جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

دور حامض الفا – ليبويك، الميلاتونين ول–كارنتين في بعض معايير الشيخوخة البايوكيميائية وتغييرات الدماغ النسجية المرضية والمستحدث باستخدام الكالاكتوز في ذكور الجرذان

ايناس اسامة حسين علي البابلي

اطروحة دكتوراه فلسفة
الطب البيطري/الفسلجة البيطرية

بإشراف
الاستاذ الدكتورة
فدوى خالد توفيق

١٤٤١هـ ٢٠٢٠م

جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

دور حامض الفا – ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في بعض معايير الشيخوخة البايوكيميائية وتغييرات الدماغ النسجية المرضية والمستحدث باستخدام الكالاكتوز في ذكور الجرذان

ايناس اسامة حسين علي البابلي

اطروحة دكتوراه فلسفة
الطب البيطري/الفسلجة البيطرية

بإشراف
الاستاذ الدكتورة
فدوى خالد توفيق

١٤٤١هـ ٢٠٢٠م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ اللَّهُ الَّذِي خَلَقَكُمْ مِّن ضَعْفٍ ثُمَّ جَعَلَ مِن بَعْدِ ضَعْفٍ قُوَّةً ثُمَّ جَعَلَ مِن بَعْدِ قُوَّةٍ ضَعْفاً وَشَيْبَةً يَخْلُقُ مَا يَشَآءُ وَهُوَ الْعَلِيمُ الْقَدِيرُ ﴾ (٥٤).

صدق الله العظيم

اقرار المشرف

أشهد بان اعداد الاطروحة جرى تحت إشرافي في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه في اختصاص الطب البيطري /الفسلجة البيطرية.

التوقيع:

المشرف: أ.د. فدوى خالد توفيق

التاريخ: ٢٠١٩/١٢/١٦

اقرار المقوم اللغوي

أشهد بان هذه الاطروحة الموسومة **(الدور الوقائي لحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين في بعض المعايير الفسلجية للتقدم بالسن (الشيخوخة)والمستحدث في الجرذان)** تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية، وبذلك أصبحت الاطروحة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الامر بسلامة الاسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

المشرف :أ.د. يونس طركي سلوم البجِاريِ

التاريخ: ٢٠١٩/١٢/٢٣

اقرار رئيس فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والادوية

بناء على التوصيات المقدمة من قبل المشرف والمقوم اللغوي أرشح هذه الاطروحة للمناقشة.

التوقيع:

المشرف: أ.د. نشأت غالب مصطفى

التاريخ: ٢٠٢٠/١/١٢

اقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناء على التوصيات التي تقدم بها المشرف والمقوم اللغوي ورئيس فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والادوية، أرشح هذه الاطروحة للمناقشة.

التوقيع:

المشرف: أ.د. ظافر محمد عزيز

التاريخ: ٢٠١٩/١/١٥

شكر و تقدير

الحمد لله رب العالمين....والصلاة والسلام على سيد المرسلين وخاتم الانبياء سيدنا ابي القاسم محمد بن عبد الله وعلى آله الطيبين الطاهرين وبعد أشكر الله تعالى وأحمده فهو المنعم والمتفضل قبل كل شيء أشكره أن حقق لي ما أصبو إليه.

اتقدم بالشكر والعرفان الى عمادة كلية الطب البيطري / جامعة الموصل ممثلة بالسيد العميد ومعاون العميد العلمي والاداري لتقديم التسهيلات لإتمام وانجاز البحث.

وأتوجه بالشكر الجزيل لأستاذتي المشرفة الاستاذة الدكتورة فدوى خالد توفيق التي وضعت ثقتها فّي وكانت معي في كل خطوة من خطوات البحث من التخطيط له وحتى الطباعة ولم تبخل علي بأي مشورة وفي أي وقت. والشكر موصول الى الدكتورة اسراء محمد جبر التي ساعدتني في توفير مواد البحث الاساسية فلها مني كل الحب والتقدير. كما اشكر الاستاذ ناظم احمد حسن والدكتور محمد غسان والدكتور عمار غانم والشكر الجزيل للدكتورة يسرى ابراهيم وهديل احمد والدكتورة صفاء عبد العزيز الامين لما قدموه لي من نصائح متعلقة بإجراء الاختبارات الكيميائية. كما اود أن اشكر الدكتور عصام بهنام والدكتور ايمن محمد جبر والدكتور عمر هاشم فلهم مني كل الاحترام . كما اشكر رفيقاتي هبة محمد جاسم وهيام نذير وسهى محمود وسولاف جبار. وأتقدم بأسمى عبارات الشكر والعرفان إلى والدي العزيزين اللذين غرسا في حب العلم من الصغر، وقدما لي كل غالٍ ونفيس، وكان لهما الفضل بعد الله فيما وصلت إليه الآن فلا أملك الا الدعاء لهما بطول العمر وحسن العمل وبلوغ الجنان. كما أتقدم بأسمى آيات الشكر والعرفان لكل من مد لي يد العون من قريب أو من بعيد في إنجاز هذا العمل المتواضع وإتمامه ولو بنصيحة. ولا يسعني إلا أن أشكر رفيق دربي واولادي على صبرهم معي طول فترة الدراسة فلهم مني كل الحب والشكر والعرفان.

الباحثة

الخلاصة

صممت الدراسة الحالية للتعرف على التاثيرات المرافقة للشيخوخة والتقدم بالعمر بوصفها عملية فسلجيه التي تشمل تغييرات في وظائف وفعاليات الجسم الفسلجية وربط التغييرات الفسلجية مع المعايير المدروسة والتحري عن امكانية بعض المواد التي وصفت بأنها تمتلك خصائص ضد التقدم بالعمر على ارجاع او الحد من التغيير في المعايير التي تعتبر مؤشرات للتقدم بالعمر إلى مستواها الفسلجي الطبيعي. وتحرت الدراسة الحالية عن دور حامض الفا- ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول-كارنتين كمضادات اكسدة ومضادات للشيخوخة في الجرذان مستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز وجرذان الشيخوخة الطبيعية، اشتملت الدراسة الحالية على ثمان واربعين ذكر من الجرذان البيض البالغة بعمر اربعة أشهر بمعدل وزن 250 غم، واربعة وعشرون ذكر مسن بعمر اثني عشر شهراً بمعدل وزن 450 غم. تم دراسة بعض المؤشرات الحيوية للالتهاب متمثلة بعامل النخر الورمي- الفا والتعبير لبروتين الانترلوكين-6 بوساطة الاصطباغ المناعي، فضلا عن بعض المؤشرات الجينية متمثلة بالتعبير الجيني لجين P53 و التغييرات النسجية في الدماغ الناتجة عن الضرر التأكسدي للخلايا في جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية. قسمت الدراسة الحالية الى تجربتين، التجربة الاولى استخدمت فيها الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز، والتجربة الثانية استخدمت فيها جرذان الشيخوخة الطبيعية . في التجربة الاولى قسمت الجرذان البالغة بعمر اربعة اشهر الى ثمان مجاميع بواقع 6 جرذان لكل مجموعة. عوملت المجاميع كالتالي: المجموعة الاولى بالماء المقطر (السيطرة)عن الطريق الفم والحقن تحت الجلد، الثانية بسكر الكالاكتوز 300 ملغم/كغم من وزن الجسم تحت الجلد واعتبرت مجموعة الشيخوخة المستحدثة، عوملت المجموعة الثالثة بحامض الفا- ليبويك 100 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم، و الرابعة بهرمون الميلاتونين 10ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم، الخامسة ب ل- كارنتين 100ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم، السادسة بسكر الكالاكتوز حامض الفا -ليبويك، السابعة بسكر الكالاكتوز وهرمون الميلاتونين، الثامنة بسكر الكالاكتوز ول – كارنتين لمدة 15 اسبوعا. في التجربة الثانية عوملت الاربع مجاميع للشيخوخة الطبيعية كالتالي المجموعة الاولى بالماء المقطر واعتبرت مجموعة سيطرة عن طريق الفم، الثانية بحامض الفا- ليبويك 100 ملغم/ كغم من وزن الجسم

عن طريق الفم، المجموعة الثالثة بهرمون الميلاتونين 10 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم، الرابعة ب ل- كارنتين 100ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم ولمدة 15 اسبوعا.تم اجراء اختبار متاهة موريس المائية لاختبار قابلية الذاكرة والتعلم لجرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية وبواقع ثلاث فترات ضمن فترة التجربة حدد من خلالها الوقت اللازم للسباحة وعدد مرات الدوران والوقت اللازم للوصول الى الهدف. بعد خمسة عشر اسبوعاً من المعاملة اليومية، جمعت عينات الدم و حفظ المصل بدرجة (20-) درجة مئوية لغرض اجراء الفحوصات. اخذت نماذج من الدماغ واجري التقطيع النسجي لمعرفة التغييرات النسجية المصاحبة لعملية التقدم بالعمر. كما اخذت قطع صغيرة من الطحال وزنت ووضعت بالنتروجين السائل ومن ثم حفظت بدرجة (80-) درجة مئوية لتحديد التعبير الجيني لجين P53. أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في معدل وزن الجسم والدماغ وارتفاعا معنويا في مستوى نواتج عملية التسكر المتقدم Advanced oxidation protein products (AOPP)، المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربيتوريك Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ونواتج عملية التسكر Advanced glycation end products (AGEs) وانخفاضا معنويا في مستوى الكلوتاثيون Glutathion (GSH). أدت معاملة مجموعة الشيخوخة المستحدثة و الطبيعية بحامض الفا- ليبويك Alpha-lipoic acid، هرمون الميلاتونين Melatonin و ل- كارنتين L-carnitine الى الانخفاض المعنوي في مستوى AOPP وTBARS و AGEs والارتفاع المعنوي في مستوى الكلوتاثيون في الدم. سببت الشيخوخة المستحدثة والطبيعية ارتفاعا معنويا في مستوى معامل النخر الورمي – الفا Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) واوكسيد النتريك Nitric oxide (NO)، مع انخفاضهما عند المعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول- كارنتين في كلتا المجموعتين. كذلك فقد اظهرت الدراسة انخفاضاً معنوياً في مستوى انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز Superoxide dismuatase (SOD) والنيروكلوبين (NGB) في الدم. وسببت المعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول- كارنتين ارتفاعا معنويا في مستوىSOD وNGB. فضلا عن ذلك فقد اظهرت ارتفاعا معنويا في الوقت اللازم للسباحة و عدد مرات الدوران والوقت اللازم للوصول الى الهدف في إختبار متاهة موريس المائية. في حين ادت المعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول- كارنتين انخفاضاً معنوياً في الوقت

اللازم للسباحة وعدد مرات الدوران والوقت اللازم للوصول الى الهدف خلال فترة التجربة رافقها تغييرات نسجية في منطقتي قرن امون Hippocampus وقشرة المخ Cortex في نسيج دماغ جرذان الشيخوخة المستحدثة والطبيعية وقللت المعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين من ظهور هذه التغييرات. أدت الشيخوخة المستحدثة والطبيعية الى الارتفاع المعنوي في تعبير بروتين الانترلوكين–6 Interlukin-6 المقدر في نسيج الدماغ في منطقتي قرن أمون وقشرة المخ بطريقة الاصطباغ المناعي، وخفضت المعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين معنوياً في تعبير بروتين الانترلوكين–6. وقد انخفض معنويا مستوى التعبير الجيني لجينP53 المقدر في الطحال بطريقة (RT-PCR) Real time polymerase chain reaction في جرذان الشيخوخة المستحدثة والطبيعية، فيما سببت المعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين الى ارتفاع التعبير الجيني لجين P53 في الطحال معنويا. نستنتج من هذه الدراسة ان الشيخوخة تعمل عل حث الاضرار التأكسدية والمؤشرات الحيوية لحدوث الاجهاد التأكسدي بشكل معنوي في الجرذان، فضلا عن ان للشيخوخة تأثير جيني من خلال التأثير على جين P53. ان المعاملة بسكر الكالاكتوز قد ادت الى تسريع حدوث عملية التقدم بالعمر من خلال الانتاج العالي لل AGEs وبالتالي حدوث الاذى للجزيئات الخلوية واكسدة جزيئات البروتين والدهن. وان المعاملة بحامض الفا– ليبويك، هرمون الميلاتونين ول – كارنتين بوصفها مضادات اكسدة ومضادات لعملية التقدم بالعمر قد خفضت من مؤشرات الاجهاد التأكسدي و قللت الاثار المرافقة لعملية التقدم بالعمرفي الجرذان المستحدثة فيها التقدم بالعمر تجريبيا باستخدام الكالاكتوز .

ثبت المحتويات

رقم الفقرة	العنوان	الصفحة
	الفصل الاول: المقدمة	4-1
	الفصل الثاني: استعراض المراجع	41-5
1.2	التقدم بالعمر.	**5**
2.2	نظريات التقدم بالعمر.	**5**
1.2.2	النظرية العشوائية .	**5**
2.2.2	النظرية المبرمجة .	**6**
3.2.2	النظرية العصبية الصماوية.	**7**
4.2.2	النظرية المناعية .	**7**
5.2.2	نظرية الغشاء الخلوي .	**8**
6.2.2	نظرية العالم هاي فليك.	**8**
7.2.2	نظرية تدهور المتقدرات.	**9**
8.2.2	نظرية الارتباط العرضي .	**9**
9.2.2	نظرية الجذور الحرة .	**10**
3.2	الجذور الحرة.	**11**
4.2	اصناف الاوكسجين الفعالة (ROS).	**12**
5.2	اصناف النتروجين الفعالة (RNS) .	**12**
6.2	نشأة الجذور الحرة في الجسم.	**12**
7.2	المتقدرات.	**13**
8.2	الاجهاد التأكسدي .	**13**
1.8.2	التأثيرات البيولوجية للكرب التأكسدي.	**14**
2.8.2	الاجهاد التأكسدي وعلاقته بالتقدم بالعمر.	**15**
3.8.2	تأثير الاجهاد التأكسدي على الجهاز العصبي.	**15**
9.2	اهداف الجذور الحرة.	**16**
1.9.2	الدهون.	**16**
2.9.2	البروتينات.	**17**

3.9.2	جزيئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين .	**18**
10.2	شيخوخة الخلية.	**19**
11.2	حث مسار ال P53 .	**21**
12.2	استحداث الشيخوخة باستخدام سكر دي–كالكتوز.	**23**
1.12.2	سكر الكالاكتوز.	**23**
2.12.2	ايض سكر الكالاكتوز في الجسم .	**24**
3.12.2	سكر الكالاكتوز والاجهاد التأكسدي للدماغ.	**24**
13.2	دور عملية التسكر في التقدم بالعمر.	**25**
14.2	النواتج المتقدمة للبروتين المتأكسد.	**26**
15.2	مضادات الاكسدة .	**26**
1.15.2	حامض الفا –ليبويك.	**26**
2.15.2	الميلاتونين .	**28**
1.2.15.2	الميلاتونين بوصفه مضاداً للأكسدة .	**30**
2.2.15.2	الميلاتونين وعلاقته بالتقدم بالعمر.	**31**
3.15.2	ل–كارنتين.	**31**
16.2	الكلوتاثيون.	**33**
17.2	اوكسيد النتريك.	**35**
18.2	النيوروكلوبين.	**37**
19.2	انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز.	**38**
20.2	الدور الالتهابي في عملية التقدم بالعمر.	**39**
	الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل	**70-42**
1.3	الاجهزة والعدد المستخدمة في التجربة.	**42**
2.3	الحيوانات .	**44**
3.3	تصميم التجربة والطرائق الخاصة بإجرائها.	**44**
1.3.3	مجاميع التجربة.	**44**
1.1.3.3	الفئة الاولى (عمر 20 اسبوعاً).	**44**
2.1.3.3	الفئة الثانية (عمر 96 اسبوعاً).	**45**
4.3	جمع عينات الدم.	**46**
5.3	متاهة موريس المائية.	**46**

6.3	جمع العينات.	**47**
1.6.3	محلول دارئ الفورمالين المتعادل .	**48**
7.3	تحضير الشرائح النسجية.	**48**
1.7.3	الغسل .	**48**
2.7.3	الانكاز.	**48**
3.7.3	الترويق.	**48**
4.7.3	التشريب والطمر.	**48**
5.7.3	التشذيب و التقطيع.	**49**
6.7.3	الصبغ .	**49**
8.3	تقدير مستوى نواتج البروتين المؤكسد المتقدم في مصل الدم.	**49**
9.3	تقدير مستوى المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربيتيوريك في مصل الدم.	**51**
10.3	تقدير مستوى الكلوتاثيون في مصل الدم.	**52**
11.3	تقدير مستوى نواتج عملية التسكر المتقدمAGEs، معامل النخر الورمي –الفا، النيوروكلوبين، السوبر اوكسيد دسميوتيز بطريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيمELISA .	**53**
12.3	تقدير تركيز اوكسيد النتريك في الدم بطريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم ELISA.	**55**
13.3	الكشف عن تموضع بروتين IL-6 بطريقة الاصطباغ المناعي	**57**
14.3	عزل mRNA من خلايا الطحال باستعمال تقنية Magnasphere Nanotechnology.	**60**
15.3	خطوات عزل الحامض النووي الرايبوزي الرسول.	**62**
1.15.3	تصلب المجس.	**62**
2.15.3	غسل انابيب Washing Streptavidin SA-PMPS Paramagnetic Particles (SA-PMPS).	**62**
3.15.3	Capture and Washing.	**62**
4.15.3	شطف الحامض النووي الرايبوزي الرسول .	**63**
16.3	البادئات.	**64**
17.3	خطوات تخليق متمم الدنا.	**64**

18.3	الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز.	**66**
19.3	عملية الترحيل.	**67**
20.3	الاجهزة المستخدمة في التفاعل.	**68**
21.3	تفاعل البوليميراز المتسلسل اللحظي (RT-PCR).	**69**
22.3	التحليل الاحصائي.	**70**
	الفصل الرابع: النتائج	**137-71**
1.1.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين في معدل وزن الجسم (غم).	**72**
2.1.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في معدل وزن الجسم (غم) .	**74**
1.2.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل– كارنتين في معدل اوزان الاعضاء الداخلية.	**75**
2.2.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين في معدل اوزان الاعضاء الداخلية.	**77**
1.3.4	تأثير معاملة الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين في مستوى نواتج الاكسدة المتقدمة للبروتين في مصل الدم.	**78**
1.4.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ،حامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين في مستوى المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربيتيوريك في مصل الدم.	**79**
1.5.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى الكلوتاثيون في مصل الدم.	**79**
2.3.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك ، وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى نواتج الاكسدة	**81**

	المتقدمة للبروتين في مصل الدم.	
2.4.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين في مستوى المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربيتيورك في مصل الدم.	**81**
2.5.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى الكلوتاثيون في مصل الدم .	**81**
1.6.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى نواتج عملية التسكر المتقدم في مصل الدم.	**82**
2.6.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى نواتج عملية التسكر المتقدم في مصل الدم.	**84**
1.7.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى عامل النخر الورمي في مصل الدم .	**85**
2.7.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى عامل النخر الورمي – الفا في مصل الدم .	**86**
1.8.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز في مصل الدم.	**87**
2.8.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز في مصل الدم .	**89**
1.9.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى النيوروكلوبين في مصل الدم .	**90**
2.9.4	تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك	**91**

	،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى النيوروكلوبين في مصل الدم .	
1.10.4	تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ، حامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى اوكسيد النتريك في مصل الدم.	**92**
2.10.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى اوكسيد النتريك في مصل الدم.	**93**
.1.1.11.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الوقت اللازم للسباحة (ثانية) في اختبار المتاهة المائية.	**94**
2.1.11.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على الوقت اللازم للسباحة (ثانية) في اختبار المتاهة المائية.	**96**
1.2.11.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في عدد مرات الدوران في اختبار المتاهة المائية.	**97**
2.2.11.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في عدد مرات الدوران في اختبار المتاهة المائية.	**100**
1.3.11.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الوقت اللازم للوصول الى الهدف (ثانية) في اختبار المتاهة المائية.	**101**
2.3.11.4	تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الوقت اللازم للوصول الى الهدف (ثانية) في اختبار المتاهة المائية.	**104**
1.12.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين على تغييرات الدماغ النسجية.	**105**

2.12.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على تغييرات الدماغ النسجية.	**115**
1.13.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على تركيز بروتين الانترلوكين–6 في الدماغ بالاصطباغ المناعية.	**121**
2.13.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على تركيز بروتين الانترلوكين–6 في الدماغ بالاصطباغ المناعية.	**128**
1.14.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على الدراسة الجزيئية المتمثلة بالتعبير الجيني لجين P53.	**131**
2.14.4	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على الدراسة الجزيئية المتمثلة بالتعبير الجيني لجين P53.	**133**
1.15.4	مدى الارتباط بين التعبير الجيني لP53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين –6 لتجربة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بسكر الكالاكتوز وحامض الفا –ليبويك ، هرمون الميلاتونين و ل– كارنتين .	**134**
2.15.4	مدى الارتباط بين التعبير الجيني لP53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين–6 لتجربة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل– كارنتين.	**136**
	الفصل الخامس :المناقشة	**174-138**
1-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين في وزن الجسم .	**138**
2-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في وزن الاعضاء الداخلية .	**140**
3-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة	**140**

	الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى AOPP.	
4-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى TBARS .	**141**
5-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى GSH .	**143**
6-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى AGEs.	**145**
7-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى انزيم SOD.	**147**
8-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى TNF-α .	**149**
9-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى NGb .	**152**
10-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى NO .	**153**
11-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى التعلم والذاكرة.	**157**
12-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في التغييرات النسجية لمنطقة قشرة المخ وقرن	**163**

	امون في الدماغ .	
13-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى الانترلوكين –6 المقدر في الدماغ.	**167**
14-5	تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في التعبير الجيني لجين P53 في الطحال.	**171**
الاستنتاجات		**175**
التوصيات		**176**
المصادر الاجنبية		**177-229**

الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
الجدول (1)	تأثير معاملة الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على معدل وزن الجسم (غم).	73
الجدول (2)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على معدل وزن الجسم (غم).	74
الجدول (3)	تأثير معاملة الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ،حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في معدل وزن الاعضاء الداخلية النسبي (ملغم/100 غم) من وزن الجسم .	76
الجدول (4)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على معدل وزن الاعضاء الداخلية النسبي (ملغم/100غم) من وزن الجسم.	78
الجدول (5)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى AOPP و TBARS و GSH.	80
الجدول (6)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى AOPP و TBARS و GSH.	82
الجدول (7)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الوقت اللازم للسباحة / ثانية في اختبار المتاهة المائية.	95
الجدول (8)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على الوقت اللازم للسباحة / ثانية في اختبار المتاهة المائية.	97
الجدول (9)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في عدد مرات الدوران في اختبار المتاهة المائية.	99

الجدول (10)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في عدد مرات الدوران في اختبار المتاهة المائية.	101
الجدول (11)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الوقت اللازم للوصول الى الهدف /ثانية في اختبار المتاهة المائية.	103
الجدول (12)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الوقت اللازم للوصول الى الهدف /ثانية في اختبار المتاهة المائية .	105
الجدول (13)	الارتباط بين التعبير الجيني ل P53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين – 6 لتجربة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل– كارنتين .	136
الجدول (14)	الارتباط بين التعبير الجيني ل P53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين – 6 لتجربة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل– كارنتين.	137

الاشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
الشكل (1)	التركيب الكيميائي لأيون الجذر الحر.	11
الشكل (2)	تأثير الجذور الحرة وتكوينها الشيخوخة الخلوية والتقدم بالعمر.	21
الشكل (3)	المسار الجزيئي الذي يتحكم في توقف النمو أثناء الشيخوخة.	22
الشكل (4)	التركيب الكيميائي لسكر الكالاكتوز.	23
الشكل (5)	التركيب الكيميائي لحامض الفا- ليبويك.	27
الشكل (6)	التركيب الكيميائي لهرمون الميلاتونين.	28
الشكل (7)	الميكانيكيات الكامنة للتقدم بالعمر والمسببة للاختلال العصبي.	36
الشكل (8)	A- رسم تخطيطي لاختبار المتاهة المائية لموريس للفئران والجرذان B- تصنيع محلي لمتاهة موريس المائية حسب الابعاد في الرسم التخطيطي A .	47
الشكل(9)	تقنية عزل الحامض النووي الرايبوزي-الرسول من عينة الطحال.	61
الشكل(10)	طريقة عزل الحامض النووي الرايبوزي – الرسول من عينة الطحال.	62
الشكل(11)	مخطط لطريقة الكشف عن جين P53 لمتمم DNA في عينات الطحال.	68
الشكل(12)	المنحنى القياسي لعينة البيتا اكتين واختيار افضل تعبير لمقارنتها مع الـ p53.	70
الشكل(13)	التعبير الجيني للبيتا اكتين RT-PCR لأربعة تراكيز مختلفة واختيار التركيز $10^{2.2}$ كأفضل تركيز.	70
الشكل(14)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض-الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ،ل-كارنتين في مستوى نواتج عملية التسكر المتقدمAGEs في مصل الدم .	83
الشكل(15)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض-الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين، ل-كارنتين في مستوى نواتج عملية التسكر المتقدم AGEs في مصل الدم.	84

الشكل (16)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى عامل النخر الورمي–الفا TNF- α في مصل الدم .	86
الشكل (17)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى عامل النخر الورمي–الفا TNF- α في مصل الدم .	87
الشكل (18)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز SOD في مصل الدم.	88
الشكل (19)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز SOD في مصل الدم .	89
الشكل (20)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى النيوروكلوبين NGB في مصل الدم .	91
الشكل (21)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين، ل–كارنتين في مستوى النيوروكلوبين NGB في مصل الدم .	91
الشكل (22)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى اوكسيد النتريك (NO) مصل الدم .	92
الشكل (23)	تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى اوكسيد النتريك (NO) في مصل الدم.	93
الشكل (24)	مقطع نسجي لمنطقة قشرة الدماغ لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة المستحدثة).	106
الشكل (25)	مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة المستحدثة).	106
الشكل (26)	مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة المعاملة بحامض الفا	107

	ليبويك لوحده (تجربة الشيخوخة المستحدثة).	
الشكل (27)	مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة المعاملة يهرمون الميلاتونين لوحده (تجربة الشيخوخة المستحدثة).	107
الشكل (28)	مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة لمجموعة المعاملة ب ل–كارنتين لوحده (تجربة الشيخوخة المستحدثة).	108
الشكل (29)	مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز.	109
الشكل (30)	مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز.	109
الشكل (31)	مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز.	110
الشكل (32)	مقطع نسجي لمنطقة اللب الابيض لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز.	110
الشكل (33)	مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز.	111
الشكل (34)	مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز.	111
الشكل (35)	مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز.	112
الشكل (36)	مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالكتوز والمعاملة بحامض الفا– ليبويك	113
الشكل (37)	مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالكتوز والمعاملة بحامض الفا– ليبويك	113
الشكل (38)	مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالكتوز والمعاملة بهرمون الميلاتونين.	114
الشكل (39)	مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالكتوز والمعاملة ب ل –كارنتين.	115
الشكل (40)	مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة الشيخوخة المستحدثة	115

	المعاملة بسكر الكالاكتوز والمعاملة ب ل– كارنتين.	
الشكل (41)	مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية).	116
الشكل (42)	مقطع نسجي لمنطقة القشرة لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية).	117
الشكل (43)	مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية).	117
الشكل (44)	مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية).	118
الشكل (45)	مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية).	118
الشكل (46)	مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا–ليبويك.	119
الشكل (47)	مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين.	120
الشكل (48)	مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل –كارنتين.	120
الشكل (49)	مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل –كارنتين.	121
الشكل (50)	منطقة قشرة المخ لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة المستحدثة) وتعبيرها للانترلوكين–6.	122
الشكل (51)	منطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة المستحدثة) وتعبيرها للانترلوكين–6.	122
الشكل (52)	منطقة قشرة المخ /سيطرة سالبة (x10) .	123
الشكل (53)	منطقة قرن امون/سيطرة سالبة (x10) .	123
الشكل (54)	منطقة قشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز وظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين –6 بشكل كبير من خلال ظهور الاصطباغ الشديد (اللون البني).	124
الشكل (55)	منطقة قرن امون لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر	124

	الكالاكتوز وظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل كبير من خلال ظهور الاصطباغ الشديد (اللون البني).	
الشكل (56)	منطقة قشرة المخ **A** منطقة قرن امون **B** لمجموعة المعاملة بحامض الفا–ليبويك (تجربة الشيخوخة المستحدثة) ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين-6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ الخفيف (اللون البني) .	125
الشكل (57)	منطقة قشرة المخ **A** منطقة قرن امون **B** لمجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين (تجربة الشيخوخة المستحدثة) لوحده ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين –6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ الخفيف (اللون البني) .	125
الشكل (58)	منطقة قشرة المخ**A** منطقة قرن امون **B** لمجموعة المعاملة ب ل– كارنتين (تجربة الشيخوخة المستحدثة) لوحده ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ الخفيف (اللون البني).	126
الشكل (59)	منطقة قشرة المخ**A** منطقة قرن امون **B** لمجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بحامض الفا–ليبويك ظهور الخلايا العصبية وتعبيرها للانترلوكين–6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ المتوسط (اللون البني).	126
الشكل (60)	منطقة قشرة المخ**A** منطقة قرن امون **B** لمجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة ب ل –كارنتين ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين –6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ المتوسط (اللون البني).	127
الشكل (61)	منطقة قشرة المخ**A** منطقة قرن امون **B** لمجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بهرمون الميلاتونين ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين –6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ المتوسط (اللون البني).	127
الشكل (62)	منطقة قشرة المخ لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية) ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين –6 بشكل كبير من خلال ظهور الاصطباغ الشديد (اللون البني).	128

الشكل (63)	منطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية) ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين –6 بشكل كبير من خلال ظهور الاصطباغ الشديد (اللون البني).	129
الشكل (64)	منطقة قشرة المخ **A** قرن امون**B** لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا–ليبويك ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين–6 بشكل متوسط من خلال ظهورالاصطباغ القليل (اللون البني).	130
الشكل (65)	منطقة قشرة المخ **A** قرن امون **B** لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين –6 بشكل متوسط من خلال ظهور الاصطباغ القليل (اللون البني).	130
الشكل (66)	منطقة قشرة المخ **A** قرن امون **B** لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل– كارنتين ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين–6 بشكل متوسط من خلال ظهور الاصطباغ القليل (اللون البني).	131
الشكل (67)	A -استخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل/ الوقت الحقيقي (RT-PCR) لقياس التعبير الجيني لجين P53. B- شكل يمثل نتائج التعبير الجيني لجين P53 لمجموعة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين، ل–كارنتين.	133
الشكل (68)	A -استخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل/ الوقت الحقيقي (RT-PCR) لقياس التعبير الجيني لجين P53. B- شكل يمثل نتائج التعبير الجيني لجين P53 لمجموعة جرذان الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين، ل– كارنتين.	134

