسية، والتي تعتمد على تحفيز انزيم LDH لاختزال البايروفيت Pyruvate الى لاكتيت Lactate بوجود الشكل المختزل لمرافق الانزيم (NADH). (Tietz، 1999).

تحضير المقاطع النسجية

حضرت المقاطع النسجية في مختبر الانسجة والاجنة قسم علوم الحياة – كلية العلوم / جامعة تكريت والتي تشمل العمليات الاتية: (الحاج، 2010)

1- **التثبيت** Fixation
2- **الغسل** The Washing
3- **الانكاز** The Dehydration
4- **الترويق** The Clearing
5- **التشريب** The Infiltration
6- **الطمر** The embedding
7- **التشذيب والتقطيع** The trimming and sectioning
8- **التلوين** Staining
9- **الأرساء** Mounting
10- **الفحص المجهري للمقاطع النسجية والتصوير المجهري**

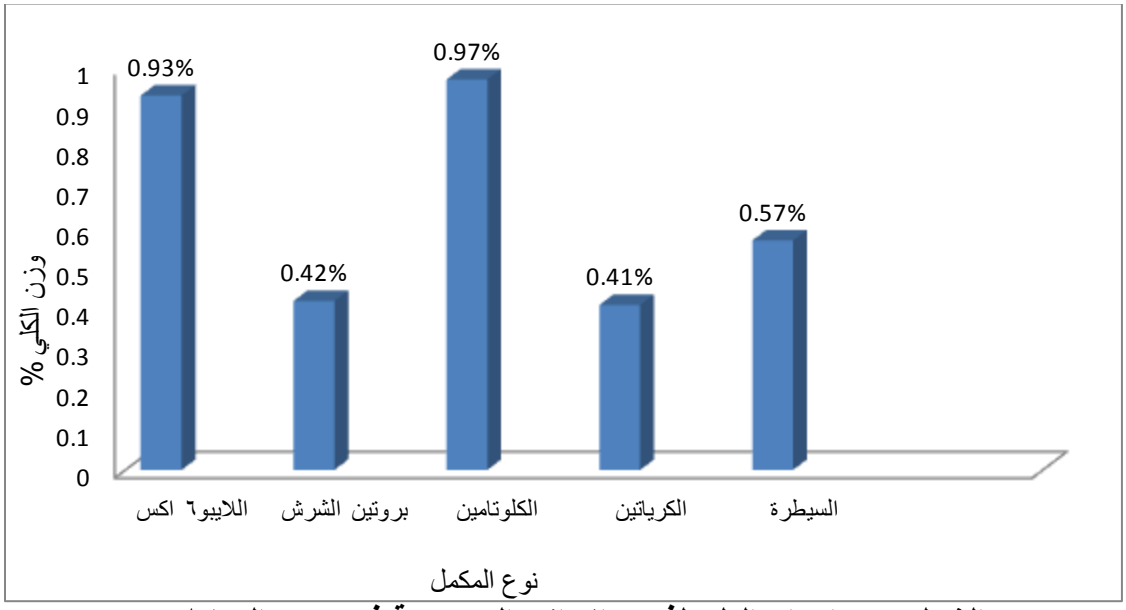
النتائج والمناقشة :

تأثير المكملات في اوزان الاعضاء الداخلية (الكلى و الكبد) للارانب المدروسة:

تأثير المكملات في اوزان الكلى:

لوحظ حصول ارتفاع في وزن الكلى للارانب المدروسة في مكمل الكلوتامين واللايبو 6 اكس حيث بلغت النسبة المئوية لوزن الكلى في مجموعة الكلوتامين و اللايبو 6 اكس كالاتي 0.97 % و 0.93 % على التوالي، مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث بلغت النسبة المئوية لوزن الكلى 0.57 % وكما موضح في الشكل (1)، وقد تعود الزيادة في وزن الكلى الى الاحتقان والنزف وحدوث التضخم في الكبيبات الكلوية. بينما لوحظ انخفاض في النسبة المئوية لوزن الكلى في مجموعة الكرياتين وبروتين الشرش حيث بلغ 0.41 % و 0.42 % على التوالي، قد يعود النقصان في الوزن الى التنخر والتحلل الحاصل في انسجة الكلى.

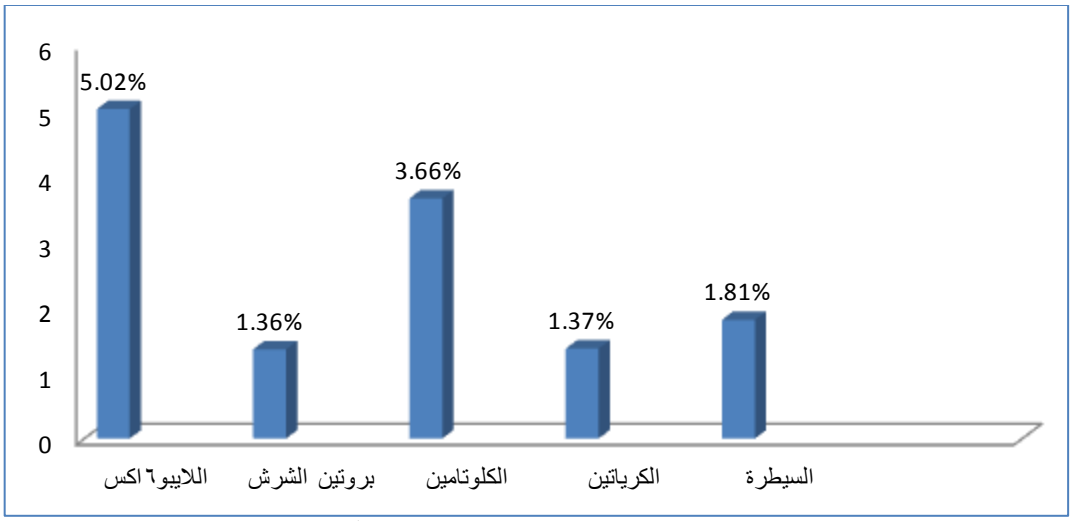
ولم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع Aparicioe واخرون، (2011) حيث لاحظوا ارتفاع في وزن الكلى عند اعطاء بروتين الشرش وبكميات عالية، بينما توصل Tsubuku واخرون، (2004) الى عدم حدوث تغير في اوزان الكلى عند اعطاء مكمل الكلوتامين.



الشكل (1): اوزان الكلى لذكور الارانب المدروسة في جميع المعاملات

تأثير المكملات في أوازن الكبد:

اظهرت النتائج حدوث ارتفاع في وزن الكبد في مجموعة الكلوتامين فقد بلغت النسبة المئوية لوزن الكبد 3.66 % وكذلك في مجموعة اللايبو 6 اكس حيث بلغت 5.02 % مقارنة مع مجموعة السيطرة 1.81 %، وكما موضح في الشكل (2). وتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه Tsubuku واخرون، (2004) بأرتفاع في وزن الكبد عند اعطاء مكمل الكلوتامين، وقد تعود هذه الزيادة في وزن الكبد الى الاحتقان والنزف و حدوث تضخم في الخلايا الكبدية بينما اوضحت النتائج انخفاضا في وزن الكبد في مجموعة الكرياتين حيث بلغت النسبة المئوية لوزن الكبد 1.37 % وكذلك بمجموعة بروتين الشرش اذ بلغت النسبة المئوية لوزن الكبد 1.36 %. ويتفق ذلك مع نتائج Hamad واخرون، (2011) الذين اوضحوا أنخفاضا في وزن الكبد في مكمل بروتين الشرش، وربما يعود النقصان في الوزن الى التنخر والتحلل الحاصل في انسجة الكبد.



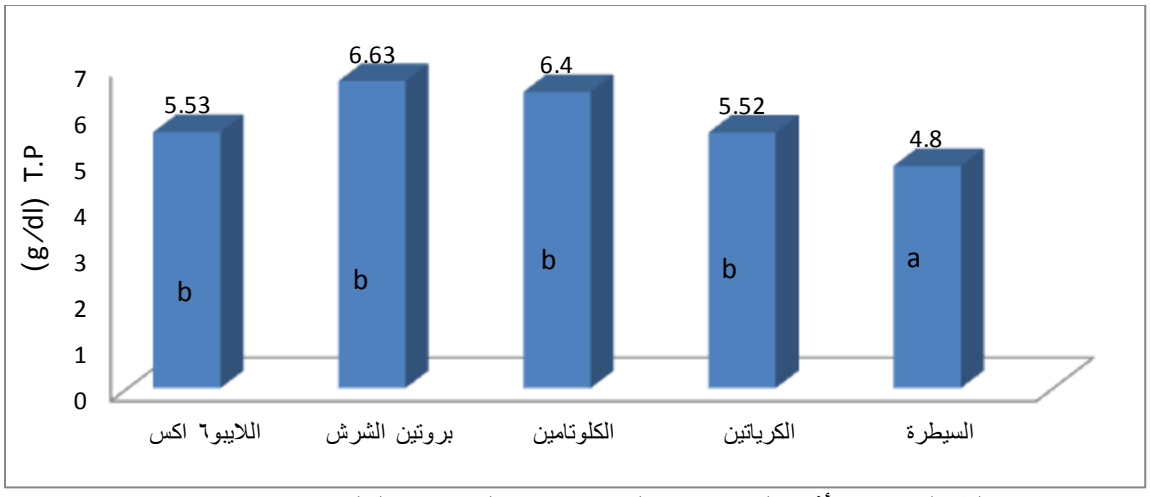
الشكل (2): اوزان الكبد لذكور الارانب المدروسة في جميع المعاملات

تأثير المكملات في مستوى بروتينات الدم :

تأثير المكملات في مستوى البروتين الكلي (Total Protein):

بينت نتائج التحليل الاحصائي والموضحة في الشكل (3) بأن المكملات التالية: الكرياتين و الكلوتامين و بروتين الشرش و اللايبو 6 اكس وبتراكيز: 250 و 143 و 300 و 250 ملغم /كغم من وزن الجسم على التوالي في مستوى البروتين الكلي ادت الى حدوث ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) في مستوى البروتين الكلي، حيث بلغ المتوسط الحسابي للمعاملات (5.52±0.833 و 6.40±0.316 و 6.63±1.33 و 5.53±0.986) g/ dl على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث كانت 4.80±0.1 g/dl. وقد يرجع هذا الارتفاع الى احتمال ان تكون هذه المكملات المستخدمة بالدراسة احماض امينية او دخول هذه الاحماض في تركيبها. وبالتالي يؤدي ذلك الى ارتفاع مستوى البروتين الكلي في دم الارانب (Titiz، 2005). وقد اشار Deldicque واخرون، (2005) ان مكملات الكرياتين تؤدي الى زيادة تخليق البروتين في العضلات وبالتالي يؤدي الى تقليل افراز النتروجين في اليوريا وهذا مايتفق مع نتائج الدراسة الحالية.

