تأثير الليكوبين المستخلص من الطماطم على بعض مؤشرات الأيض في عظام الجرذان

سها هاشم عبد الجواد[١]، حمزة محمد أبو طربوش[٢]، خالد سليمان النمير[٢]، زينب حبيب أحمد[٣]

[١]جامعة طيبة، كلية التربية للبنات قسم الاقتصاد المنزلي والتربية الفنية ، المدينة المنورة

[٢]جامعة الملك سعود، كلية علوم الأغذية والزراعة، قسم علوم الأغذية والتغذية،

[٣]كلية الطب، [٣]قسم النساء والولادة، جامعة الملك سعود

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم تأثير الليكوبين المستخلص من الطماطم المحلية المزروعة في المملكة العربية السعودية على بعض المؤشرات الخاصة بتشكل العظام. كما تم أيضاً تقييم الفروق بين الجنسين في الجرذان من حيث استجابتها لتأثير الليكوبين على المؤشرات التي تم دراستها. استخدم في هذه الدراسة ٦٠ جرذاً (٣٠ ذكور و٣٠ إناث) من فصيلة Wistar albino (وزن ١٠٠±١٠ غم) وأعطي الليكوبين عن طريق الفم بجرعات مختلفة (٠,٥ و١,٠ و١,٥ غم/كغم من وزن الجسم/يوم) لمدة ثمانية أسابيع.

حدثت زيادة معنوية ($P<0.05$) في كثافة عظام الفخذ الأيمن للذكور والإناث على حد سواء، خاصة إناث الجرذان التي أعطيت الجرعتان ١,٠ و١,٥ جم ليكوبين/كجم من وزن الجسم/يوم. وكانت الاختلافات في كثافة العظام بين الجنسين معنوية عند الجرعة الأعلى من الليكوبين حيث زادت في الذكور مقارنة بالإناث. كما أزداد تركيز الفسفور معنوياً في مصل الدم لكل من الذكور والإناث خاصة عند الجرعة العالية من الليكوبين (١,٥ غم/كغم من وزن الجسم/يوم)، وكان لجنس الجرذان تأثير على مدى الاستجابة لليكوبين حيث كان ازدياد مستوى الفسفور في مصل دم الذكور عموماً أعلى مقارنة بالإناث. لم يتأثر مستوى الكالسيوم في سيرم ذكور وإناث الجرذان عموماً بإعطاء الليكوبين بجرعاته المختلفة، كما لم يكن لليكوبين، والجنس أي تأثير معنوي على مستوى هرمون الغدة جار الدرقية و ٢٥,١- ثنائي هيدروكسي فيتامين د٣ في مصل دم الجرذان.

أظهرت النتائج المتعلقة ببعض المؤشرات الخاصة بتشكل العظام انخفاض في أكسدة البروتين عن طريق زيادة مجموعة الثيول حيث أدت الجرعتان ١,٠ و١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم/يوم إلى زيادة ذات دلالة إحصائية معنوية ($P<0.05$) في مجموعة الثيول في المصل لكل من الجنسين، إلا أنه لم تكن هنالك فروق معنوية بينهما عند الجرعات المعطاة من الليكوبين. وسلك نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في المصل الاتجاه نفسه حيث أدت الجرعة العالية من الليكوبين إلى زيادة معنوية في نشاطه في كلا الجنسين مقارنة بالمجموعة الضابطة ومجموعات الجرذان التي أعطيت الجرعة الأقل من الليكوبين

(٠,٥ غم/كغم من وزن الجسم)، إلا أن الفروق بين الجنسين كانت معنوية فقط عند الجرعة ١,٠ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم/يوم ، حيث زاد نشاطه في الإناث مقارنة بالذكور. وعلى العكس من ذلك، انخفض تركيز إنزيم الفوسفاتيز المقاوم لحمض الطرطريك في مصل مجموعات كل من الذكور والإناث التي أعطيت الجرعتان ١,٠ و١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم/يوم بدلالة إحصائية معنوية ($P<0.05$) مقارنة بالمجموعة الضابطة. لم يكن لليكوبين أو الجنس أي تأثير معنوي على تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي الخاص بالعظام في المصل.

يتضح من نتائج الدراسة أن تناول ١,٥ غم/كغم من وزن الجسم/يوم من الليكوبين على الأقل قد يؤدي إلى خفض ارتشاف وأكسدة البروتين في العظام وزيادة كثافتها، وبالتالي المحافظة على سلامة العظام.

الكلمات المفتاحية: الليكوبين ، الأيض، الطماطم، الطعام.

المقدمة

أوضحت العديد من الدراسات أن الإجهاد التأكسدي أحد عوامل الخطر المؤدية إلى الإصابة بأمراض العظام وخفض كثافتها (Garrett et al., 1990; Suda et al., 1993; Basu et al., 2001). وبالرغم من أن الآليات المسببة لهشاشة العظام لم تفهم بالشكل الجيد إلى حد الآن إلا أن هنالك دلائل تقترح أن الإجهاد التأكسدي الناشئ عن أنواع الأكسجين الفعالة Reactive Oxygen Species (ROS) قد يرتبط بهذا المرض (Basu et al., 2001) ، بالمقابل أظهرت دراسات عديدة (Rao et al., 2007; Maggio et al., 2003; Melhus et al., 1999) بعضاً من التأثيرات الإيجابية لمضادات الأكسدة على صحة العظام والحد من هشاشتها. وقد أوضح(Maggio et al., 2006) أن للكاروتينات الموجودة في الخضروات والفواكه تأثيراً جيداً على كثافة العظام وقوتها.

بالرغم من أن الليكوبين من الكاروتينات الغذائية (Stahl and Sies, 1996; Clinton,1998) إلا أن دراسة دوره في سلامة العظام قد جاءت في أبحاث محدودة منها دراسات (Rao et al.,2007; Kim et al., 2003; Casso et al., 2000) على الإنسان ودراسات (Ishimi et al., 1999 ; Rao et al., 2003; Park et al., 1997) على حيوانات التجارب. وقد أوضح (Rao et al., 2007) في دراسة حديثة أن المتناول العالي من الليكوبين طبقاً للسجلات الغذائية قد أدى إلى زيادة مستواه في مصل الدم، وارتبط ذلك بانخفاض ارتشاف العظام في السيدات bone resorption وانخفاض أكسدة البروتين إلا أنه لم يؤثر على إنزيم الفوسفاتيز القاعدي الخاص بالعظام Bone Alkaline Phosphatase (BAP) المستخدم كمؤشر لتكون العظام، وخلصت الدراسة إلى أن المتناول المنخفض نسبياً من الليكوبين وصغر حجم العينة قد يشرح عدم تأثيره على هذا الإنزيم في الإنسان مما يستدعي إجراء المزيد من الدراسات لمعرفة دور الليكوبين في المحافظة على سلامة العظام.

كما أشارت دراسة أخرى على الإنسان (Hininger et al., 2001) أن دور الليكوبين في منع أكسدة البروتين يعتمد على الجنس، حيث لم يكن لليكوبين أي تأثير على منع أكسدة البروتين في الذكور، في حين أشارت دراسة (Rao et al., 2007) إلى أن لليكوبين دوراً في منع أكسدة البروتين في السيدات مما يستوجب تأكيد دوره المختلف في التأثير على البروتين في الجنسين.

لذا كان الهدف من هذا البحث دراسة تأثير الليكوبين المستخلص من الطماطم (البندورة) على سلامة العظام من خلال تأثيره على أيض العظام في الجرذان واختلاف هذا التأثير بين الجنسين في الجرذان.

المواد وطرائق البحث

١- الطماطم

تم شراء ١٠٠ كغم من الطماطم Lycopersicum esculentum الطازجة المحلية والمزروعة في المملكة العربية السعودية من صنف GS12، وهي ذات منشأ هولندي وتزرع في المزارع المكشوفة، وتمتاز بتركيز لونها وانخفاض مستوى الرطوبة، وتم اختيار الثمار مكتملة النمو والصلاحية.

٢- تجفيف الطماطم بالفرن الهوائي

جفف١٠٠ كغم من الطماطم بعد أن غسلت جيداً، وأزيلت أعناقها الخضراء، وقطعت الثمار عرضياً على شكل مكعبات بقياس ١٠×١٠×١٠ملم^3 ،ثم جففت باستخدام الفرن الكهربائي (Caplain Oven FRP 4/8, France) على درجة ٨٠°م لمدة ساعتين، ثم خفضت درجة الحرارة إلى ٦٠°م لمدة ست ساعات **حسب طريقة** (Ching-Hui et al.,2006)، ثم تم تعبئتها في أكياس غير منفذة للضوء وُحفظت عند درجة حرارة الغرفة ٢٥°م.

٣- استخلاص الليكوبين Extraction of Lycopene

تم استخلاص الليكوبين حسب طريقة (Sadler et al.,1990) وذلك بوضع ١٠ غم من الطماطم المجففة في أنبوبة خاصة غطيت برقائق الألمنيوم لمنع تعرضها للضوء. أضيف إلى عينة الطماطم في الأنبوبة ١٠٠ مللي لتر من خليط مذيب الهكسان والأسيتون والإيثانول بنسبة ١:١:٢ على الترتيب، ورجت بواسطة هزاز كهربائي لمدة ٣٠ دقيقة. ثم تركت لمدة دقيقتين مع إضافة ١٠ مللي لتر من الماء المقطر. أعيد الاستخلاص مرة أخرى بالطريقة السابقة نفسها، وأزيل التصبن بإضافة ١,٥ غم هيدروكسيد بوتاسيوم في ١٠٠ مللي ماء. فصلت طبقة الليكوبين ثم رشح المحلول تحت تفريغ ، ثم نقل الليكوبين إلى أنبوبة نظيفة جافة وجفف باستخدام حبيبات كلوريد الكالسيوم اللامائية وترك لمدة تتراوح من ٣٠ دقيقة

إلى ساعتين بعد تغطيته بورق الألمنيوم ،ثم رشح بعد إجراء عملية الغسل بمذيب الأسيتون وجفف تحت تفريغ.

٤- العلائق المستخدمة في التجربة Experimental Diets

جهزت العلائق المستخدمة في التجربة طبقاً لتوصية المعهد الأمريكي للتغذية (American Institute of Nutrition "AIN") كما جاءت في دراسة (Reeves, 1997) بحيث كانت جميع العلائق متساوية في مكوناتها. وقد استخدم الليكوبين المستخلص من الطماطم المجففة بمستويات محددة (٠,٥ و١,٠ و١,٥ غرام لكل كيلوغرام من وزن الجسم) بإضافته إلى ٠,٢ مللتر من زيت الصويا وإعطائه عن طريق الفم في مجموعات التجربة. تم الحصول على الكازين والسليلوز ومخلوط المعادن ومخلوط الفيتامينات ود ل . ميثونين والكولين ثنائي الترترات من شركة

(Nutritional Biochemical Corp ., Cleveland , Ohio, USA)

وتم الحصول على زيت الصويا والسكروز ونشا الذرة من السوق المحلية بمدينة الرياض، وتم خلط المكونات، وحفظت بالتبريد على درجة ٥°م طوال فترة التجربة.