قائمة المصطلحات

اجهاد ازموزي	Osmotic stress
اجهاد خلوي	Cellular stress
الاداء	Performance
الارق	Insomnia
اشارات غازية	Gaseous signaling
انخفاض القدرة على الحركة والادراك	Cognitive and motor degeneration
استحداث تجريبي للتقدم بالعمر	Mimetic aging model
العوامل المهيئة للالتهابات غير المرضية	Non-pathological proinflammatory
الاتزان البدني	Homeostasis
انزيم الكالكتوز ريدكتيز	Galactose reductase
الانسجة الدهنية الدهنية البنية	Brown adipose tissue
المايوكلوبين	Myoglobin
التلافيف المسننة	Dentate gyrus
بيروكسدة الدهن	Lipid peroxidation
تصلب الشرايين	Atherosclerosis
مسار الالتهاب	Inflammatory pathway
تنظيم مناعي	Immune regulation
تنكسات عصبية	Neurodegeneration
خزعة نسيج الدماغ	Brain tissue biopsies
الاحماض الدهنية غير المشبعة الاحماض الدهنية غير المشبعة	Poly unsaturated fatty acid
الخلايا اللمفاوية نوع–T	T-Lymphocytes
الخلايا القاتلة الطبيعية	Natural killer cell
داء السكر	Diabetes Mellitus
جهاز الاصلاح الخلوي	Cellular repair system
دورة النوم والاستيقاظ	Sleep-weak cycle
رسول ثانوي	Second messenger
سايتوبلازم	Cytosol

Electron transport chain	سلسلة نقل الالكترونات
Portal circulation	الدورة البابية الكبدية
Cellular Toxin	السم الخلوي
Replicative senescence's	شيخوخة الخلايا النسخي
Pineal gland	الغدة الصنوبرية
Oxidative phosphorylation	الفسفرة التأكسدية
Cellular senescence's	شيخوخة الخلايا
Hippocampus	قرن امون
Malondialdehyde	المالونداياالديهايد
Alzheimer's disease	مرض الزهايمر
Coenzyme-A	المساعد الانزيمي-A
Cytokine antagonist	مضاد السايتوكاين
Hypoxia	نقص الاوكسجين
Ischemia	نقص التروية
Cerebro spinal fluid	السائل المخي الشوكي
Reductants	المواد المختزلة
Oxidants	المواد المؤكسدة
Apoptosis	موت الخلايا المبرمج
Circadian rhythm	النسق اليومي
Neuroprotective	حماية عصبية
Blood and brain permeability	نفاذية الحاجز الدموي الدماغي
Ion gradients	التدرج الايوني
Neurotransmission	نقل عصبي
Hemoglobin	هيموكلوبين
Tissue repair	اصلاح الانسجة
Alertness	اليقظة
Brain trauma	كلم الدماغ
Synaptic plasticity	مطاوعة الاشتباك العصبي

قائمة المختصرات

الانترلوكين –6	IL-6
الحامض النووي منقوص الاوكسجين	DNA
الحاجز الدماغي الدموي	BBB
جزيئة الادينوسين ثلاثي الفوسفات	ATP
جزيئة الاوكسجين الفعالة	ROS
جزيئة النتروجين الفعالة	RNS
مستقبلات نواتج عملية التسكر المتقدم	AGER
سلسلة نقل الالكترونات	ETC
حامض الفا– ليبويك	ALA
ل–كارنتين	LC
الميلاتونين	MEL
الكالالكتوز	GAL
نواقل عضوية موجبة الشحنة	OTCs
الكلوتاثيون المؤكسد	GSSG
المالونداياالديهايد	MDA
النيوروكلوبين	NGB
السائل المخي الشوكي	CSF
انزيم اوكسيد النتريك سينثيز المستحث	iNOs
انزيم اوكسيد النتريك سينثيز للاوعية الدموية	eNOs
انزيم اوكسيد النتريك سينثيز العصبي	nNOs
انزيم المحفز لبروتين المايتوجين كاينيز	MARK
العامل النووي المعزز لسلسلة كابا الخفيفة في الخلايا البائية النشطة	$NF\text{-}_KB$
الكلوتاثيون	GSH
نواتج البروتين المؤكسد المتقدم	AOPP
المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربيتوريك	TBARS
نواتج عملية التسكر المتقدم	AGEs
معامل التنخر الورمي–الفا	TNF-α

انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز	SOD
اوكسيد النتريك	NO

الفصل الاول

1-1 المقدمةIntroduction

ان عملية التقدم بالعمر ظاهرة طبيعية تؤدي الى التلف المتدرج والتصاعدي في الانسجة ومن ثم الاعضاء (Mohammadirad *et al*.,2013). تتصف عملية التقدم بالعمر بانها عملية تعمل على انخفاض في الوظائف الحيوية وتقليل قابلية الجسم في الحفاظ على الاتزان البدني يصاحبها العديد من التغييرات الفسلجية والمرضية ومن ضمنها تكوين نواتج عملية التسكر المتقدم (AGEs) وتكوين الجذور الحرة التي تؤدي الى حدوث عرقلة الوظائف الحيوية للأعضاء وزيادة قابلية الجسم لحدوث الامراض (Nanad *et al*.,2010 ; Dammann *et al*.,2012 ;Rolewska, *et al*.,2012). ترتبط عملية التقدم بالعمر (الشيخوخة) بشكل رئيسي مع الاخلال الوظيفي للنظام الدفاعي ونظام مضادات الاكسدة ، انخفاض القدرة على الحركة و الادراك Cognitive and motor degeneration (Parameshwaran *et al*.,2010). ان فقدان التوازن بين ما ينتج من الجذور الحرة وقابلية الجسم ومضادات الاكسدة للتخلص من تأثيراتها في المكونات الخلوية المهمة ومنها الدهون، البروتينات وشريط الحامض النووي منقوص الاوكسجين Deoxy ribonucleic acid (DNA) يؤدي الى حدوث شيخوخة الخلايا (Chen *et al*.,2016). ان حدوث الشيخوخة بصورة طبيعية هي عمليات لا مفر منها وتستمر من خلال الانخفاض في الوظائف الفسلجية لأجهزة الجسم المختلفة، وقد وضعت عدة نظريات لتفسير ظاهرة التقدم بالعمر (الشيخوخة) استندت الى العوامل الداخلية (الجينية) والخارجية (البيئية) المرتبطة بالتغيير في التركيب والتحطم الخلوي ومنها نظرية التحطم الجيني العشوائي، حيث ان التحطم او التغيير في المادة الجينية بواسطة المطفرات وما يحصل عند التقدم بالعمر من الفشل او انخفاض القدرة على تصليح هذا التحطم في المادة الوراثية. والنظرية الاكثر قبولا والتي لاقت الاستحسان الواسع من قبل الباحثين هي نظرية التحطم بالجذور الحرة، حيث نصت هذه النظرية على ان التقدم بالعمر يكون بسبب تولد الجذور الحرة وتجمعها مما يؤدي الى تفاعلها مع الجزيئات الحيوية مثل البروتينات والدهون في الاغشية الدهنية وهي المسؤولة عن التلف الوظيفي التدريجي المتعلق بالشيخوخة (Momtaz and Abdollahi,2012).

يستخدم سكر الكالاكتوز D-galactose (سكر احادي) لاستحداث الاجهاد التأكسدي في داخل الجسم حيث يستخدم لاستحداث موديل الشيخوخة (Lu *et al*.,2010a ;Chen *et al*.,2010a). وسكر الكالاكتوز من المركبات الطبيعية الموجودة في الجسم ويهضم بشكل كامل عند وجوده بتراكيز طبيعية(Shahroudi *et al*.,2017) ، ويؤدي وجوده بتراكيز عالية الى تحوله الى مركب الدوز aldose وبيروكسيد الهيدروجين بوساطة انزيم الكالاكتوز اوكسيديز ويؤدي تجمعه بكميات عالية الى توليد الجذور الحرة والتي تعمل على عرقلة الوظائف الحيوية للخلية (Chen *et al*.,2017). ولهذا فان سكر الكالاكتوز يعمل على احداث تغييرات كالتغييرات المصاحبة للتقدم بالعمر مثل التغييرات في فسلجة الجسم، الاخلال في الادراك، زيادة الاجهاد التأكسدي وقلة في فعالية مضادات الاكسدة فضلا عن انخفاض الاستجابة المناعية والاخلال في وظيفة المتقدرات (Jeremy *et al*.,2017). ويسبب زيادة مستوى سكر الكالاكتوز التسمم العصبي وعرقلة في الذاكرة والتعلم من خلال النواتج الايضية لهضم سكر الكالاكتوز حيث ينتج الكالكتيتولgalactitol في الخلية ويعمل على انتاج الجذور الحرة (Gill *et al*.,2010 ; Ruan *et al*.,2013). كذلك فان سكر الكالاكتوز يتفاعل مع مجاميع الامين للاحماض الامينية في البروتينات والببتيدات ليكون النواتج النهائية لعملية التسكر Advanced glycation end producrs (AGEs) (Song *et al*.,1999) وبدوره يعمل على تنشيط المستقبلات الخاصة ب AGEs مؤديا الى حدوث الالتهاب (Chen *et al*.,2010b). لهذا ولفهم ميكانيكية حدوث عملية التقدم بالعمر ولاختبار بعض المواد لإبطاء او تأخير مضاداً للتقليل من عملية التقدم بالعمر هو الاعطاء المزمن لسكر الكالاكتوز والذي يستخدم بشكل واسع لاستحداث حالة التقدم بالعمر(الشيخوخة) (Sun *et al*.,2007).

حامض الفا–ليبويك (حامض الاوكتانك Octanic compound) وهو حامض دهني قصير السلسلة يحوي على مجموعة ثنائية الكبريت (Shay *et al*.,2009). ان من اهم مميزاته كونه من المركبات التي لها القابلية للذوبان في الماء والدهون ولهذا فان له القابلية للانتشار بشكل سهل عبر الخلايا من ضمنها الجهاز العصبي (Lee *et al*.,2009). فضلا عن قابليته للعبور من خلال الحاجز الدماغي الدموي Blood brain barrier (BBB)(Moini *et al*.,2002). وهو كاسح للجذور الحرة ومضاد للأكسدة فعال(Shay *et al*.,2009). ايضا له دور مهم في

العمل بوصفه مضاداً للأكسدة في الدماغ بسبب قابليته الحيوية المضادة للاكسدة (Ersahin *et al*.,2010). فضلا عن دوره بوصفه مضاداً للالتهاب وتقليل التنكسات العصبية في الجهاز العصبي و توفيره حماية للخلايا العصبية خصوصا في الامراض العصبية مثل مرض الزهايمر (Kadir *et al*.,2014).

هرمون الميلاتونين (N-acetyl-5-methoxytryptamine) هرمون تنتجه الغدة الصنوبرية Pineal gland وله العديد من الوظائف(Shen *et al* .,2002) أهمها انه يلعب دوراً مهماً في السيطرة على النسق اليومي للكائن الحي، فضلا عن ذلك فانه يلعب دورا بصورة مباشرة او بصورة غير مباشرة بوصفه منظماً وكاسحاً للجذور الحرة في الجسم، مضادا للأكسدة فعال، مضادا لظاهرة الموت المبرمج للخلايا ومضادا للالتهاب (Hardeland, 2013). كذلك يعمل على تعديل وظائف الجهاز المناعي و يعد من المركبات التي لها القابلية على الحماية العصبية وفعالية مضادة للشيخوخة (Spuch *et al*.,2010). كذلك فانه يعمل على التخفيف من ضعف الذاكرة التي تفقد بسبب التقدم بالعمر (Mukda *et al*.,2016).

ل- كارنتين عبارة عن مادة طبيعية تشبه الفيتامينات (Woodworth *et al*.,2004). توجد في الغذاء فضلا عن تصنيعها داخل الجسم من الاحماض الامينية اللايسين والميثيونين(Rajasekar *et al*.,2005). كما انه يلعب دوراً رئيسياً في ايض السكريات ويعمل على زيادة استهلاك الطاقة (Wall *et al*.,2011;Kim *et al*.,2015). للكارنتين دور اساسي في هضم الدهون حيث ينقل الاحماض الدهنية طويلة السلسلة خلال الاغشية الداخلية للمتقدرات كاسترات الاسايل كارنتين ويعمل بمثابة عامل مساعد اساسي لعملية اكسدة بيتا (Torgerson *et al*.,2004). وهو من المواد التي لها صفات مضادة للاكسدة (Izgut–Uysal *et al*.,2001).

2-1 أهداف البحث والفرضية المتعلقة به: Aims and hypothesis of reserach.

التعرف على ما يرافق الشيخوخة (التقدم بالعمر) كعملية فسلجية من متغيرات في وظائف وفعاليات الجسم الفسلجية من خلال استحداث تجريبي للتقدم بالعمر باستخدام الجرذان كموديل للبائن فضلا عن التحري عن دور حامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الحد او تأخير حالة التقدم بالعمر ولتحقيق هذه الاهداف تم دراسة ما يلي:

1. التعرف على دور الاجهاد التأكسدي من خلال دراسة التوازن بين مضادات الاكسدة.
2. الكشف عن حدوث القصور الادراكي لوظيفة الدماغ.
3. الكشف عن التعبير الجيني لجينP53 و علاقتها بتقدم العمر.
4. دراسة التغييرات النسجية المرضية الحاصلة في نسيج الدماغ.
5. العلاقة بين العوامل المهيئة للالتهابات غير المرضية non-pathological proinflammtory cytokines مثل الانترلوكين −6 مع التعبير الجيني لجين P53.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

1.2 التقدم بالعمر

يعرف على انه انخفاض متقدم ومتدرج progressive decline في الوظائف والفعاليات الحيوية للجسم بسبب خلل في الوظائف الطبيعية لخلايا الجسم او بسبب انتاج مجموعة من الخلايا الجديدة التي تستبدل مكان الخلايا الميتة او الخلايا الفاقدة للوظيفة (Pathath,2017). للتقدم بالعمر علاقة بانخفاض قابلية الجسم للمحافظة على الاتزان البدني (Vina *et al* ,2007).. ويرافق الانخفاض التدريجي في الوظيفة أو الاداء بسبب فشل خلايا الجسم بالعمل بشكل طبيعي بانخفاض قدرة كبار السن على تحمل درجات الحرارة المرتفعة او بشكل عام اي نوع من انواع الاجهاد فيحدث تدهور في قوة و مطاطية العضلات الهيكلية فضلا عن انخفاض في الترشيح الكبيبي للكلية وقلة التهوية الرئوية و كذلك انخفاض حساسية الجسم للكلوكوز خلال التقدم بالعمر (Vina *et al*.,2007). وايضا العجز الايضي و الصمي، فضلا عن نقص في العمليات الدفاعية للجسم مما يؤدي الى زيادة احتمالية الاصابة بالعديد من الامراض وبالتالي الموت (Lopez *et al*,2010). وتعد عملية التقدم بالعمر عمليات حيوية بطيئة التقدم خلال فترة الحياة والتي تتضمن فقدان تصاعدي للخلايا مرتبطة بتغييرات فسلجية ومرضية والتي تضم تكوين النواتج النهائية لعملية التسكر المتقدمة Advanced glycation end products (AGE) ، فضلا عن الاضرار الناتجة عن تكوين الجذور الحرة Free radicals(FR) (Dammann *et al*,2012; Rolewska *et al*,2012).

2.2 نظريات التقدم بالعمر

هناك عدة نظريات مقترحة لتفسير اسباب التقدم بالعمر ومنها :

1.2.2 النظرية العشوائية Stochastic theory

عرفت هذه النظرية ايضا بنظرية الاهتراء والتمزق Wear and Tear theory والتي تنص على ان من أهم أسباب التقدم بالعمر هو تجمع أضرار الاذى والتلف والفضلات التراكمية في الجسم

والناتجة من المصادر الداخلية والخارجية والتي لها تأثير على الوظائف الخلوية، وان هذه الاضرار لا يمكن اصلاحها بالكامل مع مرور الوقت وبالتالي تؤدي الى اظهار علامات التقدم بالعمر (Jin,2010). فمثلا التعرض للجرعات العالية من الادوية المختلفة والكحول وكذلك البيئات القاسية ستؤدي الى اظهار علامات التقدم بالسن وذلك بسبب عدم مقدرة الجسم على طرح او التخلص من فضلات النواتج الايضية لهذه المركبات وبالتالي حصول ارهاق او اجهاد للخلايا بهذه النواتج مما يؤثر سلبا عليها ويؤدي الى اظهار علامات لتقدم بالسن قبل أوانها premature signs of aging (Pathath,2017).

2.2.2 النظرية المبرمجة Programmed theory

تنص هذه النظرية على أن احد اسباب التقدم بالعمر يعود الى جينات معينة ،حيث ان كل كائن حي يملك ساعة بيولوجية تنظم عملية التقدم بالعمر، فقد وجد ان شريط الحامض النووي منقوص الاوكسجين (DNA) يحتوي في نهايته على تركيب معين يدعى القسيمات الطرفية للصبغياتToleomere (Gladwell,1996). والتي هي عبارة عن تراكيب معينة تغطي (تملئ) نهاية كروموسومات الخلايا حقيقية النواة Eukaryotic مهمتها المحافظة على طول الجينوم وكذلك منع التداخل فيما بينها end –to-end fusions (Murnane and Sabatier . 2004,. تستخدم خلايا معينة مثل خلية البيضة وخلية النطفة انزيم التلوميريز Telomerase للمحافظة على القسيمات الطرفية للصبغيات في نهاية الكروموسوم ولهذا فان هذه الخلايا تستطيع ان تستمر في الانقسام وبالتالي تحافظ على بقاء الانواع في حين تفتقد بقية الخلايا لهذه القابلية (Sohal *et al*,1990; Richter *et al*,1988). وفي كل مرة تنقسم الخلايا تصبح القسيمات الطرفية للصبغيات اقصر، وعندما يصل هذا الجزيء الى نقطة حرجة، حينها لن تتمكن الخلية من الانقسام وهذا بدوره قد يساهم في تفسير عملية التقدم بالعمر وتدعى هذه النظرية ايضا بنظرية قصر القسيمات الطرفية Telomeres shortening theory (Aubert and lansdorp ,2008; pathath, 2017). بينت الدراسات الحديثة حدوث قصر القسيمات الطرفية للصبغيات في الخلايا الجذعية العصبية للحصين (قرن امون) خلال التقدم بالعمر وايضا يعمل نقص انزيم التلوميريزعلى تقليل تكوين الخلايا العصبية Neurogenesis فضلا عن عرقلة التمايز العصبي Neuronal differentiation (Shigenaga *et al*,1994).

3.2.2 النظرية العصبية الصماوية Neuroendocrine Theory

توضح هذه النظرية نظرية الاهتراء والتمزق Wear and Tear theory من خلال التركيز على الجهاز العصبي الصمي، حيث يتكون هذا الجهاز من شبكة معقدة من المواد الكيميائية الحيوية التي تتحكم في افراز الهرمونات والتي يتم تغييرها بواسطة غدة تحت المهاد وظيفتها السيطرة على سلسلة التفاعلات التي من خلالها تسيطر على الاعضاء والغدد الاخرى لإفراز هرموناتها او لأغراض اخرى، فضلا عن ذلك تستجيب تحت المهاد لمستويات هرمونات الجسم كدليل او مؤشر لنشاط جميع الهرمونات، لكن في حالة التقدم بالعمر تفقد تحت المهاد والغدة الصنوبرية قدرتها التنظيمية حيث تصبح المستقبلات اقل حساسية لتلك الهرمونات، فضلا عن ذلك ومع التقدم بالعمر يقل افراز وفعاليات العديد من الهرمونات نتيجة انخفاض المستقبلات Receptor down-regulation (Weinert and Timiras,2003; Pathath,2017; Zhong and Liu,2018)
.

4.2.2 النظرية المناعية Immunological Theory

تفسر هذه النظرية العلاقة ما بين التقدم بالعمر والجهاز المناعي فالجهاز المناعي عبارة عن جهاز مبرمج للتناقص او الانخفاض مع مرور الوقت، والذي يؤدي الى زيادة احتمالية الاصابة بالإمراض وبالتالي التقدم بالعمر ومن ثم الموت، حيث لوحظ وصول وظيفة الجهاز المناعي الى أعلى مستوى خلال مرحلة البلوغ ثم تبدا تدريجيا بالانخفاض والذي يؤدي الى التقدم بالعمر، مثلا تفقد الاجسام المضادة قابليتها المناعية عند التقدم بالعمر ويفقد الجسم مقاومته لعدد من الامراض والذي يؤدي الى حدوث كرب خلوي Cellular stress وبالتالي حدوث الموت (Cornelius , 1972). لهذا فان معظم الامراض المتعلقة بالجهاز القلبي الوعائي والالتهابات ومرض الزهايمر والسرطانات ترتبط بانعدام التنظيم للاستجابات المناعية للجسم (Rozemuller *et al*,2005).

5.2.2 نظرية الغشاء الخلوي The cell membrane theory

طبقا لهذه النظرية فان من اهم التغييرات المتعلقة بالتقدم بالعمر هو ضعف قابلية الغشاء الخلوي على انتقال المواد الكيميائية والحرارة فضلا عن العمليات الكهربائية Electrical processes عبر الغشاء الخلوي، حيث انه عند التقدم بالعمر يصبح الغشاء الخلوي اقل محتوى دهني (ذو محتوى مائي عالي واكثر صلابة) والذي يؤدي الى اعاقة كفاءة ووظيفة الغشاء الخلوي للقيام بالوظائف الطبيعية والذي يعمل على تجمع وتراكم السم الخلوي الذي يعرف باللايبوفيوسين (lipofuscin)، فمع التقدم بالعمر يكون مستوى اللايبوفيوسين المترسب في الدماغ، القلب، الرئتين وكذلك الجلد عالياً كما في حالة معظم المصابين بأمراض الزهايمر مقارنة بالأشخاص الاصحاء (Pathath,2017).

6.2.2 نظرية العالم هاي فليك Hayflick theory

ذكر العالم ليوناردو هاي فليك ان الانقسام في خلايا الجسم يكون بأوقات محددة ، حيث لاحظ ان للخلايا الحية القابلية على الانقسام تقريبا 50 مرة، تبدا بعدها الخلايا بالتباطؤ ومن ثم التوقف عن الانقسام وبهذه الحالة فان الخلية سوف تموت، ايضا افترضت هذه النظرية ان التقدم بالعمر يكون نتيجة تجمع الفضلات الخلوية والتي وصفت من قبل نظرية الغشاء الخلوي للتقدم بالعمر (pathath,2017). كما شارك العالم هاي فليك عالم آخر وهو مورهيد Moorehead في ملاحظة ظاهرة التقدم بالعمر في خلايا الارومات الليفية لرئة الانسان Human Lung Fibroblast (Hayflick and Moorhead,1961). ومن المعروف الان انه يكون النمط الظاهري الخلوي الرئيسي والاكبر في احداث معظم امراض السرطان وكذلك الامراض المتعلقة بالتقدم بالعمر (Dimri,2005;Tachkonia *et al*,2013). ان التقدم بالعمر بنظرية هاي فليك يعرف بالتقدم بالعمر (الشيخوخة) المتكررة Replicative Senescence والذي يكون سببه قصر القسيمات الطرفية للصبغيات في الخلايا الجسمية التي خضعت لعدة انقسامات والتي يلاحظ فيها خلوها من الجسيمات الطرفية للصبغيات (Dimri,2005; Bodnar *et al* 1998,. بجانب الخلايا الليفية لوحظ حدوث التقدم بالعمر في أنواع عديدة من الخلايا الجسمية مثل الخلايا الظهارية، الخلايا البطانية، الخلايا اللمفاوية والخلايا الغضروفية فضلا عن الخلايا

ما بعد الانقسام وهي الخلايا العصبية Neurons والخلايا الدباقية Glial cells (Tan *et al*, 2014).

7.2.2 نظريــة تــدهور المتقــدرات The mitochondrial decline theory

تعتبر المتقدرات العضيات الرئيسة المسؤولة عن انتاج الطاقة في كل خلايا اغلب الاعضاء حيث ان وظيفتها الرئيسة تكوين جزيئة الادينوسين ثلاثي الفوسفات Adenosine triphosphate(ATP)، تحت الظروف الطبيعية تعد المتقدرات هدف سهل للأضرار الناتجة عن تكوين الجذور الحرة فضلا عن ان المتقدرات تفتقد لألية الدفاع المتوفرة في بقية الجسم ،لهذا عند التقدم بالعمر تتأثر المتقدرات وتصبح اقل كفاءة وعددا واكبر حجما من الطبيعي وبالتالي يقل انتاجها للطاقة (Pathath, 2017). فضلا عن ذلك فان للتقدم بالعمر اضرار على جزيئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA الخاص بالمتقدرات وبالتالي يؤدي الى خلل في وظيفتها (Shimokawa and Trindade ,2010).

8.2.2 نظرية الارتباط العرضي The cross-linking theory

تعرف ايضا بنظرية التسكر Glycosylation theory وضعت هذه النظرية من قبل العالم Johah Bjorksten في سنة 1942 (Stadtman,1992) ، تنص هذه النظرية على ارتباط جزيئات السكر البسيط (الكلوكوز) مع جزئية البروتين و تحدث هذه العملية تحت ظروف توفر الاوكسجين و تسبب العديد من المشاكل، وعند حدوث هذا الارتباط يصبح البروتين اقل كفاءة وغير قادر على العمل بشكل طبيعي، ويحدث عند التقدم بالعمر زيادة احتمالية ارتباط الكلوكوز مع البروتين الذي يعرف بخلل الارتباط العرضي Cross –linking disorder حيث يسبب ظهور علامات التقدم بالعمر، كعتامة عدسة العين Cataract ويصبح الجلد ذو ملمس خشن واصفر اللون (Pathath ,2017).

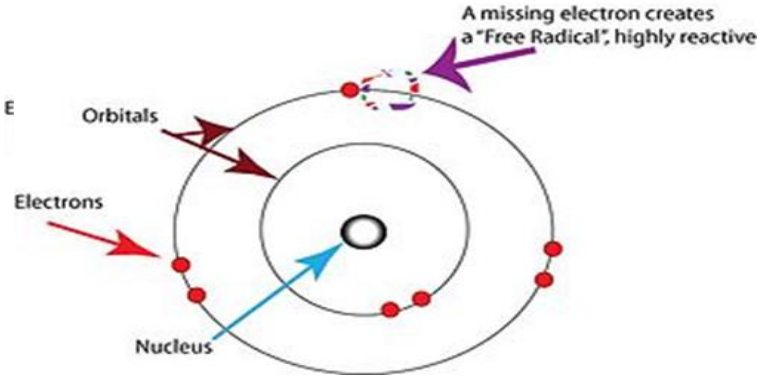
9.2.2 نظرية الجذور الحرة The free radicals theory

هي إحدى أهم النظريات التي اكتسبت قبول واسع وذلك لأنها اولى النظريات التي فسرت التفاعلات الكيميائية الاولية الاساسية لحدوث عملية التقدم بالعمر (De la,2002). وضعت من قبل الباحث الارجنتيني الاصلDenham Harman, 1956 (Harman ,1956). و افترضت هذه النظرية ان تفاعلات الجذور الحرة تسبب تغييرات التقدم بالعمر (Ashok and Ali,1999). واتسعت في السنوات الاخيرة نظرية الجذور الحرة ليس فقط لتفسير عملية التقدم بالعمر و أنّما الامراض المتعلقة بالتقدم بالعمر مثلا امراض السرطان ،التهاب المفاصل ،تصلب الشرايين و الزهايمر فضلا عن داء السكر (Clancy and Birdsall ,2013). تنتج الجذور الحرة داخل الجسم عن طريق عدد كبير من المصادر في مختلف الاجهزة الحيوية وايضا العديد من الطرق لتوليدها، لكن اهم مصدر هو المتقدرات، حيث تستخدم المتقدرات97 % من الاوكسجين في الجسم (Wickens ,2001). فضلا عن كميات قليلة من الجذور الحرة تنتج عن طريق سلسلة انتقال الالكترونات في داخل الشبكة الاندوبلازمية والنواة وايضا الغشاء الخلوي، ويفترض بوجود الجذور الحرة في داخل الاجهزة الحيوية للجسم ظهور عمليات التقدم بالعمر ومختلف العمليات الامراضية التي تحدث داخل الجسم (Lushchak,2014). تسبب الجذور الحرة اضرار مختلفة للجزيئات الحيوية الكبيرة في الجسم كالأحماض النووية، البروتينات والدهون، خصوصا الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة poly unsaturated fatty acid للغشاء الخلوي والذي يكون حساسا بسبب حدوث عمليات بيروكسدة الدهون Lipid peroxidation (LPO) (Niki ,2009)، وتتعرض الاحماض النووية المهمة مثل الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA والحامض النووي الرايبوزي Ribo nucleic acid (RNA) التي تكون حساسة جدا لارتباط الجذور الحرة، و عند حدوث أكسدة لهذه الاحماض فإنها سوف تسبب حدوث الطفرات الوراثية في كل من المتقدرات والنواة (Hekimi *et al.*,2011). وبشكل عام يحدث لجميع الاحماض الامينية في البروتينات والانزيمات اكسدة بسبب الجذور الحرة وعندها سوف يحدث تغييرات تؤدي الى فقدان وظائفها (Ugart *et al.* ,2010). وللعديد من الجزيئات الخلوية الكبيرة القابلية على الارتباط مع الجذور الحرة والتي بدورها تحدث أضرار في الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين (DNA) والتي يلعب

دوراً مهماً جدا في حدوث التقدم بالعمر خصوصا في الخلايا في مرحلة ما بعد الانقسام الخيطي Post mitotic cell كالخلايا العصبية (Nekhaeva *et al*., 2002).

3.2 الجذور الحرة Free radicals

عبارة عن جزيئات او ذرات تتواجد بشكل حر، تحتوي على الكترون غير مزدوج (الكترون منفرد) في مدارها الخارجي (Erbas and Sekerci,2011; Lobo *et al*.,2010). حيث تتواجد الالكترونات طبيعيا في المدار الذري بشكل ازواج للذرة او الجزيئة (Orchin *et al* ,2005). في حين تحتوي الجذور الحرة على الكترون منفرد في اي مدار للجزئي مما يكسبها عدم الاستقرار ويجعلها شديدة التفاعل(شكل1)، فلهذا تميل إمّا لفقدان الكترونات فتسلك سلوك المواد المؤكسدة ، او اكتساب الكترونات فتسلك سلوك المواد المختزلة من الجزيئات او الذرات الاخرى (Cheeseman and Slater ,1993). تهاجم الجذور الحرة الجزيئات الكبيرة المهمة في الجسم مما تؤدي الى أضرار خلوية وايضا خلل في الاتزان البدني للجسم، من اهم الجزيئات التي تتفاعل معها الجذور الحرة الدهون، الاحماض النووية والبروتينات التي تعتبر الهدف الرئيس (Lobo *et al*., 2010). للجذور الحرة نوعين الاول عند تركز الاوكسجين فيها تدعى باصناف الاوكسجين الفعالة Reactive oxygen Species (ROS)، وايضا الانواع الفرعية والتي تدعى باصناف النتروجين الفعالة Reactive Nitrogen Species (RNS) (Droge,2002).