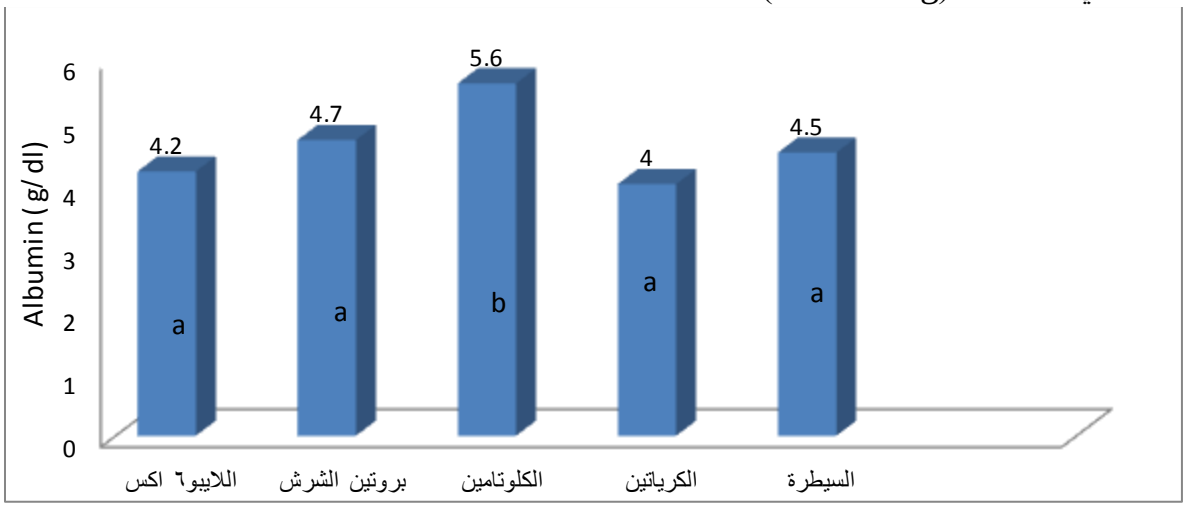
اما الكلوتامين فيزيد من مستوى البروتين الكلي باعتباره حامضاً امينياً والزيادة في تركيز الكلوتامين يمنع التحلل البروتيني بالعضلات، واتفقت هذه النتائج مع ماتوصل اليه Rogero واخرون، (2011). في حين ادت المعاملة ببروتين الشرش الى ارتفاع مستوى البروتين، وقد يرجع ذلك الى احتواء البروتين على احماض امينية اساسية وغير اساسية والتي تعمل على زيادة بناء البروتين (Blomstrand واخرون، 2006). اما نتائج مكمل اللايبو 6 اكس فقد اتفقت مع ماتوصل اليه Abara واخرون، (2007)، حيث ان الكافيين والذي يمثل احد مكونات مكمل اللايبو6 اكس يسبب زيادة في مستوى البروتين الكلي.



الشكل (3): تأثير المكملات على مستوى البروتين الكلي TP (g/dl)

تأثير المكملات في مستوى الالبومين (Albumin):

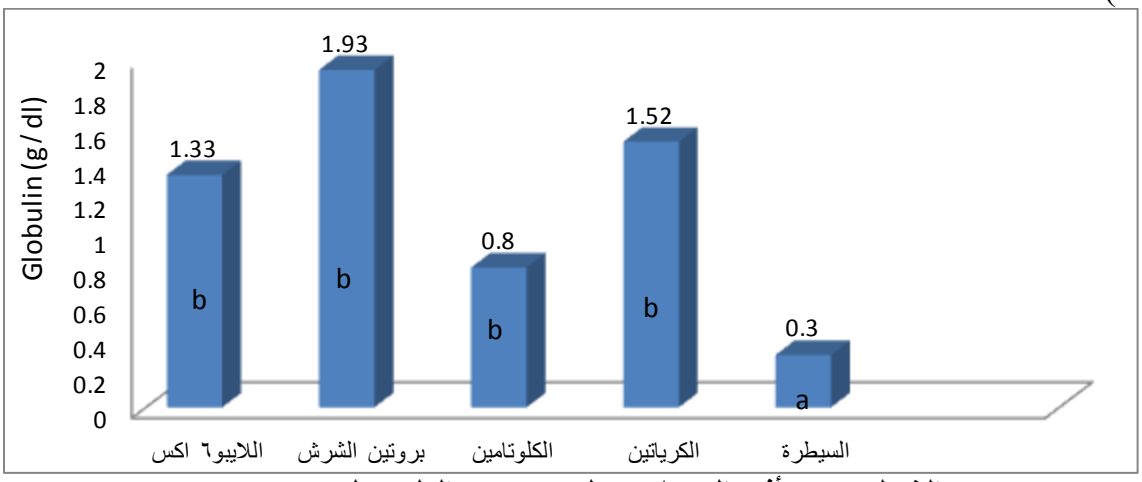
اظهرت نتائج التحليل الاحصائي والموضحة في الشكل (4) الى ان معاملة الارانب بكل من المكملات التالية: الكرياتين و الكلوتامين و بروتين الشرش و اللايبو 6 اكس بالتراكيز الاتية: 250 و 143 و 300 و 250 ملغم /كغم من وزن الجسم تؤدي الى حدوث ارتفاع معنوي في مستوى الالبومين عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) في مكمل الكلوتامين فقط ولم يحدث اي تغير في باقي المكملات. حيث بلغ المتوسط الحسابي للكلوتامين 5.6±0.85 g/dl، اما في مكملات الكرياتين وبروتين الشرش واللايبو 6 اكس حصل انخفاض غير معنوي في المتوسط الحسابي حيث بلغ 4.0±0.75 و 4.7±0.72 و 4.2±0.58 g/dl، مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث بلغ المتوسط الحسابي 4.5±0.92. واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل اليه Jalilimanesb واخرون، (2011) عن ارتفاع مستوى الالبومين عند المعالجة بالكلوتامين. وربما يرجع سبب هذا الارتفاع الى ان جزيئة الالبومين تحتوي في تركيبها على مجموعة ثايول واحدة (SH) لكل مول، ويمكن ان ترتبط مع جزيئة الكلوتاثيون GSH بالكبد خلال عمليات تكسر الكريات الحمراء، وبأعتبار الكلوتامين احد الوسائل الدفاعية من خلال توفيره للكلوتاثيون المختزل الذي يرتبط بدوره مع وحدة SH الموجودة في الالبومين (King، 1961).



الشكل (4): تأثير المكملات على مستوى الالبومين (g/dl)

تأثير المكملات في مستوى الكلوبيولين (Globulin):

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي، والموضحة في الشكل (5) ان معاملة الارانب بكل من المكملات التالية: الكرياتين و الكلوتامين و بروتين الشرش و اللايبو 6 اكس بالتراكيز الاتية: 250 و 143 و 300 و 250 ملغم /كغم من وزن الجسم تؤدي الى حدوث ارتفاع معنوي في مستوى الكلوبيولين عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) في جميع المعاملات مقارنة مع مجموعة السيطرة. حيث بلغ المتوسط الحسابي للمعاملات الكرياتين و الكلوتامين وبروتين الشرش و اللايبو 6 اكس 1.50±0.27 و 0.80±0.22 و 1.93±0.43 و 1.33±0.36 g/dl على التوالي، مقارنة مع السيطرة حيث بلغ المتوسط الحسابي 0.30±0.05 g/dl. ويعتبر الكلوبيولين من بروتينات الدم وموجود بثلاثة انواع المتمثلة بالالفا والبيتا ويتم تصنيعها في الكبد، والكاما التي يتم تصنيعها بواسطة خلايا البلازما الموجودة في الانسجة اللمفاوية وتعتبر المسؤول الاول عن ارتفاع مستوى الكلوبيولين لانها تشكل الجزء الاكبر من الكلوبيولين (Guyton و Hall، 2006). واتفقت نتائج الكلوتامين في دراستنا الحالية مع ماتوصل اليه Soltan، (2009) حيث لاحظ بأن اعطاء الكلوتامين يزيد من بناء البروتينات ومن ضمنها الكلوبيولين، وربما يمثل ذلك أستجابة مناعية لمقاومة التلف الحاصل في الكبد والاعضاء الاخرى، ولم تتفق نتائج الدراسة الحالية لمكمل الكرياتين مع Kreider واخرون، (2003).

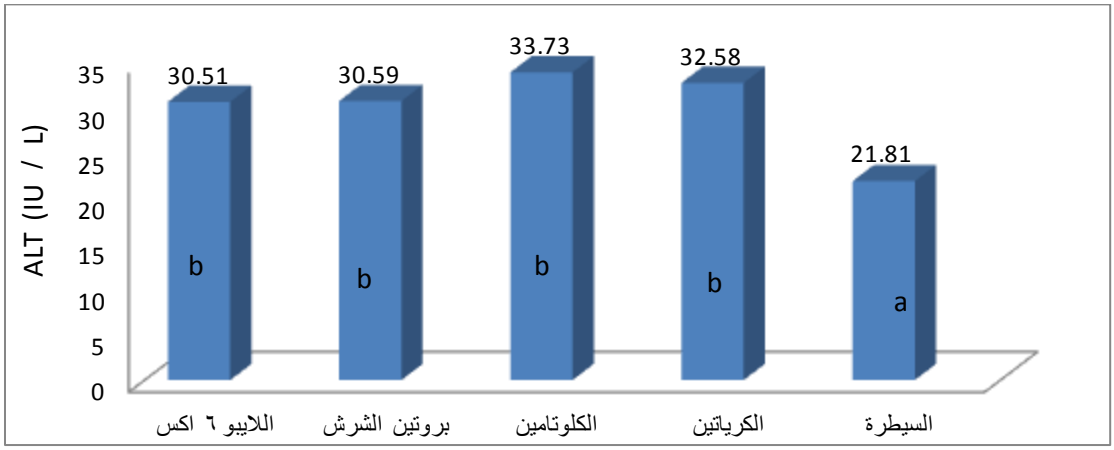


الشكل (5): تأثير المكملات على مستوى الكلوبيولين (g/dl)

تأثير المكملات في مستوى الانزيمات:

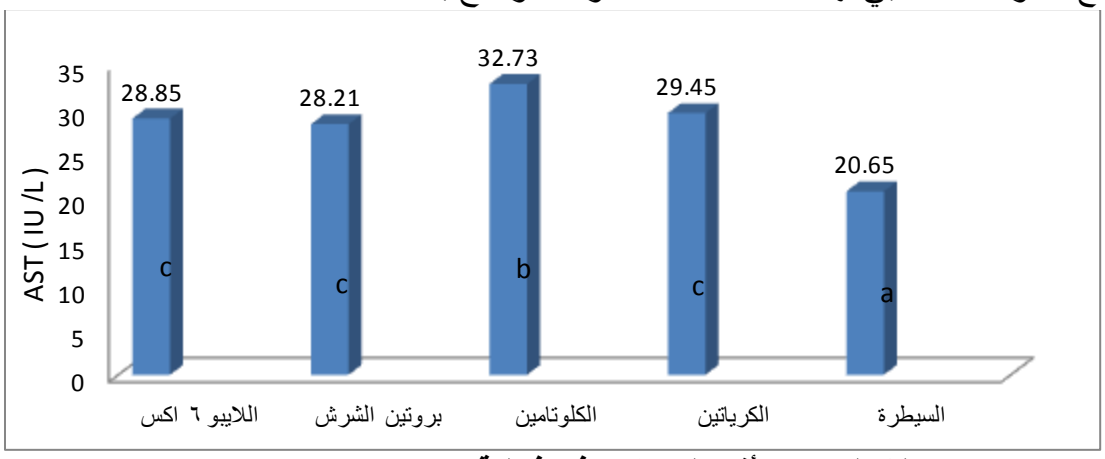
تأثير المكملات في مستوى انزيمات ALT و AST:

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي الموضحة في الاشكال ادناه، ان معاملة الارانب بكل من المكملات التالية: الكرياتين و الكلوتامين و بروتين الشرش و اللايبو 6 اكس بتراكيز الاتية: 250 و 143 و 300 و 250 ملغم /كغم من وزن الجسم، تؤدي الى حدوث ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) في مستوى انزيمات ALT و AST و LDH في جميع المعاملات مقارنة مع مجموعة السيطرة، حيث بلغ المتوسط الحسابي لانزيم ALT في مكملات الكرياتين و الكلوتامين و بروتين الشرش و اللايبو 6 اكس (32.58 و 33.73 و 30.59 و 30.51) IU/L على التوالي، مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث بلغ المتوسط الحسابي لها 21.81 IU/L ، وكما موضح بالشكل ادناه:



الشكل (6): تأثير المكملات في فعالية انزيم ALT (IU / L)

اما انزيم AST فقد بلغ المتوسط الحسابي في مكملات الكرياتين و الكلوتامين و بروتين الشرش و اللايبو 6 اكس (29.45 و 32.73 و 28.21 و 28.85) IU/L على التوالي، مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث بلغ المتوسط الحسابي لها 20.65 IU/L، وكما موضح بالشكل ادناه:



الشكل (7): تأثير المكملات في فعالية انزيم AST (IU/L)

توجد انزيمات ALT و AST بتراكيز عالية في الكبد وبكميات اقل في الكلى والقلب والعضلات والبنكرياس (Robet واخرون، 2000)، ونتيجة تواجد هذه الانزيمات بكميات عالية في الكبد تتحرر الى مجرى الدم بعد موت وتضرر الخلايا الكبدية وبالتالي يعطيان مؤشرا حساسا لتضرر الكبد Liver damage اذ يعكس ارتفاعهما شدة التنخر الحاصل في الكبد (Pratt و Kaplan، 2001). وهذا يتفق مع الدراسة

النسجية التي قمنا بها للكبد والتأثيرات التي اظهرتها هذه المكملات من تحلل وتحطم ونخر كما مبين لاحقآ في الدراسة النسجية.

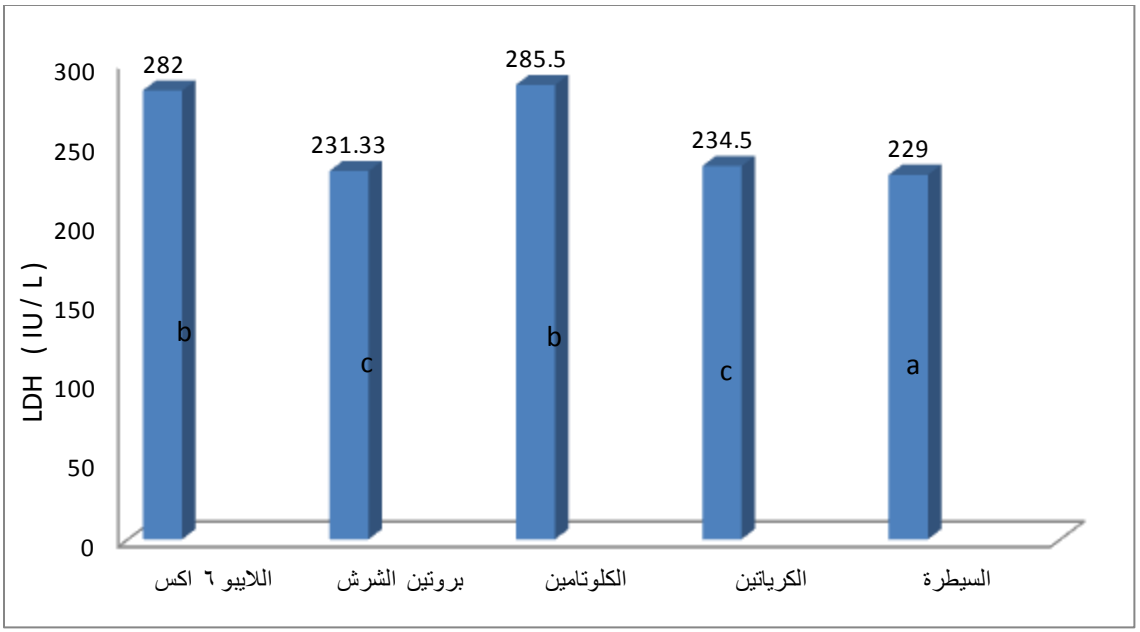
لقد اتفقت النتائج التي توصلنا اليها في اعطاء مكمل الكرياتين مع Waldron واخرون، (2002). حيث لاحظوا حصول ارتفاع في مستوى انزيمات ALT وAST وربما تعود هذه الزيادة لمرض في الكبد. بينما لم تتوافق مع النتائج التي توصل اليها Kumar و Anondan،(2007). في اعطاء مكمل الكلوتامين، حيث لاحظوا حصول انخفاض في مستوى انزيمات ALT وAST وبالتالي ذكروا عدم حصول اي اضرار جانبية، اما مكمل بروتين الشرش لم تتفق نتائجه مع ما توصل اليها Silva واخرون، (2010) حيث لاحظوا انخفاض في مستوى انزيمات ALT و AST وربما يعزى سبب ذلك الى اعطاء هذا المكمل الى اشخاص مرضى ولذلك قد يتداخل مع المرض ويؤدي الى انخفاضهما (Mercier واخرون، 2004). اما بالنسبة لمكمل اللايبو 6 اكس ولندرة الدراسات المتوفرة عن المكونات الداخلة في تركيبه ، لذا تم دراسة مكون الكافيين الداخل في تركيب اللايبو 6 اكس لوجود دراسات عنه حيث يعزى سبب الارتفاع في انزيمات ALT و AST لوجود الكافيين في تركيب هذا المكمل والذي يعمل على غلق مستقبلات الادينوسين التي تثبط تحرير حامض الكلوتاميك وبالتالي يزداد تحرره والذي يعد مهما في تجهيز المجاميع الامينية اللازمة لبناء الاحماض الامينية الاخرى وذلك من خلال فعالية الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين (AST و ALT) وبالتالي يزيد من نشاط هذه الانزيمات (Abara واخرون، 2007).

2-5-4 تأثير المكملات في مستوى انزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز LDH:

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي الموضحة في الشكل ادناه، ان معاملة الارانب بكل من المكملات التالية: الكرياتين و الكلوتامين و بروتين الشرش و اللايبو 6 اكس بتراكيز الاتية 250 و 143 و 300 و 250ملغم /كغم من وزن تؤدي الى حدوث ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$)، مقارنة مع مجموعة السيطرة اذ بلغ المتوسط الحسابي لمكملات (الكرياتين و الكلوتامين و بروتين الشرش و اللايبو 6 اكس) (24.8±234.50 و 6.92±285.50 و 19.73±231.33 و 44.1±282.00) IU/ L على التوالي، مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث بلغ المتوسط الحسابي 0.5±229.0 IU/ L، وكما موضح بالشكل فقد اوضح Joly واخرون، (1991)، ازدياد نشاط انزيم LDH في مصل الدم بسب تحرر الانزيم الى مجرى الدم من الانسجة المتضررة، او الموت الموقعي للخلية، كذلك لوحظ ارتفاع مستوى انزيم LDH في حالة تلف الكبد والتهاب الكبد والتلف العضلي المتزايد وكذلك امراض الكلية (Burtis و Ashwood، 1999). ولم تتفق نتائج مكمل الكرياتين مع ماتوصل اليه الباحث Santos واخرون، (2004). حيث اثبتوا عدم حصول ارتفاع في تركيز انزيم LDH، وربما يعود سبب ذلك ان الباحثين قاموا باجراء رياضة الركض على العينات المشمولة بالدراسة وبذلك اثبتوا انخفاض انزيم LDH بعد اجراء الرياضة والتي اوضحت نقصان في تحطم الخلايا العضلية.

وايضا لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل اليه Lollo واخرون، (2014). في دراسة لبروتين الشرش حيث لاحظوا انخفاض في فعالية انزيم LDH و عدم حصول اضرار وتاثيرات جانبية في الانسجة. وبالتالي نلاحظ بأن هذه المكملات المدروسة تكون مفيدة اذا اخذت بالجرع الموصى بها ولفترة قليلة بينما تكون ضارة اذا اخذت لفترة طويلة وذلك لتأثيرها التراكمي في الجسم وظهور الاضرار المختلفة. اما الكلوتامين فقد اتفقت النتائج التي توصل اليها في الدراسة الحالية مع ما توصل اليه الباحثان (Kumar و Anandan، 2007). من ارتفاع فعالية انزيم LDH وقد اعزى الباحثان سبب الارتفاع الى التلف الحاصل في اغشية الانسجة القلبية بسب النخر.

ولم تتطرق الابحاث لتأثيرمكونات مكمل اللايبو 6 اكس على فعالية انزيم LDH، بينما اوضحت دراسة اخرى عدم تأثير الكافيين والذي يمثل احد مكونات اللايبو 6 اكس على مستوى انزيم LDH (Machado واخرون، 2009).



الشكل (8): تأثير المكملات في مستوى انزيم LDH (IU/L)

الدراسات النسجية Histological Studies

تاثير المكملات على الكلى:

مجموعة اللايبو 6 اكس: Lipo6 X Group

لقلة الدراسات المتعلقة بمكمل اللايبو 6 اكس والاضرار الجانبية له، لذا كان الهدف من هذه الدراسة بيان هذه الاضرار وخصوصا النسجية منها، حيث اظهر الفحص النسجي للنبيبات البولية لكلى الارانب المعاملة بمكمل اللايبو 6 اكس حدوث تضخم الكبيبة Hypertrophy Glomerulus وحدوث نزف لكريات الدم الحمر، والمحفظة تكون واضحة اي ان النسيج الضام المكون للمحفظة يكون واضحا و هناك تلف في المحفظة، بحيث ان كريات الدم في الاوعية الدموية الشعرية للمحفظة ظهرت بشكل واضح ضمن الكبيبة وقسم منها حدث فيها تحلل واحتقان وظهور الهيماتدين Hematidin بلون نفطي كناتج للتحلل على شكل حبيبات، كما موضح في الصورة (2)، مقارنة مع السيطرة الموضحة في الصورة (1).