٥- حيوانات التجربة Experimental Animals

تم اختيار ٦٠ جرذاً (٣٠ ذكوراً- ٣٠ إناثاً) من فصيلة Wistar albino وزن ١٠٠±١٠ غم وعمر سبعة أسابيع، وقسمت الجرذان عشوائيا إلى ١٠ مجاميع بحيث شملت كل مجموعة ٦ جرذان، وتم الحصول عليها من مركز حيوانات التجارب والجراحة التجريبية التابع لكلية الطب (مستشفى الملك خالد الجامعي - الرياض) Central for Llaboratory Animal and Experimental Surgery (CLAES) . استمرت الدراسة على الجرذان لمدة ٨ أسابيع، في بيت الحيوان الذي تمت تهيئته تحت ظروف بيئية مناسبة للجرذان وذلك بضبط درجة الحرارة على ٢١–٢٣°م ورطوبة نسبية ٥٥٪ ودورة إضاءة/إظلام كل١٢ ساعة. كان الغذاء والماء متاحين بحرية تامة طوال مدة التجربة وفي جميع الأوقات Ad libitum وتم تغيير الماء بصفة يومية، كما وزنت الجرذان مرة أسبوعياً طوال فترة التجربة بميزان، إلكتروني حساس (Mettler PM 2000, Switzerland).

٦- تصميم التجربة Experimental Design

وزعت الجرذان عشوائياً إلى ١٠ مجموعات، واحتوت كل مجموعة على ستة جرذان، ووضعت في أقفاص مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ في قفص منفصل، وذلك في مركز حيوانات التجارب والجراحة التجريبية التابع لكلية الطب (مستشفى الملك خالد الجامعي- الرياض). قسمت الجرذان حسب الجنس إلى مجموعتين رئيستين، وقُسم كل جنس إلى ثلاث مجموعات فرعية بالإضافة إلى مجموعتين ضابطتين لكل جنس لمؤشري كثافة عظام الفخذ الأيمن ومجموعة الثيول بحيث حصلت مجموعة الضبط على الغذاء المرجعي. تمت أقلمة الجرذان بتغذيتها على العليقة المرجعية لمدة أسبوع قبل البدء الفعلي للتجربة، ثم قتلت إحدى المجموعتين الضابطتين لمؤشري كثافة عظام الفخذ الأيمن ومجموعة الثيول من كل جنس في اليوم الذي تم البدء فيه بإعطاء الليكوبين عن طريق الفم لتقدير أكسدة البروتين وكثافة العظام قبل البدء في التجربة. تم قتل الحيوانات طبقاً لما سيتم ذكره أدناه.

غذيت كل مجموعة من الذكور والإناث على الغذاء المرجعي وقسمت إلى ثلاث مجموعات فرعية من الذكور حسب التركيزات المختلفة من الليكوبين ٠,٥ و ١,٠ و ١,٥ غم/كغم من وزن الجسم حسب طريقة (Milena et al., 2006) المضاف إلى ٠,٢ مللتر من زيت فول الصويا والمعطى عن طريق الفم حسب طريقة (Oshima et al ., 1999).

حسبت كمية زيت فول الصويا (٠,٢ مل) التي أعطيت لكلا الجنسين مع الليكوبين خلال التجربة وتم إنقاص هذه الكمية من العليقة المعطاة للجرذان التي أعطيت التركيزات المختلفة من الليكوبين.

أعطيت المجموعة الضابطة الغذاء المرجعي كما أعطيت ٠,٥ مل من الماء المقطر عن طريق الفم.

إعداد عينات الدم

عند نهاية فترة التجربة (نهاية الأسبوع الثامن) تم تصويم الجرذان لمدة ١٢ ساعة، ثم خدرت بواسطة مادة الإيثر ثنائي الإيثايل Diethyl ether وسحب الدم بطريقة الوخز في وريد العين Eyes puncture باستخدام الأنابيب الشعرية الزجاجية (Laboratory glassware capillary tubes, Germany) وجمع الدم في أنابيب خاصة للمصل وأنابيب محتوية على الهيبارين خاصة للبلازما ثم فصل المصل والبلازما (الجزء العلوي الرائق) لعينات الدم بواسطة جهاز الطرد المركزى (Heraeus Labofuge 400) على سرعة

٤٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة ٥ دقائق ، سحب المصل والبلازما بواسطة الماصة الأوتوماتيكية Automatic pipettes ماركة (Accumax AV-100 series) وحفظت في عبوات خاصة عند درجة حرارة - ٨٠°م إلى حين تقدير الإنزيمات والمقاييس الكيموحيوية، كما تم الحصول على عظام الفخذ الأيمن وتنظيفها جيداً وغسلها بماء مقطر، وحفظها في عبوات خاصة لذلك.

المقاييس الكيموحيوية

أولاً: المؤشرات المرتبطة بعملية بناء العظام في الجرذان

١- الكالسيوم

قدر الكالسيوم تبعاً لطريقة (Trudeau and Freier, 1967) باستخدام المطياف الضوئي Atomatic Absorption Spectrophotometer Model 290, Japan. على موجة طولها ٤٢٢ نانوميتراً.

٢- الفسفور

قدر تركيز الفسفور الكلي بالطريقة اللونية تبعاً لطريقة اتحاد المحللين الكيمائيين الرسميين/ فرجينيا /الولايات المتحدة الأمريكية (AOAC, 1995) باستخدام المستحضرات الإنزيمية الجاهزة (Randox laboratories Ltd: ph Cat. No.PH2810, U.K) باستخدام جهاز المطياف اللوني LKB Biochrom Vltropes II NO :4050 UV/Visible Spectrophotometer (England) على موجة طولها ٤٠٥ نانوميترات.

٣.- تقدير نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline Phosphatase (ALP)

قدر نشاط إنزيم الفوسافتيز القاعدي (ALP) حسب طريقة (Principato et al., 1985 ; Eaton , 1977) باستخدام المستحضرات الإنزيمية الجاهزة (Randox laboratories Ltd AP Cat No. 311, U.K) وجهاز المطياف اللوني Automatic Absorption Spectrophotometer Model 290, Japan على موجة طولها ٤٠٥ نانوميترات.

٤- تقدير إنزيم الفوسفاتيز القاعدي الخاص بالعظام

Bone-specific alkaline Phosphatase (BAP)

قدرت نسبة إنزيم الفوسفاتيز القاعدي الخاص بالعظم Bone-specific alkaline phosphatase (BAP) باستخدام الإنزيمات الجاهزة التحضير الخاصة بالجرذان (Bone Alkaline phosphates, BAP IDS kit AC20F1,U.K,) حسب طريقة (Rosalki and

Foo, 1984) واستخدام جهاز Miceoplate reader,SANOF DIGNOSTIC PASTEUR PR2100,FRANCE لإجراء التقدير.

٥- تقدير ٢٥,١- ثنائي هيدروكسي فيتامين د٣ $1,25-(OH)_2D_3$

قدر ٢٥,١- ثنائي هيدروكسي فيتامين د٣ في المصل بالطرق الإنزيمية الإشعاعية الخاصة بالجرذان (1-25 Dihydoxy Vitamin D3 RIA kit,AC 54F1, U.K) باستخدام Automatic Gamma Counter WALLAC WIZARD 1470, USA حسب طريقة (Reinhardt et al., 1984).

ثانياً: قياس كثافة العظم Bone Mass Density (BMD

تم قياس كثافة العظام فيزيائياً حسب طريقة (Arjmandi et al., 1996)،حيث تم تحرير عظم الفخذ الأيمن و تنظيفها ثم قطعت عظمة الفخذ عند منتصف الجدل (رأس العظمة) وأخرج نخاع العظم وتم غسلها. وضعت كل عظمة في أنبوبة مملوءة بالماء المقطر تحت الشفط لمدة ٩٠ دقيقة لإخراج الهواء المحجوز داخل العظمة. وتم إخراج كل عظمة وجففت جيداً ثم وزنت وأعيدت إلى الأنبوبة المحتوية على ماء مقطر ووزنت في الماء وتم حساب الكثافة بالوحدة (غم/ سم ^{3} حجم العظم) باستخدام مبدأ أرخميدس والذي ينص على أنه إذا غمر جسم ما كلياً أو جزئياً فإنه يلقى دفع من أسفل إلى أعلى، هذا الدفع يساوي وزن السائل المزاح ،حيث إن كثافة الجسم المغمور= وزن الجسم في الهواء/(وزن الجسم في الهواء - وزن الجسم في الماء).

ثالثاً: قياس أكسدة البروتين Protein Oxidation

قدرت أكسدة البروتين عن طريق قياس المجموعة الكبريتية المرتبطة بالبروتين في المصل protein sulfhydryl groups (thiols) حسب طريقة (Hu, 1994) باستخدام كاشف هو ثنائي ثيول نيتروز حمض البنزويك Dithiol Nitrose Benzoic Acid,VWR Ltd (DTNB) لقياس مجموعات (SH) بحيث خلطت٠,٢ مللتر من المصل مع ٠,٦مللتر من منظم EDTA في أنبوبة اختبار سعتها ١٠مللتر وأضيف ٤٠ ميكرولتر من المحلول (١٠مللي مول DTNB و١٣,٦من الكحول الميثيلي المطلق). تركت الأنبوبة لمدة تتراوح بين ١٠- ١٥ دقيقة محدثة تغير في اللون، و أجري لها طرد مركزي بمعدل ٤٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ١٠ دقائق عند درجة حرارة الغرفة وقيس تركيز الطبقة المفصولة بمقياس المطياف الضوئي Spectrophotometer LKB Biochem,Uitraspec.No.4050 UV/Visible Cambridge U.K, على موجة طولها ٤١٢ نانومتراً.

رابعاً: المؤشرات المرتبطة بعملية هدم العظام في الجرذان

١- تقدير إنزيم الفوسفاتيز المقاوم لحمض الطرطريك

Tartrate –Resistant Acid Phosphatase (TRAP)

قدر إنزيم الفوسفاتيز المقاوم لحمض الطرطريك Tartrate –Resistant Acid Phosphatase (TRAP) باستخدام الإنزيمات الجاهزة التحضير الخاصة بالجرذان (Rat TRAP, IDS kit, AC20F1, U.K) حسب طريقة (Cadoni et al., 2006; Miller et al., 1998) واستخدام جهاز Miceoplate reader, SANOF DIGNOSTIC PASTEUR PR2100, FRANCE لإجراء التقدير.