الشكل (1) التركيب الكيميائي لذرات الجذر الحر (Orchin *et al*.,2005).

4.2 اصناف الاوكسجين الفعالة Reactive oxygen species (ROS) (Droge,2002)

تضم اصناف الاوكسجين الفعالة كلا من الاوكسجين المنفردSingle oxygen، جذر السوبر اوكسيد السالب− (Superoxide anion O_2)، بيروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide (H_2O_2) و جذر البيروكسيل Peroxyl radical (ROO).

5.2 اصناف النتروجين الفعالة Reactive Nitrogen Species (RNS) (Victor *et al*.,2004).

تتكون اصناف النتروجين الفعالة جذر اوكسيد النتريك Nitric oxide ($NO^{\cdot}$) و جذر بيروكسي نتريت السالب Peroxynitrite anion ($ONoo^{-}$).

6.2 نشأة الجذور الحرة في الجسم

مصدر الجذور الحرة في داخل جسم الكائن الحي إما من خلال العمليات الايضية الاساسية الطبيعية في الجسم أو من خلال مصادر خارجية (Bagchi and puri, 1998). ان التعرض للظروف البيئية غير المناسبة مثل ارتفاع درجات الحرارة او انخفاضها، الجوع وسوء التهوية ممكن ان تظهر آثارها الضارة على الجسم عن طريق تكوين الجذور الحرة (Phaniendra *et al*.,2015). تتكون الجذور الحرة داخليا بصورة مستمرة في الخلايا كنتيجة للتفاعلات اما قد تكون تفاعلات انزيمية او تفاعلات غير انزيمية، فالتفاعلات الانزيمية تعمل على توليد الجذور الحرة من خلال بعض العمليات منها تفاعلات السلسلة التنفسية والبلعمة وعملية تخليق البروستاكلاندين وكذلك نظام السايتوكروم Cytochrome P-450 (Liu *et al* .,1999).فضلا عن ذلك ممكن ان تتكون الجذور الحرة من خلال التفاعلات غير الانزيمية للأوكسجين مع المركبات العضوية وكذلك بداية التفاعلات الايونية(Lobo *et al*.,2010). وتنتج الجذور الحرة من بعض المصادر الداخلية كالمتقدرات، انزيم الزانثين اوكسيديز Xanthine oxidase ، Peroxisomes، الالتهاب، البلعمة، التدريب، نقص التروية. اما المصادر الخارجية لإنتاج

الجذور الحرة فهي التدخين، الملوثات البيئة، الاشعة، الادوية، المبيدات الحشرية والمذيبات الصناعية (Ebadi,2001).

7.2 المتقدرات Mitochondria

يعد النشاط الايضي للخلايا المصدر الداخلي المهم لإنتاج الجذور الحرة في مختلف الاجهزة الحيوية للجسم، لكن اهم مصدر هو المتقدرات التي تعد المصدر الاساسي لإنتاجها (Wickens ,2001). حيث يحدث في داخل اغشيتها عمليات اختزال الاوكسجين الجزيئي الذي يعد متطلباً اساسياً لمعظم العمليات الحيوية في الجسم (Staveness *et al*., 2016).اذ يختزل الاوكسجين في الظروف الطبيعية الى ماء بنسبة تقدر 97–99% خلال عمليات الفسفرة التأكسدية داخل المتقدرات وان النسبة المتبقية من الاوكسجين تقدر ب 1–3 % عبارة عن جزيئات فعالة تتعرض الى تفاعلات اختزالية غير تامة وبشكل تدريجي تتحول الى نواتج مختزلة جزيئا تدعى بأصناف الاوكسجين الفعالة ROS (Phaniendra *et al*.,2015). فضلا عن ذلك تنتج كميات قليلة من الجذور الحرة عن طريق سلسلة انتقال الالكترونات في داخل الشبكة الاندوبلازمية والنواة وكذلك الغشاء البلازمي(Luskchak ,2014).

8.2 الاجهاد التأكسدي Oxidative damage

يعرف الاجهاد التأكسدي على انه التأثيرات الحيوية الضارة التي تسببها اصناف الاوكسجين الفعالة وايضا اصناف النتروجين الفعالة (Aruoma ,1998). حيث يحدث الاجهاد التأكسدي نتيجة عدم التوازن بين إنتاج الجذور الحرة ومضادات الاكسدة في الجسم (Rock *et al*.,1996)، وذلك بسبب زيادة توليد او انتاج اصناف الاوكسجين الفعالة ROS حيث تتغلب على انتاج و وظيفة مضادات الاكسدة الداخلية والتي تعمل على ازالة تأثيراتها الضارة وبالتالي عدم قدرة الكائن الحي على إزالة أو اصلاح التأثيرات الناتجة من تكوينها، مما يؤدي الى اضرار للمكونات الحيوية الخلوية في الجسم (Wu *et al*.,2013; Navarro-Yepes *et al*.,2014). وعلى العكس من ذلك ففي الظروف الطبيعية يوجد توازن مستمر بين انتاج معظم أصناف الاوكسجين الفعالة وقدرة مضادات الاكسدة في داخل الخلية على كسح تأثيراتها الضارة (Ragini *et al*., 2011).

1.8.2 التأثيرات الحيوية للاجهاد التأكسدي

تعد الجذور الحرة أحد أهم الاسباب الحقيقية لأحداث التغييرات في المكونات الخلوية والتي تسبب العديد من الامراض ، حيث تؤدي الى تغيير في جزيئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين في الخلايا (Biswas *et al*.,2018). ويسبب حدوث تفاعل ما بين الجذور الحرة وجزيئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين تدمير الروابط بين البروتين والحامض النووي منقوص الاوكسجين والذي يؤدي الى تغيير في القواعد البيورينية والقواعد البريمدينية وبالتالي يؤدي الى حدوث الطفرات الوراثية نتيجة تحطم جزيئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين (Poppel and Golddbohm, 1995; Sharma *et al*.,2012). ويؤدي الاجهاد التأكسدي الى اكسدة البروتينات والدهون والذي يعمل على التغيير في كلا التركيب والوظيفة (Lobo *et al* ..,2010) فقد لوحظ دور الاجهاد التأكسدي في العديد من الحالات المرضية سواء كانت الحادة او المزمنة مثل شيخوخة الخلايا وامراض الجهاز القلبي الوعائي والتي تعد من الامراض الخطرة منها امراض تصلب الشرايين العصيدي و ارتفاع ضغط الدم، والتي لها علاقة مع مسار الالتهاب في الجسم والتي لها علاقة مع IL-8, IL-6, IL-1α حيث انها تتداخل مع حدوث الشيخوخة (Chandrasekaran *et al*.,2017). فضلا عن ذلك امراض الكلى الحادة والمزمنة كذلك الامراض العصبية التنكسية (الضمور العصبي) مثل الزهايمر وعند اخذ خزع لنسيج الدماغ لوحظ زيادة في مستوى IL-6 و P21، كذلك يلاحظ ان للاجهاد التأكسدي دور في أمراض الصفراء وايضا السرطانات (Burton *et al*.,2010). فضلا عن ذلك فان للجذور الحرة تأثيرا في العديد من حالات العقم في ذكور الجرذان وذلك بسبب المحتوى العالي لغشاء النطف من الحوامض الدهنية غير المشبعة (Moazamina *et al* .,2015) .وان للكرب التأكسدي دورا في حدوث الامراض الجلدية وحدوث الطفرات ويؤدي ايضا الى تلف الالياف والطبقات البطانية للأوعية الدموية وتعد الرئة من اكثر الاعضاء تضررا وذلك بسبب زيادة الاوكسجين وبالتالي زيادة انتاج الجذور الحرة التي تعمل على أحداث الوذمة السنخية مع احداث النزيف حول الاسناخ، ايضا يتأثر الكبد بإنتاج الجذور الحرة التي تعمل على تدمير الخلايا الكبدية خلال فترات تكوينها (Naziroglu *et al*., 2018; Varghese *et al*.,2018).

2.8.2 الاجهاد التأكسدي وعلاقته بالتقدم بالعمر

يحدث عند التقدم بالعمر فقدان لمعظم وظائف الانسجة والاعضاء بمرور الوقت (Flatt,2012). وسميت نظرية تكوين الجذور الحرة لتفسير عملية التقدم بالعمر بنظرية الاجهاد التأكسدي للتقدم بالعمر (Clancy and Birdsall,2013)، حيث استندت هذه النظرية على ارتباط الاضرار الحاصلة في التراكيب الخلوية مع عملية التقدم بالعمر وبالتالي علاقتها مع فقدان الوظيفة الخلوية والذي يؤدي الى تراكم او تجمع الاضرار التأكسدية للجزيئات الكبيرة (الدهون، البروتينات، الحامض النووي منقوص الاوكسجين) من خلال تأثيرات اصناف الاوكسجين والنتروجين الفعالة في الخلايا (Beckman and Ames, 1998) .

3.8.2 تأثير الاجهاد التأكسدي على الجهاز العصبي

يضم الجهاز العصبي المركزي كل من الدماغ، الحبل الشوكي، والاعصاب المحيطية التي تكون غنية بالمحتوى الدهني خصوصا الاحماض الدهنية غير المشبعة فضلا عن ايونات الحديد، حيث ان المحتوى العالي من الدهون يجعل الخلايا العصبية معرضة بشكل كبير لإضرار الاجهاد التأكسدي (Dronca and Pasca,2010). حيث تتفاعل الجذور الحرة مع الدهون وتسبب بيروكسدة الدهن (Kagan,2018). من جهة اخرى تكون الخلايا العصبية غنية بأيون الحديد والذي يكون مهماً جداً واساسياً لتطور الدماغ ، كذلك عند وجود ايون الحديد وفي حالة حدوث اضرار لخلايا الدماغ فقد يسبب ذلك طرحه او افرازه والذي يؤدي الى الاجهاد التأكسدي حيث يعمل الحديد على تكوين اصناف الاوكسجين الفعالة ROS (Chauhan and Chauhan ,2006) كما فبي التفاعل التالي.

$$H_2O_2+Fe^{+2} \longrightarrow OH^{\cdot}+OH^{-}+Fe^{+3}$$

Fenton reaction (El-Missiry, 2012)

وان من اهم الاسباب التي تجعل الدماغ معرض للكرب التأكسدي هو احتياج الدماغ لطاقة عالية لإداء الوظيفة فضلا عن ان فعالية مضادات الاكسدة في خلايا الدماغ تكون ضعيفة Weak antioxidant capacity لهذا تكون الانسجة العصبية هدفاً سهلاً للتأثر بالاجهاد التأكسدي (Hulbert *et al.*,2007). ويعتبر تراكم اصناف الاوكسجين الفعالة في الخلايا العصبية تهديد

خلوي يسبب حدوث اضرار كبيرة في الجهاز والخلايا العصبية (Salim ,2016). وتكون آلية عمل اصناف الاوكسجين الفعالة في الانسجة العصبية وأحداثها الاضرار الخلوية من خلال عملها على زيادة نفاذية الحاجز الدموي–الدماغي وبالتالي حدوث التهاب في الانسجة العصبية وتنتهي بموت الخلايا العصبية (Gu *et al*.,2011).

9.2 اهداف الجذور الحرة Reactive oxygen species targets

1.9.2 الدهون Lipids

يعد الغشاء الخلوي أحد الاجزاء المهمة التي تهاجمها اصناف الاوكسجين الفعالة (Paryldar *et al*,2008). حيث تحصل بيروكسدة الدهون للأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة والتي هي جزء من تركيب الغشاء الخلوي بفعل الجذور الحرة المتولدة في الخلية ضمن مكوناتها (Lobo *et al*.,2010). تسبب بيروكسدة دهون الغشاء الخلوي تغيير الصفات الفيزيائية للجزء الاكثر حساسية وهي الدهون ثنائية الطبقة lipid bilayer، و يؤدي الى تغيير او تفاعل ما بين جزيئات الدهون Lipid –lipid interaction وبالتالي تغيير في التدرج الايوني وفي سيولة ونفاذية الغشاء (Mario Diaz,2016). ان عملية بيروكسدة الدهون تبدا بفعل جذر الهيدروكسيل الذي يعمل على بدء انتاج الجذور الحرة من خلال ازالة ذرة الهيدروجين وبالتالي انتاج جذر الدهن Lipid radical والذي بدوره يعمل على تحويلات اخرى و اقتران مضاعف Diene conjugate وبإضافة الاوكسجين اليها سوف تؤدي الى انتاج جذر البيروكسيل Peroxyl radicals والذي يعد جذراً حراً عالي الفعالية ويعمل على الارتباط مع الاحماض الدهنية ليكون هيدروبيروكسيد الدهن Lipid hydroperoxide (LOOH) و تتكون نتيجة لهذه العملية عدد من المركبات مثلا الالكانات Alkans المالونديالدهايد Malondialdehyde و الايزوبروتان Isoprotanes والتي تعد مؤشراً للعديد من الامراض اهمها امراض التنكسات العصبية و داء السكر (lovell *et al*.,1995). لهذا فان احتمال حدوث عملية بيروكسيدة الدهون في الجهاز العصبي المركزي والامراض العصبية التنكسية للدماغ يكون بسبب احتياج الدماغ الى كميات عالية من الاوكسجين وبذلك فان تولد الجذور الحرة منها أكثر بوصفها مواداً ثانوية لعمليات انتاج الطاقة ATP synthesis، فضلا عن كون جزيئات الدهون الفوسفاتية

للأغشية Phospho lipid في الجهاز العصبي المركزي والغنية جدا بالأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة تكون اكثر عرضة للارتباط مع الجذور الحرة (Chen *et al*.,2008).

2.9.2 البروتينات Proteins

تعرف البروتينات بانها مركبات عضوية معقدة التركيب ،تتكون بصورة اساسية من سلسلة طويلة من الاحماض الامينية وظيفتها تزويد الجسم بالطاقة الضرورية للقيام بالعمليات الحيوية، يستخدم الجسم البروتينات لبناء واصلاح الخلايا ،فضلا عن تكوين الانزيمات، الهرمونات ومكونات اخرى (Zieve, 2009). في جزيئة البروتين ترتبط الاحماض الامينية مع بعضها بواسطة اواصر ببتيدية Peptide bonds، تسلسل الاحماض الامينية في السلسلة تعرف بالتركيب الاولي للبروتين (Goudoever *et al*.,2014). تتأثر البروتينات بزيادة مستوى توليد الجذور الحرة في الخلايا من خلال التأثير على التركيب والوظيفة، وبالتالي وكما في حالة الانزيمات يؤدي ذلك الى زيادة احتمالية التحلل البروتيني Proteolysis (Stadtman,2004). تتاكسد البروتينات بثلاث طرق : التحورات التأكسدية لبعض الاحماض الامينية ، انقسام الببتيدات بوساطة الجذور الحرة و تكوين الجسور العرضية للبروتينات من خلال التفاعل مع نواتج بيروكسيدة الدهون (Freeman and Crapo *et al*.,1982). تحتوي البروتينات على الاحماض الامينية مثل المثيونين Methionine ،السستين Cysteine ، الارجنين Arginine والهستدين Histidine التي يكون اكثر عرضة للتأكسد (Freeman and Crapo ,1982 ;Stadtman,2004) بسبب ان هذه الاحماض الأمينية تعمل على تكوين اواصر ثنائية الكبريت Disulfides من خلال مجاميع الثايول Thiol –group في ما بين البروتينات (Stadtman ,2004). تعمل الجذور الحرة على تغيير وتحوير البروتينات وزيادة احتمالية تعرضها الى التحلل الأنزيمي Enzyme proteolysis وبالتالي فان الاضرار التاكسدية للبروتينات الناتجة تؤثر على فعالية الانزيمات، المستقبلات والنقل عبر الاغشية وبالتالي تؤدي الى خلل في وظائف الخلية (Lobo *et al*.,2010). تؤدي اكسدة البروتينات بتفاعلها مع الجذور الحرة الى انتاج مجموعة وظيفية الكاربونيل Carbonyls واحماض امينية اخرى منها تكوين سلفوكسيد الميثيونين و بيروكسيد البروتين (Charles *et al* .,2007; Held and Gibson ,2012) . يزداد تركيز الحامض الاميني الكاربونيل نتيجة لتسكر البروتين بواسطة السكريات من خلال

ارتباط الالديهايد مع البروتين وكذلك من خلال الاكسدة المباشرة لسلسلة الاحماض الامينية بواسطة الجذور الحرة لتوليد نواتج مثل الكلوتاميت Glutamate و Aminoadipic semialdehydes (Dalle-Donne *et al*.,2003). لهذا يعد تركيز الكاربونيل احد اهم الفحوصات للدلالة على حدوث اكسدة البروتينات، حيث وجد في حالة التقدم بالعمر ازدياد تركيز هذا البروتين من خلال الاضرار المورثة Inherited Damage من المواد المؤكسدة والتي يمكن ملاحظتها على الانسجة (Perez *et al*.,2009). طبيعيا فان المعقدات البروتين Proteasomes المسؤولة عن تحطيم البروتينات المحطمة و المتأكسدة بعملية التحلل البروتيني، اما عندما تبدا الخلية بالتقدم بالعمر يقل مستوى وفعالية هذه المعقدات بشكل كبير والذي يسبب تجمع البروتينات المتأكسدة في الخلية وبالتالي يؤدي الى تنشيط مسار الموت المبكر للخلايا Activation pro-death pathwayg (Pole *et al*.,2016).

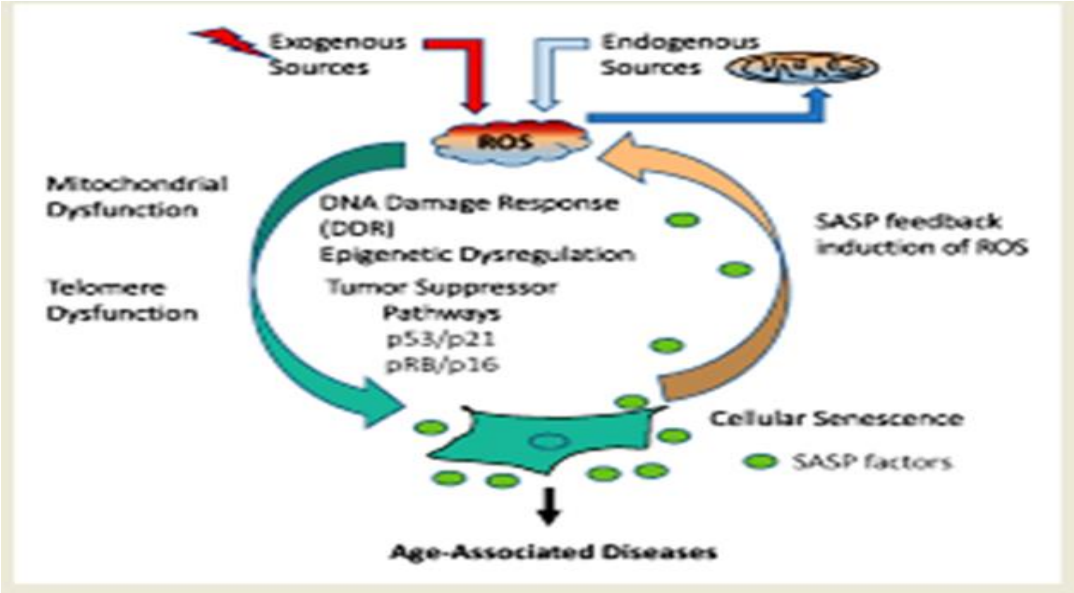
3.9.2 جزيئة الحامض النووي منقوص الاوكسجين Deoxyribo nucleic acid (DNA)

جزيئة ال DNA هي من اكثر الاجزاء تأثرا بالجذور الحرة خصوصا تلك التي تكون موجودة في المتقدرات والتي تكون المصدر الاساس والمهم لإنتاج المواد المؤكسدة في داخل الخلية (Jacob *et al*.,2013). بصورة عامة فان الاضرار التي تحدث في جزيئة DNA في الخلايا اليافعة young cells يمكن اصلاحها بفعالية كبيرة من خلال استخدام القواعد او ازالة النيوكليوتيدات Nucleotide excision او من خلال اعادة التراكيب المتجانسة Homologus recombination للجزئي (Dizdaroglu,2012) ، اما في الخلايا المتقدمة بالعمر فالإصلاح يكون اقل كفاءة ويؤدي في مراحله الاولى لزيادة احتمالية حدوث السرطانات او الطفرات (Pole *et al*.,2016). بالرغم من ان جهاز الاصلاح الخلوي يقوم بتصليح العديد من الاضرار، لكن الجذور الحرة تعمل على تلف الحامض النووي منقوص الاوكسجين والتي تتجمع بتقدم بالعمر وتكون سببا مهما من اسباب حدوث التقدم بالعمر (Wickens,2001).

10.2 شيخوخة الخلية Cellular senescence

تعرف شيخوخة الخلايا بانها توقف للنمو بشكل اساسي Essentially growth arrest وغير عكوسية، يحدث في الخلايا التي لها القابلية على الانقسام لكنها تواجه كرب مكون للورم Oncogenic stress، مع استثناء الخلايا الجذعية الجنينية Embryonic stem cells (Miura *et al* .,2004). وصفت هذه الحالة لأول مرة من قبل العالم هاي فليك والعالم مورهايد لخلايا الارومات الليفية لرئة الانسان (Hayflick and Moorhead, 1961). ان من اهم اسباب حدوث الشيخوخة للخلايا هو قصر طول القسيمات Telomere shortening، او فقدان انزيم التلوميريز (Bodnar *et al* .,1998;Dimir ,2005) حيث ان القسيمات الطرفية عبارة عن تراكيب متخصصة توجد في نهاية الكروموسوم وهي عبارة عن مكان على شريط ال DNA يتكون من تسلسل معين من النيكليوتيدات المتكررة في نهاية الكروموسوم وظيفتها حماية نهاية الكروموسوم من التلف والتحويرات Deterioration فضلا عن حماية الكرموسوم من الالتصاق مع كروموسوم اخر قريب و تشير الادلة الى انه خلال كل دورة من الانقسام او التضاعف الطبيعي ينتج عنه قصر تدريجي (Bodnar *et al*., 1998). حيث يحدث تناقص في القسيمات الطرفية في جزيء DNA في مرحلة S من مراحل الدورة الخلوية وذلك لان انزيم التلوميريز احادي الاتجاه ولا يمكن ان يبدا من خيط جديد من خيط DNA، مما ينتج عنه نقص في خيط DNA بالقرب من نهاية الكرموسوم، فضلا عن ذلك فان معظم الخلايا لا يمكنها ترجمة الانزيم والذي هو عبارة عن انزيم خاص وظيفته المحافظة على تسلسل القواعد النتروجينية لخيط ال DNA (Harley ,1990; Bodnar *et al*.,1998). وبينت بعض الدراسات ان طول القسيمات الطرفية ليس هو السبب الاول لحدوث شيخوخة الخلايا النسخي، حيث يتواجد في انواع من الفئران قسيمات طرفية طويلة جدا لكن بنفس الوقت يحدث لها شيخوخة الخلايا(Colavitti and Finkel,2005).ان التعرض للكرب التأكسدي يعد احد اهم اسباب حصول الشيخوخة (Dimir ,2005 ;Wang *et al*.,2013) . وتم انماء الخلايا اللمفية الجنينية للفئران Mouse embryonic fibroblast في اوساط فسلجية قياسية من الاوكسجين 3% فلم يلاحظ حدوث شيخوخة لهذه الخلايا، لكن عند زيادة نسبة الاوكسجين الى 20% ظهرت شيخوخة هذه الخلايا بسبب حدوث طفرات جزيئة ال DNA، ولهذا فان الشيخوخة

ممكن ان تتأخر اذا ما وفرت اوساط ذات تراكيز منخفضة من الاوكسجين (Parrinello *et al* ,.2003).. وتؤدي زيادة تركيز بيروكسيد الهيدروجين وهو سبب مهم في زيادة انتاج ROS في الخلايا الى حث ظاهرة موت الخلايا المبرمج، كما يسبب حدوث تغييرات كيموحيوية في الخلايا وعلى الاكثر الارتفاع في مستوى البروتين مثبط الورم Tumor suppressor protein P53، حيث ان زيادة مستوى هذا البروتين يعمل على تحفيز البروتين المنظم لدورة الخلية P21 وبدوره يعمل على توقف الدورة عند مرحلةG1 (Chen *et al*.,1998). ويؤدي الاجهاد التأكسدي المستحدث بواسطة الاوكسجين وبيروكسيد الهيدروجين الى حدوث شيخوخة تدعى بالشيخوخة المبكرة المستحدثة Induced premature senescence في الانسان والفئران (Parrinello *et al*.,2003) تعمل بالتالي الى اضرار في ال DNA والتي تسمى DNA Damage response (DDR) ، يؤدي الى استحداث شيخوخة الخلايا (Di Micco *et al*., 2006). وتؤدي شيخوخة الخلايا الحاصلة بسبب زيادة انتاج ال ROS الى تجمع المركبات الضارة في داخل الخلية وخصوصا المتقدرات والتي من المعتقد ان تكون السبب في اظهار التقدم بالعمر داخل الجسم (Velarde,2012). تظهر على الخلايا التي تتجه نحو الشيخوخة مجموعة من التغييرات مثل توقف النمو، كبر الحجم وتظهر فيها الفجوات وتظهر الخلايا مسطحة واحيانا تظهر متضخمة ومتعددة الانوية لكن بنفس الوقت تكون فعالة ايضا (Cho *et al* .,2004; Itahana *et al* .,2004). وتتجمع هذه الخلايا في حالة التقدم بالعمر في العديد من الانسجة، حيث تظهر تجمعا في المواقع ذات الامراضية المتعلقة بالتقدم بالعمر في المناطق المتنكسة والخلايا ما قبل الورمية (Jeyapalan and Sedivey,2008)(شكل 2).

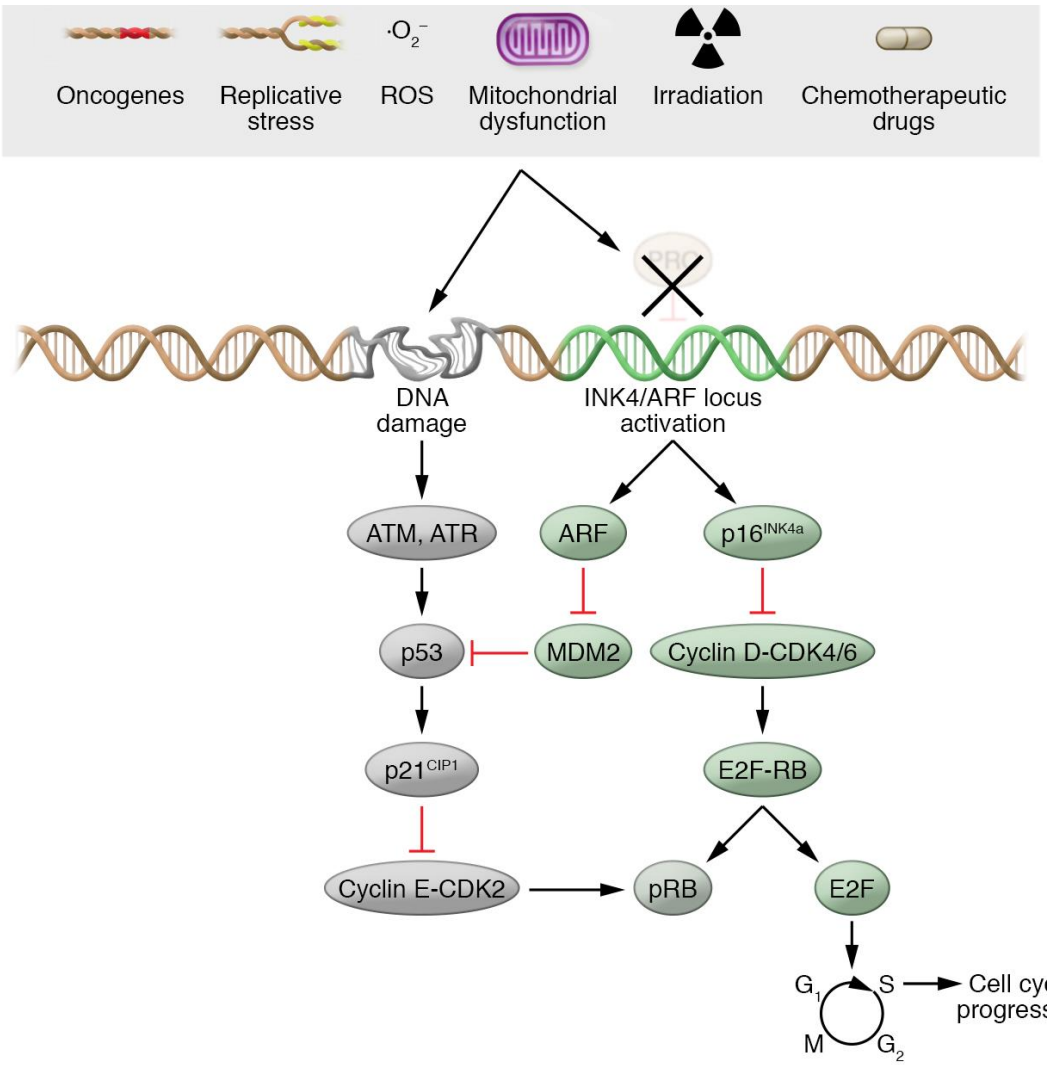


الشكل(2) تأثير الجذور الحرة وتكوينها الشيخوخة الخلوية والتقدم بالعمر (Pole *et al.*, 2016)

11.2 حث مسار جين P53 Induction of the P53 pathway

P53 البروتين المثبط للورم أو قد يسمى البروتين المسؤول عن قمع الخلايا السرطانية (Schabath *et al.*,2006). P53 من العوامل النسخية التي تعمل على تسريع معدل نسخ العديد من الجينات كاستجابة للإشارات التي تدل على وجود اضرار في المادة الوراثية DNA (Fei and El-Deiry,2003). منها الاستجابة للعوامل السامة جينيا genotoxic agents والتي تضم الاشعة فوق البنفسجية UV light، الاشعة الايونية Ionizing radiation والعديد من المواد الكيمياوية (Lakin and Jackson,1999). يعمل تحفيز وتنشيط P53 على السيطرة على الدورة الخلوية Cell cycle ، اصلاح الحامض النووي DNA repair والموت المبرمج للخلايا (Huang *et al.*,1998). ان الاخلال في الوظيفة الطبيعية لجين P53 ينشط ويطور نمو الخلايا السرطانية الورمية (Donehower *et al.*,1992). يبدا توقف نمو الخلايا المسنة نتيجة تحفيز شبكة كابت الورم P53 tumor suppressor network و P16 Lowe) (*et al.*,2004. حيث انه عند تحفيز ال P53 فانه سوف ينظم برنامج معقد مضادا للتكاثر والنسخ Regulates a complex antiproliferative transcriptional program (Kastenhuber and Lowe, 2017). حيث ان الوظيفة الاكثر اهمية لل P53 عند حدوث الشيخوخة هي عمله على تحريض تكوين او نسخ مثبط الكاينيز غير المعتمد على السايكلين Cyclin – independent kinase inhibitor(CDKi) والذي بدوره يعمل على ايقاف عمل نشاط2 Cyclin-dependent kinase (CDK_2) والذي ينتج عنه قلة الفسفرة (d' Adda di Hypophosphorlylated والتوقف او الخروج من الدورة الخلوية Fagana,2008). لهذا فان تعطيل او عدم تحفيز ال P53 او عدم اعطاء اشارة لأي سبب كان يتداخل مع بداية حدوث شيخوخة الخلية (Beausejour *et al*,2003;Campisi ,2005). اذا كان حدوث الاجهاد او اي مسبب يحفز حدوث الشيخوخة موجود بشكل وقتي فان تحفيز ال P53 يكون بشكل بسيط وبالتالي فانه يعمل على تحفيز عمليات تصليح شريط ال DNA والذي يعمل على انهاء فعل الاجهاد وبنفس الوقت استئناف الدورة الخلوية

(Childs *et al*.,2015). في حين عند استمرار تأثير الاجهاد يعمل على تحفيز جين اخر P16 وهو عبارة عن جين يعمل على تثبيط Cyclin dependent Kinase 6 (CDK6) و Cyclin dependent Kinase4 (CDK4) والتي بدورها تعمل على توقف الدورة الخلوية لفترة طويلة (Sharpless and Depinho,2006). لهذا فان دور P21 يكون مقتصراً في بداية تكوين الشيخوخة في حين دور P16 يعمل على توقف الدورة الخلوية بصورة دائميه والذي يكون مرتبط مع مراحل تنظيمية مختلفة من مراحل الشيخوخة (Sharpless and Sherr, 2015). لهذا فان لجين P53 وظيفيتين رئيسيتين باعتباره مضادا للسرطان ومضادا للتقدم بالعمر (Campisi,2005) (شكل3) .