و اظهر الفحص النسجي للنبيبات البولية تضخما في الخلايا الظهارية المبطنة لها مما ادى الى تضييق تجويف النبيب، وظهرت غالبية هذه الخلايا في مراحل مختلفة من التنخر Necrosis والتحلل Degenration بحيث ان سايتوبلازم قسم من الخلايا والانوية تكون ظاهرة في وسط النبيب (تجويف النبيب)، وبالتالي فأن الغشاء البلازمي والغشاء القاعدي يكونان متميزين في غالبية الخلايا.

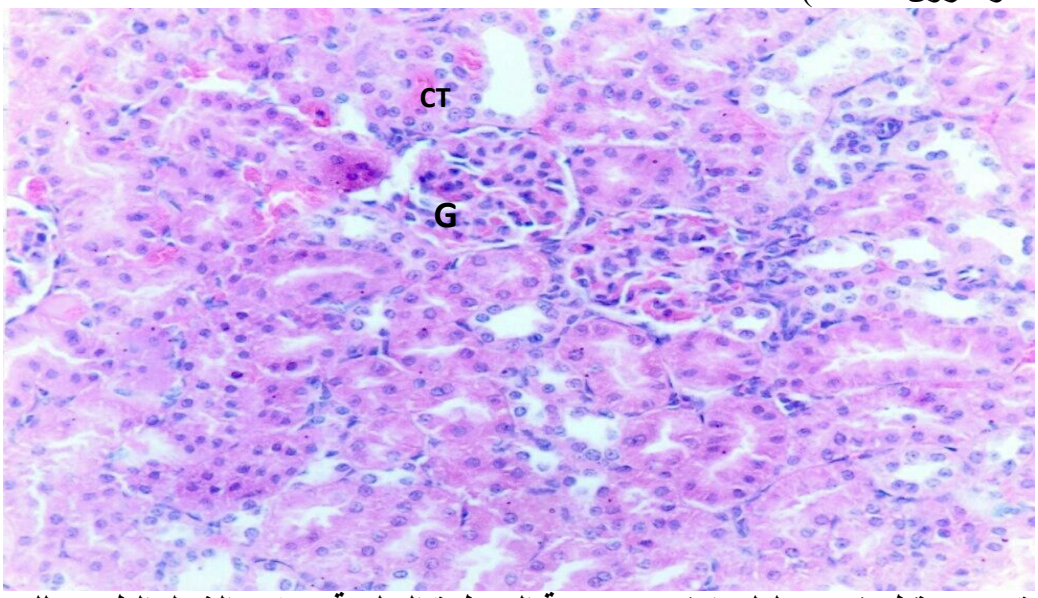
في حين ادى النزف الى انتشار الاحتقان Congesion بدرجات متفاوتة مابين النبيبات والخلايا مما ادى لحصول الموت المبرمج Apoptosis وتكوين التجاويف كما موضح في الصورة (3).

وربما يعود تضخم الكبيبة بالارانب المعاملة بمكمل اللايبو 6 اكس الى الاحتقان والنزف وكذلك للارتفاع في وزن الكلى حيث كان الوزن النسبي لها 0.93 % مقارنة مع مجموعة السيطرة 0.57%. وتشير الدراسات الى ان اليوهامبين الذي يعتبر احد مكونات اللايبو 6 اكس يؤدي الى حدوث اضرار جانبية كثيرة ومنها يكون مقلصا او موسعا للاوعية الدموية (Kearney و Haller، 2010). وكذلك يؤدي الى عجز

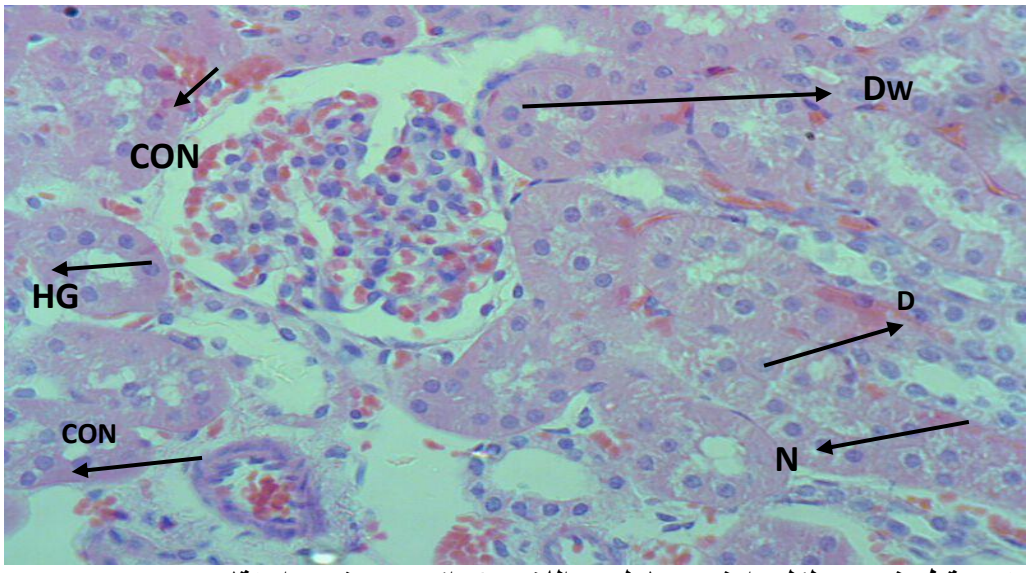
كلوي واضرار للكلى بما في ذلك التلف والتحطم لذا ينصح بعدم تعاطيه من قبل الاشخاص الذين يعانون امراض في الكلى (Blach، 2010).

واوضحت دراسة اخرى تأثير الكافيين والذي يمثل احد المكونات الداخلة في تركيب اللايبو 6 اكس على مرضى الكلى من خلال زيادة تراكيز c-AMP داخل الخلايا، وربما يعود ذلك الى التأثير التثبيطي للكافيين على انزيم الفوسفوداي استريز الذي يعمل على مستقبلات الادينوسين (Belibi واخرون، 2004).

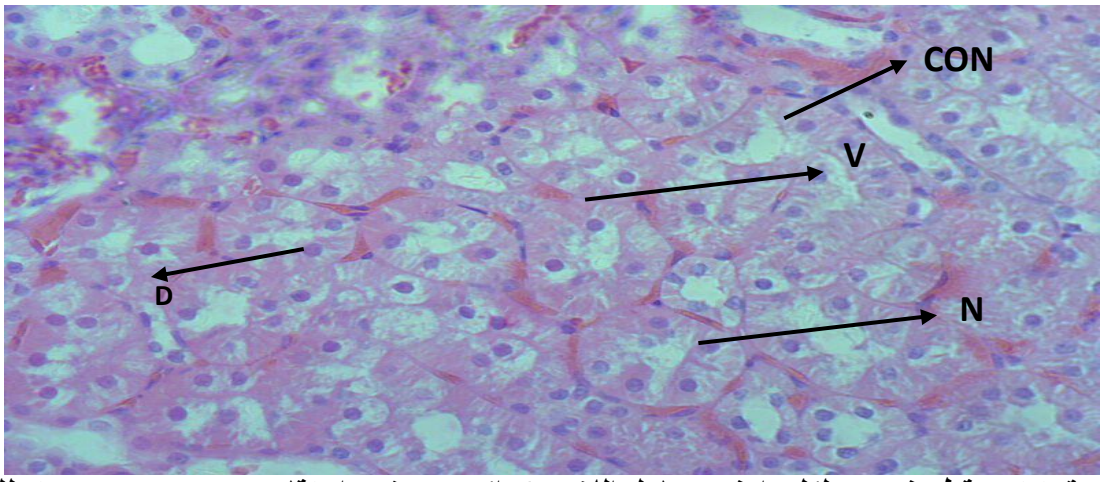
وفي دراسة اخرى اجريت على الفئران لوحظ تأثيرات المعاملة بالكافيين الطويلة الامد حيث اظهرت انخفاض في وزن الجسم وظهور الكلوكوز بالبول Glycosuria وكذلك البروتين بالبول Proteinuria (Belibi واخرون، 2002). وكذلك الانخفاض في سرعة تصفية الانولين مؤدية الى فشل كلوي ملحوظ (Tofovic واخرون، 2002).



الصورة (1): مقطع نسجي لكلى ارنب مجموعة السيطرة السليمة توضح الشكل الطبيعي للكبيبة G والنبيبات البولية CT ، الصبغة H&E x 400.



الصورة (2): مقطع نسجي لكلى ارنب معامل ب اللايبو 6 اكس يوضح احتقان دموي CON و وتضخم الكبيبة HG ، وتلف اوتحطم الجدار DW ، وتحلل D ، وتنخر N ، الصبغة H&E x 400.



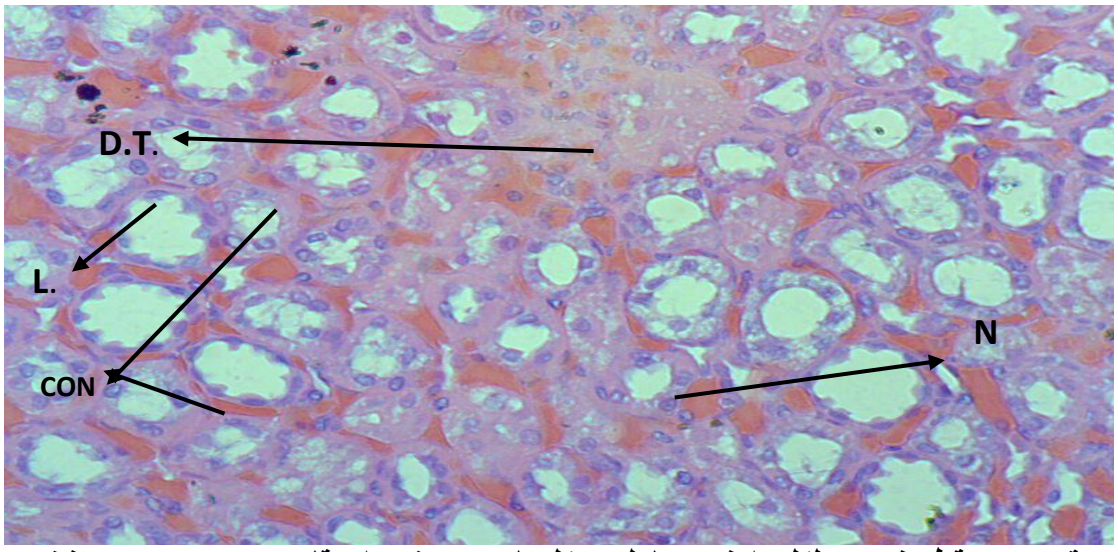
الصورة (3): مقطع نسجي لكلى ارنب معامل اللايبو 6 اكس يوضح احتقان دموي CON ووتحلل D وتنخر N ، تفجي V ، الصبغة H&E x 400.

مجموعة الكلوتامين: Glutamine Group

اظهر الفحص النسجي لكلى الارانب المعاملة بمكمل الكلوتامين حدوث نخر Necrosis وتحلل بأغلب الخلايا المبطنة للنبيبات البولية بحيث اصبح تجويف هذه النبيبات كبيرا، وكذلك فأن القسم الاخرمن هذه الخلايا يكون تالفا Damaged بحيث يكون السايتوبلازم لخلايا عدة نبيبات مختلطة مع بعضها البعض واختلاطها مع كريات الدم المتحللة بحيث تظهر المادة محبة للحامضية (Eosino Philic material).