٢- تقدير هرمون الغدة جارة الدرقية Para Thyroid Hormone

قدر تركيز هرمون الغدة جارة الدرقية (PTH) باستخدام الإنزيمات الجاهزة التحضير الخاصة بالجرذان RAT PTH IRMA kit 50-2000, UK كما في طريقة (Miller et al., 1998) باستخدام Automatic Gamma Counter WALLAC WIZARD 1470,USA.

التحليل الإحصائي

تم استخدام التباين وإجراء المقارنة المتعددة بين متوسطات المعالجات باختبار دنكن Duncan test لمعرفة الفروق المعنوية بين المتوسطات عند معنوية ($P<0.05$) (SAS, 1997).

النتائج والمناقشة

تأثير الليكوبين على بعض المؤشرات المرتبطة بعملية بناء العظام في الجرذان

١- تركيز الكالسيوم والفسفور ونشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي

يوضح الجدول (١) تأثير الجرعات المختلفة من الليكوبين على تركيز الكالسيوم والفسفور في مصل إناث وذكور الجرذان، ويتضح من الجدول (١) أن الجرعات المختلفة من الليكوبين التي أعطيت للجرذان عن طريق الفم لم تؤد إلى اختلافات معنوية في تركيز الكالسيوم في مصل الإناث. وعلى العكس من ذلك، فإن مستوى الفسفور في مصل الإناث ازداد معنوياً ($P<0.05$) بزيادة الجرعة المعطاة من الليكوبين، وكانت هنالك اختلافات ذات دلالة معنوية ($P<0.05$) بين المجموعة التي أعطيت ١,٥ غم/كغم من وزن الجسم من الليكوبين والمجموعات التي أعطيت ١,٠ و ٠,٥ غم/كغم من وزن الجسم، إلا أنه لم تكن هناك فروق معنوية بين المجموعة الضابطة والمجموعة التي أعطيت ٠,٥ غم/كغم من وزن الجسم ليكوبين.

جدول (١): تأثير الليكوبين على تركيز الكالسيوم والفسفور ونشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي المرتبطة بعملية بناء العظام في مصل الدم في الجرذان.

تركيز الليكوبين (غم/كغم من وزن الجسم)	تركيز الكالسيوم (ملجم/١٠٠ مل) إناث	تركيز الكالسيوم (ملجم/١٠٠ مل) ذكور	تركيز الفسفور (ملجم/١٠٠ مل) إناث	تركيز الفسفور (ملجم/١٠٠ مل) ذكور	نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (وحدة دولية/لتر) إناث	نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (وحدة دولية/لتر) ذكور
المجموعة الضابطة	٩,٨١±٠,٢٢ Aa ◆	٩,٩٣±٠,٠٧ A ab	٦,٦٦±٠,١٣ Bc	٨,٣٢±٠,١٤ Ab	٧١,٩٣±٣,١٧ Ab	٩٢,٧٢±١٣,٣٩ Ab
٠,٥	٩,٧٩±٠,٧٥ A a	٩,٨٤±٠,٠٨ A b	٦,٨٠±٠,١١ Bc	٧,٩٠±٠,٢٢ Ab	١٠٤,٠٠±٤,٥٧ Ab	٩٤,٣٠±١,٠٠ Ab
١,٠٠	٩,٩٩±٠,١٣ Aa	١٠,٠٧±٠,٠٥ Aab	٧,٨٤±٠,٢٠ Ab.	٨,٢٩±٠,٢٢ A b	١٠٣,٤٢±٠,٤٠ Ab	٩٦,٥٥±٠,٧٩ Bb
١,٥	٩,٦٥±٠,٩٢ Ba	٩,١٥±٠,٠٤ A a	٨,٣٧± ٠,١٩ B a	١٠,١٣± ٠,١٢ Aa	١٢٦,٩٥±٥,٥٤ Aa	١١٥,١٢±١,٦٨ Aa

- المتوسط ± الانحراف المعياري (n= ٦) الأعمدة ذات الأحرف الإنجليزية الصغيرة المختلفة لكل مؤشر لكل جنس على حدة بينها فروق معنوية ($p \le 0.05$). والأسطر ذات الأحرف الإنجليزية الكبيرة بين الجنسين لكل مؤشر على حدة بينها فروق معنوية ($p \le 0.05$).

لم تحدث أية فروقات بين ذكور الجرذان التي أعطيت الجرعات المختلفة من الليكوبين فيما يتعلق بالكالسيوم، إذ كانت الاختلافات بين المجموعات التي أعطيت الجرعات المختلفة من الليكوبين وكذلك بين هذه المجموعات و المجموعة الضابطة ذات دلالة غير معنوية (جدول ١). أما تأثير الليكوبين على تركيز الفسفور في ذكور الجرذان فقد كان معنوياً فقط عند الجرعة ١,٥ غم/كغم من وزن الجسم مقارنة بالمجموعات الأخرى بما فيها المجموعة الضابطة (جدول ١).

يوضح الجدول ١ أيضاً مقارنة لتأثير الليكوبين بجرعاته المختلفة على تركيز الفسفور والكالسيوم في مصل ذكور وإناث الجرذان، إذ يتضح من الجدول وجود زيادة ذات دلالة إحصائية معنوية ($P<0.05$) في مستوى الفسفور في الذكور في المجموعة الضابطة مقارنة بالمجموعة نفسها في الإناث ، ويرجع ذلك إلى الاختلافات الحيوية الطبيعية للفسفور في مصل الجرذان حيث أوضح (Nomura et al.,1975 ; Becker et al.,1979) أن المستويات الطبيعية للفسفور في الذكور أعلى من الإناث.

كما كانت هنالك زيادة معنوية ($P<0.05$) في تركيز الفسفور لمجموعات الذكور التي أعطيت الليكوبين بتركيز ٠,٥ و١,٥ غم /كغم من وزن الجسم مقارنة بالإناث. أما بالنسبة لمستوى الكالسيوم فيتضح عدم وجود فروق معنوية في تركيز الكالسيوم في المصل بين الذكور والإناث ما عدا المجموعة التي أعطيت ١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم، حيث أزداد مستوى الكالسيوم (١٠,٠٧ ± ٠,١٢ مللغم/١٠٠ مللتر) في سيرم الذكور معنوياً ($P<0.05$) مقارنة بالإناث (٩,٩٣ ± ٠,٠٧ مللغم/١٠٠ مللتر).

وربما يعود الفرق المعنوي في زيادة تركيز الفسفور والكالسيوم في مصل الدم لذكور الجرذان مقارنة بالإناث عند إعطاء الجرعة الأعلى من الليكوبين (١,٥ غم/كغم من وزن الجسم) إلى الاختلافات الجنسية التي تحكمها عوامل أخرى في الإناث كهرمون الأستروجين، حيث تؤثر مثل هذه العوامل على أيض هذين العنصرين في الإناث (Compston, 2001; Jarvinen et al., 2003).

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Uchiyama et al., 2004) حول تأثير كاروتينات أخرى بما فيها الليكوبين على الفسفور المرتبطين بأيض العظام في مصل الدم إذ وجد أن الجرعات العالية من الليكوبين (١,٠ و١,٥ غم/كغم من وزن الجسم) قد أدت إلى زيادة الفسفور في مصل إناث الجرذان، في حين أن جرعة قدرها ١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم قد أدت إلى زيادة معنوية من العنصر في مصل ذكور الجرذان. إلا أن دراسة (Uchiyama et al., 2004) تختلف عن الدراسة الحالية في تأثير الليكوبين على تركيز الكالسيوم في مصل ذكور وإناث الجرذان إذ وجد من الدراسة أن إعطاء الليكوبين قد أدى إلى

زيادة معنوية في تركيز الكالسيوم في مصل كل من إناث وذكور الجرذان، في حين وجد في الدراسة الحالية أن الليكوبين بجرعاته المختلفة لم يؤد إلى أي زيادة معنوية في تركيز الكالسيوم في مصل كل من ذكور وإناث الجرذان.

كما تختلف نتائج هذه الدراسة مع دراسة (Kuroiwa et al., 2006) التي درست تأثير إضافة مسحوق كاروتين دناليللا Dunaliella Carotene إلى علائق الجرذان من الجنسين بجرعات مختلفة، حيث اتضح حدوث زيادة غير معنوية في مستويات الكالسيوم والفسفور في مصل الإناث والذكور، مع عدم وجود فروق معنوية ($P\geq0.001$) عند المقارنة بين الجنسين. وقد يعزى هذا الاختلاف بين النتائج إلى الاختلافات في طريقة تصميم الدراسة ومدتها (٩٠ يوماً) واختلاف فصيلة الجرذان كما أن اختلاف نوع المادة المختبرة قد يؤدي إلى الاختلاف والتباين في النتائج المتحصل عليها.

إن زيادة مستوى الفسفور في مصل ذكور وإناث الجرذان عند زيادة جرعة الليكوبين قد يعود لدوره في تنشيط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي عليها (Yohay et al., 1994) والمرتبط بعملية التمعدن وترسيب الفوسفات في العظام (Farley, 1995; van den Bos et al., 1995) فقد أوضحت نتائج الدراسة الحالية أن هناك زيادة معنوية ($P<0.05$) في تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل إناث وذكور الجرذان عند الجرعة ١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم مقارنة بالمجموعات الأخرى (جدول ١).

كما توضح النتائج في جدول ١ مقارنة بين إناث وذكور الجرذان في مستوى نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي، حيث انخفض معنوياً ($P<0.05$) نشاطه في مصل ذكور الجرذان التي أعطيت ١,٠ غم ليكوبين/ كغم من وزن الجسم مقارنة بالإناث في المجموعة نفسها بينما لم تكن هناك أي اختلافات ذات دلالة معنوية في المجموعات المختبرة الأخرى والمجموعة الضابطة عند مقارنة الذكور بالإناث.

وتتفق هذه النتائج مع نتائج دراسة (Shivashangari et al., 2006) التي أوضحت أن تغذية ذكور الجرذان على جرعة قدرها ١٠غرام ليكوبين/كغم من وزن الجسم/يوم لمدة ستة أيام قد أدت إلى زيادة معنوية ($P<0.05$) في مستوى إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في المصل (٥٨,١٧ ± ٦,١٨ وحدة دولية لكل لتر) مقارنة بالمجموعة الضابطة (٤٥,٩٠ ± ٤,٨١ وحدة دولية لكل لتر). كما تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة كل من (Kim et al., 2003) و (Park et al., 1997) في تأثير الليكوبين على الخلايا العظمية البانية للعظام، حيث أوضح (Kim et al., 2003) أن لليكوبين تأثيراً تحفيزياً منشطاً لتكاثر الخلايا البانية للعظام، كما أن له تأثيراً منشطاً لأنزيم الفوسفاتيز القاعدي ومدى استجابة المستقبلات الخاصة له على جدر هذه الخلايا. وأوضح Park et al. (1997) أن لليكوبين تأثيراً مثبطاً لنمو الخلايا الآكلة

للعظام في إناث الجرذان خارج الجسم in vitro، في حين كان لليكوبين تأثير منشط لعملية تمايز العظام من خلال زيادة نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي عند جرعة قدرها واحد ميكرومول ولكن بدرجة أقل من البيتا كاروتين . وخلصت الدراستان السابقتان إلى أن لليكوبين تأثيراً منشطاً لإنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP).