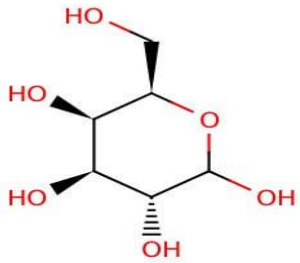
الشكل (3) المسار الجزيئي الذي يتحكم في توقف النمو أثناء الشيخوخة

(Mchugh and Gil,2018)

12.2 استحداث الشيخوخة باستخدام سكر دي–كالاكتوز Aging induction by D-galactose

1.12.2 سكر الكالاكتوز (D-galactose)

هو من السكريات الاحادية monosaccaharide يوجد منه شكلان D و L و يهضم في الجسم الشكل D فقط (شكل4)، يوجد في العديد من مصادر الغذاء من اهمها الحليب، الشكولاتة، البندق، العسل ، الجبن،البيض، الكيوي، الكرز والجيلاتين (Bjelakovic *et al*.,2011). وهو مغذي فسلجي و من السكريات المختزلة reduced sugars.



الشكل (4) التركيب الكيميائي لسكر الكالاكتوز D-GALACTOSE $C_6H_{12}O_6$

(Santa Cruz,2018)

والمستوى الطبيعي لسكر D-galactose في الدم اقل من 10 ملغم /100 مل دم (Berry,1993). ان الحد الطبيعي والمسموح لاخذ سكر الكالاكتوز 50 غرام /يوميا وممكن ان تطرح هذه الجرعة خلال ثمان ساعات بعد الهضم (Morava,2014). ويؤدي اخذ جرعات خارجية من سكر الكالاكتوز اكثر من التركيز الطبيعي الى استحداث التقدم بالعمر ويؤثر على اعضاء عديدة من خلال زيادة الاجهاد التاكسدي، موت الخلايا المبرمج وكذلك الالتهاب (Ullah ,2015; Qu *et al*.,2016; Rehman *et al* .,2017) . وعليه فقد اعتمدت المعاملة بسكر الكالاكتوز كموديل لاستحداث الشيخوخة Mimetic aging model في الجرذان حيث تسبب احداث تغييرات عديدة ومنها زيادة في تكوين اصناف الاوكسجين المشتقة من الجذور الحرة كأحد نظريات تفسير حدوث الشيخوخة (Song *et al*., 1999).

2.12.2 ايض سكر الكالاكتوز في الجسم Galactose metabolism in the body

يصل سكر الكالاكتوز المتناول مع الغذاء الغني به الى تجويف الامعاء وينتقل من خلال نواقل خاصة معتمدة على ايون الصوديوم لنقل السكر Sodium-Dependent Glucose Cotransport -1(SGLT-1) الى داخل الخلية ويغادر الخلية من خلال ناقل الكلوكوز الثاني Glucose –Transport-Type -2(GLUT-2) بعدها يدخل الى المجرى الدموي (Bjelakovie *et al*.,2011).يوجد طبيعيا في الجسم انزيمات الكالكتوكاينيز Galactokinase واليورديل ترانسفيريز Uridyl transferase المسؤولة عن هضم واستقلاب metabolism ال D-galactose الى سكر الكلوكوز بعدها يدخل مسار تحلل سكر الكلوكوز او قد يخزن في داخل الكبد والعضلات والنسيج الدهني (Coelho *et al* ,2015). يدخل سكر الكلوكوز الى داخل الدماغ خلال الحاجز الدموي الدماغيblood brain barrier بواسطة ناقل الكلوكوز نوع-1 glucose transport type 1 (GLUT_1) (Cura and Carruthers,2012).

3.12.2 سكر الكالاكتوز والاجهاد التأكسدي للدماغ Brain oxidative stress by galactose-

تحدث الية استحداث الاجهاد التأكسدي بسكر الكالاكتوز في المستوى تحت الخلوي Sub cellular level خصوصا في متقدرات خلايا الدماغ (Banji *et al*.,2014). تؤدي زيادة تركيز سكر الكالاكتوز في الدم الى حدوث اكسدة بوساطة انزيم كالكتوز اوكسيديز Galactose oxidase ليكون بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) والذي يسبب بدوره انخفاض في مستوى انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز (SOD) (Hsieh *et al*.,2009). عند زيادة مستوى بيروكسيد الهيدروجين فانه يتفاعل مع الشكل المختزل من الحديد Reduced form of Fe ليكون ايونات الهيدروكسيل (-OH) و بيروكسيد الهيدروجين وتعد ايونات الهيدروكسيل من اهم انواع ROS ، وتعمل على احداث اكسدة دهون الاغشية الخلوية وعرقلة وظائف الاتزان البدني مما يودي الى حدوث خلل او فقدان للوظائف الخلوية (Hsieh *et al*.,2009). فضلا عن ذلك فان سكر الكالاكتوز يتفاعل مع مجاميع الامين ليكون مركبات غير ثابتة تدعى نواتج قواعد الشيف

Schiff's base product، بعدها تدخل سلسلة من التفاعلات خلال فترة زمنية لتكون مركبات ثابتة تدعى بمركبات الامادروي Amadori products (Ansari and Dash,2013 ;Golubev *et al*.,2017). تتحول هذه النواتج تدريجيا وبصورة غير انعكاسية الى مركبات تدعى بالنواتج النهائية لعملية التسكر (AGE)، يرتبط هذا المركب مع المستقبلات الخاصة الموجودة في الخلية(AGER) Receptors for advanced glycation end product والذي يعمل على زيادة في اكسدة Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) والذي يؤدي الى زيادة انتاج ROS مؤديا الى اضرار في الخلايا العصبية، من جهة ثانية فان الزيادة في مستوى سكر الكالاكتوز تختزل بواسط انزيم الكالاكتوز رديكتيز ليكون مركب الكالكتيتول Galactitol والذي يعمل على حدوث كرب اوزموزي فضلا عن تقليل ه فعالية عمل سلسلة نقل الالكترونات في المتقدرات (ETC) والذي يسبب بدوره زيادة توليد ROS وبالتالي ينتج خلل في وظائفها (Hsieh *et al*.,2009).

13.2 دور عملية التسكر في التقدم بالعمر Role of glycation in aging

تعرف عملية التسكر بانها تفاعل غير انزيمي تلقائي للسكر المختزل الحر مع مجموعة الامين الحرة للبروتين او DNA او الدهون والذي يؤدي الى انتاج نواتج وسطية تدعى بنواتج امادوري Amadori products تتجه هذه النواتج بدورها الى تفاعلات غير عكسية من عمليات ازالة الماء Dehydration وتفاعلات اعادة تنظيم Rearrangement reaction والتي تؤدي الى تكوين النواتج النهائية لعملية التسكر المتقدمة (AGEPs) (Kim *et al*.,2017). تسبب عملية التسكر فقدان وظائف البروتين وعرقلة في مطاطية الانسجة مثل الاوعية الدموية، الجلد والاوتار(Sell and Monnier ,2012;Nguyen *et al* .,2015). تكون عملية التسكر سريعة جدا في حالة زيادة السكر في الدم Hyperglycemia وكذلك اجهاد الانسجة (Ahmed and Thornally ,2003) والمؤدية الى حدوث مضاعفات لمرضى داء السكر وايضا التقدم بالعمر (Suji and sivakami,2004). ولعدم وجود انزيم خاص بجسم الكائن الحي يعمل على ازالة نواتج عملية التسكر، ولهذا السبب فان عملية التسكر تتوافق بشكل جيد مع النظرية التي تنص على ان تراكم النواتج او الفضلات الايضية تعمل على تسريع promotes عملية التقدم بالعمر (Kim *et al*., 2017). عملية التسكر هي احدى الميكانيكيات الداخلية المسببة لعملية التقدم

بالعمر والتي تحدث تلقائيا مع الوقت، لكن بنفس الوقت قد تحدث في حالات مرضية كداء السكر، الفشل الكلوي Renal failure والالتهابات (Ott *et al.*, 2014). وتتداخل النواتج النهائية لعملية التسكر AGEs مع المستقبلات الخاصة لنواتج عملية التسكر في اسطح الاوعية المحيطية Expressed on the peripheral vascular surface فضلا عن الاعضاء الداخلية مثل الرئتين، الدماغ، الكبد والكليتين والذي يؤدي الى حدوث شيخوخة الخلايا والامراض المتعلقة بالتقدم بالعمر (Kaliora and Dedoussis,2007).

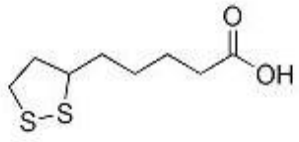
14.2 النواتج المتقدمة للبروتين المتأكسد Advanced Oxidation Protein Products (AOPP)

يعمل سكر الكالاكتوز على حدوث الاجهاد التأكسدي في الدماغ واجهزة اخرى مما يؤدي الى حصول تنكسات عصبية (Hsieh *et al.*,2009; Chen *et al.*,2010a). وتؤدي زيادة انتاج الجذور الحرة او الخلل في عمل ونشاط مضادات الاكسدة الى حدوث اضرار تأكسدية في الجزيئات الخلوية الكبيرة (Stadtman, 2006). تحدث التحورات التأكسدية في البروتينات نتيجة تأثير الجذور الحرة مباشرة على البروتين او من خلال ارتباط تساهمي للبروتينات الخلوية مع نواتج ثانوية لعملية الاكسدة مثل الارتباط مع جزيئات الكيتون التفاعلية او جزيئات الالديهايد التفاعلية (Stadtman ,2006). يعد AOPP مؤشراً حيوياً على حدوث اكسدة البروتين (Hanasand *et al.*,2012).ايضا يعد مؤشراً مهماً لحدوث الاجهاد التأكسدي (Witko-Sarsat *et al.*,1996). يزداد تركيز AOPP في ذكور واناث الجرذان الكبيرة في العمر مقارنة مع الجرذان صغيرة العمر عند تقديره في نسيج الكلية (Uzun *et al.*,2013). فضلا عن ذلك فان اعطاء سكر الكالاكتوز للجرذان بجرعة 60 ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 6 اسابيع سبب زيادة معنوية في تركيز AOPP في مناطق مختلفة من الدماغ (Yanar *et al.*,2011) .

15.2 مضادات الاكسدة Antioxidants

1.15.2 حامض الفا –ليبويك Alpha-lipoic acid (ALA)

حامض من مركبات الثايول Thiol compound مشتق من حامض الاوكتانك Octanic compound (شكل5) .



الشكل(5)التركيب الكيميائي لحامض الفا- ليبويك $C_8H_{14}O_2S_2$ Alpha-lipoic acid

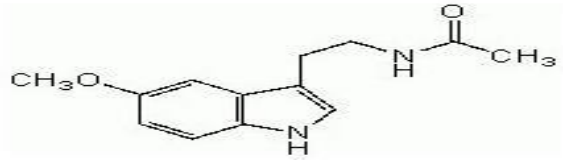
(Santa Cruz,2018)

هو عبارة عن مساعد انزيمي للعديد من التفاعلات في انسجة الجسم، طبيعيا يوجد بوصفه مضاداً للأكسدة حيث يصنع في النبات فضلا عن ذلك ينتج في جسم الحيوان بنسب قليلة (2-25 نانوغرام) خصوصا في الكبد والقلب (Islam,2009). ALA له شكلان الشكل R هو شكل فعال بايولوجيا ينتج في الجسم، والشكل الثاني S ينتج من التصنيع الكيميائي ويعد غير فعال بايولوجيا (Shay *et al*.,2009). عند اعطاء ALA عن طريق الفم او عن طريق الحقن في الوريد فانه يتأيض في الجسم بعد امتصاصه من الامعاء الدقيقة وينتشر الى الكبد من خلال الدورة البوابية الكبدية والى بقية انحاء الجسم من خلال الدورة الجهازية(Islam,2009) . لهذا فان اعطاء ال ALA يؤدي الى زيادة في مستوى مضادات الاكسدة الخلوية فضلا عن المتقدرات، وبالتالي فان ALA يعمل على تخفيف فعالية المؤكسدات وزيادة مستواها في حالة التقدم بالعمر (Arivazhagan *et al*.,2001; Suh *et al*.,2001). ولهذا فان ALA يعد مضادا بيولوجيا و مضادا للأكسدة وايضا يوفر حماية عصبية Neuroportective agent (Winiarska *et al*.,2008). يعمل ALA على الحماية من الاجهاد التأكسدي الذي يحصل في الانسجة المحيطية وكذلك الجهاز العصبي المحيطي (Farr *et al*.,2003 ;Lovell *et al* ,2003). من خلال اكسدة $NADH^+$ الى NAD^+ واختزال $NADPH^+$ الى NADP ، كذلك فان لل ALA القابلية على اطالة فترة عمل مضادات الاكسدة مثل الكلوتاثيون، فيتامين سي Vit.C وفيتامين هـ Vit.E (Singh and Jiala ,2008 ;Cummings *et al* .,2010). يختزل ال ALA في الجسم الى الشكل Dihydro lipoic acid (DHLA) وهو كاسح قوي للجذور الحرة وايضا محسن لحالة الاجهاد التأكسدي والمسار الالتهابي (Shay *et al* ,2009)..حيث ان ALA وDHLA مضادان للأكسدة و للشيخوخة وللالتهاب و للأمراض السرطانية ويوفران الحماية للجهاز العصبي والقلبي الوعائي، فضلا عن دورهما في ازالة تأثير السموم والعديد من الادوية (Goraca *et al*., 2011). وقد ذكر Ou *etat*., (1995) ان ALA

يعمل كاسحاً لجذر الهيدروكسيل (.OH) وحامض الهيبكلورس (HOCL) والاوكسجين المنفرد (O2) واوكسيد النتريك (NO) ، فضلا عن ذلك فان ALA يعمل على مسك Chelates عدد من المعادن وبالتالي تؤدي الى منع توليد جذر الهيدروكسيل (Al–Ali,2018). ويعمل ال ALA على التحسن المعرفي والادراكي للجرذان والفئران المتقدمة بالعمر (Liu *et al*.,2002). اشار Inman *et al*., (2013) ان اعطاء ال ALA بجرعة 180 ملغم / كغم من وزن الجسم للفئران المعاملة بسكر الكالاكتوز ساعد على معالجة الاختلال الوظيفي للمتقدرات من خلال المحافظة على فعالية ومستوى الانزيمات التنفسية للمتقدرات (kumar *et al* ,2009; Prakash and Kumar, 2013; Banji *et al*., 2014). فيما لاحظ العالم Long *et al*., (2007) ان اعطاء سكر الكالاكتوز بجرعة 100 ملغم /كغم من وزن الجسم للفئران بعمر شهرين ادى الى حدوث خلل وظيفي في المتقدرات، وعند اعطاء الفئران نفسها ALA بجرعة 100 ملغم /كغم من وزن الجسم ادى الى تحسن في مستوى ونشاط الانزيمات المضادة للأكسدة من خلال انخفاض في مستوى المالوندالدهايد .

2.15.2 الميلاتونين Melatonin

هرمون يفرز من الغدة الصنوبرية والتي تقع في وسط الدماغ، وهي غدة صغيرة تقع خارج الحاجز الدماغي الدموي (Tartora and Nielson ,2009). لها وظيفة عصبية صماوية متحورة ،حيث انها تحول او تنقل الاشارات والمعلومات العصبية الى رسائل وبهذا فان للغدة الصماوية دور مهم في تطور الدماغ والهرمونات من خلال وظيفتها خلال الليل والنهار (الضوء والظلام) (Ratajczak,2011). اكتشف هرمون الميلاتونين لأول مرة سنة 1958 بوساطة العالم Aaron Lerner (Lerner *et al*.,1958) الذي وصف تركيبه الكيمائي N-acetyl-5-methoxy tryptamine (Lerner *et al*.,1959) (شكل6).



شكل(6) التركيب الكيميائي لهرمون الميلاتونين Melatonin $C_{13}H_{16}N_2O_2$

(Santa Cruz,2018)

يعرف هرمون الميلاتونين بانه هرمون النسق اليومي ، وتكون النواة فوق التصالب البصري المركز الرئيسي للنسق اليومي في الجسم ويتبع حفظ الفعالية الفسلجية بنسق 24 ساعة فتزداد فعالية هذه النواة وبالتالي افراز الميلاتونين مع الظلام ويصل قمة افرازه في الظلام ويكون افرازه متزامناً خلال 24 ساعة ابتداءاً بدورة الضوء والظلام light–dark cycle و يكون عمله مرتبط مع(Suprachiasmatic nucleus (SCN ، حيث ان تركيز الميلاتونين في الدم خلال اليوم يكون منخفضاً 10–20 pg/ml و يزداد معنويا عند الظلام ليصل الى 120–80 pg/ml ويصل اعلى معدل خلال الساعة 3:00 ليلا، في حين ان بداية افرازه حوالي ساعة 21:00– 2:00ليلا وينتهي حوالي الساعة 7:00–9:00 صباحا (Karasek,2006). الى جانب اهمية الميلاتونين المتزامن والمنسق لمعظم العمليات الحيوية في الجسم. فضلا عن تصنيع الميلاتونين في اللبائن في الغدة الصنوبرية، فانه ينتج ايضا من اعضاء اخرى مثل شبكية العين Retina، الغدة الدمعية lacrimal gland وخلايا نخاع العظم كذلك الصفيحات الدموية والخصى وايضا غدة التوثة Thymus gland بالإضافة الى الخلايا مثل خلايا الجهاز المناعي والخلايا النجمية والخلايا الدباقية (Pandi-Perumal *et al*.,2006 ;Maldonado *et al*., 2010; Gonzalez-Arto *et al*.,2016). لا يقتصر افراز الميلاتونين على اللبائن، الا انه ينتج ايضا في الفقريات غير الثديية، وبعض اللافقريات فضلا عن افرازه في النباتات (Hardeland and Poeggeler ,2003 ; Pandi-Perumal *et al*.,2006). يصنع الميلاتونين بأخذ الحامض الاميني L-Tryptophan من الدم في خلايا الغدة الصنوبرية (Karasek,2006). وبمجرد تصنيع هرمون الميلاتونين فانه يفرز مباشرة ولا يخزن في داخل الغدة الصنوبرية حيث انه ينتشر Diffuse في الشعيرات الدموية والسائل المخي الشوكي Cerebrospinal fluid (Tan *et al*.,2010). حيث ان لهرمون الميلاتونين القابلية على عبور الحاجز الدماغي الدموي (Rahman,2007). يتأيض الميلاتونين في داخل خلايا الكبد من خلال عملية الهدرلة Hydroxylation ويطرح حوالي 5% من الميلاتونين الموجود في الدم عن طريق البول بشكل غير متأيض (Karasek ,2006).

1.2.15.2 الميلاتونين بوصفه مضاداً للأكسدة Melatonin as antioxidant

يظهر الميلاتونين فعالية مضادة للأكسدة (Srinivasan *et al*.,2014). حيث يعمل على كسح انواع الجذور الحرة للأوكسجين والنتروجين والتي تشمل($NO^{\cdot}$، O_2^{-} و $OH^{\cdot}$)، ايضا يعمل مع مضادات الاكسدة الاخرى ليوفر فعالية عالية بعملهم بوصفها مضادات اكسدة (Arnao and Hernandez ,2006). فضلا عن ذلك فان الميلاتونين يعمل على تحفيز عدد من الانزيمات المضادة للأكسدة مثل الكلوتاثيون بيروكسيديز والكلوتاثيون ريدكتيز (Reiter *et al*.,2002) بسبب خاصيته في العبور بسهولة من خلال اغشية الخلايا وكذلك الحاجز الدماغي الدموي BBB (Reiter *et al*.,2010). حيث يعد الميلاتونين من المركبات الذائبة بالدهون Lipophilic وكذلك ذائبة بالماء Hydrophilic، مما جعله قادراً على الانتشار بشكل واسع في المكونات الخلوية والتي تعزى اليها قابليته ووظيفته الدفاعية ضد الجذور الحرة التي تسبب الاضرار في معظم الجزيئات الحيوية حيث يؤدي وظيفته بكفاءة متساوية في معظم المكونات الخلوية كالنواة والسايتوبلازم فضلا عن الغشاء الخلوي (Reiter,1998). يعد هرمون الميلاتونين كاسحاً للجذور الحرة مضادا للأكسدة ذا فعالية عالية وذا تأثير وحماية عصبية (Spuch *et al*.,2010). فضلا عن ذلك له تأثير مضاد للشيخوخة وللتقدم بالعمر بسبب تأثيره القوي بوصفه مضاد للأكسدة ويعد ايضا مضاداً للالتهاب ومسرعاً لفعالية ونشاط المتقدرات (Hardeland *et al*.,2011). اضافة الى ذلك فان للميلاتونين دوراً مهماً في السيطرة على العديد من العمليات الفسلجية المهمة مثل دورة النوم والاستيقاظ Sleep-Wake cycle، درجة حرارة الجسم الاساسية، الاداء، اليقظة، افراز معظم الهرمونات، ودور الميلاتونين مهماً جداً في هذه الوظائف المهمة في الحفاظ على الحياة والتي تحدث بنسق تنظيمي في مرحلة الشباب، لكن في حالة التقدم بالعمر فهناك انحراف في النسق اليومي مع انخفاض في السعة ومشاكل في التوقيت وفوضى في النظام الزمني وفقدان التوازن والاستقرار فضلا عن فقدان الاستجابة ل (Zeitgebers) هو اي اشارة خارجية او بيئية تدخل او تزامن الايقاعات البايولوجية للكائن مع دورة الضوء/ الظلام (Kasarek ,2004).

2.2.15.2 الميلاتونين وعلاقته بالتقدم بالعمر

ترتبط الغدة الصنوبرية ارتباطا وثيقا بعملية التقدم بالعمر ويمكن ان تعد العامل الاول لحدوث الشيخوخة (Zhong and Liu ,2018). حيث يتغير شكل ووظيفة الغدة الصنوبرية خلال مرحلة التقدم بالعمر وتظهر بصورة متكلسة Calcified وايضا تصغر بالحجم و يؤدي هذا الى قلة في تخليق وافراز هرمون الميلاتونين والذي يؤدي الى اضطراب في النسق اليومي حيث تنخفض القابلية التنظيمية والتنسيقية نتيجة التغييرات التنكسية المتعددة للغدة الصنوبرية (Pierpaoli and Maestroni,1987). وتشير العديد من نتائج الابحاث الى انه مع التقدم بالعمر او حتى مع الامراض المرتبطة بالتقدم بالعمر مثل مرض الزهايمر، يحدث خللاً وظيفياً وفقدان للسيطرة في نواة SCN (Poeggeler *et al*.,1993).حيث ان هرمون الميلاتونين يعمل عمل ال Zeitgebers و بالتالي فانه يظهر تأثيرات مفيدة ضد عملية التقدم بالعمر بسبب تأثيراته المهمة في السيطرة على نظام النسيق اليومي (Poeggeler,2005). لهذا فان للميلاتونين تأثيرات عديدة مفيدة للكائنات الحية في مرحلة الشيخوخة كمضادات للأكسدة، لموت الخلايا المبرمج Antiapoptotic، مضادة للالتهاب و بايولوجية زمنية Chronobiological ،محورات مناعية Immunomodulaltory، فعالية عصبية صمية Neuroendocrine activity، مولدة للتكيف والتاقلم Adaptogenic، معززة النوم Sleep –promoting فضلا عن خصائص تخفيف التوتر Stress- relieving properties (Poeggeler *et al*.,1993 ;Reiter *et al*.,2002a ;Reiter *et al*., 2002 b ;Castroviejo *et al*.,2003) .

3.15.2 ل-كارنتين L-carnitine (LCA)

اكتشف الكارنتين (4-N-trimethyl ammonium -3-hydroxy-butyric acid) لأول مرة في مطلع القرن العشرين في سنة 1905 بواسطة العالم Gulewitsch and Kirmberg (Gulewitsch and Kimberg,1905). الكارنتين عبارة عن جزيئات صغيرة قابلة للذوبان في الماء تشبه الفيتامينات، لها دور اساسي ومهم في عملية التمثيل الغذائي، حيث يتعلق الدور الاساسي للكارنتين بعملية انتاج الطاقة الخلوية من خلال دوره الاساسي في نقل الاحماض الدهنية طويلة السلسلة من سايتوبلازم الخلية الى داخل المتقدرات لتحطيمها بعملية

الاكسدة من نوع بيتا β-Oxidation، حيث لا يمكن للأحماض الدهنية طويلة السلسلة او استرات المساعد الانزيمي A من دخول المتقدرات عبر اغشيتها، الا بنقلها حصرا باسترات الكارنتين (Bieber,1988). يصنع LCA من الحامض الاميني الميثيونين Methionine او بدقة اكثر فان LCA يصنع من S-Adenosyl methionine مع L-Lysine. كل الانسجة في الجسم ممكن ان تنتج مركب Gamma–butyrobetaine، وهو عبارة عن المركب الوسطي لتخليقLCA، لكن الانزيم المهم و القادر على عملية اضافة مجموعة الهايدروكسيل للمركب الوسطي الى LCA يتواجد فقط في الكبد والدماغ والكلية (Jacob and Belleville,1992). وتجهز تقريبا نصف كمية LCA في جسم الانسان من خلال عملية التخليق الحيوي والباقي عن طريق الطعام (Hollister and Gruber ,1996). يتواجد الكارنتين في الجسم بشكل حر وهو الكارنتين او بشكل مركبات اسايل Acylcarnitine و يتواجد معظم الكارنتين الداخلي حوالي98% ما بين العضلات الهيكلية و القلبية واقل من 1% يكون موجوداً في الدم، ويكون كل من الكارنتين والاسيل كارنتين في حركة ديناميكية مستمرة داخل الجسم خلال الجهاز الهضمي، الكبد والعضلات الهيكلية (Kerner and Hoppel ,1998). ولهذا فان هنالك حالة من التوازن ما بين انتشار الكارنتين والاسيل كارنتين بانتقال الكارنتين والاسيل كارنتين خلال الاغشية بنظام خاص به حيث لا يمكنهما عبور الاغشية البلازمية بشكل مباشر (Kerner and Hoppel ,1998). ويتوسط نقل الكارنتين مجموعة من النواقل العضوية موجبة الشحنة Organic Cation Transporters (OCTs) والتي لها اهمية كبيرة في الحفاظ على الاتزان البدني Homeostasis للكارنتين في الجسم، ويوجد ثلاثة انواع من OCTs وهي OCTs1، OCTs2، OCTs3 (Sharma and Black ,2009). OCTs1 ناقل قليل الالفة للمتقدرات يعتمد في النقل على الاس الهيدروجيني pH ولا يعتمد على عنصر الصوديوم (Wu *et al.*,2000). OCTs2 ناقل يعتمد على نواقل الايونات الموجبة الشحنة والمعتمدة على عنصر الصوديوم وهو ناقل مهم جدا للسيطرة على تركيز LCA خلال الغشاء البلازمي (Stanley,2004).OCTs3 ناقل لل LCA خلال غشاء البيروكسيسوم الخاص باللبائن Mammalian Peroxisome، تعتمد على نواقل الكارنتين داخل الخلية Intracellular carnitine – dependent transport ويعبر عنه بصورة خاصة في الكلى والخصى والامعاء (Lamhonwah *et al.*,2003). لهذا يعد LCA من المركبات الناقلة لمجموعة

الاسيل Acyl carrier compound ويتوسط نقل الاحماض الدهنية ذات السلاسل الطويلة والسلاسل المتوسطة خلال اغشية المتقدرات وتسهيل اكسدة الاحماض الدهنية المنقولة، وله دور مهم في نقل النواتج او المركبات الوسطيةIntermediate toxic compound للمركبات السامة الى خارج المتقدرات (Irwin and Pinkert,2010). ويمكن في حالة التقدم بالعمر التقليل من حالة العجز في وظيفة المتقدرات او يعكسها Reversed بإعطاء Acetyl-L-carnitine(ALCAR) المتواجد طبيعيا على اغشية المتقدرات (Glowinski and Iverson,1996). وينخفض نشاط البروتينات الناقلة للأيون Several anion carrier proteins مثل ايون الفوسفات ATP/ADP (Reiter,1995) ونواقل الكارنتين – Carnitine carriers (Jayachandran *et al*.,1996). فضلا عن السايتوكروم اوكسيديز (Reiter,1995) في متقدرات قلوب الجرذان الكبيرة بالعمر، ولوحظ في حالة اعطاء ALCAR للجرذان المسنة استعادة نشاط الغشاء الخلوي الى مستوى مقارب لمستواه في الجرذان البالغة الطبيعية (Paradies *et al*.,1999). وللكارنتين دور في تنظيم سمية مجموعة الاسيل المتأيضة جزئيا Partially metabolized acyl group من خلال طرحها بشكل استرات الكارنتين Carnitine ester (Dural *et al*.,1990). فضلا عن دوره المهم بوصفه مضاداً للالتهاب ومضادا للأكسدة والمحافظة على استقراريه الغشاء (Schreiber,2005).