وان قسم من خلايا هذه النبيبات فقدت سايتوبلازمها، اما الانوية فقد تحولت من الشكل الكروي (الطبيعي) الى المغزلي، وكذلك وجود احتقانات كثيرة منتشرة مابين النبيبات البولية مع وجود نزف لكريات الدم الحمر . وظهور حبيبات الهيماتدين Hematidin بلون نفطي في قسم من المناطق المحتقنة، كما موضح في الصورة (4)، مقارنة مع السيطرة الموضحة في الصورة (1).

واوضحت المعاملة بمكمل الكلوتامين حدوث زيادة في وزن الكلى مقارنة مع السيطرة حيث بلغ الوزن النسبي 0.97 مقارنة بالسيطرة 0.57 وهذا يتفق مع الاحتقان الذي ظهر بدرجة كبيرة. وبالرغم من ان العديد من الدراسات اوضحت بأن استهلاك الكلوتامين يكون امنا بدون اي اثار سلبية، فأن دراسة قام بها Holecek، (2013). اوضحت بأن استخدام جرع من الكلوتامين يزيد من سرعة الترشيح الكبيبي وسرعة جريان البلازما الكلوية وكذلك انتاج الامونيا في الكلى، وكذلك اوضحت دراسة اخرى بضرورة عدم اعطاء الكلوتامين للاشخاص الذين يعانون من عجز كلوي مزمن (Holecek، 2011). لذا ارتأينا في دراستنا الحالية متابعة الاثار السلبية لهذا المكمل.

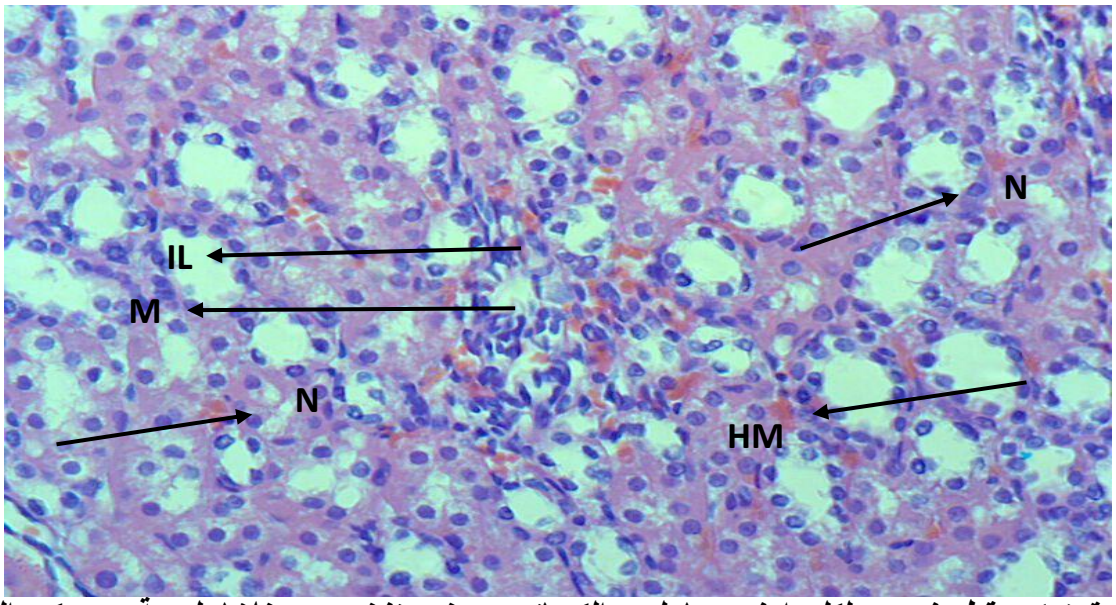


الصورة (4): مقطع نسجي لكلى ارنب معامل ب كلوتامين يوضح احتقان دموي CON وتنخر N و تجويف النبيب L ، وتحطم النبيب D.T ، الصبغة H&E x 400.

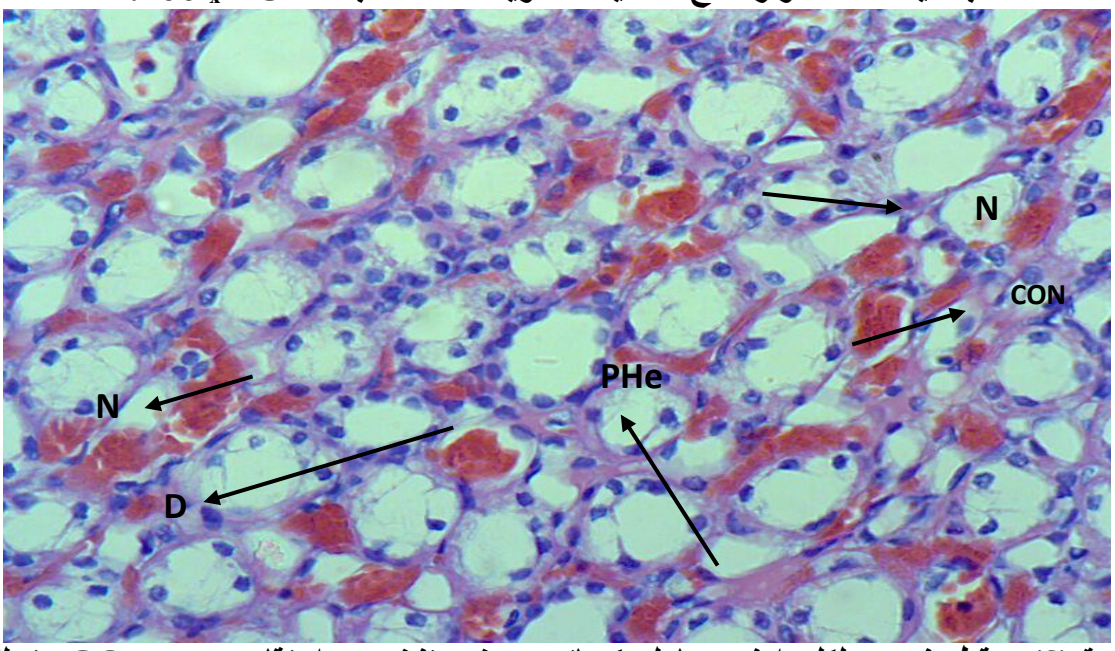
مجموعة الكرياتين: Creatine Group

اظهر الفحص النسجي لكلى الارانب المعاملة بمكمل الكرياتين الى ان تجاويف النبيبات اصبحت كبيرة واغلب الخلايا المبطنة لها غير منتظمة اي منتشرة بسب النخر واتلاف الغشاء الخلوي لهذه الخلايا. وكذلك حصول احتقانات Congesion بدرجة كبيرة في داخل النبيبات وخارجها ووجود اعداد كبيرة من الخلايا البلعمية وارتشاح اعداد كبيرة من الخلايا اللمفية Infilterated Lymphocyte كما موضح في الصورة (5 و 6)، مقارنة مع السيطرة الموضحة في الصورة (1) الموضحة اعلاه.

وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات حول حدوث خلل وظيفي في الكلية للاشخاص الذين يتناولون الكرياتين، حيث تلعب الكلية دورا مهما في ايض الكرياتين من خلال طرحها الكرياتين بالبول والذي يعتبر الناتج النهائي لايض الكرياتين (Yoshizumi و Tsourounis، 2004). حيث اوضحت دراسة قام بها Taner واخرون، (2010) لشخص كان يتناول الكرياتين ظهور الكثير من المتاعب عليه من غثيان وتقيؤ والم في المعدة، وعند اخذه خزعة للكلية تبين ظهور نخر النبيبات الحاد Acute tubular necrosis والتهاب حاد في الكبيبات الكلوية وزيادة في معدل الترشيح الكبيبي، وبذلك اوصى الباحث Taner واخرون، (2010) بأن استهلاك الكرياتين في بناء الاجسام يجب ان يؤخذ بحذر حيث هنالك احتمالية للاصابة بتلف الكلية.



الصورة (5): مقطع نسجي لكلى ارنب معامل ب الكرياتين يوضح تنخر N وخلايا بلعمية M وكبر الخلايا البلعمية HM ، وارتشاح الخلايا اللمفاوية IL ، الصبغة H&E x 400.

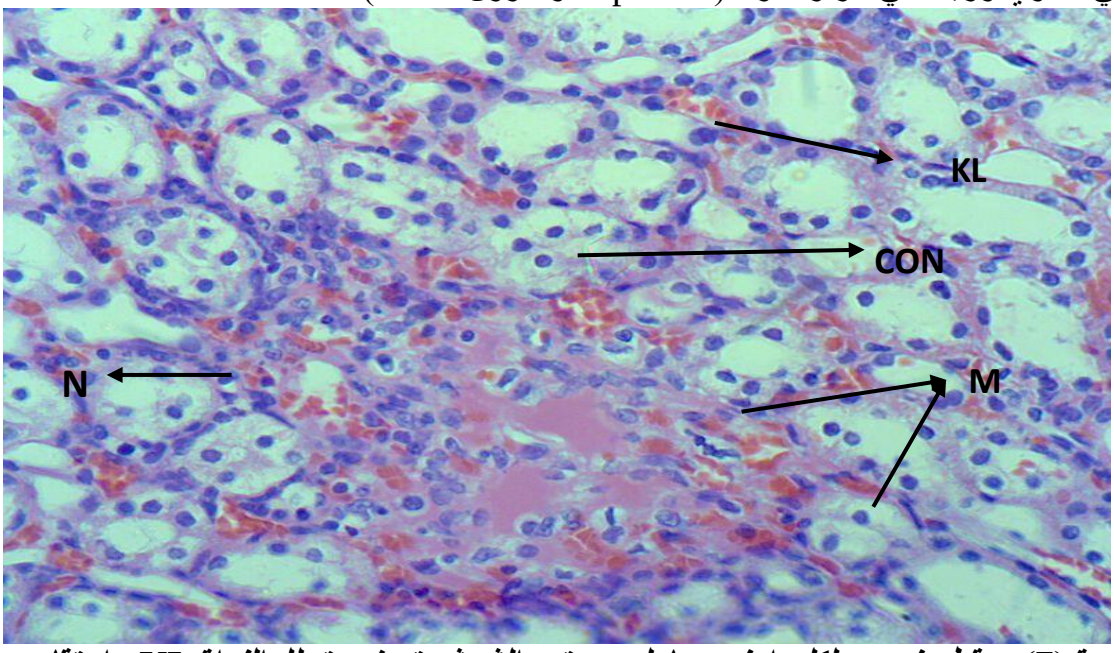


الصورة (6): مقطع نسجي لكلى ارنب معامل بكرياتين يوضح تنخرN واحتقان دموي CON وتحلل D وتحلل جزئي PHe ، الصبغة H&E x 400.