كما وجد (Saad and Elmasry, 2005) أن إعطاء الليكوبين لذكور الجرذان عن طريق الفم بجرعة مقدارها ١,٢ملغم/جرذ/ يوم لمدة أسبوعين قد أدى إلى زيادة معنوية في مستوى إنزيم الفوسفاتيز القاعدي للمجموعة التي أعطيت الليكوبين (٨,٣٥±٠,٦٥ وحدة دولية / لتر) مقارنة بالمجموعة الضابطة (٧,٨٠±٠,٦١ وحدة دولية / لتر) ويتفق ذلك مع نتائج الدراسة الحالية.

إلا أن نتائج الدراسة الحالية اختلفت عن نتائج الدراسة التي أجراها (Mellert et al., 2002) بالنسبة لنشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في مصل إناث الجرذان التي أوضحت أن استخدام الليكوبين من مصادر مختلفة وبجرعات ٥٠٠- ١٥٠٠- ٣٠٠٠ ملغم /كغم من وزن الجسم ارتبط بزيادة معنوية ($P<0.05$) في نشاط الإنزيم في جنس الذكور، حيث ازداد متوسط مستوى نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي لدى جنس الذكور بينما انخفض في جنس الإناث للمجموعة التي حصلت على الجرعة العالية من الليكوبين (٣٠٠٠ ملغم /كغم من وزن الجسم). وقد يرجع هذا الاختلاف لطول التجربة التي تعدت ثلاثة عشر أسبوعاً إلى جانب الجرعة العالية التي غذيت عليها الجرذان وصغر عمر الجرذان.

٢- تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي الخاص بالعظام و٢٥,١- ثنائي هيدروكسي فيتامين د٣

ورغم حدوث زيادة معنوية في تركيز الفوسفاتيز القاعدي في مصل المجموعتين التي أعطيت الليكوبين بجرعة مقدراها ١,٥غم/كغم من وزن الجسم فلم يكن هناك تأثير ذو دلالة معنوية على تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي الخاص بالعظام و ٢٥,١- ثنائي هيدروكسي فيتامين د٣ والمرتبطين ببناء العظام، حيث يوضح الجدول ٢ أنه لم يكن لليكوبين بجرعاته المختلفة أي تأثير على تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي الخاص بالعظام سواء في مصل ذكور أو إناث الجرذان، وذلك مقارنة بالمجموعة الضابطة.

جدول (٢): تأثير الليكوبين على المؤشرات الأخرى المرتبطة بعملية بناء العظام في مصل الدم في الجرذان.

تركيز الليكوبين (غم/كغم من وزن الجسم)	تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي الخاص بالعظام (وحدة دولية/لتر)		تركيز ١- ٢٥ ثنائي هيدروكسي فيتامين د$_3$ (بيكومول/لتر)		كثافة عظام الفخذ الأيمن جم/سم2		تركيز مجموعة الثيول (ميكرومول/لتر)	
	إناث	ذكور	إناث	ذكور	إناث	ذكور	إناث	ذكور
المجموعة الضابطة	6٢٨,٣±٠,٧٦ Aa*	٢٨,٤٧±٠,٧٤ Aa	٧٤,٣٦ ± ٤,٢٥ Aa	٧٥,٠٦±٣,٨٤ Aa	١,٠٧±٠,٠٤ Ac	١,٠٣±٠,٠٢ Ac	٢٦٢,٩٣±٤,١٣ Ac	٢٧٠,٤٩±٦,٧٣ Ac
مجموعة بدء التجربة**	٦٢٧,٩٠±٠,٦٥	٢٨,٩٠±٠,٦١ a	٧٢,٢٩ ± ٣,٢٩ Aa	٧٦,٣٨ ± ٤,٥٠ Aa	٠,٩٩±٠,٠٢ Ac	١,٠٧±٠,٠٤ Abc	٢٦٠,٩٠±٤,١٣ Ac	٢٦٣,٠٦±٤,١٤ Ac
٠,٥	٢٨,٣٠±٠,٧٢ Aa	٢٦,٩٩±١,٣٤ Aa	٧٠,٠٦ ± ٣,٩٢ Aa	٧٥,٤٦ ± ٠,٤٥ Aa	١,١١±٠,٠٢ c	١,٠٢±٠,٢٥ Abc	٢٦٢,٩٣±٣,٩٣ Ac	٢٦٢,٩٨±٤,٦٤ Ac
١,٠٠	٢٨,٠٦±٠,٦٩ Aa	٢٨,٣٢±٠,٤٣ Aa	٧٢,٥٥ ± ٣,٣٢ Aa	٧٧,٥٠ ± ٠,٢٥ Aa	١,١٥±٠,٠٣ b	١,١٧±٠,٠٣ Ab	٣٨٧,٧١±٤,٧١ Ab	٣٧٥,٤٧±١٠,١٥ Ab
١,٥	٢٧,٦٠±٠,٩٠ Aa	٢٧,٨٩±٠,٥٤ Aa	٨١,١٠±٣,٥٩ Aa	٧٩,٧٦±٣,٢٤ Aa	١,٣٥±٠,٠٣ Ba	١,٢٤±٠,٠٣ Aa	٤٠٤,٤٣±٢,٩٣ Aa	٣٩٦,٤٧±٤,٥٥ Aa

- المتوسط ± الانحراف المعياري (n= ٦) الأعمدة ذات الأحرف الإنجليزية الصغيرة المختلفة لكل مؤشر لكل جنس على حدة بينها فروق معنوية ($p \leq 0.05$). والأسطر ذات الأحرف الإنجليزية الكبيرة بين الجنسين لكل مؤشر على حدة بينها فروق معنوية ($p \leq 0.05$).

** ذبحت الجرذان بداية التجربة كمجموعة ضابطة لمؤشر كثافة العظام ومجموعة الثيول.

كما أنه لم تكن هنالك أي اختلافات في تركيز هذا الإنزيم في المصل بين الجنسين لكل جرعات الليكوبين المعطاة للجرذان (جدول ٢).

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة ((Rao et al., 2007) التي درست تأثير الليكوبين على تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي الخاص بالعظام في مصل الجرذان، حيث أتضح من الدراسة عدم وجود تأثير لليكوبين على هذا الإنزيم في المصل.

أتخذ تركيز هرمون ٢٥,١- ثنائي هيدروكسي فيتامين د$_٣$ في مصل ذكور وإناث الجرذان منحى إنزيم الفوسفاتيز القاعدي الخاص بالعظام نفسه حيث لم يكن لليكوبين بجرعاته المختلفة أي تأثيرات ذات دلالة إحصائية معنوية على هذا الهرمون في مصل ذكور وإناث الجرذان (جدول ٢).

ونتيجة لعدم وجود دراسات عن تأثير الليكوبين أو الكاروتينات الأخرى على مستوى ٢٥,١- ثنائي هيدروكسي فيتامين د$_٣$ في مصل الجرذان، فإن الدراسة الحالية تعد أول دراسة قيمت هذا التأثير، ويمكن الاستنتاج بناءً على النتائج المتحصل عليها القول أن الليكوبين لا يؤثر على مستوى هذا الهرمون المرتبط ببناء العظام بالجرعات المستخدمة منه في هذه الدراسة.

٣- كثافة عظام الفخذ الأيمن

تعد كثافة العظام من المؤشرات الهامة لصحة العظام (Gold, 2006)، لذا فقد تم في هذه الدراسة تقييم تأثير الليكوبين على كثافة عظام الفخذ الأيمن في إناث الجرذان، ويتضح من الجدول ٢ زيادة كثافة هذه العظام معنوياً ($P<0.05$) في مجموعات الإناث التي أعطيت جرعات من الليكوبين مقدارها ١,٠ و١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم مقارنة بمجموعات الإناث في المجموعة الضابطة، ومجموعة بداية التجربة، والمجموعة التي أعطيت الجرعة المنخفضة من الليكوبين (٠,٥ غم/كغم من وزن الجسم). كما كانت الفروق ذات دلالة إحصائية معنوية ($P\leq0.05$) في كثافة عظام الفخذ الأيمن لإناث الجرذان التي أعطيت جرعة الليكوبين ١,٥ غم/ كغم من وزن الجسم مقارنة بتلك التي أعطيت الجرعة ١,٠ غم من الليكوبين/كغم من وزن الجسم، حيث زادت كثافة العظام في الجرذان التي أعطيت الجرعة الأعلى من الليكوبين.

وبالرغم من أن كثافة عظام الفخذ الأيمن في ذكور الجرذان قد سلكت المنحى نفسه فيما يتعلق بالجرعات المرتفعة من الليكوبين (١,٠ و١,٥ غم/كغم من وزن الجسم)، إلا أن الفروق بين كثافة عظام الفخذ الأيمن للذكور التي أعطيت الجرعات ١,٠ و٠,٥ غم/كغم من وزن الجسم لم تكن ذات دلالة إحصائية معنوية، وكذلك لم تكن هناك فروق معنوية في كثافة العظام للذكور بين المجموعة التي أعطيت ١,٠ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم ومجموعة

ذكور الجرذان التي ذبحت بداية التجربة (جدول ٢). لذا قد يستنتج من ذلك أن الليكوبين بجرعات أقل من ١,٥ غم/كغم من وزن الجسم ليس له تأثير على ترسيب الكالسيوم في ذكور الجرذان. أما تأثيره بجرعات أقل من ١,٥ غم/كغم من وزن الجسم (١,٠ غم/كغم من وزن الجسم) في الإناث فقد يؤكد الاستنتاج السابق بأن هنالك عوامل أخرى في إناث الجرذان تؤدي مع الليكوبين دوراً في ترسيب الكالسيوم في العظام.

قد تفسر زيادة كثافة العظام في مجموعة الذكور التي أعطيت جرعة ليكوبين ١,٥ غم / كغم من وزن الجسم مقارنة بالإناث أيضاً إلى زيادة مستوى الكالسيوم في مصل ذكور الجرذان مقارنة بالإناث، حيث إن زيادة الكالسيوم في المصل تسبب نقصاً ملحوظاً في عدد الخلايا الآكلة للعظام من خلال تأثيره على حث وتحريض موت الخلية ناقضة العظام (Gao and Yamaguchi , 1999) كما قد يكون راجعاً إلى الانخفاض المعنوي في جنس الذكور مقارنة بالإناث في مستوى إنزيم فوسفاتيز المقاوم لحامض الطرطريك (TRAP) الذي هو المعلم(الدليل) marker الأساس لعملية ارتشاف العظام والموجود على أسطح الخلايا ناقضة العظام (Halleen et al., 1999 ; Minkin , 1982) كما سيرد ذكره فيما بعد.