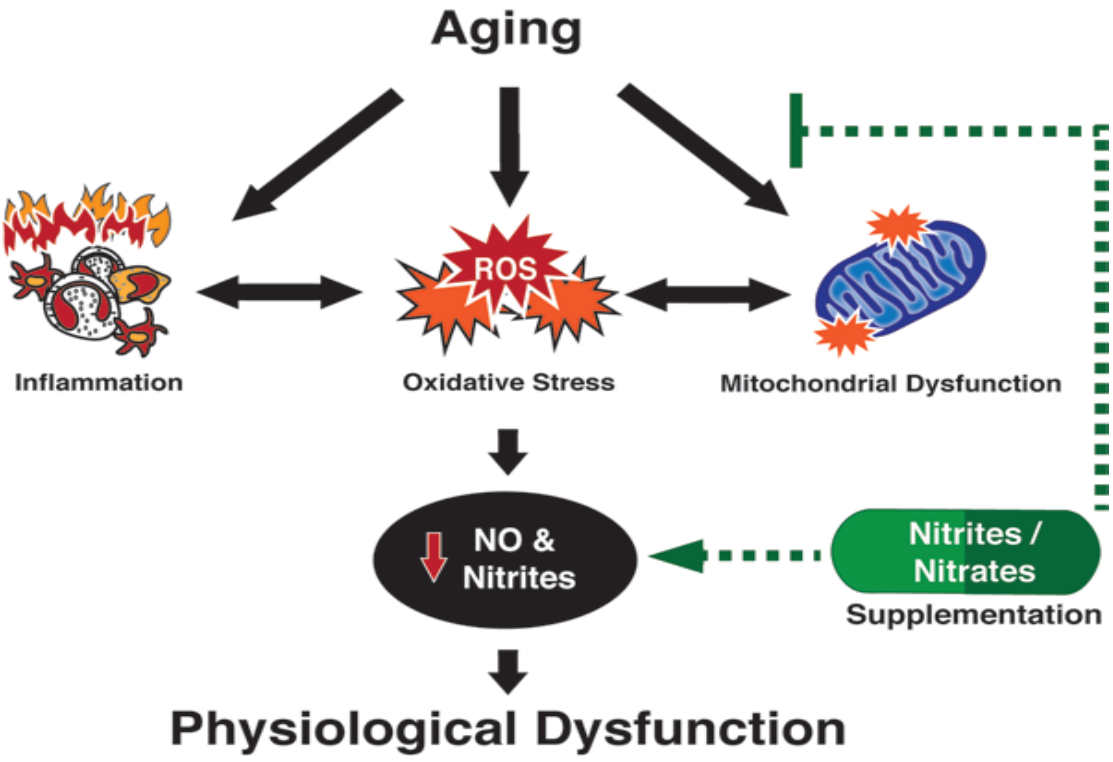
16.2 الكلوتاثيون Glutathione

ببتيد ثلاثي مكون من ثلاثة احماض امينية وهي السستين ،الكلوتامين و الكلايسين (Berger,2013). له شكلان الشكل المؤكسد Glutathione disulfide (GSSG) والشكل المختزل GSH (Mari *et al*.,2009). يحوي الكلوتاثيون في تركيبه على مجموعة الثايول Thiol group والحاوية على عنصر الكبريت (Berger,2013). يعد الكلوتاثيون احد مضادات الاكسدة غير الانزيمية وذلك بسبب احتواء تركيبه على مجموعة الثايول الحاوية على الكبريت والتي لها اهمية اساسية في اعطاء الكلوتاثيون الفعالية الحيوية والكيموحيوية (Rae and Williams,2017). الكلوتاثيون احد اهم مضادات الاكسدة حيث انه يعمل على تثبيط عملية بيروكسيدة الدهن في مرحلة البدء ويقوم بحماية بروتينات الخلية من التأكسد وايضا ازالة السمية من خلال ازالة اصناف الاوكسجين الفعالة بتفاعله مع الجذور الحرة وانتاجه جذر

الكلوتاثيل والذي يحمل طاقة تأكسدية ضعيفة بصورة مباشرة او يعمل وبوجود انزيم Glutathione peroxidase باختزال بيروكسيد الهيدروجين وتحويله الى الماء وبالتالي انهاء سمية بيروكسيد الهيدروجين (Elias *et al*.,2008). ايضا من خلال تفاعله مع الهايبوكلورس (HOCL) وجذر الهيدروكسيل ($HO^{\cdot}$) وكذلك من خلال عمله المهم بوصفه عاملاً مساعداً للعديد من التفاعلات الانزيمية مثل كلوتاثيون بيروكسديز وكلوتاثيون اس– ترانسفيريز Glutathione – S Transferase (Mari *etal*.,2009; Lushchak , 2012). وبذلك يعد من العناصر المهمة والحيوية في الدفاعات المضادة للأكسدة الخلوية (Kidd,2003 ; Lushchak , 2012). ويلعب الكلوتاثيون دور بإعادة تصنيع بعض مضادات الاكسدة مثل فيتامين C وE والتي هي من العوامل الدفاعية المهمة في الخلية (El-Missiry,2012) .يعد الكلوتاثيون مفتاح لمضادات الاكسدة من خلال التفاعل مع انواع الاوكسجين والنتروجين الفعالة (ROS) و (RNS) ويلعب الكلوتاثيون دور مهم في تنظيم سايتوكينات قبل الالتهاب Proinflammatory cytokines مثل عامل النخر الورمي –الفا والانترلوكين-6 (Makarov *et al* .,2006). وللكلوتاثيون تأثير مضاد للفيروسات حيث له القابلية على منع تكرار العديد من الفايروسات داخل الخلية و يعمل الكلوتاثيون على تعزيز الوظيفة الدفاعية للخلايا اللمفاوية نوع T (T-cell) والخلايا القاتلة الطبيعية ويعمل على تنظيم عمليات التكاثر والانقسام فضلا عن ذلك له دور مهم في تنظيم موت الخلايا المبرمج (Mari *et al*.,2009). تأتي اهمية الكلوتاثيون لدوره في عملية تخليق واصلاح التعبير الجيني لل DNAexpression DNA (Valko *et al* .,2007). فضلا عن ذلك فان للكلوتاثيون دوراً مهماً في الدماغ والخلايا العصبية لدوره المضاد للأكسدة فيها وكونه معدل عصبي Neuromodulator ويحافظ على ديمومة الخلايا العصبية (Oja *et al*.,1994). حيث انه يتفاعل بصورة مباشرة مع مختلف مركبات الجذور الحرة كتأكسده بوساطة جذر الهيدروكسيل $HO^{\cdot}$ (Gardner and Aust,2009) وجذر بيروكسي نتريت (Calabrese *et al*., 2009). وله دور في ازالة سمية اوكسيد النتريك ($NO^{\cdot}$) ، فضلا عن ازالة سمية نواتج عملية بيروكسدة الدهن الناتجة من تأثيرات اصناف الاوكسجين الفعالة مثل المالوندايالديهايد(MDA) و – 4 Hydroxy-2 nonenal (4HNE) (Siems *et al*.,2010; Zhu *et al*.,2009) والعديد من النواتج الايضية الناتجة عن الاضرار التاكسدية (Lushchack ,2011) .

17.2 اوكسيد النتريك Nitric oxide (NO)

جزيئات او مركبات ذات اشارات غازية، تعمل على تنظيم العديد من العمليات الفسلجية ، وجودها ضروري للحفاظ على الوظائف الفسلجية وكذلك الصحة خصوصا مع التقدم بالعمر (Johnson *et al* .,2017). يتم انتاج NO في داخل الجسم من خلال مسارين حيويين، الاول انتاج NO من خلال مسار L-arginine-NO-synthase pathway، الذي من خلاله يحفز انتاج وتصنيع انزيم اوكسيد النتريك سينثيز Nitric Oxide Synthase (NOs) ويعمل بدوره على تحفيز تفاعل ما بين الحامض الاميني L–arginine مع الاوكسجين ليكون NO (Reutov and Sorokina,1998). بينت الدراسات الحديثة امكانية انتاج NO من خلال اكسدة كل من النترات والنتريت بواسطة عمليات اكسدة مختلفة والتي تشمل Nitrate and Nitrite reductase والذي يعد المسار الثاني لإنتاج NO (Lundberg *et al* .,2009 ;Torregrossa *et al* .,2011). يتصف NO بعمر نصف قصير (عمر النصف اقل من 15 دقيقة) حيث انه يتاكسد بسرعة الى النتريت ومن ثم الى النترات ، كلا النتريت والنترات هي المركبات الوحيدة التي تعمل على تخزين دوراني ثابت لNO، والذي ممكن ان يتاكسد بسرعة الى NO لاستعادة مستوياته الطبيعية في داخل الجسم (Johanson *et al*.,2017; Habib and Ali, 2011). ومن اهم خصائصه انه يذوب في الاوساط المائية والدهنية، وهذه الصفة اعطته امكانية الانتشار من خلال السايتوبلازم والاغشية البلازمية مابين الخلايا (Habib and Ali,2011). يتواجد ال NO بثلاثة اشكال، اوكسيد النتريك العصبي Neuronal Nitric Oxide (nNO)، اوكسيد النتريك المحرض Inducible Nitric Oxide (iNO) وكذلك اوكسيد نتريك بطانة الاوعية الدموية Endothelial Nitric Oxide(eNO) (Blaise *et al*.,2005). يعمل اوكسيد النتريك كمرسل يسيطر على معظم العمليات والوظائف الفسلجية مثل النقل العصبي، ارتخاء العضلات الملساء الوعائية وتنظيم ضغط الدم، فضلا عن ميكانيكيات دفاعية و في التنظيم المناعي (Droge,2002;Victor *et al*.,2004).



الشكل(7) الميكانيكيات الكامنة للتقدم بالعمر والمسببة للاختلال العصبي

(Johanson *et al*.,2017)

تنخفض فعالية اوكسيد النتريك مع التقدم بالعمر، لحصول اضرار للأجهزة التي تحتاج ال NO للمحافظة على تحويل الاشارات Signals واداء الوظيفة (Johanson *et al*.,2017). ينخفض مستوى اوكسيد النتريك مع التقدم بالعمر بسبب زيادة حالة الاجهاد التأكسدي والذي يعد السبب الرئيس لحدوث التقدم بالعمر (Torregrossa,2011;Seals *et al*.,2011) (شكل 7). ويزداد في حالة التقدم بالعمر انتاج جذر السوبر اوكسيد الذي بدوره يتفاعل مع اوكسيد النتريك بصورة سريعة ويؤدي الى تكوين بيروكسي نتريت Peroxy nitrite والذي يعمل على أكسدة ما تبقى من اوكسيد النتريك(Ferrer-Sueta and Radi ,2009). من جهة أخرى فان زيادة مستوى السوبر اوكسيد يعمل على اظطراب في تنظيم انزيم اوكسيد النتريك سينثيز (NOS) Nitric Oxide Synthase من خلال اختزال العامل المساعد المهم لإنتاج اوكسيد النتريك Tetrahydrobiopterin BH_4 والذي يعمل على انتاج جذر السوبر اوكسيد مقابل قلة في انتاج اوكسيد النتريك (Luo *et al*.,2014).

18.2 النيوروكلوبين Neuroglobin (NGB)

شكل من اشكال الكلوبينات globins المكتشفة في داخل الانسجة، يتصف بان له الفة عالية للارتباط مع الاوكسجين، يتواجد NGB في داخل الخلايا العصبية للفقريات في كلا الجهاز العصبي المركزي والجهاز العصبي المحيطي (Awenius *et al*.,2001; Garry and Mammen,2003). يتواجد النيوروكلوبين بشكل عام في الخلايا العصبية وبشكل اوسع في الجهاز العصبي، لكن تواجده يكون بكثرة في قشرة المخ ، قرن امون، المهاد، تحت المهاد والمخيخ لدماغ القوارض (Hundahl *et al*.,2008). يزداد التعبير الجيني للنيوروكلوبين في الغدة الكظرية، الخصى فضلا عن خلايا جزيرات لانكرهانز البنكرياسية حيث يتركز في هذه الانسجة بشكل كبير بسبب احتوائها على اعداد كبيرة من المتقدرات (China Articles,2011). بعد اكتشاف هذا النوع من الكلوبين في الانسجة العصبية وكذلك الدماغ تبين انه يشابه الهيموكلوبين (Mammen *et al* .,2002) . وبذلك فانه يعد النوع الثالث من انواع الكلوبينات الحاملة للأوكسجين ،والذي يتواجد فقط في الجهاز العصبي (Yu *et al*.,2013). لهذا فان وظيفة ال NGB تكون مشابهة لوظيفة المايوكلوبين Myoglobin والذي يعمل على نقل الاوكسجين الى متقدرات الخلايا العصبية Gotting and Nikinmaa). (2015, لهذا فان الدراسات الحديثة بينت ان للنيوروكلوبين علاقة وثيقة مع نقص الاوكسجين – نقص التروية Ischemia–Hypoxia والتي تعمل على حدوث اضرار في الدماغ (Song *et al*.,2014)

يلاحظ في العديد من الحالات المرضية حدوث خلل في تنظيم وتعبير النيوروكلوبين كاستجابة للحالة المرضية كنقص التغذية الدموية خلايا المخ ونقص الاوكسجين وكذلك حالات التسمم (Zhang *et al*.,2013). يحمي النيوروكلوبين الخلايا العصبية التي تكون تحت تأثير الاجهاد التأكسدي من خلال تثبيط النقص في تركيز cAMP والذي يحدث تحت تأثير الاجهاد التأكسدي وبالتالي يحمي الخلايا من الموت (Watanabe *et al*., 2012). تشمل الية الحماية التي يوفرها النيوروكلوبين عمله كمادة حساسة للأوكسجين وكذلك عمله كجزيئات خازنة Storage molecule (Schmidt *et al*.,2003). فضلا عن عمله كمثبط لتفكك النيوكليوتيدات وبالاخص الكوانين (Watanabe and Wakasugi,2008). يتداخل

النيوروكلوبين مع Na– K ATPase (Xu *et al*.,2003). ويعمل ايضا على تحسين اداء وظيفة المتقدرات من خلال وفرة الاوكسجين وكذلك في شبكية العين (Liu *et al*.,2009). وتثبيط عملية موت الخلايا المبرمج (Raychaudhuri *et al*.,2010). فضلا عن ذلك فان الوظيفة الاكثر اهمية هو دوره ككاسح لأصناف الجذور الحرة الفعالة السامة مثل اول اوكسيد النتروجين Nitrogen monoxide وبيروكسي نتريت Peroxy nitrite وايضا بيروكسيد الهيدروجين (Herold *et al*.,2004). وبهذا يعمل النيوروكلوبين على كسح اصناف الاوكسجين الفعالة (ROS) واصناف النتروجين الفعالة (RNS) والتي تسبب حدوث الاجهاد التأكسدي خصوصا في خلايا المخ مؤدية الى حدوث نقص التروية في خلايا المخ، ولهذا فان زيادة مستوى النيوروكلوبين تؤدي الى حماية الخلايا العصبية من تأثير الجذور الحرة مثل جذر بيروكسيد الهيدروجين، وتأتي هذه الحماية بالدرجة الاولى من خلال خصائص النيوروكلوبين المضادة للأكسدة (Li *et al*.,2008). في حالة التقدم بالعمر فان من المتوقع انخفاض مستوى تواجد او التعبير عن النيوروكلوبين في الدماغ (Sun *et al*.,2005).

19.2 انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز Superoxide Dismutase(SOD)

نوع من انواع الانزيمات يحفز التفاعل الذي يعمل على تحطيم ايونات السوبر اوكسيد الى ايون الاوكسجين وكذلك بيروكسيد الهيدروجين (Rahman,2007).

$$2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

يتواجد انزيم SOD في جميع انواع الخلايا الهوائية Aerobic cells وكذلك في السوائل الخارج خلوية (Johanson and Giulivi,2005). يوجد ثلاث انواع من الانزيم بالاعتماد على العامل المساعد–العنصر المعدني المرافق للأنزيم، فقد يكون النحاس او الزنك Cu/Zn او قد يكون العنصر المعدني الحديد Fe، المنغنيز Mn وكذلك النيكل Ni، حيث يتواجد Mn–SOD بشكل رئيس في المتقدرات والبيروكسيسوم Peroxysomes، ويتواجد الشكل Fe-SOD في البيروكسيسوم ويتواجد Cu/Zn-SOD في البيروكسيسوم وكذلك السايتوبلازم Cytosol (Valko *et al*.,2007) .فضلا عن ذلك فان للسوبر اوكسيد دسميوتيز ثلاثة انماط وهي SOD1 يوجد في السايتوبلازم و SOD2 في المتقدرات و SOD3 خارج الخلية (Victor *et*

(*al*.,2004. يعتبر انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز فضلا عن انزيم الكاتاليز Catalase من الانزيمات المهمة التي تعمل على ازالة السموم المتكونة نتيجة تكون او وجود الجذور الحرة في الدماغ، حيث ان النقصان الحاصل في هذه الانزيمات والمتعلق بالتقدم بالعمر يجعل انسجة وخلايا الدماغ اكثر عرضة واحتمالية لزيادة تكوين الجذور الحرة وبالتالي زيادة الاضرار الناتجة عنها (Nishanthi and Anuradha ,2012). وتقل نشاط وفعالية انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز مع عملية التقدم بالعمر (Marmol *et al*., 2010; Wang *et al* .,2012; Sun *et al*.,2013; Yang *et al*.,2013;Ye *et al*.,2014) .

20.2 الدور الالتهابي في عملية التقدم بالعمر Inflammatory role in aging

السايتوكينات Cytokines عبارة عن رسل ببيتدية التركيب ذائبة Soluble peptide messengers، تصنع في الخلايا اللمفاوية (ولهذا فأنها اصلا تسمى الليموفوكينات Lymphokines) والعدلات Neutrophilsو الخلايا البلعمية Macrophages وايضا الخلايا العصبية (Morley and Baumgarther ,2004). تفرز السايتوكينات من الخلايا المناعية النشطة وتعمل وسيطاً في الاتصال الخلوي بين الخلايا او في داخل الخلية نفسها (Rouveix 1997 ; Holloway *et al* .,2002). وهي جزء من نظام الاشارات الكيميائية التي تعمل على تنظيم التطور، اصلاح الانسجة، تكوين الدم Haemopoiesis، الالتهاب، وكذلك الاستجابات المناعية المتخصصة وغير المتخصصة(Haddad *et al*.,2002).

الخلايا الدباقية Microglia هي الخلايا المناعية الرئيسة الموجودة في الدماغ تشبه الخلايا البلعمية Macrophage وتشتق هذه الخلايا من الخلايا الجذعية لنخاع العظم ولكنها تبقى محصورة Trapped ضمن الجهاز العصبي المركزي خلال المراحل الاولى للتطور (Lynch 2010,. و في الظروف الطبيعية اي في حالة الراحة "Resting state " وعدم وجود الالتهاب فان الخلايا الدباقية تكون ذات مظهر متشعب (Neumann,2001) في حين عند تحفيزها فإنها تخضع لتحور مظهري ووظيفي و تكون مشابهة لتلك الخلايا الدباقية المتحفزة والتي تتواجد في الخلايا التي تتضمن وجود المستضد Antigen presentation اوعوامل التغذية العصبية Neurotrophins، الكيموكينات Chemokines، السايتوكينات Cytokines والخلايا التي

تظهر وظائف بلعمية (Lynch *et al*.,2007). لهذا فان تحفيز الخلايا الدباقية يعد المصدر الخلوي الرئيس والاساسي لتكوين السايتوكينات الالتهابية من ضمنها IL-6 و TNF-alpha، ومن جهة أخرى فان الخلايا النجمية Astrocytes عند تحفزها تعمل على تحفيز وافراز السايتوكينات خصوصا IL-6 (Li *et al*.,2009). تتعلق عملية التقدم بالعمر بزيادة النشاط الالتهابي في الدم من خلال زيادة مستوى الدوران لكل من TNF- alpha (Bruunsgaard *et al*.,1999) و IL-6 (Cohen *et al*.,1997) و مضاد السايتوكاين (Catania *et al*.,1997). حيث ان زيادة النشاط الالتهابي في حالة التقدم بالعمر يكون ذا علاقة مع العمليات الامراضية المرتبطة بعملية التقدم بالعمر (Ross,1999). وتحدث زيادة نشاط في الخلايا الدباقية و الخلايا النجمية في حالة التقدم بالعمر (Godbout *et al*.,2005)، مما يؤدي الى زيادة تكوين السايتوكينات الالتهابية في ادمغة كل من الجرذان والفئران المسنة (Campuzano *et al*.,2009). ايضا لوحظ في القوارض المسنة والمتقدمة بالعمر زيادة في تركيز السايتوكينات الالتهابية في قرن امون الدماغ مثل IL-1 β (Lynch *et al*.,2007) وزيادة IL-6 (Ye and Johnson ,1999). تشير البحوث بان عملية التقدم بالعمر عملية متعلقة بزيادة مستوى السايتوكينات الالتهابية وكذلك بعض الاشارات التي تعمل كمحرضة للالتهاب Proinflammatory markers، لهذا تعرف التغييرات المناعية المتعلقة بالتقدم بالعمر بالشيخوخة المناعية "Immunosenescence" والتي يزداد فيها افراز السايتوكينات بواسطة الانسجة الدهنية والتي تكون السبب الرئيس لحدوث الالتهاب المزمن وتعرف هذه الظاهرة بالشيخوخة الالتهابية وتتمثل بزيادة IL-6 و TNF-alpha (Michaud *et al*.,2013).

الانترلوكين -6 Interlukine-6 (IL-6) من اوائل السايتوكينات والذي يرتبط مع عملية التقدم بالعمر ولهذا فانه يسمى بسايتوكاين الشيخوخة Geriatric cytokine (Ershler,2003). يفرز الانترلوكين -6 من الخلايا البلعمية والخلايا اللمفاوية نوع T حيث تعتبر TNF-alpha وIL-1β محررات قوية لإفراز IL-6، ويعمل IL-6 عند افرازه على خفض Down-regulation افراز وتحرير TNF-alpha و IL-1β واعطاءهم الدور المحرض والمضاد للالتهاب Pro and anti inflammatory، تؤدي زيادة IL-6 الى فقدان الكتلة العضلية والعظمية ، وارتفاع درجة الحرارة و تنشيط محور تحت المهاد – النخامية الكظر وايضا تنشيط

الاستجابات الكبدية الحادة و تقليل كمية الهيموكلوبين مما يؤدي الى حدوث تخفيف الدم (Ershler and Keller,2000 ;Leng *et al*.,2002). يلاحظ في الاشخاص المسنين ارتفاع مستوى IL-6 يكون ذا علاقة وبشكل عكسي مع قوة العضلات وايضا مع الكتلة العضلية والاداء الفيزيائي والاتزان ويؤثر على سرعة المشي ولهذا فانه يتعلق بشكل ايجابي مع الموت (Tilives *et al*.,2004 ; Payette *et al*.,2003). يشابهIL-6 في عمله عامل النخر الورمي – الفا حيث انه يلعب دورين الاول عامل محفز للالتهاب وفي نفس الوقت يعد مضادا للالتهاب Anti inflammatory (Scheller *et al*.,2011). فضلا عن تاثيره في الدماغ حيث يعمل IL-6 على الحماية العصبية من خلال حماية انسجة الدماغ من التسمم العصبي ومن الاجهاد التاكسدي و تثبيط عمل TNF-alpha وايضا عملية انسلال Diapedesis خلايا الدم البيض من نوع العدلة ، فضلا عن عمله بوصفه معززاً لعملية التئام انسجة الدماغ (Erta *et al* .,2012) .عرف عامل النخر الورمي –الفا (TNF-alpha) لأول مرة عامل مهم يؤدي الى تنكس سريع للخلايا السرطانية المزروعة في الفئران (Carswell *et al*.,1975). لكنه يعرف حاليا بانه عبارة عن سايتوكاين محرض للالتهاب يقع ضمن الاستجابة المناعية الفطرية او الطبيعية Innate immune response (Clark, 2007). ينتج هذا السايتوكاين من الخلايا البلعمية وكذلك من الخلايا الدهنية Adiopcytes (Faltraco *et al*.,2003). لعامل النخر الورمي – الفا في الجهاز العصبي المركزي دورين اساسيين، حيث انه يظهر دوراً مهماً في الحفاظ على اتزان الخلايا العصبية وايضا له دور مهم في الفسلجة المرضية Pathophysiological role (Montgomery and Bowers ,2012; Santello and Volterra ,2012). ولعامل النخر الورمي– الفا عدد من الوظائف المنظمة للعمليات الفسلجية الحرجة في الجهاز العصبي المركزي السليم ، مثل مرونة التشابك العصبي (Beattie *et al*.,2002; Kaneko*et al*.,2008) ، الذاكرة والتعلم (Beste *et al*.,2010) وايضا النوم (Krueger,2008) عملية اخذ الطعام والماء (Plata-Salamari ,2001)، فضلا عن حث الخلايا النجمية لقوة التشابك العصبي Astrocyte-induced synaptic strength (Santello *et al*.,2011). فضلا عن ذلك فان من تأثيراته حالة فقدان الشهية Anorexia، تحلل الدهون lipolysis وتثبط انزيم لايبيز البروتينات الدهنية lipoprotein lipase وبالتالي يؤدي الى حدوث ظاهرة متلازمة الهزالCachexia syndrome (Faltraco *et al*.,2003).

الفصل الثالث

المواد و طرائق العمل

1.3 الاجهزة والعدد المستخدمة في التجربة

الجهاز	الشركة و المنشأ
الاجسام المضادة للانترلوكين 6- Anti-IL-6 antibody	AL-shkarite establishment for medical supply ,Jordan
النمام (المحرك) المغناطيسي Magnetic stirrer hot plat	Taiwan
انابيب شعرية Capillary tubes	--
جهاز الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم Enzyme Linked Immune Sorbent Assay	Chromate, Germany
جهاز المشراح Microtome	Germany
جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer	SpectroDirect ,Germany
جهاز المؤصدة لتعقيم المواد والادوات	Hirayama, Germany
جهاز قياس الاس الهيدروجيني pH meter	HANNA, Microprocessor pH meter ,Germany
جهاز نبذ مركزي Centrifuge	Wagtech international – chalice, UK
حاضنةIncubator	
حامض الفا-ليبويك	Santa-Cruz biotechnology Cat.No.sc-202032
حمام مائي Water Bath	B&T, Germany
زجاجيات مختبرية متنوعة ومختلفة الاحجام	--
سكر الكالاكتوز	Santa-Cruz biotechnology Cat. No.sc-202564

سلايدات وغطاء سلايدات زجاجية	--
ادوات تشريح مختبرية	--
عدة عزل mRNA	Promega , USA
عدة لتخليق cDNA	Promega , USA
عدة لتقدير مستوى TNF-α	AL-shkarite establishment for medical supply ,Jordan
عدة لتقدير مستوى السوبر اوكسيد دسميوتيز SOD	AL-shkarite establishment for medical supply ,Jordan
عدة لتقدير مستوى النتريك اوكسيد Nitric Oxide	Elabscience,USA
عدة لتقدير مستوى النواتج النهائية لعملية التسكر Advanced glycation end product (ADGs)	AL-shkarite establishment for medical supply ,Jordan
عدة لتقدير مستوى النيوروكلوبين Neuroglobin	AL-shkarite establishment for medical supply ,Jordan
عدة للكشف عن Rabbit-DAB (poly-HRP)	AL-shkarite establishment for medical supply ,Jordan
ل- كارنتين	Natural field Bio-Technique Cat.NO NF-20180913,Chine
ماصة دقيقة سعة (1-100) مايكروليتر Micropipette	Germany
ماصة دقيقة سعة(1-10) مايكروليترMicropipette	Germany
مجهر ضوئي Light Microscope	HM-IUX Leitez wetzlae, Germany
ميزان الكتروني حساس	Scaltec, Germany
ميزان لوزن الجرذان	Sensor Disc technology,China
هرمون الميلاتونين	Santa-Cruz biotechnology Cat.NO.sc-207848A

2.3 الحيوانات

تم الحصول على الجرذان البيض Albino rat من جامعتي بغداد والموصل، وتمت عملية التربية والتكاثر في غرفة خاصة لتربية الجرذان المختبرية في كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل، مكيفة بدرجة حرارة (25±2) درجة مئوية، وبدورة ضوئية Photoperiod 12 ساعة ضوء و12 ساعة ظلام. خضعت الجرذان للعناية والمراقبة اليومية المستمرة حتى موعد اجراء التجربة وقدم لها الماء والغذاء (العليقة) بشكل حر *ad libitum* غذيت على عليقة اعتيادية طبقا للمجلس الوطني للبحوث National Research Council قسمت الجرذان الى فئتين، فئة بعمر 20 اسبوعاً ومعدل وزن 250 غراماً تقريبا والفئة الاخرى بعمر 96 اسبوعاً ومعدل وزن 450 غراماً تقريبا.

3.3 تصميم التجربة والطرائق الخاصة بإجرائها:

1.3.3 مجاميع التجربة

استخدمت في التجربة فئتين من الجرذان وكالآتي:

1.1.3.3 الفئة الاولى (عمر 4 اشهر): مجموعة الجرذان المتقدمة بالعمر المستحدث ب D-galactose حيث تم تقسيم الجرذان الى 8 مجاميع بصورة عشوائية كل مجموعة شملت (6 جرذان) سليمة وعوملت لمدة 15اسبوعاً كالاتي:

1. المجموعة الاولى :(مجموعة السيطرة) جرعت بالماء المقطر عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية والحقن تحت الجلد.

2.المجموعة الثانية: عوملت بمادة D-galactose بجرعة 300 ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن تحت الجلد اذيب بالماء المقطر (Chen *et al*.,2011) .

3.المجموعة الثالثة: جرعت بحامض الفا–ليبويك بجرعة 100ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية اذيب بالماء المقطر (Long *et al*.,2007) .

4.المجموعة الرابعة: جرعت بهرمون الميلاتونين بجرعة 10 ملغم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية اذيب بالكحول بتركيز 0.1 (Ali *et al*.,2014).

5. المجموعة الخامسة: جرعت بمادة L-Carnitine بجرعة 100 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية اذيب بالماء المقطر (Faipoon *et al*.,2006).

6. المجموعة السادسة: عوملت بمادة D-galactose بجرعة 300 ملغم /كعم من وزن الجسم عن طريق الحقن تحت الجلد وحامض الفا–ليبويك بجرعة 100 ملغم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية (Arivazhagan *et al*.,2001; Long *et al*.,2007).

7. المجموعة السابعة: عوملت بمادة D-galactose بجرعة 300 ملغم /كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن تحت الجلد و هرمون الميلاتونين بجرعة10 ملغم /كغم من وزن الجسم عن طريق الفم (Ali *et al*.,2014 ; Guo *et al*., 2017).

8. المجموعة الثامنة: عوملت بمادة D-galactose بجرعة 300 ملغم /كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن تحت الجلد ومادة L- Carnitine بجرعة 100 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية (Lohninger *et al*., 2001).

2.1.3.3 الفئة الثانية (عمر 12 شهرا): مجموعة الجرذان المتقدمة بالعمر طبيعيا، استخدمت جرذان متقدمة بالعمر طبيعيا وقسمت بصورة عشوائية الى اربع مجاميع بواقع (6 جرذان) لكل مجموعة وعوملت لمدة 15 اسبوع كالاتي:

1.المجموعة الأولى (مجموعة السيطرة): جرذان متقدمة بالعمر طبيعيا جرعت بالماء المقطر عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية.

2. المجموعة الثانية: جرذان متقدمة بالعمر طبيعيا جرعت بحامض الفا–ليبويك بجرعة 100 ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية (Liu *et al*.,2002).

3.المجموعة الثالثة: جرذان متقدمة بالعمر طبيعيا جرعت بهرمون الميلاتونين بجرعة 10 ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية (Jenwitheesuk *et al*., 2017).

4. المجموعة الرابعة: جرذان متقدمة بالعمر طبيعيا جرعت بمادة L-Carnitine بجرعة 100 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية (Liu *et al*.,2002).