مجموعة بروتين الشرش: Whey Protein Group

حيث اظهر الفحص النسجي لكلى الارانب المعاملة بمكمل بروتين الشرش كبرت جاويف غالبية النبيبات البولية وقد حدث فيها نخر Necrosis وتحلل نووي Karyolysis. وهناك مناطق حدث فيها تلف للنبيبات البولية Tubule's Damage مؤدية الى انتشار كريات الدم الحمر والخلايا الظهارية وكذلك تحلل جزئي Partial haemolysis لكريات وانتشار اعداد كبيرة من الخلايا البلعمية. كما موضح في الصورة (7)، مقارنة مع السيطرة في الصورة (1) الموضحة اعلاه.

وبما ان الكلى تقوم بتصفية الدم فأن زيادة هذه البروتينات يؤدي الى اجهاد الكلى (Tunick و اخرون، 2008). وكذلك اوضحت دراسة اخرى ان زيادة تناول بروتين الشرش تؤدي الى تغيرات في الوضع الصحي الكلوي وزيادة في افراز البول (Aparicio واخرون، 2011).



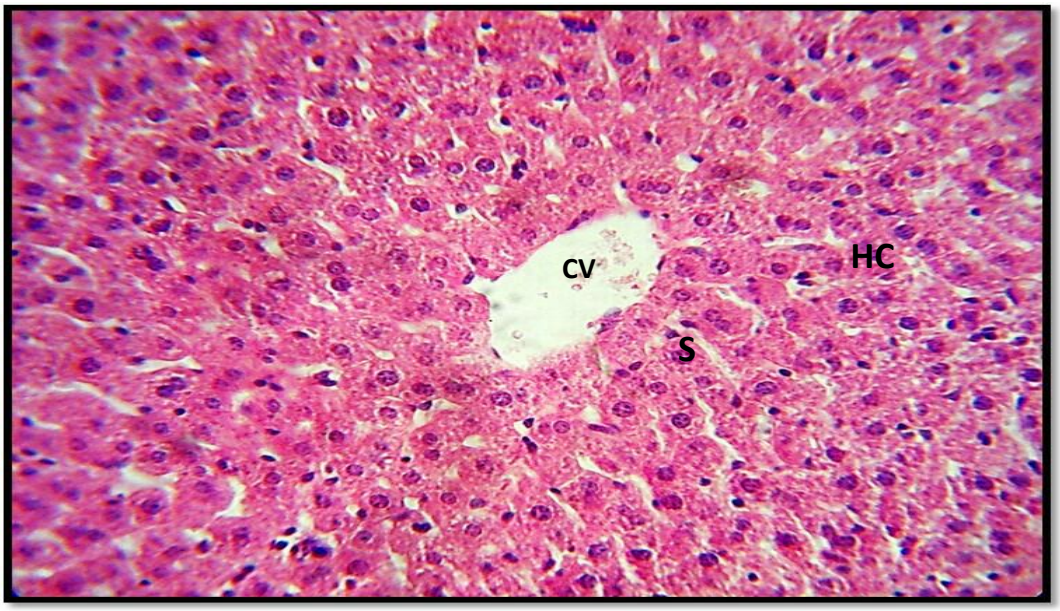
الصورة (7): مقطع نسجي لكلى ارنب معامل ببروتين الشرش توضح تحلل النواة KL واحتقان دموي CON وخلايا البلعمية M وتنخر N ، الصبغة H&E x 400.

تأثير المكملات على الكبد

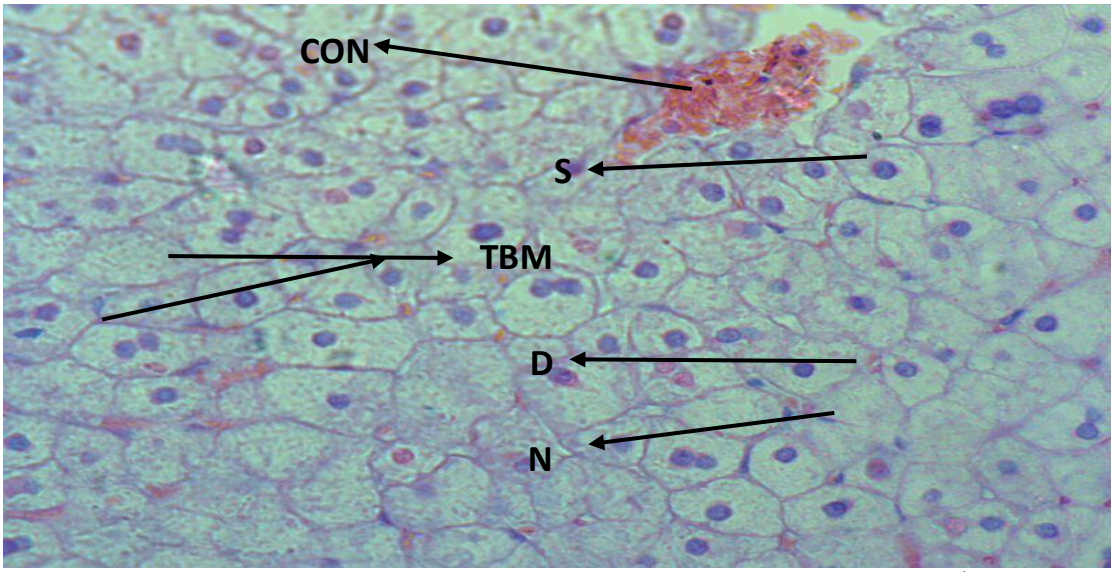
مجموعة اللايبو 6 اكس: Lipo6 x Group

اظهر الفحص النسجي لكبد الارانب المعاملة بمكمل اللايبو 6 اكس ان الصفائح الكبدية غير واضحة الترتيب الشعاعي مؤديا الى اختفاء الجيبانيات في اكثر المناطق بسبب انتفاخ الخلايا وحدوث النخر Necrosis السايتوبلازمي والتحلل النووي Karyolysis، وادى زيادة سمك الغشاء البلازمي للخلايا الى ظهور هذه الخلايا الكبدية المنفتحة باحجام مختلفة ذات حدود واضحة للغشاء الخلوي وفي نفس الوقت ادت الى تضييق الوريد المركزي ووجود الاحتقان الدموي Congesion فيه وكذلك انتشار الاحتقانات والخلايا الدموية المتحللة وغير المتحللة في مدى النسيج كما موضح في الصورة (9) مقارنة مع السيطرة في الصورة (8).

و قد ترجع الاثار الجانبية لمكمل اللايبو 6 اكس الى وجود المواد الداخلة في تكوينه ومن امثلتها السنفرين واليوهامبين والكافيين وغيرها. حيث تباينت تأثيرات الكافيين في الدراسات بين ايجابية وسلبية ويعتمد ذلك على مقدار الجرعة وطريقة التعاطي (حقنا او فمويا) وفترة المعالجة، وعادة يتمثل تأثيره بالكبد من خلال تحفيزه لبيروكسدة الدهون التي تسبب تلف للاحماض النووية والبروتينات في الخلايا (Al Moutaery واخرون، 2003). ففي دراسة اجريت على الكافيين اظهرت حدوث احتقان في الوريد المركزي للكبد (Abd el – Ghany واخرون،2012)، وكذلك فأنه يعتبر مادة واقية ضد التلف الخلوي (Krisko واخرون ،2005).



الصورة (8): مقطع نسجي لكبد ارنب من مجموعة السيطرة يوضح وريد مركزيCV محاط بخلايا كبدية HC مرتبة شعاعيا والجيبانيات S ، الصبغة H&E $_x$ 400.



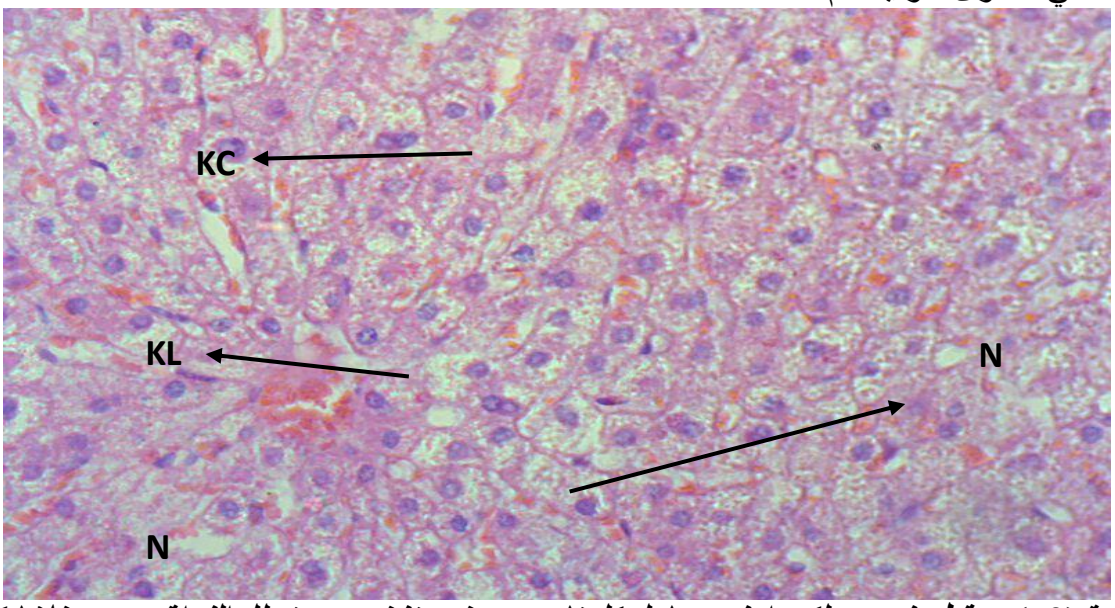
الصورة (9): مقطع نسجي لكبد ارنب معامل اللايبو 6 اكس توضح احتقان دموي CON وجيبانيات S وتحلل D تنخر N ، وتسمك الغشاء البلازمي TBM ، الصبغة H&E $_x$ 400.

مجموعة الكلوتامين: Glutamine Group

اظهر الفحص النسجي لكبد الارانب المعاملة بمكمل الكلوتامين الى وجود الترتيب الشعاعي للخلايا الكبدية التي اظهرت درجة كبيرة من النخر والتحلل النووي Karyolysis وانتفاخ الخلايا، وكذلك ادت الى تضيق الجيبانيات واحتقانات دموية في الجيبانيات Apperanc Congesion in the sinusoid

في حين اظهر الفحص النسجي مابين الصفائح الكبدية في المناطق شديدة الاصابة بأن الترتيب الشعاعي يكون شبه مفقودا والاحتقان بشكل كبير في الوريد المركزي مع وجود حبيبات الهيماتدين Hematidin النفطية اللون، وحدوث تلف Damaged في جدار الوريد المركزي كما موضح في الصورة (10) مقارنة مع السيطرة في الصورة (8) الموضحة اعلاه.