توضح النتائج في جدول ٢ مقارنة لتأثير الليكوبين على كثافة عظام الفخذ الأيمن بين إناث وذكور الجرذان، حيث يتضح وجود اختلافات ذات دلالة معنوية (P<0.05) عند مقارنة إناث وذكور الجرذان، حيث إن ذكور الجرذان التي أعطيت جرعة الليكوبين ١,٥غم /كغم من وزن الجسم حدث لديها زيادة معنوية في كثافة عظام الفخذ الأيمن (١,٣٥±٠,٠٣ غم/سم³) مقارنة بمجموعة الإناث (١,٢٤ ± ٠,٠٣غم/سم³). من ناحية أخرى لم تكن هنالك أي فروق معنوية عند مقارنة الذكور والإناث في جميع المجموعات المختبرة بما فيها المجموعة الضابطة ومجموعة بدء التجربة في كثافة العظام.

وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Rao et al., 2007) التي أوضحت أن المستوى العالي لليكوبين في المصل والمرتبط بزيادة المتناول اليومي لمنتجات الطماطم ومستخلصاتها أدى إلى زيادة معنوية (P<0.05) في بعض المؤشرات المرتبطة بكثافة العظام لفئة من السيدات في سن اليأس. وأوضحت النتائج أن المجموعة التي استهلكت كمية كبيرة من الليكوبين حسب السجلات الغذائية كان لديها زيادة معنوية (P<0.02) في مستوى الليكوبين في المصل، وأدى ذلك إلى انخفاض معنوي (P<0.005) في أطراف الروابط بين جزيئات الكولاجين cross-linked N- telopeptides of type I collagen.2 (NTX) التي تعد زيادة نسبتها في المصل مؤشر لهدم المادة العظمية، كما ازدادت بعض المؤشرات المرتبطة بزيادة كثافة ومكونات عظام الحوض والساق.

كما تتفق مع دراسة (Kim et al., 2003) في أن لليكوبين تأثيراً تحفيزياً منشطاً لتكاثر الخلايا البانية للعظام،حيث اقترحت هذه الدراسة آلية التأثير بأنه عند تمايز خلايا العظام تتجمع بعض من الخلايا وتحتوي مستقبلات خاصة لليكوبين. علاوة على ذلك، فقد تم ملاحظة خلايا متمايزة تستجيب بفعالية كبيرة لتأثيرات الليكوبين وعلى وجه الخصوص عند جرعة ٠,٥٦ملغم. وبناءً على ذلك، فإن إضافة الليكوبين على الخلايا البانية للعظام خارج الجسم in vitro يؤدي إلى تكاثر الخلايا البانية للعظام، ويحفز تمايز الخلايا العظمية البانية وتكاثرها Osteoblastic differentiation مسبباً زيادة عدد الخلايا البانية للعظام والدالة على كثافة العظام.

٤- تركيز المجموعات الكبريتية (الثيول- السلفاهيدريل)

أدى إعطاء الليكوبين بجرعات قدرها ١,٠ و ١,٥ غم/كغم من وزن الجسم إلى زيادة تركيز مجموعة الثيول بدلالة إحصائية معنوية ($P<0.05$) في مصل إناث وذكور الجرذان كل على حدة مقارنة بتركيزها في مصل إناث وذكور الجرذان في المجموعة الضابطة ومجموعة بداية التجربة وكذلك في المجموعة التي أعطيت ٠,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم. كما كانت الفروق في زيادة مجموعة الثيول في السيرم ذات دلالة إحصائية معنوية أيضاً في ذكور وإناث الجرذان التي أعطيت الجرعات ١,٠ و١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم حيث زادت في المجموعة التي أعطيت الجرعة العالية من الليكوبين مقارنة بالمجموعة التي أعطيت الجرعة ١,٠ غم/كغم من وزن الجسم (جدول ٢).

إلا أنه لم تلاحظ فروق معنوية لتأثير الليكوبين بجرعاته المختلفة على تركيز مجموعة الثيول في المصل عند مقارنة ذلك التأثير بين ذكور وإناث الجرذان (جدول ٢).

يشير ارتفاع تركيز مجموعة الثيول في المصل إلى انخفاض أكسدة البروتين (Earl and Rondney, 2000). ولارتفاع مستويات مجموعة الكبريتات الكحولية (الثيول) sulfhydryl groups في المصل أهمية كبيرة مضادة للأكسدة،حيث أوضحت دراسة (Pearson and Shaw, 2003) أن مجموعة الثيول بما فيها مجموعة ن- أستيل سيستين *N*-acetylcystein لها قدرة مضادة للأكسدة وواقية من فقدان الكتلة العظمية في إناث الجرذان الصغيرة من خلال تأثيرها على زيادة محتوى السيرم من الغلوتاثيون وثايرودكسين المختزل، كما تقلل أيضاً من تأثير أصناف الأكسجين الفعالة ROS والمستهدفة للخلايا الآكلة للعظام، ويؤدي ذلك إلى التقليل من آلية الهدم بواسطة هذه الخلايا. كما أوضح (Lotsva et al., 1997; Lean et al., 2003) أن لمجموعة الثيول كمضادات للأكسدة أهمية كبيرة، حيث إن تناول الكاروتينات يزيد من مستويات

الجلوتاثيون ومجموعة الثيول، الأمر الذي يقلل من قدرة العوامل الإستنساخية الموجودة في الخلايا Nuclear Factor Kappa B protein (NF-KB) من تكوين أصناف الأكسجين الفعالة ROS والمنشطة للخلايا الأكلة للعظام، والمرتبطة بعملية هدم العظام من خلال عامل- ألفا الخاص بنخر العظام Crucial mediator of Tumor Nicrosis Factor –α (TNF-α).

ويمكن تفسير الآلية التي تقوم بها الكاروتينات ومشتقاتها في زيادة مجموعة الثيول في البلازما كما وضحتها دراسة (Siems et al., 2002) أن تناول الكاروتينات ومشتقاتها يحفز إنزيم الدهايديز لتحرير المجموعة الكبريتية (Sulfhydryl group) من بروتينات البلازما المرتبطة بهذه المجموعة (الثيول) والغلوتاثيون مما يساعد على تحررها.

لذا يتضح من نتائج الدراسة الحالية الخاصية المضادة للأكسدة لليكوبين في خفض أكسدة البروتين، حيث اتفق ما توصلت إليه هذه الدراسة مع دراسات كل من (Agarwal and Rao, 1998 ; Matos et al., 2000 ; Rao and Rao, 2004) التي استنتجت وجود علاقة طردية بين الاستهلاك المرتفع لليكوبين وزيادة مجموعات الثيول في المصل وخفض أكسدة البروتين. كما تشابهت نتيجة الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Rao and Shen, 2002) التي استخدمت ثلاثة مستويات من الليكوبين (٥ و١٠ و٢٠ ملغم/يوم) من مصدرين، أحدهما من المنتجات المصنعة والآخر طبيعي. أعطي هذان المصدران لمجموعة من المتطوعين (ذكور وإناث) لمدة أسبوعين، وتم قياس مستوى مجموعة الثيول في المصل، وكانت النتيجة مقاربة لما تم التوصل إليه، حيث ارتفعت مستويات الثيول في مستوى المصل (٣٢٠- ٤٠٠ ميكرومول/لتر) بمقدار ٢٣,٦٪ مقارنة بالمجموعات الضابطة (٢٠٠- ٢٥٠ ميكرمول/لتر). ولم تكن هناك فروق معنوية بين الذكور والإناث في مجموعات الاختبار. كما تتفق نتائج الدراسة الحالية أيضاً مع الدراسة التي أجريت على ذكور الجرذان (Charu et al., 1999) وتم فيها إعطاء الجرذان جرعة من الليكوبين مقدارها ٠,٥٣ ملغم يوميا من مستخلص من الطماطم الطبيعية لمدة ثمانية أسابيع، وأتضح من نتائج الدراسة حدوث زيادة معنوية في مجموعة الثيول في مصل الجرذان بمقدار ٨٪ مقارنة بالمجموعة الضابطة.

كما أوضحت دراسة (Rao et al., 2007) أن تناول الليكوبين أدى إلى زيادة مستواه في المصل، وارتبط ذلك بانخفاض تأكسد البروتين، حيث ازداد مستوى الليكوبين في المصل (٨,١١±٠,٦٣نانومول/كغم من وزن الجسم) في المجموعة التي أعطيت ليكوبين بجرعة مقدارها ٧,٤ ملغم/يوم، وصاحب ذلك زيادة بدلالة إحصائية معنوية في مستويات مجموعة الثيول أيضاً (٥٩٢,٢±٣١,١٢ ميكرولتر/لتر، ٠,٦١ = r، P<0.05). وسلكت المجموعة التي تناولت جرعة منخفضة من الليكوبين (٣,٦٨ ملغم /يوماً) المنحى نفسه بالرغم من انخفاض مستوى

الليكوبين لديها في المصل (٢,٦٢±٠,١١ نانومول/كغم)، إلا أن أكسدة البروتين انخفضت هي الأخرى (٥٠١,٩٠±٢٥,٦٣ ميكرومول/لتر) في المصل لدى هذه المجموعة.

ذكرت دراسة (Hininger et al., 2001) التي أجريت على ذكور أصحاء أن تناول الليكوبين لم يؤد إلى خفض أكسدة البروتين في هؤلاء المتطوعين، مما يختلف مع نتائج الدراسة الحالية. وقد يفسر هذا الاختلاف بتباين جرعة الليكوبين المستخدمة (١٥ ملجم/يوم) على شكل أقراص من مستخلص الطماطم والمحتوي على ٩٠٪ ليكوبين و١٠ ٪ بيتا كاروتين والمدة التي أجريت، خلالها التجربة (ثلاثة أشهر)، ونوعية العينة التي أجريت عليها التجربة حيث استخدم في الدراسة الحالية الجرذان، بينما استخدم في الدراسة المشار إليها الإنسان.