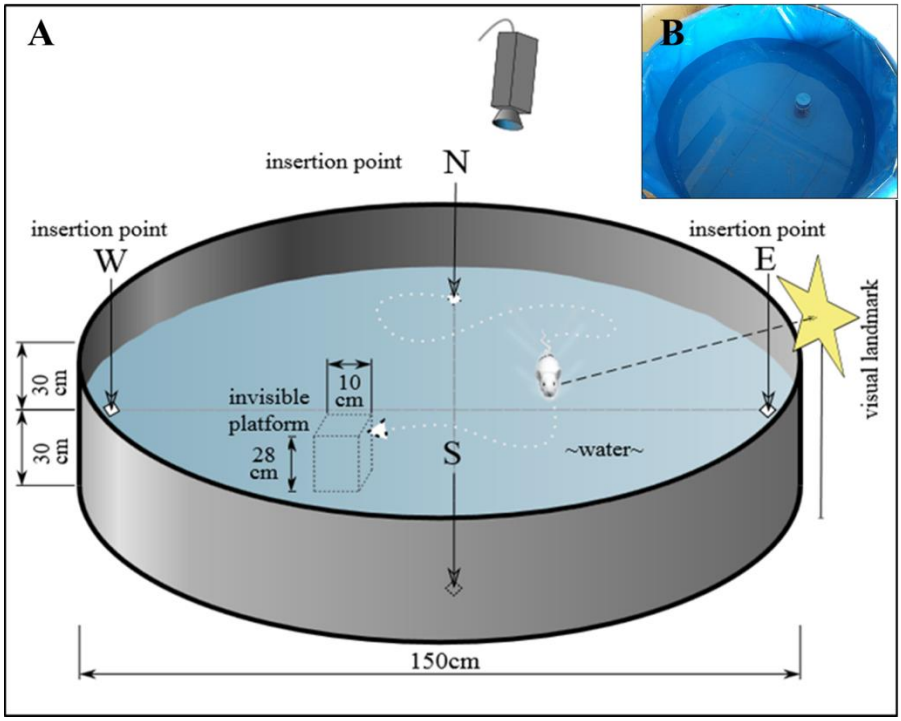
4.3 جمع عينات الدم

جمعت عينات الدم من الجرذان بحجم 5 مليلتر من الظفيرة المشيمية الوريدية Retro-orbital venous plexus لزاوية العين اليمنى بواسطة انبوبة شعرية Capillary tube غرست في جيب محجر العين Orbital sinus (Atta *et al*.,1983). ترك الدم للانسياب من خلال الانبوبة الشعرية الى انابيب خاصة وتركت الانابيب الحاوية على عينات الدم في درجة حرارة المختبر لمدة 15 دقيقة. فصل مصل الدم باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة ولمدة 15 دقيقة. حفظ المصل في انابيب خاصة لحفظ المصل في المجمدة بدرجة 20- درجة مئوية لحين اجراء التحاليل والفحوصات الخاصة بالدراسة (Saeed *et al*., 2017).

5.3 متاهة موريس المائية

طورت هذه الطريقة من قبل الباحث ريتشارد موريس (Morris,1981;Morris,1984) وهي عبارة عن نموذج قائم على السباحة يتعلم فيه الحيوان الهروب الى منصة مخفية تحت سطح الماء، يمكن من خلال هذه المتاهة اختبار مستوى الذاكرة والذكاء (D Hooge and De Deyn,2001). اجري هذا الاختبار بثلاث اوقات خلال فترة التجربة وهي فترة الصفر وفترة نصف التجربة عند الاسبوع السابع وعند نهاية التجربة عند الاسبوع الخامس عشر. تتكون المتاهة المائية من حوض او بركة مائية دائرية كبيرة قطرها 150 سم، ارتفاعها 60 سم مملوءة بالماء بعمق 25سم عند درجة حرارة 23± 1 درجة مئوية. ينقسم فيه الحوض الى اربعة اقسام او ارباع متساوية، حيث يتم وضع المنصة داخل أحد ارباع الحوض ويمكن التحكم في ارتفاع وانخفاض المنصة خلال مراحل التجربة (Yanar,2011). يجب ان يتطابق لون المنصة مع لون الحوض مما يجعل من الصعب على الحيوان تحديد موقعه اثناء التجربة، دربت الجرذان بوضعها على المنصة لمدة 20 ثانية بحيث يكون ارتفاع المنصة 1 سم فوق مستوى سطح الماء و يجب خفض المنصة 1 سم تحت مستوى سطح الماء عند اجراء الاختبار ويوضع الحيوان بهدوء في الماء ويخضع الى ثلاث تجارب متتالية في البركة من خلال وضعه بثلاثة مواضع شمال، شرق وغرب المنصة وذلك ليعلم الحيوان ان المنصة موجودة في الماء وللسماح للحيوان بالتأقلم. عند اجراء الاختبار يوضع الحيوان برفق في الماء في احد المواضع التي تواجه المنصة ويسمح للحيوان بالسباحة والبحث عن المنصة لمدة 60 ثانية، اذا لم يعثر الحيوان على المنصة خلال الفترة الزمنية المحددة مباشرة يتم توجيه الحيوان الى المنصة برفق باستخدام اليد، هذا سيعلم الحيوان وجود منصة للهروب من الماء، تكرر العملية مرتين او ثلاثة لنفس الحيوان ويتم

حساب الزمن المستغرق للسباحة والزمن المستغرق للوصول الى المنصة (الهدف) وكذلك عدد مرات دوران الحيوان حول الحوض (Morris water maze–maze engineers) وكما موضح بالشكل (شكل8).



الشكل(8)A– رسم تخطيطي لاختبار المتاهة المائية لموريس للفئران والجرذان (Morris,.1981) B – تصنيع محلي لمتاهة موريس المائية حسب الابعاد في A.

6.3 جمع العينات

عند انتهاء مدة التجربة خدرت الجرذان باستعمال الايثر، ومن ثم تم عمل شق لجلد الجرذ بصورة طولية في المنطقة البطنية لجسمه، وتم بعدها قص العضلات البطنية وصولا الى التجويف البطني ، قطعت منطقة الحجاب الحاجز للوصول الى منطقة التجويف الصدري تم اخذ القلب والرئتين ، الكبد، الطحال، الكلى والخصى وسجل الوزن بالميزان الحساس ، اخذ جزء منها ووضعت في الانابيب الخاصة (Eppendorf tubes) وحفظت بالنتروجين السائل السائلLiquid Nitrogen بدرجة –190 درجة مئوية. حفظت جميع العينات في ثلاجة خاصة بدرجة –85 درجة مئوية. بعدها تم استخراج الدماغ من خلال فتح الجمجمة ووضع بمحلول دارئ الفورمالين المتعادل بتركيز10% (Luna,1968) وحفظت العينات جميعا لحين اجراء الاختبارات الخاصة بالدراسة.

1.6.3 محلول دارئ الفورمالين المتعادل Neutral Buffer Formalin

حضر من اذابة 6.5 غرام من ثنائي الصوديوم هيدروجين فوسفات Na_2HPO_4 و4 غرام من صوديوم ثنائي الهيدروجين فوسفات (NaH_2PO_4) في 100 مل من الفورمالين بتركيز 37–40%، ثم اضيف له 900 مل من الماء المقطر (Luna,1968).

7.3 تحضير الشرائح النسجية

حضرت الشرائح النسجية للدماغ اعتمادا على طريقة (Drury *et al.*,1985) وفق الخطوات الاتية:

1.7.3 الغسل Washing

غسلت العينات النسجية المحفوظة بمثبت دارئ الفورمالين المتعادل بالماء الجاري للتخلص من المحلول المثبت الزائد لمدة 15 دقيقة.

2.7.3 الانكاز Dehydration

مررت العينات بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (100%,90%,70%) ولمدة ساعتين لكل تركيز لغرض سحب الماء الموجود في العينات.

3.7.3 الترويق Clearing

للحصول على أكثر شفافية للعينات وضعت العينات خلال مرحلتين من الزايلول.

4.7.3التشريب والطمر Infiltration and Embedding

حفظت العينات في شمع البرافين بعدها تم وضعهما في فرن حراري بدرجة حرارة 60 درجة مئوية لمدة ساعتين. نقلت العينات الى شمع نقي منصهر جديدا وكررت هذه العملية مرتين وبمعدل ساعتين في كل مرة، غمرت بعدها العينات بصب الشمع المنصهر بهدوء في قوالب حديدية خاصة لعمل البلوك عل شكل حرف L-Shape L، نقلت بعدها العينات الى القوالب الحديدية الخاصة باستعمال ملقط مع ملاحظة التخلص من الفقاعات التي من المحتمل ان تتكون حول نموذج المقطع النسيجي باستخدام ابرة ساخنة، تركت القوالب للتصلب في جو المختبر.

5.7.3 التشذيب والتقطيع Trimming and Sectioning

شذبت قوالب الشمع تشذيب دقيق باستعمال شفرة حادة ثم ثبتت القوالب على جهاز المشراح الدوار وتم التقطيع بسمك 5 مايكروميتر على شكل اشرطة، فرشت الاشرطة المقطوعة في حمام مائي ساخن بدرجة حرارة 38–39 درجة مئوية، تم وضع المقاطع على الشرائح الزجاجية. تركت الشرائح في الهواء لتجف.

6.7.3 الصبغ Staining

صبغت المقاطع النسجية باستخدام صبغة الهيماتوكسلين –ايوسين وفقا لطريقة (Bancroft,1975). حملت المقاطع النسجية بالغطاء الزجاجي بواسطة DPX. فحصت المقاطع النسيجية تحت المجهر الضوئي وصورت باستعمال الكاميرا المثبتة على المجهر.

8.3 تقدير مستوى نواتج البروتين المؤكسد المتقدم في الدم Estimation of serum advanced oxidation protein products (AOPP) concentration

1.8.3 مبدا التجربة

تعد نواتج اكسدة البروتين المتقدم Advanced Oxidation Protein Products (AOPP) كمؤشر لأكسدة البروتين. والتي تنتج في المختبر من تفاعل الالبومين مع حامض الهيدروكلوريك، اما في الجسم فتنتج من التفاعل ما بين المواد المؤكسدة وبروتينات الدم، ولهذا تتكون هذه النواتج اثناء الاجهاد التأكسدي من خلال التفاعل ما بين بروتينات الدم والمؤكسدات المكلورة (Chlorinated oxidants) وتعد مؤشراً جيداً لتلف البروتين بالمؤكسدات (Baskol *et al*.,2012).

2.8.3 الكواشف

1.2.8.3 المحلول القياسي (Chloramine –T)

حدد المنحنى القياسي بوساطة تسقيط معدل الامتصاصية مقابل عدد من التراكيز والتي تراوحت بين (0–100) مايكروليتر للمحلول القياسي Cloramine –T بتركيز (250) مايكروليتر عند امتصاصية 340 nm.

2.2.8.3 المحلول الملحي الدارئ للفوسفات

Phosphate buffered saline (PBS 0.1M)

حضر المحلول بإذابة كلوريد الصوديوم NaCl ، كلوريد البوتاسيوم KCl ، بوتاسيوم ثنائي الهيدروجين فوسفيت KH_2po_4، ثنائي الصوديوم هيدروجيت فوسفيت Na_2Hpo_4 في الماء الخالي من الايونات وبدرجة حموضة pH 7.4.

3.2.8.3 ايوديد البوتاسيوم 1.16M

4.2.8.3 حامض الخليك المركز

5.2.8.3 خطوات التقدير Procedure

مكونات التفاعل	محلول التصفير	العينات (مايكروليتر)
المصل	--	200
محلول دارئ الفوسفات	1مل	800
ايوديد البوتاسيوم	50 مايكروليتر	50
خلط جيدا ومن ثم تم اضافة		
حامض الخليك الثلجي	100 مايكروليتر	100
قرات درجة الامتصاصية للعينات عند طول موجي 340 نانوميتر		

6.2.8.3 الحسابات

تم حساب التراكيز من خلال تسقيط النتائج التي تم الحصول عليها والمقدرة بالمايكروليتر على المنحنى القياسي لـ Chloramine-T.

9.3 تقدير مستوى المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربيتيوريك في الدم
Estimation of serum thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

1.9.3 مبدا التجربة

يحدث تفاعل حامض الثايوباربتيوريك بارتباط الشكل احادي الاندول للمالوندايالدهايد مع مجموعة المثيلين Methylene بالشكل الفعال لحامض الثايوباربيتيوريك (Brown and Kelly,1996).

2.9.3 الكواشف

حامض الثايوباربيتيوريك (TBA) % 0.67.
حامض الخليك الثلجي (TCA) 20%
محلول دارئ الفوسفات M 0.2عند درجة حامضية pH 7.4.

3.9.3 طريقة التقديرProcedures

مكونات التفاعل	محلول التصفير (مايكروليتر)	العينات (مايكروليتر)
المصل	--	150
ماء مقطر	150	--
TBA	750	750
TCA	750	750
محلول دارئ الفوسفات	350	350
مزج المحلول جيدا ووضع بعدها في حمام مائي عند درجة حرارة 90 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة		
تم ايقاف التفاعل بوضع المحاليل في حمام ثلجي لمدة 10دقائق		
تم عمل طرد مركزي للمحلول بواقع 3000 دورة لمدة 15 دقيقة		
اخذ الراشح وقيست درجة الامتصاصية عند درجة امتصاص 535 نانوميتر		

£ºLC = (µmol/L)TBARS conc.

حيث ان:

£º= معامل الامتصاص المولاري

º£: Extinction Coefficient= 1.56×10^{5} M^{-1} cm^{-1}

L= عرض خلية القياس (1cm)= Light path .

C= التركيز(µmol/L) concentration .

10.3 تقـدير مسـتوى الكلوتـاثيون فـي الـدم Estimation of serum glutathione (GSH)concentration

1.01.3 مبدا التجربة

قدر مستوى الكلوتاثيون (GSH) في مصل الدم طبقا للطريقة المحورة (Sedlack and Lindsay ,1968)، والمعتمدة على استخدام 5,5−dithio bis 2-nitro benzoic acid (DTNB) محلول المان والذي يختزل بسهولة باستخدام مركبات السلفاهايدريل (SH group) والمشابهة للكلوتاثيون الى مركبات ذات لون اصفر شديد. سجلت امتصاصية الكروموجين المختزل Reduced chromogen عند طول موجي 412 نانوميتر والذي يكون متناسباً بصورة مباشرة مع تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم.

2.10.3 المحاليل

حامض السلفوسالسليك 4%

محلول دارئ الفوسفات 0.1 M وبدرجة حامضية 8.

محلول المان 0.1 Mm

3.10.3 خطوات التقدير Procedures

مكونات التفاعل	محلول التصفير	العينات
مصل	--	150 مايكروليتر
ماء مقطر	150 مايكروميتر	--
حامض سلفوسالسليك	150 مايكروميتر	150 مايكروميتر
خلط المحلول جيدا ومن ثم تم عمل طرد مركزي للمحلول بواقع 3000 دورة/ لمدة 5 دقائق		
الراشح	150 مايكروليتر	150 مايكروليتر
محلول المان	4.5 مل	4.5 مل
قرات درجة الامتصاصية عند طول موجي415 نانوميتر		

4.10.3 الحسابات

$10^6 \times (\text{£°} \times L \;/\; A_{test} - A_{blank}) =$ (µmol/L)GSH conc .

حيث ان:

£°=معامل الامتصاص المولاري

Extinction coefficient = (13600 $M^{-1}cm^{-1}$)

L= عرض خلية القياس(1cm) = Light path .

11.3 تقدير تركيز نواتج عملية التسكر المتقدم AGEs، معامل النخر الورمي – الفا، النيوروكلوبين ،السوير اوكسيد دسميوتيز بطريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم Estimation of advanced glycation end products (AGEs), Tumar necrosis factor-α (TNF- α), Neuroglobin ,(NGB),Super oxide dismutase (SOD) in serum by the ELIZ

تم استخدام العدة المجهزة من Al-Shkairate medical supply,Jorden لكل من (AGES(Cat.NO.RDEER0268)،NGB(Cat.NO.RDEER1190)، TNF− α(Cat.NO.RDEER1393) وSOD(Cat.NO.rdeer0332)

1.11.3 خطوات العمل Procedures

تم استعمال تقنية الايلايزا Sandwich ELISA لتقدير مستوى AGEs وTNF−α وNGB وSOD وفقا للطريقة التالية .

1-غسل طبق الايلايزا مرتين قبل اضافة المحاليل القياسية وكذلك عينات الفحص و المحلول المقارن blank.

2−اضافة ml 0.1 من المحلول القياسي بتراكيز متتالية (باستخدام انابيب خاصة بواقع7 انابيب) وبشكل تنازلي وذلك باخذ 300 مايكروليتر من المحلول القياسي المخفف واضيف الى

اول انبوبة ومن ثم نقل 300 مايكروليتر من الانبوب الاول الى الثاني ومن ثم الثالث وصولا الى الانبوب الخامس لكل من AGEs وTNF-α وNGB وSOD.

3-اضافة 0.1ml من المحلول الدارئ الذي خفف سابقا الى الحفرة التي يعد تركيزها 0 وتعد المحلول المقارن blank.

4-اضافة 0.1ml من عينات المصل المخففة بنسبة 1:100 الى الحفر.

5-غطي الطبق بوضع اغطية خاصة وتم حضن الطبق لمدة 90 دقيقة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية في داخل الحاضنة.

6-رفعت اغطية الطبق ومن ثم التخلص من المحاليل في داخل الحفر، غسل الطبق مرتين بواسطة محلول الغسل مع الاخذ بنظر الاعتبار عدم جفاف المحاليل في الحفر خلال فترة الفحص.

7-اضافة 0.1ml من محلول الاجسام المضادة الكاشفة المعلمة بالبايوتين Biotin- labeled antibody الى كل الحفر من ضمنها حفر المحاليل القياسية وحفرة الصفر وحفر عينات الفحص، تمت اضافة المحلول الى اسفل الحفرة مع ملاحظة عدم لمس جوانب حفر الطبق. وتم تغطية طبق الايلايزا بغطاء شفاف خاص مرفق مع العدة التشخيصية ووضع بعد ذلك في الحاضنة بدرجة 37 درجة مئوية ولمدة 60 دقيقة .

8-رفعت اغطية الحفر بعد انتهاء فترة الحضن، غسل الطبق ثلاث مرات متتالية بمحلول الغسل مع ترك محلول الغسل Washing buffer في داخل الحفر لمدة دقيقة واحدة في كل مرة غسل.

9-اضافة 0.1ml من محلول SBAC الى كل الحفر ،تم تغطية الحفر بالأغطية الخاصة وبعدها تم الحضن لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية.

10 -تم ازالة اغطية الحفر، غسل الطبق 5 مرات متتالية بوساطة محلول الغسل Washing buffer مع ملاحظة ترك محلول الغسل مدة 1-2 دقيقة في داخل الحفر لكل مرة غسل.

11-اضافة 90µl من محلول TMB substrate لجميع الحفر ثم تم تغطية الحفر ووضع الطبق في الحاضنة مدة 15-30 دقيقة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية مع ملاحظة تحول لون المحلول الى لون ازرق في الحفر لكل من ,TNF -α, AGEs, NGB SOD .

12-اضافة 50µl من المحلول الموقف للتفاعل Stop solution الى جميع الحفر مع مزجها جيدا حيث يلاحظ تغيير اللون الازرق الى اللون الاصفر مباشرة.

13-تم قراءة الطبق مباشرة عند طول موجي 450 نانوميتر وسجلت قراءات الكثافة البصرية Optical Density (O.D.) في جهاز الايلايزا مباشرة بعد اضافة المحلول الموقف للتفاعل.

المادة	الكمية
صفيحة الايلايزا	8×12
المحلول القياسي المجفف بالتجفيدLyophilized standard	2 vial
دارئ التجفيف القياسي	20 ml
الاجسام المضادة الكاشفة المعلمة بالبايوتين	120ul
دارئ التخفيف للأجسام المضادة	10 ml
HRP-Streptavidin conjucate (SBAC)	120ul
دارئ التخفيف ل SBAC	10ml
المادة الخاضعة للTMB TMB substrate	10ml
محلول ايقاف التفاعل stop solution	10ml
محلول دارئ للغسل	30ml
غطاء الطبقplate sealer	5

12.3 تقدير تركيز اوكسيد النتريك في المصل بطريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم Estimation of nitric oxide concentration in serum by ELIZA

تم استخدام العدة المجهزة من (Elabscience,USA(Cat.NO.E-BC-K036

1.12.3مبدا الطريقة

يتصف عمر النصف لأوكسيد النتريك بانه قصير، فضلا عن ذلك فان اوكسيد النتريك عادة ما يتواجد بشكل نترات Nitrate او نتريت Nitrite والذي يتكون في عدد من الانسجة داخل الجسم منها الخلايا البطانية الوعائية وايضا العضلات الملساء الوعائية ،الصفيحات الدموية وكذلك

الخلايا البلعمية Macrophages وانواع اخرى من الخلايا. لهذا فان تركيز اوكسيد النتريك يمكن تقديره بصورة غير مباشرة من خلال الكشف عن وجود النترات والنتريت في الانسجة الخلوية. يتفاعل اوكسيد النتريك مع الاوكسجين والماء ويتكون النترات والنتريت والتي تنتج مركبات Pale red azo عندما تلتقي مع كاشف النترات chromogenic، ويمكن من خلالها امتصاصية هذا المركب الاستدلال على تركيز اوكسيد النتريك بصورة غير مباشرة.

2.12.3 خطوات التقدير

يخفف 2 ملي مول/لتر وهو عبارة عن محلول قياسي لنترات الصوديوم بواسطة الماء المنزوع الايونات Deionized water لعمل سلسلة من التراكيز وهي 300,200,150,100,40,20,10,0 مايكرومول/لتر.

المادة	الكمية
المادة (1)/Sulphate solution	24 مل
المادة (2)/Aqueous alkali	12 مل
المادة (3)/Chromogenic agent A	3.8 مل
المادة (4)/Chromogenic agent B	5.6 مل
حضرت المادة (4) بإذابة Chromogenic agent B باستخدام الماء المنزوع الايونات Deionized water وحفظ المحلول في درجة حرارة 4ºC	
المادة (5)/محلول حامضي	1.3 مل
حضر هذا المحلول Chromogenic reagent من خلال النسبة المئوية Reagent 5=3:3:2 بين reagent 4: reagent 3	
المادة(6)/محلول قياسي لنترات الصوديوم 2mmol/L	1 مل

3.12.3 طريقة التقدير

	المحلـــــــــــــــــول القياسي(التراكيز/مايكروليتر)	العينات (مايكروليتر)
محاليل قياسية	200–300	--
العينات	--	200-300
محلول 1	200	200
محلول2	100	100
مزجت المحاليل جيدا بعدها تركت لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة المختبر، ثم تم عمل نبذ مركزي للأنابيب عند3100 دورة /دقيقة لمدة 10 دقائق.		
الراشح	160	160
Chromogenic reagent	80	80
مزجت المحاليل جيدا لمدة 2 دقيقة بعدها تركت لمدة 15دقيقة في درجة حرارة الغرفة قيست الكثافة الضوئية .O.D مباشرة عند طول موجي 550 نانوميتر.		

4.12.3 الحسابات:

$$\text{NO content}(\mu mol/L) = (b - A550) \div a \times f$$

13.3 الكشف عن تموضع بروتين IL–6 بطريقة الاصطباغ المناعي

Immunohistochemical localization of IL–6 protein

بهدف الكشف عن تموضع بروتين الانترليوكين IL-6 في شرائح الدماغ المثبتة بالبرافين وتحديد تأثير المعالجات على شدة الاصطباغ، اتبعت طريقة الصبغ المناعي المذكورة من قبل (Sharum, 2017). تم استخدام عدة مجهزة من Al–Shkairate medical supply, Rabbit–Dab (Poly–HRP) Detection Kit لكل من Jorden (Cat.NO.RDEIHC0007) و anti- IL-6 antibody (Cat.NO. RDEFNab04282)

.

1.13.3 محاليل التقدير:

1– محلول دارئ الفوسفات Phosphate buffered saline (PBS)10X (0.1M; pH7.4)

حضر هذا المحلول بإذابة 10.9غرام من ثنائي الصوديوم فوسفات الهيدروجين اللامائي Na_2Hpo_4 و3.2 غرام من صوديوم ثنائي الهيدروجين فوسفات اللامائي NaH_2Po_4 و90 غرام كلوريد الصوديوم NaCl في 1000 مل من الماء المقطر، وحددت درجة الحامضية عند pH 7.4.

2- محلول دارئ الستريت (Citric acid0.01 M, pH 6.0) Citrate buffer
استخدم محلول السترات لكسر روابط البروتينات في الشرائح المثبتة بالبرافين وبالتالي كشف المستضدات في مقاطع الانسجة المثبتة بالبرافين، وبذلك تعمل على تسهيل الصبغ وارتباط الاجسام المناعية بالمستضدات الخاصة بها.

حضر المحلول من اذابة 1.92 غرام حامض الستريك اللامائي في 1000مل من الماء المقطر عند درجة حامضية 6.0 pH. حفظ المحلول في درجة حرارة الغرفة لمدة اسبوع او بدرجة 4 درجة مئوية لمدة ثلاثة اسابيع.

2.13.3 خطوات العمل Procedure

صبغت شرائح الدماغ المثبتة بشمع البرافين حسب الخطوات الآتية:

اليوم الاول:

1-إزالة البرافين بمعاملة المقاطع النسيجية بالزايلول (مرتين لمدة خمسة دقيقة).

2- إعادة الماء Rehydration المقاطع النسجية بغمرها بتراكيز مختلفة من الكحول 100% و95% و70% (1 لمدة 3 دقائق لكل منها).

3-الغسل باستخدام الماء المقطر مرة واحدة لمدة خمس دقائق.

4-استرجاع المستضدات Antigen retrival وذلك بنقل الشرائح النسجية الى حافظة اخرى حاوية على 0.01 M من دارئ الستريت.

5-غليت الشرائح النسجية (المغمورة بدارئ الستريت) في جهاز المسخن الكهربائي الممغنط المايكرويف (اربع مرات لمدة خمسة دقائق) مع إكمال حجم الدارئ بالماء المنزوع الايونات كل 5دقائق.

6-تركت الشرائح الزجاجية لتبرد في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة.

7-غسلت الشرائح الزجاجية باستخدام محلول دارئ الفوسفات (مرتين لمدة خمسة دقائق).

8-جففت الشرائح النسجية حول المقطع النسيجي وحدد المقطع النسجي باستخدام Edge pen، مع ملاحظة عدم جفاف المقطع النسيجي وذلك بإضافة محلول PBS.

9-لتثبيط انزيم الـ Peroxidase اضيف محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 على المقاطع النسيجية مرة واحدة لمدة 10دقائق.

10-غسلت الشرائح بمحلول PBS لمدة 5 دقائق مرة واحدة مع التحريك المستمر.

11-غمرت الشرائح بمحلول blocking serum لمدة 20 دقيقة .

12-اضيفت الاجسام المضادة الابتدائية IL-6 (Rabbit anti-rat) على الشرائح النسجية بعد تخفيفها بمحلول blocking serum وبنسبة 1:100.

13-اشتملت كل تجربة على صبغ شرائح نسجية بإضافة blocking serum عوضا عن الاجسام المضادة واعتبرت سيطرة سالبة.

14-حفظت الشرائح النسجية في الثلاجة لمدة 12 ساعة بدرجة حرارة(4 درجة مئوية).

اليوم الثاني:

15-غسلت الشرائح الزجاجية في محلول دارئ الفوسفات لثلاث مرات لمدة 10 دقائق مع التحريك المستمر.

16-أضيفت الاجسام المضادة الثانوية Poly- HRP Goat anti-Rabbit IgG (تقريبا-300 250 مايكروليتر لكل مقطع نسيجي).

17-حفظت الشرائح النسجية بدرجة حرارة الغرفة لمدة 45 دقيقة.

18-غسلت الشرائح في محلول دارئ الفوسفات لمرتين ولمدة 5 دقائق لكل منها.

19–حضر محلول الـ DAB (1 مل) بإضافة 50 مايكروليتر من الكاشف A الى 50 مايكروليتر من الكاشف B بإضافة 900 مايكروليتر من DAB Substrate في انابيب ابندروف مع المزج.

20–اضيف محلول الـ DAB على النسيج لحين ظهور اللون البني (تقريبا لمدة 2–10دقيقة).

21–غسلت الشرائح النسجية بوساطة محلول دارئ الفوسفات مرتين لمدة 5 دقائق.

22–صبغت الشرائح باستعمال صبغة الهيماتوكسلين لمدة 20 ثانية.

23–غسلت الشرائح الزجاجية باستخدام الماء الجاري.

24–تم سحب الماء Dehydrated من الشرائح الزجاجية باستعمال الكحول بتركيز 70% و95% و100% مرة واحدة ولمدة 2 دقيقة لكل تركيز .

25–الترويق باستعمال الزايلول (Xylol) مرتين لمدة 5 دقائق .

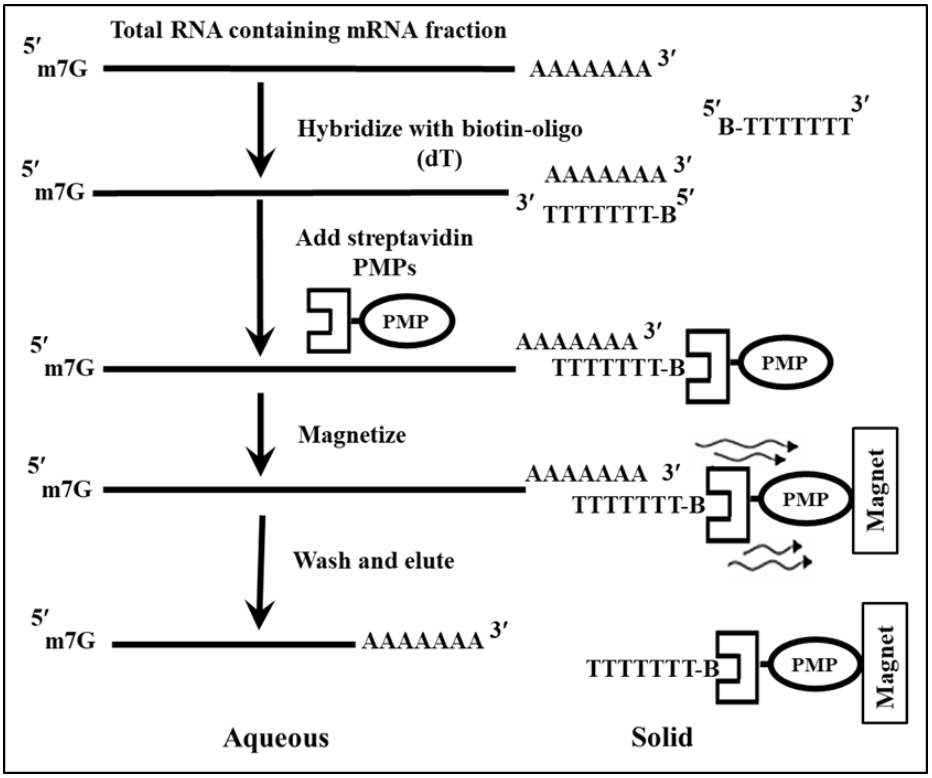
26–ثبتت اغطية الشرائح الزجاجية باستعمال مادة DPX مع التأكد من عدم تكون الفقاعات الهوائية.