لم يؤخذ التعاطي المزمن للكلوتامين للاشخاص الاصحاء على محمل الجد في الكثير من الدراسات، حيث تم اعطاء الكلوتامين في الكثير من الدراسات لاشخاص يعانون من مرض معين وبذلك لم تظهر تأثيرات المكمل لوحده سواءا الايجابية او السلبية، فقد اقترح Clemmesen واخرون، (2000). بأن تناول الكلوتامين يعتبر امنا ماعدا في حالة مرضى الكبد سواءا عجز الكبد الحاد او تشمع الكبد حيث تسبب بزيادة ملحوظة في مستوى امونيا الدم.

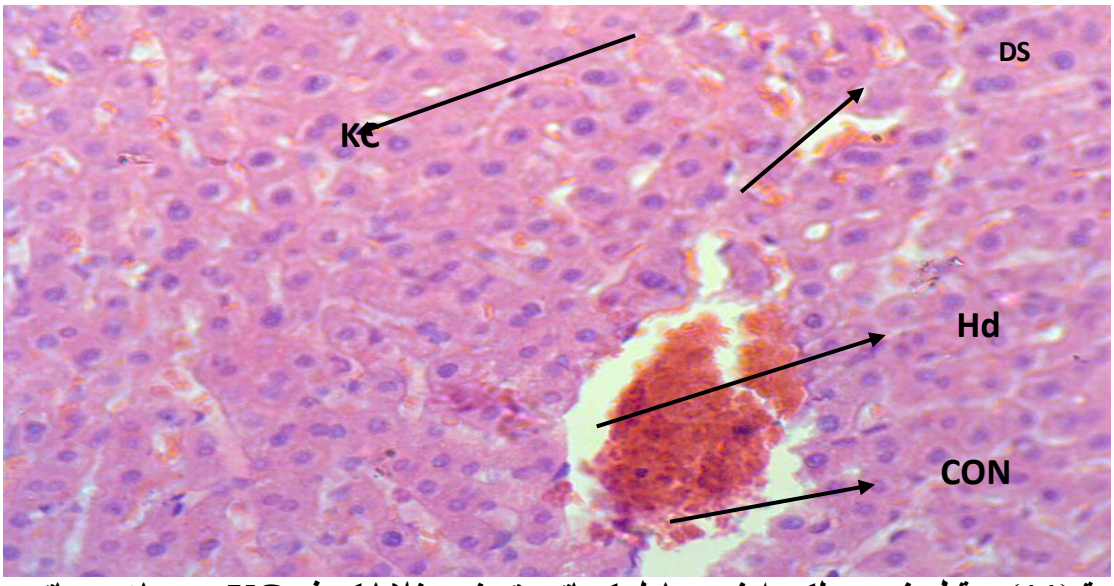


الصورة (10): مقطع نسجي لكبد ارنب معامل كلوتامين يوضح تنخر N وتحلل النواة KL وخلايا كويفر KC الصبغة H&E x 400.

مجموعة الكرياتين: Creatine Group

اظهر الفحص النسجي لكبد الارانب المعاملة بمكمل الكرياتين الى وجود احتقان دموي في الوريد المركزي مع ظهور كمية قليلة من حبيبات الهيماتدين بلون نفطي ووجود تمزق في جدار الوريد المركزي، اما الصفائح الكبدية فتكون غير واضحة الترتيب وخاصة في المناطق الاكثر تضررا حيث ان الجيبانيات ذات اشكال واحجام مختلفة وكبر خلايا كويفر الموضحة في الصورة (11)، مقارنة مع مجموعة السيطرة في الصورة (8) الموضحة اعلاه.

وتتمثل احدى الميكانيكيات المحتملة لسمية التغذية بالكرياتين الى تراكم كميات كبيرة من الكرياتين بالانسجة والتي لها القدرة الايضية الواطئة على تحويل الكرياتين الى كرياتنين، ومن ثم تتحول انزيميا الى مواد سامة خلويا مثل الفورمالديهايد والمثيل امين (Clayton واخرون، 2004). وبالاضافة الى ذلك ان تناول الكرياتين طويل الامد يحفز التنظيم السلبي لمستقبلات الكرياتين في العضلات الهيكلية وتحفيز البروتين الناقل للكرياتين (Crea T) الى الاعضاء الاخرى، مما يؤدي الى توقف الخزن الاضافي للكرياتين بالعضلات وبالتالي زيادة تراكيز الكرياتين بالاعضاء الاخرى ذات التراكيز الخزنية الواطئة مثل الكلى والكبد (Ipsiroglu واخرون،2001). مما يحفز تحولها الى مركبات سامة خلويا، وبالتالي نلاحظ تزايد المخاوف بكون الكرياتين يزيد من تلف الكبد (Greenwood واخرون، 2000).

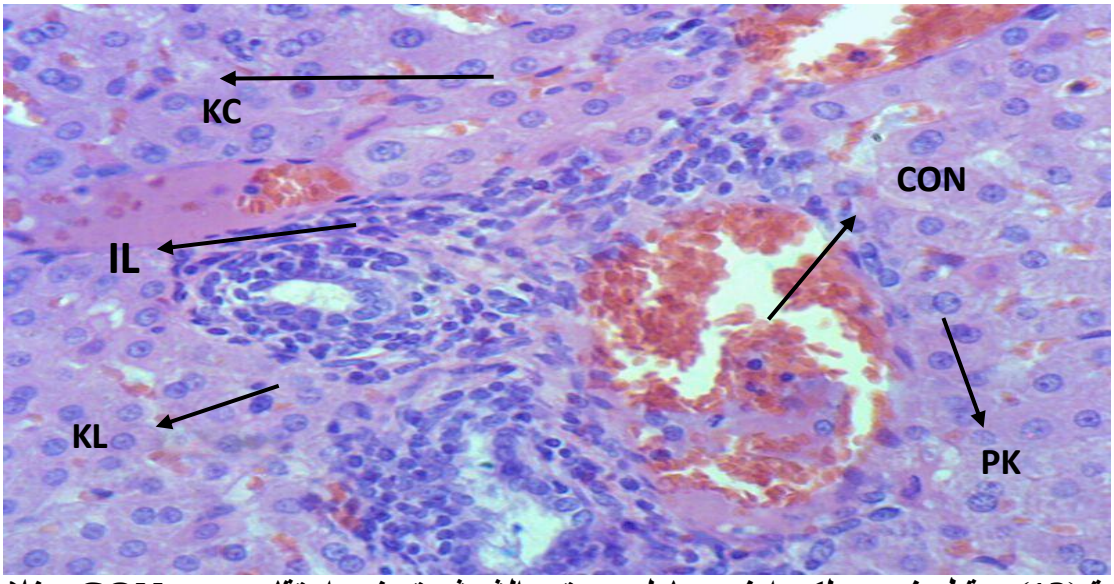


الصورة (11): مقطع نسجي لكبد ارنب معامل كرياتين توضح خلايا كويفر KC وحبيبات هيماتدين Hd واحتقان دموي CON ، وتوسع الجيبانيات DS ، الصبغة H&E x 400.

مجموعة بروتين الشرش: Whey protein Group

اظهر الفحص النسجي لكبد الارانب المعاملة بمكمل بروتين الشرش الى وجود احتقان دموي في الوريد المركزي وارتشاح الخلايا اللمفية وتحلل النووي في غالبية الخلايا وعدم وضوح الجيبانيات والصفائح الكبدية في اغلب المناطق وظهور خلايا ذات سايتوبلازم مثخن، كما موضح في الصورة (12) مقارنة مع السيطرة في الصورة (8) الموضحة اعلاه .

ان معاملة الارانب بمكمل بروتين الشرش بتركيز 300 ملغم/كغم من وزن الجسم ادى الى انخفاض في وزن الكبد حيث كانت النسبة المئوية للكبد 1.36% مقارنة بالسيطرة 1.81% وهذا ماظهر في الفحص النسجي لخلايا الصفائح الكبدية صغيرة الحجم. وعلى الرغم من ان بروتين الشرش استخدم في معالجة العديد من الامراض ومنها امراض السرطان وامراض القلب الوعائية (CVD) (Lands واخرون، 2010). ففي دراسة استخدم بروتين الشرش Whey Protein في معالجة الكبد المدهن للجرذان حيث يخفض مستوى الاجهاد التأكسدي وبالتالي حماية الكبد (Hamad واخرون، 2011). ولكن التراكيز العالية منه تؤدي الى تلف واضرار بالكبد (Tunick، 2008).



الصورة (12): مقطع نسجي لكبد ارنب معامل ببروتين الشرش توضح احتقان دموي CON وخلايا ذات سايتوبلازم مثخن PK ، خلايا كويفر KC ، وارتشاح الخلايا اللمفاوية IL ، تحلل النواة KL ، الصبغة H&E x 400.

المصادر

1- الحاج، حميد احمد (2010). التحضيرات المجهرية (التقنيات المجهرية). الاسس النظرية والتطبيقية (الطبعة الاولى). مركز المكتب الاردني. عمان – الاردن.

2- Abara, A.E., Obochi, G.O., Malu , S.P., Obi- Abang, m., Ekam, V.S and Uboh F.U., (2007). Effect of caffeine – coconut product interactions on induction of microsomal drug - metabolizing enzymes in wistar albino rats, Nigerian Journal of Physiological Sciences, 22 (1-2) :75-81.

3- Abd El-Ghany, M.A., Rasha, M. Nagib and Hagar, M. El-Saiyed. "Hypolipi - demic (2012). Effect of Caffeine Beverages in Fatty Liver Injured Rats" Journal of Applied Sciences Research, 8(3): 1502-1509.

4- Al Moutaery K, Al Deeb S, Ahmad Khan H, Tariq M. (2003). Caffeine impairs short-term neurological outcome aft er concussive head injury in rats. Neurosurgery 53: 704-11.

5- Aparicio VA, Nebot E, Porres JM, Orteqa FB, Heredia JM, Lopez-Jurado M, Ramrez PA. (2011). "Effects of high-whey-protein intake and resistance training on renal, bone and metabolic parameters in rats" Br J Nutr. Mar; 105(6):836-45.

6- Belibi FA, Wallace DP, Yamaguchi T, Christensen M, Reif G, Grantham JJ: (2002). The effect of caffeine on renal epithelial cells from patients with autosomal dominant polycystic kidney, disease. J Am Soc Nephrol 13(11): 2723-2729,.