تأثير الليكوبين على مؤشرات أخرى ترتبط بعملية هدم العظام في الجرذان

١ إنزيم الفوسفاتيز المقاوم لحمض الطرطريك

يوضح الجدول ٣ تأثير الجرعات المختلفة من الليكوبين على تركيز إنزيم فوسفاتيز المقاوم لحمض الطرطريك Tartrate –Resistant Acid Phosphates (TRAP) في سيرم إناث وذكور الجرذان. ويتضح من الجدول أن الجرعات المختلفة من الليكوبين التي أعطيت للجرذان عن طريق الفم أدت إلى انخفاض معنوي بزيادة الجرعة المعطاة من الليكوبين وكانت ثمة اختلافات ذات دلالة معنوية ($P<0.05$) بين المجموعة التي أعطيت ١,٥ غم/كغم من وزن الجسم من الليكوبين والمجموعة التي أعطيت ٠,٥ غم/كغم من وزن الجسم في تركيز هذا الإنزيم في مصل الإناث والمجموعة الضابطة بينما حدث انخفاض معنوي لمستواه في المجموعة التي حصلت على جرعة الليكوبين ١,٥غم/كغم من وزن الجسم مقارنة بالمجموعة الضابطة والمجموعة التي حصلت على ٠,٥ غم /كغم من وزن الجسم، إلا أنه لم تكن هنالك فروق معنوية في تركيز هذا الإنزيم في المصل بين إناث الجرذان التي أعطيت ١,٠ و١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم.

وسلك تركيز هذا الإنزيم في مصل الذكور الاتجاه نفسه، حيث انخفض تركيزه معنوياً في مصل الذكور التي أعطيت ١,٠ و١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم مقارنة بالمجموعة الضابطة والمجموعة التي أعطيت أقل جرعة من الليكوبين. ولم تكن ثمة فروق معنوية في تركيز الإنزيم فيما بين الذكور التي أعطيت الجرعتان ١,٠ و١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم.

جدول (٣): تأثير الليكوبين على بعض المؤشرات المرتبطة بعملية هدم العظام في مصل الدم في الجرذان.

تركيز الليكوبين (غم/كغم من وزن الجسم)	تركيز إنزيم الفوسفاتيز المقاوم لحمض الطرطريك (وحدة دولية/لتر)		تركيز هرمون الغدة جارة الدرقية (بيكوغرام/لتر)	
	إناث	ذكور	إناث	ذكور
المجموعة الضابطة	٥,٣٥±٠,٣١ Aa	٤,٧٢±٠,٣٠ Aa	١٩٨,٥٠± ١٣,٠١ Aa	١٩٢,٤٢ ± ١٣,٦٩ Aa
٠,٥	٥,٠٧±٠,٢٥ Aab	٥,١٥±٠,٤٣ Aa	١٩٥,٧١ ± ١١,٢٤ Aa	١٩٢,٣٧ ± ٥,٧٠ Aa
١,٠٠	٤,١٢±٠,٧٢ Abc	٣,٣٠±٠,٥٤ Ab	١٩٨,٠١±١٣,٠٦ Aa	١٨٨,٤٥±١٢,٦٦ Aa
١,٥	٣,٧٦±٠,٩٥ Ac	٢,٩٤±٠,١٢ Bb	١٧٧,٠٣ ± ١٠,٨٧ Aa	١٥٥,٣٣ ± ١,٠٨ Aa

- المتوسط ± الانحراف المعياري (n= ٦) الأعمدة ذات الأحرف الإنجليزية الصغيرة المختلفة لكل مؤشر لكل جنس على حدة بينها فروق معنوية ($p \leq 0.05$). والأسطر ذات الأحرف.

الإنجليزية الكبيرة بين الجنسين لكل مؤشر على حدة بينها فروق معنوية ($p \leq 0.05$).

أما الاختلافات بين جنسي الجرذان في تركيز هذا الإنزيم نتيجة لجرعات الليكوبين المعطاة فلم تسجل فروقاً ذات دلالة إحصائية معنوية إلا عند الجرعات ٠,٥ و١,٥ غم/كغم من وزن الجسم، حيث انخفض تركيز هذا الإنزيم في مصل الذكور مقارنة بالإناث نتيجة لإعطاء الليكوبين (جدول ٣)، ويتضح أن تأثير الليكوبين على مستوى هذا الإنزيم في الذكور أكبر منه مقارنة بالإناث.

يعد إنزيم الفوسفاتيز المقاوم لحمض الطرطريك أكثر المؤشرات المتوافرة لارتشاف العظام التي يعتمد عليها، وترجع آلية تأثير هذا الإنزيم على العظام من خلال دوره في خلايا العظام حيث يحصل على TRACP 5b كلية من الخلايا الآكلة للعظام ويعتبر عاملاً مساعداً لارتشاف العظام (Sheu et al., 2003 ; Perez-Amodio et al., 2005). إن لإنزيم الفوسفاتيز المقاوم لحمض الطرطريك نشاطين إنزيمين مميزان على عكس غالبية مؤشرات العظام الأخرى المعروفة، فهو يعمل كإنزيم فوسفاتيز عندما يكون الأس الهيدروجيني في الظروف الحامضية، بينما يكون مولداً لأنواع الأكسجين الفعالة على أس هيدروجيني متعادل. وعندما يقوم هذا الإنزيم بنشاط الفوسفاتيز، فإنه يفضل مواد التفاعل substrates التي يرتبط فيها الفسفور بحلقة عطرية (Kaija et al.; 2002). إلى جانب ذلك أتضح أن الفسفوسيرين Phosposerine المحتوية على بروتينات قالب العظام والمسماة بونتين العظام osteopontin تُحفز بواسطة TRAP (Ek-Rylander et al., 1994)، ويسهل الحديد النشط الداخل في التركيب الأساس لهذا الإنزيم (Davis and Averill, 1982) ، توليد أنواع الأكسجين الفعالة من خلال تفاعل فنتون Fenton بوجود فوق أكسيد الهيدروجين (Sibille et al., 1987 ; Halleen et al., 1999).، ولقد تم اقتراح دور حيوي للنشاط المولد لأنواع الأكسجين الفعالة في الخلايا الآكلة للعظام والماكروفاج macrophages (Väräniemi et al., 2004 ; Halleen et al., 1999).

اتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة (Rao et al., 2003) في وجود تأثير لليكوبين على انخفاض إنزيم الفوسفاتيز المقاوم لحامض الطرطريك في المصل حيث درس (Rao et al., 2003) عظام الفخذ للجرذان، واستخدم في الدراسة تركيزات مختلفة من الليكوبين في وجود أو غياب هرمون الغدة جارة الدرقية (PTH). وقد أوضحت النتائج أن الليكوبين قد ثبط من تركيزإنزيم الفوسفاتيز المقاوم لحامض الطرطريك (TRAP) للخلايا الآكلة للعظام متعددة النواة في غياب أو وجود هرمون الغدة جارة الدرقية. كما تطابقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل إليه (Ishimi et al., 1999)،حيث أوضحت الدراسة أن إضافة الكاروتينات بما فيها الليكوبين إلى الخلايا الآكلة للعظام قد أدت إلى تثبيط تكوين هذا الإنزيم في الخلايا عديدة النواة، وأرتبط ذلك التأثير بزيادة جرعة الليكوبين. وذكرت

دراسة (Yamaguchi et al., 2004) أن تناول العصير المجهز من الموالح والحمضيات والغني بالكاروتينات لمجموعة من المتطوعين (إناثاً وذكوراً) لمدة ٢٨ يوماً أدى إلى نقص واضح في نشاط الإنزيم وبخاصة في جنس الذكور مقارنة بالإناث.

إلا أن نتائج الدراسة الحالية تختلف عما وجده (Ishimi et al., 1999) في دراستهما عن تأثير الليكوبين على الخلايا الآكلة للعظام في الجرذان من خلال إنباتها في مزارع استنباتية في وجود الخلايا البانية للعظام وفي وجود عوامل ارتشاف (٢٥,١- ثنائي فيتامين د٣ و بيتا انتروليوكين وهرمون الغدة جارة الدرقية بتركيزات مختلفة)، واتضح منها عدم تأثير الليكوبين على نشاط إنزيم (TRAP) في الخلايا الآكلة للعظام عديدة النواة. وقد يرجع الاختلاف بين الدراسة الحالية وهذه الدراسة في طريقة إجراء التجربة، حيث أجريت دراسة (Ishimi et al., 1999) خارج الجسم in vitro، في حين تم إجراء الدراسة الحالية على الجرذان. كما اختلفت عن دراسة (Rao et al., 2003) في التباين في ظروف المزرعة الإنباتية، حيث تم استخدام الخلايا الآكلة للعظام متعددة النواة في غياب أو وجود عامل ارتشاف وهو هرمون الغدة جارة الدرقية.

٢- تركيز هرمون الغدة جارة الدرقية

يعد هرمون الغدة جارة الدرقية من المؤشرات الهامة المرتبطة بارتشاف العظام (Compston, 2001)، ونتيجة لعدم وجود دراسات سابقة داخل الجسم *in vivo* لتأثير الليكوبين على تركيز هذا الهرمون في السيرم، فقد تم في هذه الدراسة دراسة هذا التأثير في ذكور وإناث الجرذان، كما تم مقارنة تأثيره بين الجنسين. ويوضح الجدول ٣ أن الليكوبين بجرعاته المختلفة لم يكن له تأثير معنوي على تركيز هرمون الغدة جارة الدرقية في المصل سواء في ذكور أو إناث الجرذان. كما يتضح من الجدول عدم وجود فروق معنوية بين الجنسين في تركيزه في المصل نتيجة لإعطاء الجرعات المختلفة من الليكوبين. وقد لوحظ انخفاض غير معنوي من الناحية الإحصائية في تركيزه في مجموعة إناث وذكور الجرذان التي أعطيت الجرعة الأعلى من الليكوبين (١,٥ غم/كغم من وزن الجسم) كما يتضح من الجدول رقم ٣. كما لوحظ انخفاض غير معنوي في تركيز هذا الهرمون في مصل الذكور مقارنة بالإناث (جدول ٣)، لذا يمكن القول أن جرعات أعلى من ١,٥ غم/كغم من وزن الجسم من الليكوبين قد تؤدي إلى خفض تركيز هذا الهرمون في المصل، إذ ذكر Vaes, (1968; Thomas and Ramp, 1978) أن زيادة تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في المصل يؤدي إلى خفض تركيز هرمون الغدة جارة الدرقية المرتبط بخفض محتوى الكالسيوم من العظام. وقد لوحظ من الدراسة الحالية أن الليكوبين عند الجرعة الأعلى من الليكوبين قد

أدى إلى زيادة معنوية في تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في المصل مقارنة بالجرعات الأخرى (جدول ١). لذا من المحتمل أن تؤدي جرعة أعلى من ١,٥ غم ليكوبين/كغم من وزن الجسم إلى زيادة في تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في المصل إلى الحد الذي قد يؤدي إلى خفض تركيز هرمون الغدة جارة الدرقية.