27–تركت الشرائح الزجاجية لتجف بدرجة حرارة الغرفة.

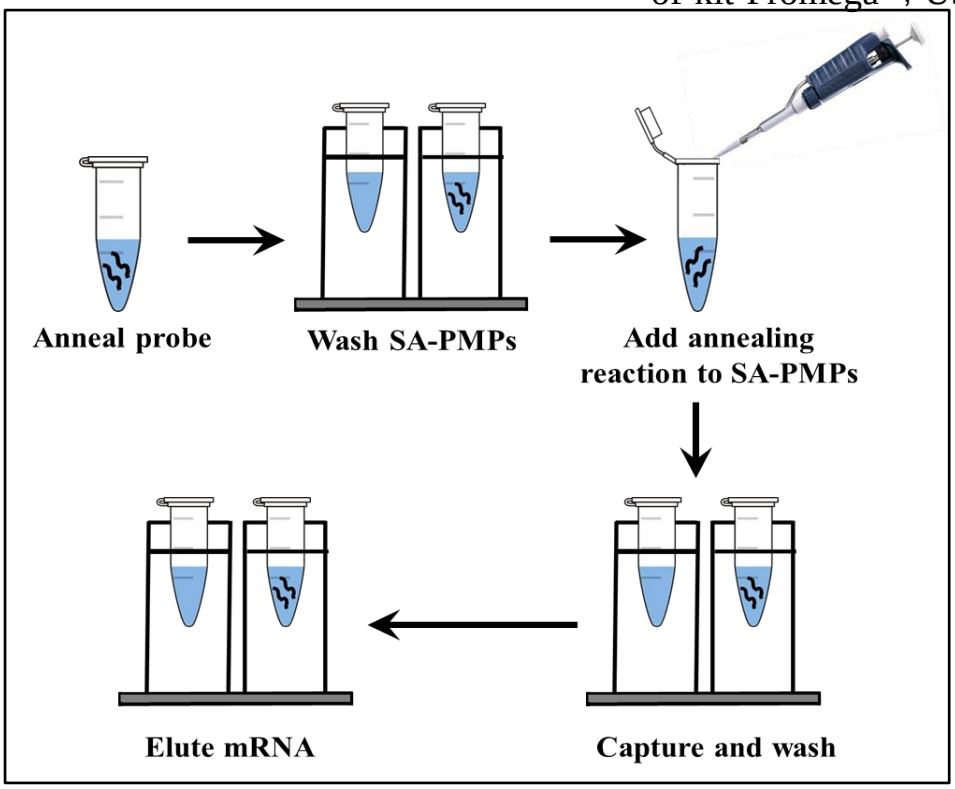
14.3 عزل mRNA من خلايا الطحال باستعمال تقنية Magnasphere Nanotechnology

تم استخدم نظام عزل Poly tract mRNA تقنية الماكناسفير Magnasphere التي من خلالها يمكن عزل الحامض النووي الرايبوزي Ribonucleic acid (RNA) بمدة 45 دقيقة يكون الحامض النووي الرايبوزي الرسول (mRNA) Messenger ribonucleic acid المعزول نقياً وغير ملوث ملائم لجميع التطبيقات البيولوجية الجزيئية Molecular biology بما في ذلك استخدامه في تصنيع الشريط المتمم ل DNA وايضا في الترجمة خارج خلوية *In vitro* translation. يستعمل هذا النظام Biotinylated oligo dt كبادئات لكفاءتها العالية في حل المنطقة poly A 3/ والتي تتواجد في معظم انواع mRNA للكائنات حقيقية النواة الناضجة. حيث تلتقط الجزيئات الهجينة بوساطة الجزيئات النانوية المغناطيسيه التخصصية

وتغسل بوساطة اضافة الـ Streptavidin الى جانب استخدام الجزيئات المغناطيسية. بعدها يتحرر mRNA بوساطة اضافة freewater –Ribonuclease (الشكلين9,10).



الشكل(9) مبدأ تقنية عزل الحامض النووي الرايبوزي – الرسول من عينة الطحال (Leaflets of kit Promega , USA)



الشكل(10) طريقة عزل الحامض النووي الرايبوزي – الرسول من عينة الطحال (Leaflets of kit Cat.No.Z5300 Promega, , USA)

15.3 خطوات عزل الحامض النووي الرايبوزي الرسول mRNA

1.15.3 تصلب المجس Annealing of the probe

1–استخرجت عينات الطحال المحفوظة بدرجة– 80 درجة مئوية وسحنت باستعمال جهاز Homogenizer لغرض تكسير الغشاء الخلوي وبالتالي استخراج المادة النووية الى خارج الخلية.

2–نقل 0.5 مل من الطحال المسحون الى انابيب ابندروف نظيفة ومعقمة، أضيف لكل عينة 500 مايكروليتر من الماء الخالي من RNase (RNase – free water).
3–نقلت الانابيب الى داخل الحاضنة وحضنت لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة 65 درجة مئوية. في هذه الاثناء حضرت محاليل ثابتة التركيز 0.5xssc و 0.1xssc.
4–اضيف 3 مايكروليتر من Biotinylated – oligo (dt) مع اضافة 13 مايكروليتر من محلول 20xssc الى الانابيب الحاوية على RNA، خلطت بشكل خفيف ثم تركت بدرجة حرارة الغرفة الى ان تبرد تماما (ويمكن ان يستغرق الوقت 10 دقائق).

2.15.3 غسل انابيب SA–PMPS Washing streptavidin paramagnetic particles (SA–PMPS)

1–خصص لكل عزلة انبوب SA–PMPS حرك تحريك خفيف لغرض تفريق الجزيئات المعدنية ومن ثم جمعت جميعها باستخدام المغناطيس.
2–ازيل الراشح منها بدقة تامة وحذر.
3–غسلت الانابيب الخاصة SA–PMPS ثلاث مرات باستخدام محلول 0.5XSSC(300 µL) مرة واحدة باستخدام محلول 0.5XSSC(100 µL) بعد كل عملية غسل تم تجميع الجزيئات المعدنية باستخدام المغناطيس وتم التخلص من الراشح.

3.15.3 Capture and Washing

1–تم اضافة محتويات الانابيب الحاوية على العزلات الى انابيب SA–PMPs .

2–حضنت انابيب SA–PMPs بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10دقائق مع الخلط بهدوء كل1 2–دقيقة.

3–تم التقاط جزيئات SA–PMPs باستعمال المغناطيس بعدها ازيل الراشح بهدوء وحذر.

4–غسلت جزيئات SA–PMPs اربع مرات باستخدام محلول 0.1 Xssc مع التحريك بلطف الى اسفل الانبوب الى ان يتم تعليق كل الجزيئات ، تم ازالة الراشح لكل غسلة قدر الامكان.

4.15.3 شطف الحامض النووي الرايبوزي الرسول Elution of mRNA

1–اعادة تعليق جزيئات AS–PMPs في 100مايكروليتر من الماء الخالي من RNase (RNase–Free water) وبهدوء تام يتم مزجها .

2–التقط جزيئات ال SA–PMPs بواسطة المغناطيس ونقل الراشح الذي هو عبارة عن mRNA منقاة الى انابيب معقمة ونظيفة خالية من RNase

3–اعادة تنقية mRNA بواسطة عمل معلق من جزيئات SA–PMPs في 150 مايكروليتر من الماء الخالي من RNase ونقل الراشح ايضا الى الانابيب النظيفة ، فتصبح الكمية الكلية 250 مايكروليتر . وبهذه الطريقة تم الحصول على mRNA.

مكونات عدة التقدير .Poly A Tract® mRNA Isolation system product /Cat Z5300

المادة	الكمية
Biotinylated Oligo (dt) Probe	50µl
20Xssc Solution	(2×1.4ml)
Streptavidin MagneSphere® Paramagnetic Particles	(15×0.6ml)
Nuclease –Free Water	(2×25ml)
MagnaeSphere® Magnetic Separation Strand for 1.5ml Microcentrifuge Tubes	1 each

16.3 البادئات Primers

تم تصميم البادئات لجين P53 للجرذان (*Rattus albicans*) باستخدام التتابع الجيني الخاص المأخوذة من قاعدة البيانات الخاصة على موقع المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية (NCBI: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/).
جهزت البادئات العشوائية من قبل شركة Integrated and Technology ,USA والذي يضم القواعد النيتروجينية للجين P53.

Foreword	5'-CCC CTG AAG ACT GGA TAA CTG T- 3'
Reverse	5'-GGT GGA AGC CAT AGT TGC CT -3'

صممت البادئات التي استخدمت في الدراسة لتضم 20-22 نيكليوتيد. تم تركيز مسحوق البادئات في قعر انابيب التجهيز باستعمال جهاز الطرد المركزي بالسرعة القصوى ولمدة 30 ثانية. حسب تعليمات الشركة المجهزة، اذيبت البادئات بالماء الخالي من انزيم النيوكليز Nuclease free water للحصول على محلول بتركيز 100 مايكرمول. لضمان اذابة مسحوق البادئات بالكامل، سخنت الانابيب بدرجة 65 درجة مئوية ولمدة 15 دقيقة في جهاز Thermocycler. بعد اكتمال الخطوة السابقة، وضعت الانابيب في الثلج وتم تحضير التركيز المطلوب (working solution) من البادئات بإضافة 20 مايكروليتر من كلا البادئات (الامامي والعكسي) الى 60 مايكروليتر من الماء الخالي من انزيم النيوكليز. حفظت البادئات المحضرة بدرجة حرارة سالب 20°م في انابيب ابندروف نظيفة ومعقمة لحين الاستعمال.

17.3 خطوات تخليق متمم الدنا First– Strand cDNA Synthesis

بهدف تحويل الحامض النووي الرايبوزي المستخلص الى متمم الدنا الاولي، مزجت المواد الأولية في انبوبة ابندروف (سعة 0.5 ml) نظيفة ومعقمة وحفظت بمجروش الثلج وتمت الاضافات كما يلي.

المكونات (لكل عينة)	الحجم
الحامض النووي الرايبوزي الكلي (المستخلص من عينات الطحال)	8 µl
البادئات العشوائية Random Hexamers (50ng/µl)	1 µl
مزيج النيكليوتيد dNTP Mix (5mM)	1 µl
المجموع	10 µl

وضعت الانابيب في جهاز المبلمر الحراري وتم تسخين الخليط بدرجة حرارة 65°م لمدة خمسة دقائق، بعدها تم التبريد مباشرة بوضع الانابيب في مجروش الثلج لمدة خمس دقائق. حضر محلول النسخ العكسي Reverse transcription reaction mix من المواد الآتية:

المكونات (لكل عينة)	الحجم (µl)/عينة
دارئ التفاعل GoScript™ 5X Reaction Buffer	µl 2
كلوريد المغنسيوم $MgCl_2$ (mM 5.0)	µl 4
RNase OUT (40U/µl)	µl 1
Ribonuclase Inhibitor(Optional)	µl 2
انزيم الترانسكريبتيز المعاكس GoScript ™ Reverse Transcriptase	µl 1
المجموع	µl 10

اضيف 10مايكروليتر (لكل عينة) من محلول النسخ العكسي الى 10 مايكروليتر من متمم الدنا الاولي المحضر مسبقا. بعد المزج، وضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة 15 ثانية. عرضت العينات لدرجات حرارة مبرمجة في جهاز المبلمر الحراري بدأت بدرجة حرارة 25 °م لمدة 10 دقائق، تلتها 50 دقيقة بدرجة 50 مئوية وانتهت بدرجة حرارة 85 مئوية ولمدة خمس دقائق. لزيادة الحجم، أضيف20 مايكروليتر من الماء الخالي من انزيم النيوكليز وحفظت العينات بدرجة حرارة −20 مئوية. تم تحضير مزيج تفاعل البلمرة المتسلسل من خلال مزج المكونات الآتية في الثلج.

المكونات (لكل عينة)	الحجم /عينة (µl)	عينة السيطرة (-ve)
متمم الدنا cDNA	1	-
البادئ	0.5	0.5
Taq Red Mix	12.5	12.5
الماء الخالي من انزيم النيوكليز	11	12
المجموع	25	25

1−اتبعت الخطوات التالية لمضاعفة والكشف عن وجود الجين المطلوب في عينات متمم الدنا وكما في (شكل11) :

الخطوات	درجة الحرارة	الوقتmm:s	عدد الدورات
المسخ الاولي	95 °c	03:00	1
التمسخ	95 °c	00:15	32
الحماية	42 °c	00:15	32
الاستطالة	72 °c	00:10	32
الاستطالة النهائية	72 °c	05:00	1
النهاية	4 °c	-	1
		45:00	

18.3الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز

1.18.3المحاليل المستخدمة: -

1.1.18.3صبغة بروميد الايثيديوم Ethidium bromide (10mg/ml)

تم تحضير الصبغة بإذابة 100ملغم من صبغة بروميد الاثيديوم في 10 مل من الماء المقطر، ووضعت على خلاط ممغنط للحصول على الاذابة بصورة كاملة، ثم وضعت الصبغة في قنينة معتمة ذات غطاء محكم وحفظت تحت درجة حرارة 4 °م لحين الاستعمال.

2.1.18.3 محلول TBE (10X)

حضر المحلول (1لتر) بإذابة 108 من مادة الترس القاعدي و55 غم من حامض البوريك و40 مل من محلول الاثيلين ثنائي الامين رباعي حامض الخليك (Ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA (0.5 مولار). مزجت جميعها في 800 مليلتر من الماء المقطر مع تعديل الاس الهيدروجيني الى درجة 7.8 وأكمل الحجم الى 1000 مليلتر بالماء المقطر. عقم المحلول بالموصدة وعند استخدام المحلول للترحيل الكهربائي خفف بالماء المقطر عشر مرات ليكون المحلول TBE بتركيز 1X.

3.1.18.3 تحضير هلام الاكاروز

تم تحضير هلام الاكاروز المستخدم في عملية الترحيل الكهربائي لناتج البلمرة باستعمال مسحوق الاكاروز بتركيز 1.5%، وتم تحضير لوح الهلام كما يأتي: -

1. وزن 1.5 غم من مسحوق الاكاروز واذايبت في 100 مل من محلول TBE (1X) المحضر مسبقا. اذيب هذا المحلول في جهاز المايكروويف لحين الحصول على الغليان لمدة 1.5 دقيقة مع ملاحظة الرج خلال هذه الفترة.

2. ترك المحلول ليبرد الى حوالي 50° م.

3. في هذه الاثناء تم تحضير القالب الخاص الذي تم فيه سكب هلام الاكاروز وذلك من خلال جلب قطعة بلاستيكية مناسبة الابعاد واحيطت جميع الحواف بوساطة شريط لاصق ورقي مقاوم للحرارة. بعدها، ثبت اللوح الزجاجي على سطح مستوى وثبت المشط عليه في مسافة قريبة من أحد الجوانب بعد موازنة المشط بحيث يكون ارتفاع اسنان المشط عن اللوح الزجاجي بحدود 0.5 -1 ملم وذلك لعمل الحفر اللازمة لتحميل العينات.

4. سكب محلول هلام الاكاروز الذي درجة حرارته تقريبا 50°م بحذر وهدوء وبشكل مستمر عند أحد أطراف اللوح الزجاجي وذلك لتجنب حدوث الفقاعات الهوائية، وفي حالة وجودها يمكن سحبها بوساطة الماصة البلاستيكية مباشرة قبل تصلب الهلام

5.ملئت الفراغات ما بين اللاصق واللوح الزجاجي بوساطة هلام الاكاروز باستخدام قطارة بلاستيكية.

6. ترك الهلام يتصلب ليتم بعدها رفع المشط بهدوء واستعمل الهلام مباشرة بعد التحضير.

19.3 عملية الترحيل Electrophoresis

اجريت عملية الترحيل الكهربائي لناتج البلمرة على هلام الاكاروز حسب طريقة Maniastis *et al*.,1982، وكما يأتي: -

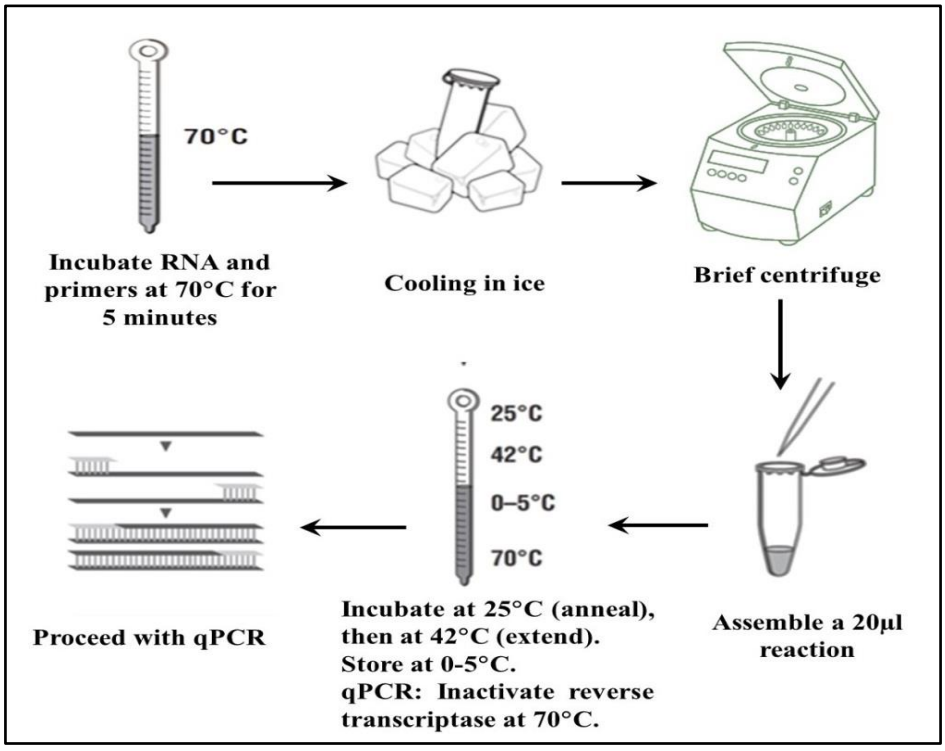
1.وضع الهلام في حوض الترحيل بعد ملئه بمحلول TBE (1X) بحيث يكون مستوى المحلول في الحوض اعلى من سطح الهلام بحدود 5 ملم.

2.حقن ناتج البلمرة 12.5 مايكروليتر في حفر الهلام فضلا عن (5µl) Hyper ladder.
3. ربط جهاز القوة مع حوض الترحيل بوساطة الاسلاك والاقطاب الموجبة والسالبة وتم تمرير التيار الكهربائي بقوة 80 فولت وتم الترحيل باتجاه القطب الموجب لمدة ساعة. بعدها تم استخراج الهلام من حوض الترحيل.

4. فحص الهلام بوساطة جهاز الاشعة الفوق البنفسجية وذلك بتعريضه للطول الموجي 540 نانوميتر بعدها تم التصوير باستعمال الكاميرا.

20.3 الاجهزة المستخدمة في التفاعل

1. جهاز مبلمر حراري حلقي Thermocycler (Biometra, Germany) .
2. جهاز طرد مركزي خاص بانبيب ابندروف Eppendrof centrifuge (Germany).
3. مكان للعمل (غرفة الزرع) معقم مع ماصات دقيقة وانابيب ابندروف.
4. جهاز ترحيل كهربائي وملحقاته Electrophoresis (Biometra, Germany).
5. مجهز اشعة فوق البنفسجية Transilluminator (Biometra, Germany).
6. كاميرا للتصوير Canon (China).



الشكل(11) طريقة الكشف عن جين P53 لمتمم DNA في عينات الطحال (Leaflets of kit Cat.No.A5001.Promega , USA)

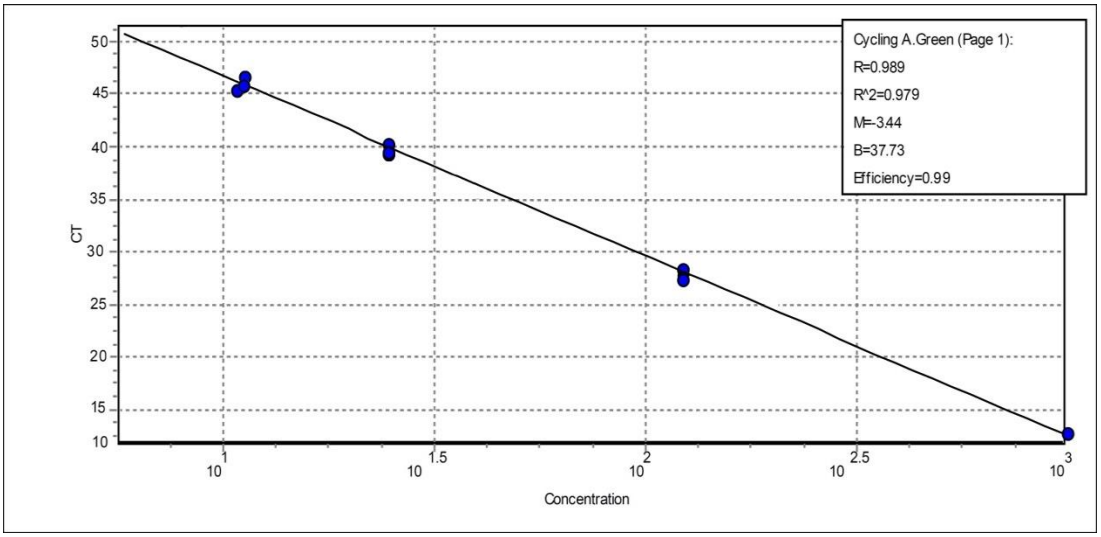
21.3 تفاعل البوليميراز المتسلسل–الوقت الحقيقي Real- time Polymerase Chain reaction (RT-PCR)

ويسمى ايضا بتفاعل البوليميراز المتسلسل الكمي اللحظي Quantitative real–time polymerase chain reaction، بسبب تقديرهِ كمية الحامض النووي الموجود في العينة (الطحال) والذي يعتمد على الاستنساخ العكسي لعملية تحديد كمية الحامض النووي الرايبوزي الرسول في الخلية. استخدم البيتا – اكتين beta–actin كهاوس كيبنك جين (تم تقديره mRNA لبيتا اكتين) لمعرفة عدد الخلايا المراد تقديرها ومقارنتها مع عدد الجينات المعبر عنها المجهولة العدد عادة يكون ثابتاً لأنه مهم بالنسبة لحيوية الخلية ولولا وجود البيتا–اكتين فان الخلية لا تنمو. استخدام الماء PCR–water(H_2O) للتأكد من خلو العينات من الشوائب. حللت النتائج باستخدام دالة CT الخاص بجهاز Q Alginity (شكل 13,12).

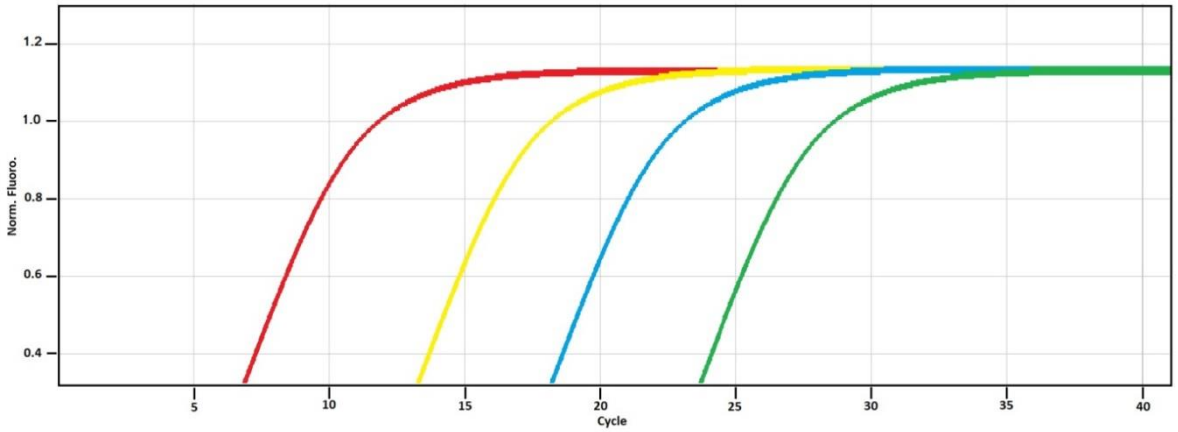
تم تقدير نسبة تواجد بيتا اكتين في نفس عينة الـ Spleen ومقارنتها مع جين p53 من خلال المعادلة الاتية:

$$\text{ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta C_{P\ \text{target}}\ (\text{control} - \text{sample})}}{(E_{\text{Ref}})^{\Delta C_{P\ \text{Ref}}\ (\text{control} - \text{sample})}}$$

وتم اعتماد هذه المعادلة حيث يمثل Target الجين الـ p53 بينما Ref هو البيتا–اكتين . (Bustin, 2002; Vandesompele *et al*.,2002 ;Paffl and Horgan,2005)



الشكل (12) المنحنى القياسي لعينة البيتا اكتين واختيار افضل تعبير لمقارنتها مع الـ p53



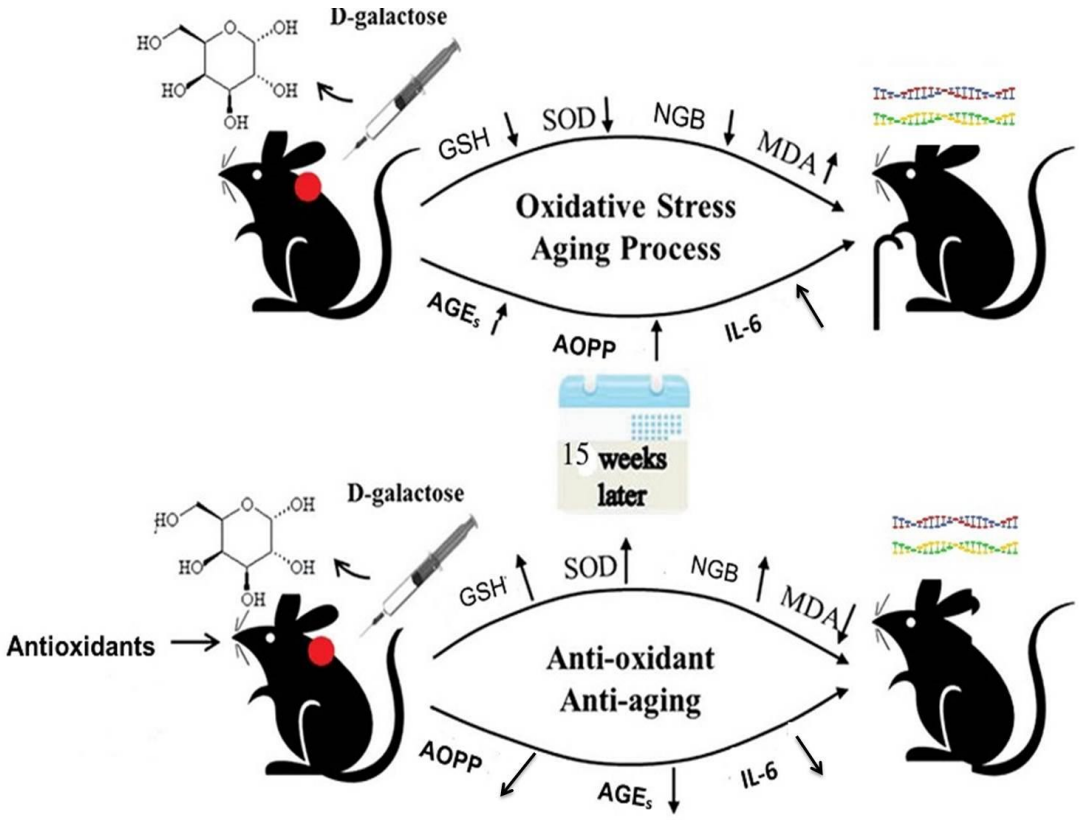
الشكل(13)التعبير الجيني للبيتا- اكتين Rt-PCR لأربعة تراكيز مختلفة واختيار التركيز 10^{-2} كأفضل تركيز يتزامن مع المعادلة المذكورة آنفاً.

22.3 التحليل الاحصائي

حللت البيانات باستخدام برنامج الحاسوب الاحصائي SPSS وبرنامج Sigma stat. تم استخدام تحليل التباين احادي الاتجاه One way analysis of variance و حددت الفروقات والاختلافات بين المجاميع باستخدام اختبار Duncan's multiple range test. مثّلت القيم بالمعدل ± الخطأ القياسي وتم تحديد الاختلاف المعنوي لجميع الاختبارات عند مستوى احتمالية ($P\leq0.05$) ومعامل الارتباط عند مستوى معنوية ($P\leq0.01$) (Steel and Torrie,1980).

الفصل الرابع

النتائج



1.4. وزن الجسم

1.1.4 تأثير معاملة الجرذان مستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ،حامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين على معدل وزن الجسم (غم).

لم يظهر في مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز فرقا معنويا في وزن الجسم في الاسبوع الخامس من التجربة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، فضلا عن باقي المعاملات التي لم تظهر فروقا معنويا باستثناء المعاملة ب ل–كارنتين سببت ارتفاعا معنويا ($p\leq0.05$) في وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة ،وسببت المعاملة بسكر الكالاكتوز مع الكارنتين زيادة معنوية ($p\leq0.05$) بوزن الجسم مقارنة مع مجموعة المعاملة بسكر الكالاكتوز ومجموعة السيطرة في الاسبوع الخامس من التجربة (الجدول1).

لم يسبب استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز فرقا معنويا في وزن الجسم في الاسبوع العاشر من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة، مع الانخفاض المعنوي ($p\leq0.05$) في المجموعة المعاملة ب ل –كارنتين مقارنة مع مجموعة السيطرة. ولم تظهر فروقا معنويا عند مقارنة باقي المعاملات مع مجموعة المعاملة بسكر الكالاكتوز في وزن الجسم في الاسبوع العاشر من التجربة (الجدول1).

انخفض وزن الجسم معنويا ($p\leq0.05$) عند الاسبوع الخامس عشر من التجربة في جرذان مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز مقارنة مع مجموعة السيطرة. فضلا عن الانخفاض المعنوي ($p\leq0.05$) في مجموعة المعاملة ب ل–كارنتين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.لم تظهر جرذان الشيخوخة المستحدثة المعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين اختلافا معنويا بالمقارنة مع الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز (الجدول1).

الجدول (1) تاثير معاملة الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ،حامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في معدل وزن الجسم (غم).