7- Belibi FA, Reif G, Wallace DP, et al (2004). Cyclic AMP promotes growth and secretion in human polycystic kidney epithelial cells. Kidney Int 66(3):964-973.
8- Blach B A, (2010). Prescription for Nutritional Healing, Fifth Edition Penguin. com pag 850-860.
9- Blomstrand, E.; Eliasson ,J,; Karlsson, H. K.; Kohnke, R. (2006). Branched Chain amino acids activate Key enzyms in protein synthesis after physical exercise. J .Nuty,,136 (I suppl.) 269 s-73s.
10- Burtis, C. A. and Ashwood, E. R. (1999). Teitz Text Book of Clinical Chemistry, 3rded., W.B. Saunders Company, London, UK., pp: 840-843.
11- Cao, C. Loewenstein DA. Linx X. Zhang C. Wang L. Duara R. Wu Y. Giannini A et al (2012). " High Blood Caffeine levels in MCI linked to progression to dementia " Journal of Alzheimer 's disease 30 (3) :559-72.
12- Clayton, T.A., Lindon, J.C., Everett, J.R., Charuel, C., Hanton, G., Le Net JK (2004). Hepartoxininduced hypercreatinaemia and hypercreatinuria: their relationship to one another, to liver damage and to weakened nutritional status. *Archives of Toxicology* 78,86-96.
13- Clemmesen JO, Kondrup J, Ott P. (2000). Splanchnic and leg exchange of amino acids and ammonia in acute liver failure. *Gastroenterology*. 118: 1131-1139.
14- Cornelis, MC, El-Sohemy, A (2007). "Coffee, caffeine, and coronary heart disease". *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*10 (6): 745– 51.
15- Deldicque, L., Louis, M., Theisen, D., Nielens, H., Dehoux, M., Thissen, J-P., Rennie, M. J., y Francaux, M. (2005). Increased IGF mRNA in Human Skeletal Muscle after Creatine Supplementation. Medicine and Science in Sports Exercise, 37, 731-736.
16- Doumas, B. T., Waston, W. A. and Bigg, H. G. (1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with BCG. Clin Chim Acta; 31:87-96.
17- Greenwood M, Kreider R, Melton C, Rasmussen C, Lundberg J, Stroud T, Cantler E, Milnor P, Almada AL, (2000) Short- and long-term creatinesupplementation does not affect hematological markers of health. J Strenght Cond Res 14:362-363.
18- Gualano, B. Ugrinowitsch, C. Novaes, RB. Artioli, GG. Shimizu, MH. Seguro, AC. Harris, RC. Lancha, AHJr (2008). Effects of creatine supplementation on renal function: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, Eur, J Appl physiol, May; 103(1):33-40.
19- Guyton, A. C. and Hall, J. E. (2006). Text book of medical physiology. 11thed, Elsevier science, Philadelphia. pp: 1014-1073.

20- Hamad E. M, Taha S. H, Abou Dawood A.G, Sitohy M. Z, and Abdel-Hamid M. (2011) (Protective effect of whey proteins against nonalcoholic fatty liver in rats). Lipids in Health and Disease 10:57.
21- Holecek M, (2013). Side Effects of Long-Term Glutamine Supplementation. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 37: 607.
22- Holecek M, Kovarik M. (2011). Aherations inprotein metabolism and amino acid concentrationsin rats fed by ahigh-protein (casein-enriched) diet:effect of starvation .food chem. Toxicd 49 ;3336-3342.
23- Ipsiroglu, S.O., Stromberger, C., Ilas, J., Hôger, H., Mûhl, A. and Ipsiroglu-Stockler, S. (2001). Changes of tissue creatine concentrations upon oral supplementation of creatine-monohydrate in various animal species. *Life Sciences* 69, 1805-1815.
24- Jalilimanesh. M, Mozaffari-Khosravi. H, Azhdari. M, (2011). The Effect of Oral L-glutamine on the Healing of Second-degree Burns in Mice. WOUNDS ;23(3):53–58.
25- Joly, V., Bergeron, Y., Bergeron, M. and Garbone, C. (1991). Antimicrob. Agents. Chemother; 35(2), 361.
26- King, T. P. (1961) On the Sulfhydryl Group of Human Plasma Albumin. J. Biol. Chem., 2S6: PCS.
27- Kreider B.R, Melton C, Rasmussen J.C, Greenwood M, Lancaster S, Cantler C.E, Milnor P, Almada L.A. (2003). Long-term creatine supplementation does not significantly affect clinical markers of health in athletes. 95 *Molecular and Cellular Biochemistry* 244: 95–104,.
28- Krisko A, Kveder M, Pifat G. (2005). Effect of caff eine to oxidation susceptibility of human plasma low density lipoproteins. Clinica Chimica Acta; 355: 47-53.
29- Krissansen GW. (2007). Emerging health properties of whey proteins and their clinical implications. J Am Coll Nutr; 26:713S-23S.
30- Kumar S.H.S and Anandan .R. (2007). "Biochemical Studies on the Cardio-protective Effect of Glutamine on Tissue Antioxidant Defense System in Isoprenaline-Induced Myocardial Infarction in Rats" J clin Biochem Nutr; 40(1): 49-55.
31- Lands, L C., Iskandar, M., Beandoin, N., Meeham, B., Daulctbaer, N., Berthiuame, Y., Dietary Supplementation with Cystie Fibrosis. J. Med, Food, 13(1):77-82.
32- Lobley G E, Simone H O, and Mcneil CJ. (2001). Glutamine in aminal scince and production Glutamine Metabolisame :Nytritional and clinical siynifical 131,2525s-2531s.

33- Lollo P.C.B., Amaya-Farfan J, Faria I.C, Salgado J.V.V, Chacon-Mikahil M.P.T, Cruz A.G, Oliveira C.A.F, Montagner P.C, Arruda M. (2014). "Hydrolysed whey protein reduces muscle damage markers in Brazilianelite soccer players compared with whey protein and maltodextrin. Atwelve-week in-championship intervention" International Dairy Journal 34 19e24.
34- Machado. M, Breder A.C, Ximenes C.M, Simoes R.G, Vigo F.FG. (2009). Caffeine Supplementation and muscle damage in soccer players. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 45, n. 2.
35- Mercier A, Gauthier SF, Fliss I. (2004). Immunomodulating effects of whey proteins and their enzymatic digests. Int Dairy J;14:175-183.
36- Pratt, D.S. and Kaplan, M.M (2001). Evaluation of liver function in: Hassison's Principles of Internal Medicine. Branwald, E.; Fauci, A.S; Kasper, D.L. 15th edition, McGraw Hill Co., USA., 1711-1715.
37- Robert, D.; John, A.L.; Frederick, S.N.; David, R.G; Raymond, S.K. and Leonard, B.A. (2000). Clinical chemistry Diagnosis and Monitoring of hepatic, performanance characteristics of Laboratory Tests., 46 (12): 2027-2049.
38- Rogero M.M, Borges M.C, Tulio T**.** (2011). Effects of Dietary Glutamine Supplementation on the Body Composition and Protein Status of Early-Weaned Mice Inoculated with *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guerin. Nutrient. Sep 3(9) 792- 804 .
39- Ronald, J.M;F. Depiesseand H.Geyer (2007). the use of dietary supplements by athletes. Journal of Sports Sciences. 25(S1):S103-S113.
40- Santos R.V.T, Bassit R.A, Caperuto E.C, Costa Rosa L.F.B.P. (2004). The effect of creatine supplementation upon inflammatory and muscle soreness markers after a 30km race, Life Sciences 75 1917–1924.
41- Silva C.B.L, Moura F.L, Silva A.A, Lima V.F.M, Almeida R.S, Ranca jr C.M, Nuccl A, Farfan A.J. (2010). Effect of nutritional supplementation with milk whey proteins in amyotrophic lateral sclerosis patients, Arq Neuropsiquiatr; 68(2):263-268.
42- Soltan M, A. (2009). nfluence of Dietary Glutamine Supplementation on Growth Performance, Small Intestinal Morphology, Immune Response and Some Blood Parameters of Broiler Chickens. International Journal of Poultry Science 8 (1): 60-68,.
43- Taner B, Aysim O, Abdulkadir U. (2010). The effects of the recommended dose of creatine monohydrate on kidney function. NDT Plus 1 of 2.
44- Thompson, Rebeca, Keene, Karen (2004). " The pros and cons of caffeine " The psychologist the British Psychological Society 17 (12)698-701.

45- Tietz, Y., (2005), Clinical Biochemistry, 6th ed., McGraw – Hill, New York. 825.
46- Tietz, N.W. (1970). " Fundamentals of clinical chemistry". Sanders. pp: 446.
47- Tietz, N.W. (1987). Fundamentals of clinical chemistry. W.B. Saunders Co, Philadelphia, USA. pp: 940.
48- Tietz, N.W. (1995). Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rded. W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA. pp: 266-273.
49- Tietz, N.W. (1999). Textbook of clinical chemistry. 3rded. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders. pp: 819-861,1245-1250.
50- Tofovic SP, Kost CK Jr, Jackson EK, Bastacky SI: (2002). Longterm caffeine consumption exacerbates renal failure in obese, diabetic, ZSF1 (fa-fa(cp)) rats. Kidney Int 61(4):1433-1344.
51- Tsubuku, S. Hatayama, K. Mawatari, K. Smriga, M and Kimura, T (2004). " Thirteen-Week Oral Toxicity Study of L-Glutamine in Rats " International Journal of Toxicology, 23: 107.
52- Tunick MH, Onwulata CI, Huth PJ. (2008). Whey protein production and utilization whey processing, functionality and health benefits. Ames, Iowa: Blackwell Publishing; IFT Press, p. 1-13.
53- Waldron J.E, Pendlay G.W, Kilgore T.G, HAFF G.G, Reeves J.S, and Kilgore J.L. (2002). Concurrent Creatine Monohydrate Supplementation and Resistance Training Dose Not Affect markers of hepatic function in trained weightlifters. Journal of Exercise Physiology, Volume 5 Number 1 February.
54- Yoshizumi WM, Tsourounis C. (2004). Effect of Creatine Supplementation on renal Function. J Herb Pharmacother 4:1-7.

Effect of some dietary supplements on the level of blood proteins and some enzymes and histological studies of kidney and liver of treated rabbits

Ronza F. Al-Salihi Feryal F. Al-Azawi
College of Agriculture / Tikrit University

Abstract

The present study aimed to evaluate the effect of some dietary supplements (glutamine , creatine , whey protein and lipo6X) on the levels of blood proteins and some enzymes, and also included histopathological studys. Twenty albino rabbits were used in this study (6-7 months and 1500-1700 gm boody weight) and were divided into 5 groups (n=4): group 1 : control group received drinking tap water and ideal diet only, group 2: glutamine group (143mg \ kg body wt), group3: creatine group (250mg\ kg body wt), group 4: whey protein group (300mg\kg body wt) and group 5: lipo6x (250mg\kg body wt).

There was an increase in the level of total protein T.P and globuline in all treatments, while there was an increase in albumin level only in glutamine

supplement. The results also showed an incease in the levels of enzyme; ALT , AST , LDH in all treatments.

This study also showed an increase in the weight of kidney and liver organs of studied rabbits in the glutamine and lipo6X groups, while there was weight decrease in the case of ceatine and whey protein compard to control group.

The supplemention also leads to some changes in the tissues of animals, which included many abnormalities in their liver and kidney. In kidney, the histological changes included; glomerulus hypertrophy, necrosis, damged capsule and infilterated lymphocytes, also congestion and hemolysis of RBC, which led to hematidin appearance as greenish granules. While in the liver, the tissue abnormalities included; cytoplasmic necrosis, karyolysis, blood congesion and infilterated lymphocyte. In addition kupffer cell hypertrophy and hepatic cell swelling observed in the liver tissue that led to colapse sinusoids and appearance congesion in the sinusoid.