لم تجر دراسات سابقة في داخل الجسم عن تأثير الليكوبين على هرمون الغدة جارة الدرقية، ولكن تم دراسة تأثير كاروتينات أخرى، حيث ذكر (Frankel et al., 1986) أن إعطاء الجرذان الريتنول بجرعة قدرها ١٥ ملغم مكافئ ريتنول ثلاث مرات أسبوعياً لمدة ستة أسابيع لم يحدث أي تأثير في تركيز هذا الهرمون في مصل الجرذان، إلا أن الجرعة العالية من الريتنول (٦٠ ملغم مكافئ ريتنول) لمدة يومين قد أدت إلى خفضه معنوياً في مصل الجرذان (٠,٠٢±٠,٠٥ نانوغرام/مللي لتر) وذلك عند المقارنة بالمجموعة الضابطة (٠,١٤±٠,٠٨ نانوغرام/مللي لتر).

كما ذكر (Rao et al., 2003; Park et al., 1997) أن لليكوبين تأثيراً مثبطاً لهرمون الغدة جارة الدرقية المحفز الأساس لارتشاف العظام في الخلايا الآكلة والبانية للعظام في المزارع الإنباتية لعظام الجرذان خارج الجسم in vitro من خلال وجود مستقبلات حسية لهذا الهرمون على الخلايا آكلة وبانية العظام، وقد فسرت الآلية التي يؤثر فيها هذا الهرمون على الخلايا بأن الخلايا بانية العظام تنتج بروتين يسمى عامل تمايز الخلايا الآكلة للعظام Osteoclast differentiation factor (ODF) والذي يسمى أيضاً منشطاً لمستقبل جزيء الربط (RANKL) والمحفز عن طريق هرمون الغدة جارة الدرقية المرتبط بتنشيط عملية نقض العظام (Osteoclastogenesis)، وبناءً على ذلك، فإن الليكوبين قد ثبط الهرمون لإنتاج عامل تمايز الخلايا عن طريق الخلايا بانية العظام المستنبتة في المزارع الانباتية والتي تسببت في خفض تكوين الخلايا ناقضة العظام وعملية ارتشاف العظام في الشرائح العظمية. وقد يرجع الاختلاف في نتائج الدراسة الحالية عن هاتين الدراستين نتيجة الاختلاف في الطريقة التي تم فيها إجراء التجارب، حيث أجريت الدراسة الحالية على الجرذان in vivo بينما أجريت في الدراستين المذكورتين على الخلايا البانية والناقضة لعظام الجرذان خارج الجسم in vitro.

يمكن الاستنتاج بناءً على النتائج التي تم التوصل إليها في هذه الدراسة أن لليكوبين تأثيراً هاماً ووقائياً على صحة العظام داخل الجسم in Vivo من خلال تأثيره على بعض المؤشرات المرتبطة ببناء العظام، إذ أدى إلى زيادة كثافة عظام الفخذ الأيمن لذكور وإناث الجرذان. كما أدى إلى زيادة تركيز الفسفور بالمصل. علاوة على ذلك، فإن إعطاء الليكوبين بالجرعة العالية لكلا الجنسين أدى إلى زيادة معنوية في انزيم الفوسفاتيز القاعدي، حيث يساهم هذا

الإنزيم في تحفيز عملية التمعدن بالخلايا البانية للعظام مؤدياً إلى زيادة كثافة العظام. كما ساهم أيضاً في خفض مستوى إنزيم الفوسفاتيز المقاوم لحامض الطرطريك الذي يتم إفرازه بواسطة الخلايا ناقضة العظام، وهذا الإنزيم عامل مساعد في بناء العظام من خلال تنشيط الخلايا البانية للعظام. كما أثبتت الدراسة أن الليكوبين أدى إلى زيادة في تركيز مجموعة الثيول، مما يعني خفض أكسدة البروتين، ويقلل ذلك بالتالي من احتمالية فقد وارتشاف العظام. لذا فإن تناول الليكوبين الغذائي من مصادره الغذائية الغنية به وبجرعة على الأقل ١,٥ غم/كغم من وزن الجسم/يوم قد يكون لديه تأثير وقائي مانع لفقدان العظام ومشجعا على بنائها من خلال تأثيره على بعض المؤشرات الهامة المرتبطة بتمثيل العظام التي تم دراستها في هذا البحث.

شكر وتقدير

بنيت هذه الورقة العلمية على دراسات ونتائج بحث دعمته مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية بمنحة رقم أط – ١٦– ٨، لذا يتقدم الباحثون بعظيم الشكر والامتنان لمدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية لدعمهم المادي لهذا البحث.

المراجع

Agarwal, S. and Rao, A. V.(1998). Tomato lycopene and low-density lipoprotein oxidation:a human dietry intervention study and chronic diseases. Lipids. 33:981-984.

AOAC. (Association of officical Analytical Chemists). (1995). Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. Sixteenth edition. Method 50.1.12.AOAC,Virginia, USA.

Arjmandi, B.; Alekel, L.; Hollis, B. and Amin, D. (1996). Dietary soybean protein prevent bone loss in an overiectomized rat model of osteoporosis . J. Nutr. 126:161–167.

Basu, S.; Michaelsson, K.; Olofsson, H.; Johansson, S. Melhus, H. (2001). Association between oxidative stress and bone mineral density. Biochem. Biophys. Res. Comm. 1:275–279.

Becker, S. V.; Schmidt, D. A. and Middleton, C. C. (1979). Selected biological values of the African white- tailed sand rat. Lab. Anim .Sci .20:479–486.

Cadoni, M. E.; Giorgi, R. D.; Medda, E. and Poma, G. (2006). The anabolic effect of PTH on bone is attenuated by simultaneous glucocorticoid treatment. Bone. 39:244–252.

Casso, D.; White, E.; Patrrerson, R.; Agur-Collins, T.; Kooperburg, C. and Haines, P. (2000). Correlation of serum lycopene in older women. Nutr. and Cancer. 2:163-196.

Charu, K. J.; Agarwal, S. and Rao, A. V. (1999). The effect of dietary lycopene on bioavailability, tissue distribution, in vivo antioxidant properties and colonic preneoplasia in rats. Nutr. Res. 9:1383–1391.

Ching-Hui, C.; Hsing-Yu, L.; Chi-Yue, C. and Yung-Chuan, L. (2006). Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. J. Food Eng. 77:478–485.

Clinton, S. (1998). Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. Nutr. Rev. 1:35–51.

Compston, J. E. (2001). Sex steroids and bone. Physiol. Rev. 81:419–447.

Davis, J. C. and Averill, B. A. (1982). Evidence for a spin-coupled binuclear iron unit at the active site of the purple acid phosphatase from beef spleen. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America .79:4623–4627.

Earl, R. S. and Rondney, L. L. (2000). Protein Oxidation. Ann. N. Y. Acad. Sci. 899:191–208.

Eaton, R. H. (1977). Plasma alkaline phosphatase assay: interconversion of results by two methods. Clin Chem. 23(11):2148–2150.

Ek-Rylander, B.; Flores, M.; Wendel, M.; Heinegard, D. and Andersson, G. (1994). Dephosphorylation of osteopontin and bone sialoprotein by osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase Modulation of osteoclast adhesion in vitro. J. Biol. Chem. 269:14853–14856.

Farley, J. R. (1995). Phosphate regulates the stability of skeletal alkaline phosphatase activity in human osteosarcoma (SaOS-2) cells without equivalent effects on the level of skeletal alkaline phosphatase immunoreactive protein . Calcif. Tissue Int. 57:371–378.

Frankel, T. L.; Seshadri, M. S.; McDowall, D. B. And Cornish, C. J.(1986). Hypervitaminosis A and calcium-regulating hormones in the rat .NUTR.116:578 – 587.

Gao, Y. H. and Yamaguchi, M. (1999). Suppressive effect of genistein on rat bone osteoclasts: Apoptosis is induced through Ca2+ signaling. Biol. Pharm. Bull. 22:805–809.

Garrett, I.; Boyce, B.; Orreffo, R.; Bonewald, L.; Poser, J. and Mundy, G. (1990). Oxygen –derived free radical stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and vivo. J. Clin. Inves. 85:632–639.

Gold, D. T. (2006). Introduction to osteoporosis: From pathogenesis to prevention and treatment strategies. Am. J. Obstet. Gynecol. 149:S1-S2.

Halleen, J.; Raisanen, S. and Salo, J. (1999). Intracellular fragmentation of bone resorption products by reactive oxygen species generated by osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase. J. Biol. Chem. 274:907–910.

Hininger, A.; Meyerwenger, A.; Moser, U.; Wright, A.; Sothon, D. I.; Chopra, M.; Vandenberg, H. and Olemedilla, B. (2001). Favier of beta-carotene Supplementation on biological marker of oxidative stress and LDL oxidadizability in healthy adults subjects. J. Am. Coll. Nutr. 3:323–338.

Hu, M. (1994). Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. Methods in Enzymol. 233:380–385.

Ishimi, Y.; Ohmura, M.; Wang, X.; Yamaguchi, M. and Ikegami, S. 1999. Inhibition by carotenoids and retinoic acid of osteoclast-like cell

formation induced by bone-resorbing agents in vitro. J. Clin. Biochem. Nutr. 27:113–122.

Jarvinen, T. L. N.; Kannus, P.; Pajamaki, I.; Vuohelainen, T.; Tuukkanen, J.; Jarvinen, M. and Sievanen, H. (2003). Estrogen deposits extra mineral into bones of female rats in puberty, but simultaneously seems to suppress the responsiveness of female skeleton to mechanical loading. Bone. 32:642–651.

Kaija, H.; Alatalo, S. L.;Halleen, J. M.; Lindqvist, Y.; Schneider, G.;Väänänen, H. K. and Vihko, P. (2002). Phosphatase and oxygen radical-generating activities of mammalian purple acid phosphatase are functionally independent. Biochem. Biophys. Res. Comm. 292:128–132.

Kim, L.; Rao , A. V. and Rao, L. G. (2003). Lycopene II - effect on osteoblasts: the caroteroid lycopene stimulates cell proliferation and alkaline phosphatase activity of SaOS-2 cells. J. Med. Food. 2:79–286.

Kuroiwa, Y;. Nishikawa, A.; Imazawa, T.; Kitamura, Y.; Kanki, K.; Ishii, Y.; Umemura, T. and Hirose, M. (2006). A subchronic toxicity study of dunaliella carotene in F344 rats. Food Chem. Toxicol. 44:138–145.

Lean, J. M.; Davies, J. T.; Fuller, K.; Jagger, C. J.; Kirstein, B. and Partington, G. A. (2003). A crucial role for thiol antioxidants in estrogen-deficiency bone loss. J. Clin. Invest. 112:915–23.

Lotsva, V.; Caamano, J.; Loy, J.; Yang, Y.; Lewin, A. and Bravo, R. (1997). Osteopetrosis in mice laking NF-KB1 and NF-KB2. Nat. Med. 3:1285–1289.

Maggio, D.; Polidori, C.; Barabani, M. and Angela, T. (2006). Low levels of carotenoids and Retinol in involutional Osteoporosis . Bone. 38:244–248.

Maggio, D.; Barabani, M. and Pierandrei, M. (2003). Marked decrease in plasma antioxidants in aged osteoporotic women: results of a cross sectional study. J. Clin. Endocrinol. Metab. 4:1523–1527.

Matos, H. R.; Di-Mascio, P. and Medeiros, M. H. (2000). Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative DNA damage in cell culture. Arch. Biochem. Biophys. 383(1):56–59.

Melhus, H.; Michaelsson, K.; Holmberg, L.; Wolk, A. and Ljunghall, S. (1999). Smoking, antioxidant vitamins, and the risk of hip fracture. J. Bone Mineral Res. 14:129–135.

Mellert, W.; Deckardt, K.; Gembardt, C.; Schulte, S.; Van Ravenzwaay, B. and Slesinski, R. S. (2002). Thirteen-week oral toxicity study of synthetic lycopene products in rats. Food Chem. Toxicol. 40:1581–1588.

Milena, C.; Estela, B.; Raquel, A.; Lusânia, M. and Mariade, L. (2006). Comparative effects of acute and subacute lycopene administration on chromosomal aberrations induced by cisplatin in male rats. Food Chem. Toxicol. 44:1334–1339.

Miller, M. A.; Chin, S. C. and Miller, F. J. (1998). Disparate effect of mild moderate, and severe secondary hyperparathyroidism on cancellous and cortical bone in rats with chronic renal insufficiency. Bone. 23:257–266.

Minkin, C. (1982). Bone acid phosphatase: Tartrate- resistant acid phosphatase as a marker of osteoclast function. Calcif. Tissue Int. 34:285–290.

Nomura, G.; Tamura, M.; Hirhashi, K. and Nagasi, S. (1975). Comparison of constituents of blood of several experimental animals with human blood. Exp. Anim. (Tokyo) .22:321-329.

Nomura, G.; Tamura, M.; Hirhashi, K. and Nagasi, S. (1975). Comparison of constituents of blood of several experimental animals with human blood. Exp. Anim. (Tokyo) .22:321-329.

Oshima, S.; Inakuma, T. and Narisawa, T. (1999). Absorption and distribution of lycopene in rat colon. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 45:129–134.

Park, C.; Ishimi, Y.; Ohmura, M.; Yamaguchi, M. and Ikegami, S. (1997). Vitamin A and carotenoids stimulate differentiation of mouse osteoblastic cells. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 43:281–296.

Pearson, D. and Shaw, S. (2003). Thiol antioxidants reduce bone loss in estrogen-deficient female mice. Life Enhancement Magazine. 6:65–69.

Perez-Amodio, S.; Vogels, I. M.; Schoenmaker, T.; Jansen, D. C.; Alatalo, S. L.; Halleen, J. M.; Beertsen, W. and Everts, V. (2005). Endogenous expression and endocytosis of tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP) by osteoblast-like cells. Bone. 36:1065–1077.

Principato, G. B.; Asia, M. C.; Talesa, V.; Rosi, G. and Giovannini, E. (1985). Characterization of the soluble alkaline phosphatase from hepatopancreas of squilla mantis L. Compar. Biochem. Physiol. 80B:801–804.

Rao, A. V. and Rao, L. G. (2004). Lycopene and human health. Nutraceut. Res. 2:127-136.

Rao, A. V. and Shen, H. (2002). Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress. Nutr. Res. 22(10):1125-1131.

Rao, L. G.; Mackinnon, R. G.; Murray, T. M.; Strauss, A. and Rao, A. V. (2007). Lycopene consumption decreases oxidative stress and bone resorption markers in postmenopausal women. Osteoporosis Int. 18:109–115.

Rao, L. G.; Krishnadev, N.; Banasikowska, K. and Rao, A. V. (2003). Lycopene I –effect on osteoclasts: lycopene inhibits basal and parathyroid hormone-stimulated osteoclast formation and mineral resorption mediated by reactive oxygen species in rat bone marrow cultures. J. Med. Food. 2:69–78.

Reeves, P. G.(1997). Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. J. Nutr. 127: 838S-841S.

Reinhardt, T. A.; Horst, R. L.; Orf, J. W. and Hollis, B. W. (1984). A microassay for 1,25- dihydroxyvitamin D not requiring high performance liquid chromatography: application to clinical studies. J. Clin. Endocrinol. Metab. 58:91–98.

Rosalki, S. B. and Foo, A. Y. (1984). Two new methods for separating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma. Clin. Chem. 30:1182-1186.

Saad, T. M. M. and Elmasry, F. S. (2005). Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato pomace toward Gamma Irradiation hazard in male Albino rats. Nat. Centre Rad. Res. Technol. Egypt. 37:937–946.

Sadler, G.; Davis, J. and Dezman, D. (1990). Rapid extraction of lycopene and b-carotene from reconstituted tomato past and pink grapefruit homogenate. J. Food Sci. 55:1460–1461.

SAS.(1997). SAS User's Guide: Statistics Version 5 edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Sheu, T. J.; Schwarz, E. M.; Martinez, D. A.; O'Keefe, R. J.; Rosier, R. N.; Zuscik, M. J. and Puzas, J. E. (2003). A phage display technique identifies a novel regulator of cell differentiation. J. Biol. Chem. 278:438–443.

Shivashangari, K. S.; Ravikumar, V.; Vinodhkumar,R.; Sheriff, S. A. and Devaki, T. (2006). Hepatoprotective Potential of Lycopene on D-Galactosamine/Lipopolysaccharide Induced Hepatitis in Rats. Pharmacologyonline. 2:151–170.

Sibille, J. C.; Doi, K. and Aisen, P. (1987). Hydroxyl radical formation and ironbinding proteins. Stimulation by the purple acid phosphatases. J. Biol. Chem. 262:59–62.

Siems, W.; Sommerburg, O.; Schild, L.; Augustin, W.; Dieter Langhans, C. and Wiswedel, I. (2002). Carotene cleavage products induce oxidative stress in vitro by impairing mitochondrial respiration. FASEB. J. 20:1289–1291.

Stahl, W. and Sies, H. (1996). Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? Arch. Biochem. Biophys. 336:1–9.

Suda, N.; Morita, I.; Kuroda, T. and Murota, S. (1993). Participation of oxidative stress in the process of osteoclast differentiation. Biochimica. et Biophysica. Acta. 1157:318–323.

Thomas, H. L. and Ramp, W. K. (1978). Increased ATPase and decreased alkaline phosphatase activities by parathyroid hormone in cultured chick embryo tibiae. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 157:358–362.

Trudeau, D. L. and Freier, E. F. (1967). Determination of calcium in urine and serum by atomic absorption spectrophotometry (AAS). Clin. Chem. 13:101–114.

Uchiyama, S.; Takashi, S. and Yamaguchi, M. (2004). Effect of β-cryptoxanthin on bone compentens in the femoral tissues of aged rats in vivo and in vitro. J. Health. Sci. 50(5):491–496.

Vääräniemi, J.; Halleen, J. M.; Kaarlonen, K.; Ylipahkala, H.; Alatalo, S. L.; Andersson, G.; Kaija, H.; Vihko, P. and Väänänen, H. K. (2004). Intracellular machinery for matrix degradation in bone-resorbing osteoclasts. J. Bone Mineral Res. 19:1432–1440.

Vaes, G. (1968). On the mechanisms of bone resorption. The action of parathyroid hormone on the excretion and synthesis of lysosomal enzymes and on the extracellular release of acid by bone cells J. Cell Biol. 39:676–697.

Van den Bos, T.; Oosting, J.; Everts, V. and Beertsen, W. (1995). Mineralization of alkaline phosphatase-complexed collagen implants in the rat in relation to serum inorganic phosphate. J. Bone Miner. Res. 10(4):616–24.

Yamaguchi, M.; Igarashi, A.; Uchiyam, S.; Seiichi, A.; Kuniaki, M. and Sumida, S. (2004). Prolonged intake of juice (Citrus unshiu) reinforced with β-crypthoxanthin has an effect on circulating bone biochemical markers in normal individuals. J. Health Sci. 50(6):619–624.

Yohay, D. A.; Zhang, J.; Thrailkill, K. M.; Arthur, J. M. and Quarles, L. D. (1994). Role of serum in the developmental expression of alkaline phosphatase in MC3T3-E1 osteoblasts. J. Cell Physiol. 158:467–475.

Effect of Lycopene Extracted from Tomatoes on some Indicators of Bone Metabolism in Rats

Suha Hashem Abdul-Jawad[1], hamza M. Abu-Tarboush[2] Khalid S. Al-Numair[2] and Zenab Ahmed Habib Babay[3]

[1]Taibh University, College of Education for Girls, Department. of Home Economic
[2]King Saud University, College of Food and Agricultural Sciences, Department of Food Science and Nutrition
[3]OBS-Gynecology Department, College of Medicine, King Saud University, Saudi Arabia

The aim of this study was to evaluate the effect of lycopene extracted from local tomatoes cultivated in Saudi Arabia in some markers of bone formation. Gender difference regarding the effect of lycopene on the studied markers was also evaluated.

Sixty (30 males and 30 females) Wistar albino rats (100 ± 10 g) were used in this study. Different orally administered lycopene at doses (0.5, 1.0 and 1.5 g/kg body weight/day) was given to the rats for eight weeks. The results of bone mass density (BMD) revealed significant ($P<0.05$) increase in the right femur bone in both sexes, especially in the females given 1.0 and 1.5 g lycopene/kg BW/day. BMD was significantly higher in males than females at the high dose of lycopene (1.5 g/kg BW). Concentration of phosphorus (P) in the serum of rats was also increased significantly in males and females, especially at the highest dose of lycopene and the increase was significant in males compared to that of females. All doses of lycopene had no effect on calcium (Ca) concentration in the serum of both males and females. Moreover lycopene doses and gender had no effect in parathyroid hormone and 1-25 dihydroxy vit. D3. Effect of lycopene on some markers of bone formation was also studied. Doses of 1.0 and 1.5 g/kg BW of lycopene significantly increased thiol group in males and females. However, no significant difference was observed between males and females at all doses of lycopene. Activity of alkaline phosphatase (ALP) in rat serum followed the same trend and the highest dose of lycopene increased its activity in the serum of males and females compared to its activity in control group and the group administered the lowest dose of lycopene (0.5 g/kg BW). However, the only dose of 1.5 g lycopene/kg BW increased its activity more in the serum of females compared to males. On the contrary, concentration of tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) decreased significantly in the serum of rats that received the doses of 1.0 and 1.5 g lycopene/kg BW in both sexes compared to the control group.. Lycopene and gender had no effect in bone-specific alkaline phosphatase (BAP) concentration in the serum of rats.

The results of this study demonstrated that the intake of 1.5 g/kg BW/day of lycopene could reduce protein oxidation in bone, increase bone mass density and the formation of bone.