الفترات / المجاميع	فترة الصفر	الاسبوع الخامس	الاسبوع العاشر	الاسبوع الخامس عشر
السيطرة	203.5 ± 19.03 a	239.8 ± 8.692 c	323.83 ± 14.36 a	320.66 ± 15.43 a
الشيخوخة المستحدثة (سكر الكالاكتوز)	202.66 ± 2.83 a	245.0 ± 5.692 bc	314.00 ± 21.21 ab	248.66 ± 18.84 c
حامض الفا–ليبويك	199.66 ± 2.26 a	251.5 ± 6.510 bc	274.3 ± 20.85 ab	290.66 ± 8.88 ab
هرمون الميلاتونين	212.8 ± 3.28 a	257.6 ± 2.48 abc	313.33 ± 13.78 ab	284.16 ± 7.58 abc
ل–كارنتين	219.5 ± 4.78 a	266.8 ± 4.13 ab	263.83 ± 13.96 b	276.00 ± 10.32 bc
شيخوخة مستحدثة+حامض الفا ليبويك	200.0 ± 2.64 a	246.6 ± 7.78 bc	296.33 ± 15.12 ab	286.33 ± 11.53 abc
شيخوخة مستحدثة +هرمون الميلاتونين	217.00 ± 5.29 a	237.0 ± 11.236 c	311.66 ± 16.36 ab	277.16 ± 12.50 bc
شيخوخة مستحدثة +ل–كارنتين	213.33 ± 2.47 a	277.5 ± 4.59 a	288.66 ± 6.42 ab	280.83 ± 10.11 bc

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال($p\leq0.05$). عدد الجرذان في كل مجموعة =6

2.1.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في معدل وزن الجسم (غم) .

اشارت نتائج التجربة الثانية بان المعاملة ب ل –كارنتين ادت الى انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في وزن الجسم مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجاميع المعاملة الاخرى في الاسبوع الخامس من التجربة. كذلك لم يكن هناك فروق معنوية للمعاملات الثلاث خلال الاسبوع العاشر مقارنة مع مجموعة السيطرة. اظهرت المعاملة بهرمون الميلاتونين و المعاملة بالكارنتين انخفاضا معنويا ($p\leq0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة (الشيخوخة الطبيعية) ، لكنهما لم يختلفا معنويا عن مجموعة المعاملة بحامض الفا–ليبويك في معدل وزن الجسم خلال الاسبوع الخامس عشر من التجربة (الجدول2).

الجدول (2) تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على معدل وزن الجسم (غم).

الفترات / المجاميع	فترة الصفر	الاسبوع الخامس	الاسبوع العاشر	الاسبوع الخامس عشر
الشيخوخة الطبيعية	452.8 ± 11.4 a	404.5 ± 10.938 a	402.1 ± 6.20 a	408.00 ± 7.03 a
الشيخوخة الطبيعية +حامض الفا–ليبويك	435.5 ± 0.6 a	421.1 ± 14.87 a	389.3 ± 20.26 a	375.3 ± 12.44 ab
الشيخوخة الطبيعية +هرمون الميلاتونين	451.5 ± 21.1 a	420.0 ± 18.259 a	380.0 ± 17.9 a	362.8 ± 18.77 b
الشيخوخة الطبيعية +ل–كارنتين	422.0 ± 4.9 a	363.0 ± 5.808 b	362.5 ± 4.55 a	348.3 ± 4.00 b

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($p\leq0.05$).

*عدد الجرذان لكل مجموعة=6

2.4 معدل وزن الاعضاء الداخلية

1.2.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في معدل اوزان الاعضاء الداخلية.

بينت النتائج ان مجموعة الشيخوخة المستحدثة ادت الى انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في معدل وزن الدماغ مقارنة مع مجموعة السيطرة، وان المعاملات بهرمون الميلاتونين لوحده، المجموعة المعاملة بسكر الكالاكتوز مع هرمون الميلاتونين ايضا ادى الى انخفاض معنوي($p\leq0.05$) في معدل وزن الدماغ. ايضا اظهرت المجموعة المعاملة بسكر الكالاكتوز وحامض الفا –ليبويك انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في وزن الدماغ مقارنة مع السيطرة، فان مجاميع المعاملة بحامض الفا–ليبويك ول–كارنتين لوحدهم ومجموعة سكر الكالاكتوز مع ل–كارنتين لم تظهر فروق معنوية مع مجموعة السيطرة (الجدول 3).

اشارت النتائج بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة اظهرت انخفاض معنوي($p\leq0.05$) في وزن الكبد مقارنة مع مجموعة السيطرة، في حين اظهرت المعاملة بسكر الكالاكتوز مع كل من حامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين انخفاضا معنويا ($p\leq0.05$) في وزن الكبد مع مجموعة السيطرة من جهة، وكانت مرتفعة معنويا ($p\leq0.05$) مقارنة مع المجموعة المعاملة بسكر الكالاكتوز لوحده من جهة ثانية (الجدول3).

اظهرت نتائج التجربة بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة و مجموعة حامض الفا– ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين وكذلك المعاملة بسكر الكالاكتوز مع حامض الفا– ليبويك والمعاملة بسكر الكالاكتوز مع هرمون الميلاتونين والمعاملة بسكر الكالاكتوز مع ل–كارنتين بانه لا توجد فروقات معنوية في وزن الكليتين و وزن الخصيتين ووزن الرئتين ووزن الطحال ووزن القلب مقارنة مع مجموعة السيطرة من جهة ومقارنة مع المجاميع المعاملة فيما بينها من جهة اخرى (الجدول 3).

الجدول (3) تاثير معاملة الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ،حامض الفا-ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في معدل وزن الاعضاء الداخلية النسبي (ملغم/100 غم) من وزن الجسم .

الاعضاء / المجاميع	الدماغ	القلب	الكبد	الطحال	الكليتين	الرئتين	الخصيتين
	وزن النسي للعضو ملغم/100 غم من وزن الجسم						
السيطرة	705.16 ± 32.27**a**	369.6 ± 38.42 **a**	3828.26 ± 86.64 **a**	413.85 ± 46.84 **a**	407.06 ± 41.95 **a**	805.01 ± 74.25 **a**	421.60 ± 80.07 **a**
الشيخوخة المستحدثة (سكر الكالاكتوز)	593.73 ± 20. 46**bc**	407.0 ± 31.20 **a**	2710.2 ± 144.72 **c**	380.38 ± 210.42**a**	357.13 ± 17.46**a**	732.11 ± 20.56**a**	432.07 ± 53.93**a**
حامض الفا-ليبويك	655.58 ± 31.06**abc**	350.7 ± 18.52**a**	3367.88 ± 156.88**a**	368.81 ± 36.90**a**	349.45 ± 32.90**a**	724.35 ± 91.41**a**	412.02 ± 36.46**a**
هرمون الميلاتونين	614.80 ± 18.35**bc**	378.4 ± 12.13**a**	3358.35 ± 182.75**b**	410.87 ± 23.89**a**	380.71 ± 8.72**a**	738.26 ± 61.77**a**	422.05 ± 26.93**a**
ل-كارنتين	654.88 ± 9.11**abc**	385.0 ± 22.08**a**	3912.0 ± 81.70**a**	420.11 ± 30.74**a**	400.53 ± 18.74**a**	701.18 ± 34.41**a**	452.05 ± 12.36**a**
شيخوخة مستحدثة +حامض الفا ليبويك	615.63 ± 30.31**bc**	385.2 ± 14.50**a**	3370.1 ± 138.24**b**	411.92 ± 51.20**a**	411.10 ± 19.03**a**	737.72 ± 38.58**a**	425.61 ± 25.29**a**
شيخوخة مستحدثة +هرمون الميلاتونين	586.06 ± 10.60**b**	372.6 ± 24.09**a**	3386.31 ± 188.21**b**	398.45 ± 32.87**a**	352.72 ± 16.78**a**	716.41 ± 47.29**a**	456.77 ± 63.18**a**
شيخوخة مستحدثة +ل-كارنتين	664.68 ± 21.79**ab**	362.7 ± 16.62**a**	3347.61 ± 103.32**b**	375.9 ± 28.68**a**	339.1 ± 24.17**a**	817.21 ± 65.46**a**	498.08 ± 18.69**a**

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال($p\leq0.05$).

*عدد الجرذان في كل مجموعة=6

2.2.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا –ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في معدل اوزان الاعضاء الداخلية.

اظهرت نتائج التجربة بان المعاملة بحامض الفا–ليبويك ادت الى زيادة معنوية ($p\leq0.05$) في وزن الدماغ مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين ول–كارنتين اللتان اظهرتا زيادة حسابية في وزن الدماغ مقارنة مع مجموعة السيطرة (الجدول 4).

ان المعاملة بحامض الفا ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين لم تظهر فروقا معنويا في وزن الكبد مقارنة مع مجموعة السيطرة. بينت النتائج بان المعاملة بحامض الفا–ليبويك ادت الى زيادة معنوية ($p\leq0.05$) في وزن الكبد مقارنة مع المجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين ولم تختلف معنويا عن المجموعة المعاملة ب ل–كارنتين (الجدول4).

وقد اشارت النتائج بان المجاميع المعاملة بهرمون الميلاتونين وحامض الفا–ليبويك ول–كارنتين ادت الى انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في وزن الطحال مقارنة مع مجموعة السيطرة، وقد ظهر الانخفاض اشد معنويا ($p\leq0.05$) في المجموعة المعاملة ب ل –كارنتين مقارنة مع المعاملات الاخرى (الجدول 4).

وقد بينت النتائج بان المعاملة بحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين لم تظهر فروق معنوية في وزن القلب و الكليتين والرئتين والخصيتين مقارنة مع مجموعة السيطرة (الجدول 4).

الجدول (4) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في معدل وزن الاعضاء الداخلية النسبي (ملغم/100غم) من وزن الجسم.

الاعضاء / المجاميع	الدماغ	القلب	الكبد	الطحال	الكليتين	الرئتين	الخصيتين
	وزن النسبي للعضو ملغم/100 من وزن الجسم						
الشيخوخة الطبيعية	522.11 ± 9.85**b**	348.16 ± 7.49**a**	3573.8 ± 55.43**ab**	556.1 ± 6.21**a**	346.76 ± 13.48**a**	811.63 ± 16.10**a**	426.0 ± 11.64**a**
الشيخوخة الطبيعية +حامض الفا –ليبويك	779.21 ± 89.86**a**	346.10 ± 10.31**a**	3728.8 ± 112.18**a**	408.4 ± 16.83**b**	348.7 ± 14.85**a**	703.7 ± 42.73**a**	444.5 ± 14.35**a**
الشيخوخة الطبيعية+ هرمون الميلاتونين	555.91 ± 23.26b	359.63 ± 27.20a	3259.1 ± 150.04b	381.9 ± 18.30b	344.7 ± 15.85a	811.42 ± 43.36a	445.8 ± 33.03a
الشيخوخة الطبيعية+ ل–كارنتين	525.88 ± 7.13**b**	359.63 ± 7.55**a**	3587.7 ± 127.50**ab**	311.78 ± 29.23**c**	349.66 ± 25.81a	753.9 ± 33.14**a**	405.1 ± 33.0**a**

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($p\leq0.05$).

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

3.4 نواتج الاكسدة المتقدمة للبروتين

1.3.4 تاثير معاملة الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى نواتج الاكسدة المتقدمة للبروتين Advanced oxidation protein products (AOPP) في مصل الدم.

اشارت نتائج التجربة الحالية بان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ادت الى ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى نواتج الاكسدة المتقدمة مقارنة مع مجموعة السيطرة، ولم تظهر المعاملة بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين، ل–كارنتين لوحدهم فروقا معنويا مقارنة مع مجموعة السيطرة. وقد اظهرت المعاملة بسكر الكالاكتوز مع حامض الفا–ليبويك والمعاملة بسكر

الكالاكتوز مع هرمون الميلاتونين والمعاملة بسكر الكالاكتوز مع ل-كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) مقارنة عن مجموعة الشيخوخة المستحدثة لكنها لم تتمكن من ارجاعها الى مستواها في مجموعة السيطرة (الجدول 5).

4.4 المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربيتيوريك

1.4.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ،حامض-الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في مستوى المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربيتيوريك Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) في مصل الدم.

اظهرت نتائج التجربة الحالية بان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز سببت ارتفاعا معنويا ($p\leq0.05$) في مستوى المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربتيوريك TBARS مقارنة مع مجموعة السيطرة. وقد بينت النتائج ان المعاملة بحامض الفا-ليبويك وهرمون الميلاتونين ول-كارنتين لم تحدث فروقاً معنوية فيما بينها في مستوى TBARS وكذلك مقارنة مع مجموعة السيطرة. فيما بينت النتائج ان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بحامض الفا-ليبويك وهرمون الميلاتونين ول-كارنتين بعد المعاملة بسكر الكالاكتوز ادت الى انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى TBARS مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة، لكنها لم تتمكن من ارجاعها الى مستواها الطبيعي في مجموعة السيطرة (الجدول5) .

5.4 الكلوتاثيون

1.5.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض-الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في مستوى الكلوتاثيون GSH)Glutathione) في مصل الدم.

بينت نتائج التجربة الحالية بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة اظهرت انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في مستوى الكلوتاثيون بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. كذلك ان المعاملة بحامض الفا-ليبويك وهرمون الميلاتونين ول-كارنتين لم تختلف معنويا في مستوى الكلوتاثيون مقارنة مع مجموعة السيطرة. فضلا عن ذلك ارتفع مستوى الكلوتاثيون معنويا($P\leq0.05$) في مجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين لوحده عن مستواه في المجموعة المعاملة بحامض الفا-ليبويك و لم

يختلف مستواه عن المجموعة المعاملة ب ل–الكارنتين. وبينت المعاملة بحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين بعد المعاملة بسكر الكالاكتوز ارتفاع معنويا ($P\leq0.05$) في مستوى الكلوتاثيون مقارنة مع الشيخوخة المستحدثة ، اما المجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين بعد المعاملة بسكر الكالاكتوز لوحظ بانها لم تختلف معنويا في مستوى الكلوتاثيون مقارنة مع مجموعة السيطرة. حسّنت المعاملتان سكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك ول–كارنتين للجرذان المستحدثة الشيخوخة في مستوى GSH مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة الذي لم يصل الى مستواه الطبيعي في مجموعة السيطرة، في حين كان لهرمون الميلاتونين تأثير في تحسين مستوى GSH وارجاعه الى مستواه الطبيعي وعدم اختلاف مستواه في المجموعة المعاملة بسكر الكالاكتوز مع هرمون الميلاتونين عن مجموعة السيطرة (الجدول5).

الجدول(5) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى AOPP و TBARS و GSH .

المعايير المدروسة / المجاميع	AOPP (µmol/L)	TBARS (µmol/L)	GSH (µmol/L)
السيطرة	3.702 ± 1.55 **e**	0.576 ± 0.0478 **c**	4.456 ± 0.223 **ab**
الشيخوخة المستحدثة (سكر الكالاكتوز)	22.94 ± 2.026 **a**	1.689 ± 0.343 **a**	1.923 ± 0.214 **d**
حامض الفا–ليبويك	7.346 ± 0.664 **de**	0.782 ± 0.042 **bc**	4.263 ± 0.218 **bc**
هرمون الميلاتونين	7.346 ± 0.498 **de**	0.757 ± 0.109 **bc**	4.913 ± 0.044 a
ل–كارنتين	6.913 ± 0.575 **de**	0.501 ± 0.028 **c**	4.803 ± 0.176 **ab**
شيخوخة مستحدثة +حامض الفا– ليبويك	15.344 ± 2.250 **b**	1.0528 ± 0.345 **b**	3.810 ± 0.210 **c**
شيخوخة مستحدثة +هرمون الميلاتونين	11.164 ± 1.186 **cd**	1.129 ± 1.991 **b**	4.337 ± 0.116 **bc**
شيخوخة مستحدثة + ل–كارنتين	11.904 ± 1.096 **bc**	1.056 ± 0.0819 **b**	3.982 ± 0.136 **c**

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال($p\leq0.05$).

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

2.3.4.تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض-الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في مستوى نواتج الاكسدة المتقدمة للبروتين Advanced oxidation protein products (AOPP) في مصل الدم.

اشارت نتائج التجربة الحالية الى ان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا-ليبويك ،هرمون الميلاتونين، ل-كارنتين ادت الى انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى نواتج الاكسدة المتقدمة للبروتين AOPP بالمقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية. و لم يلاحظ ظهور فروق معنوية بين المجاميع المعاملة بحامض الفا-ليبويك، هرمون الميلاتونين، ل-كارنتين فيما بينها (الجدول 6).

2.4.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض-الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في مستوى المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربيتيورك Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) في مصل الدم .

بينت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا-ليبويك وهرمون الميلاتونين ول-كارنتين ادت الى انخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى المواد المتفاعلة لحامض الثايوباربيتيورك TBARS مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية، مع عدم وجود فروق معنويا بين المعاملات الثلاث (الجدول 6).

2.5.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض-الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين و ل-كارنتين في مستوى الكلوتاثيون Glutathione (GSH) في مصل الدم .

اظهرت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا-ليبويك وهرمون الميلاتونين ول-كارنتين ادت الى زيادة معنوية في مستوى الكلوتاثيون بالمقارنة مع

مجموعة الشيخوخة الطبيعية. وقد بينت النتائج ان المجموعة المعاملة ب ل-كارنتين ادت الى زيادة معنوية ($p\leq0.05$) في مستوى GSH مقارنة مع المجموعة المعاملة بحامض الفا-ليبويك وهرمون الميلاتونين. فيما لم يلاحظ فروق معنوية في مستوى GSH ما بين المعاملة بهرمون الميلاتونين وحامض الفا-ليبويك (الجدول6).

الجدول(6) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا-ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في مستوى AOPP و TBARS و GSH .

المعايير المدروسة / المجاميع	AOPP (µmol/L)	TBARS (µmol/L)	GSH (µmol/L)
الشيخوخة الطبيعية (السيطرة)	24.071 ± 0.598 **a**	1.842 ± 0.141 **a**	3.063 ± 0.157 **d**
الشيخوخة الطبيعية + حامض الفا-ليبويك	10.690 ± 1.322 **b**	1.030 ± 0.030 **b**	3.504 ± 0.101 **c**
الشيخوخة الطبيعية +هرمون الميلاتونين	9.888 ± 0.512 **b**	1.188 ± 0.101 **b**	4.521 ± 0.101 **b**
الشيخوخة الطبيعية +ل-كارنتين	9.861 ± 1.073 **b**	1.146 ± 0.245 **b**	5.024 ± 0.172 **a**

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال($P\leq0.05$).

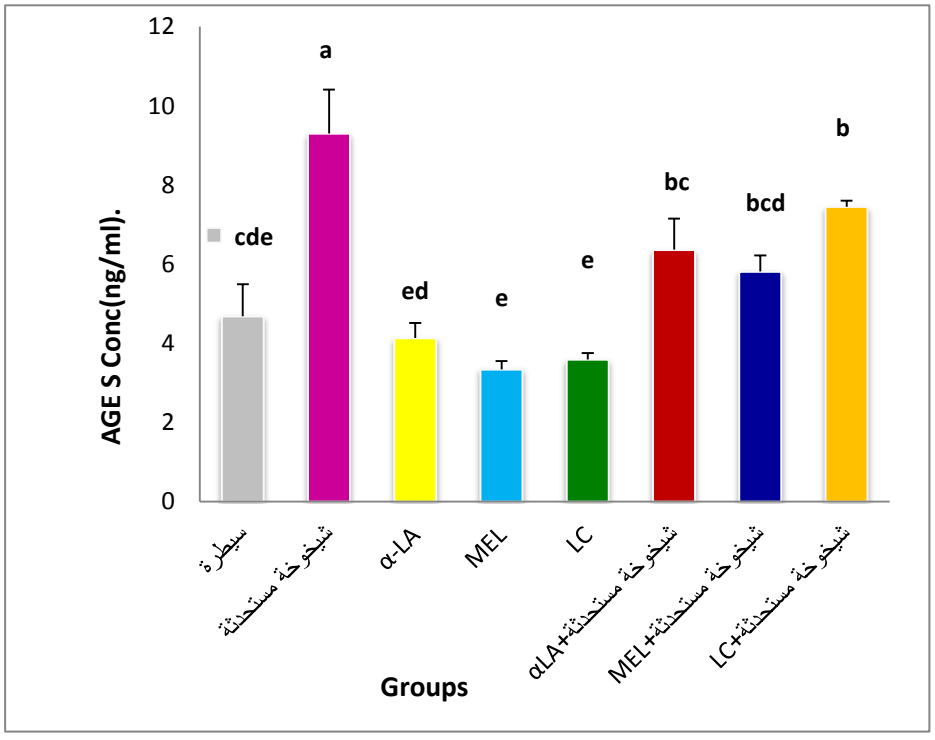
*عدد الجرذان لكل مجموعة =6

6.4 نواتج عملية التسكر المتقدم

1.6.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض-الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في مستوى نواتج عملية التسكر المتقدم Advanced glycation end products(AGEs) في مصل الدم.

بينت نتائج التجربة الحالية بان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ادت الى ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى النواتج النهائية لعملية التسكر المتقدم AGEs مقارنة مع مجموعة

السيطرة. ولم تظهر المجاميع المعاملة بحامض الفا- ليبويك وهرمون الميلاتونين ول-كارنتين اختلافا معنويا مقارنة مع مجموعة السيطرة. اما بالنسبة لمعاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز مع كل من حامض الفا-ليبويك، هرمون الميلاتونين، ل-كارنتين فقد ادت الى انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى النواتج النهائية لعملية التسكر المتقدم مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة. وان مستوى AGEs في المجموعة المعاملة بسكر الكالاكتوز مع هرمون الميلاتونين ظهرت غير مختلفة معنويا عن مجموعة السيطرة ولهذا فان المعاملة بهرمون الميلاتونين ادت الى تحسن مستوى AGEs في جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز وارجعت مستوى AGEs الى مستواه الطبيعي. وتمكنت المعاملة بحامض الفا-ليبويك ول-كارنتين استطاعت هذه المعاملات من خفض مستوى AGEs ولكن لم يصل الى مستواه في مجموعة السيطرة (الشكل14).



الشكل(14) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض-الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في مستوى نواتج عملية التسكر المتقدمAGEs في مصل الدم .

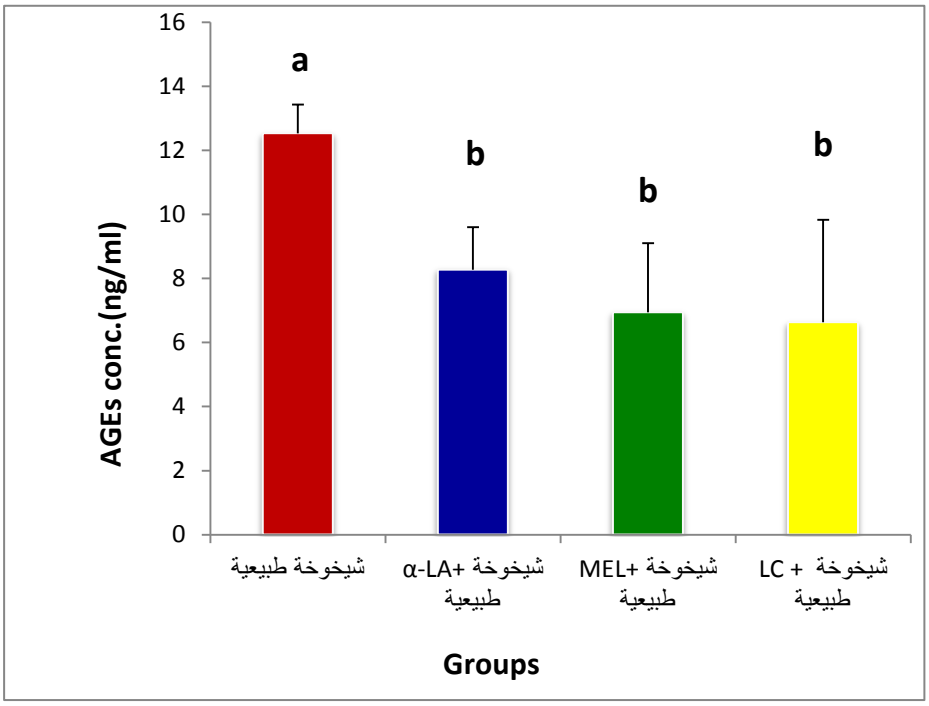
*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسى

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

2.6.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض-الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين و ل-كارنتين في مستوى نواتج عملية التسكر المتقدم Advanced glycation end products (AGEs) في مصل الدم.

اوضحت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا-ليبويك ،هرمون الميلاتونين، ل-كارنتين ادت الى انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى نواتج عملية التسكر المتقدم مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية. ولم يظهر اختلافا معنويا بين المجاميع المعاملة بحامض الفا-ليبويك، هرمون الميلاتونين، ل-كارنتين(الشكل15).



الشكل(15) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض-الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل-كارنتين في مستوى نواتج عملية التسكر المتقدم AGEs في مصل الدم.

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال($P\leq0.05$).

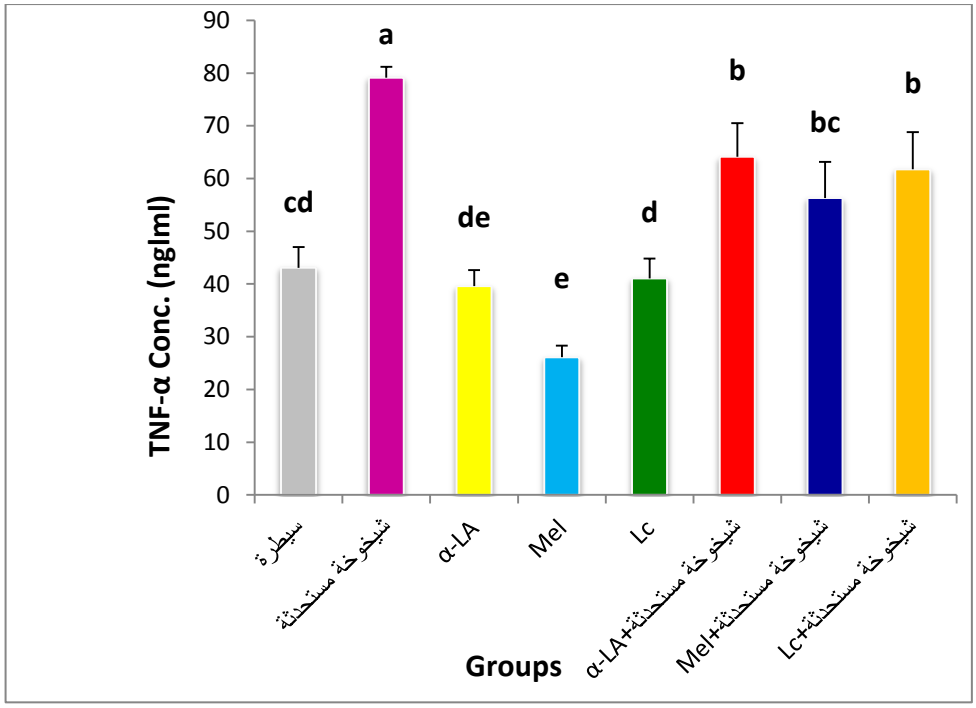
*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

7.4عامل النخر الورمي –الفا

1.7.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى عامل النخر الورمي –الفا Tumer Necrosis Factor –alpha (TNF-α) في مصل الدم.

بينت نتائج التجربة الحالية بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة ادت الى زيادة معنوية($p\leq0.05$) في مستوى عامل النخر الورمي TNF-α مقارنة مع مجموعة السيطرة. كذلك فقد اوضحت نتائج التجربة بان المعاملة بحامض الفا–ليبويك ول–كارنتين لم تختلف معنويا عن مجموعة السيطرة. كذلك فقد اشارت النتائج الى ان المعاملة بهرمون الميلاتونين لوحده ادت الى انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى TNF-α مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة ل–كارنتين، لكنها لم تختلف معنويا عن مجموعة المعاملة بحامض الفا–ليبويك.

اوضحت نتائج المعاملة بسكر الكالاكتوز مع حامض الفا– ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى عامل النخر الورمي – الفا مقارنة مع مجموعة المعاملة مستحدثة الشيخوخة. وقد اشارت نتائج المعاملة بسكر الكالاكتوز مع هرمون الميلاتونين انها غير مختلفة معنويا عن مجموعة السيطرة وعن المجموعة المعاملة بسكر الكالاكتوز مع حامض الفا –ليبويك والمعاملة بسكر الكالاكتوز مع ل– كارنتين. ولهذا فان المعاملة بهورمون الميلاتونين ادت الى تحسن في مستوى TNF- α وارجاعه الى مستواه الطبيعي في مجموعة السيطرة، وقد حسنت المعاملة بكل من حامض الفا–ليبويك ول–كارنتين في مستوى TNF- α لكن لم تصل الى مستواه الطبيعي في مجموعة السيطرة (الشكل 16).



الشكل(16) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى عامل النخر الورمي–الفا TNF- α في مصل الدم .

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

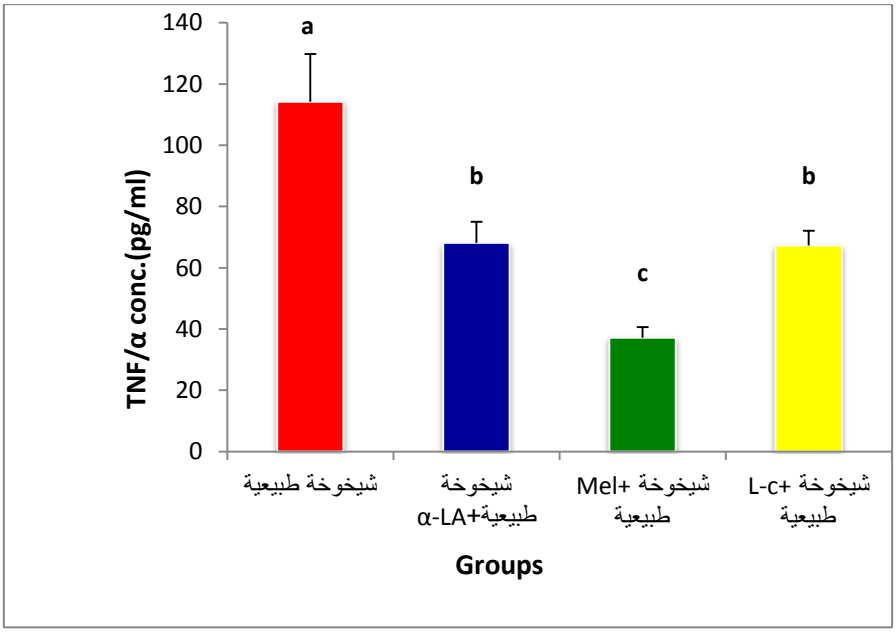
*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

2.7.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى عامل النخر الورمي –الفا Tumor necrosis factor–alpha (TNF- α) في مصل الدم .

بينت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا– ليبويك ،هرمون الميلاتونين، ل–الكارنتين سببت انخفاضا معنويا ($p\leq0.05$) في مستوى عامل النخر الورمي – الفا مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية (السيطرة) (الشكل 17). كذلك اظهرت النتائج بان المعاملة بهرمون الميلاتونين اظهرت انخفاضا معنويا ($p\leq0.05$) في مستوى عامل النخر

الورمي–الفا مقارنة مع مجموعة المعاملة بحامض –الفا ليبويك، ل–الكارنتين واللتان لم يظهر بينهما فروقا معنوية.



الشكل(17) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى عامل النخر الورمي–الفا TNF- α في مصل الدم .

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

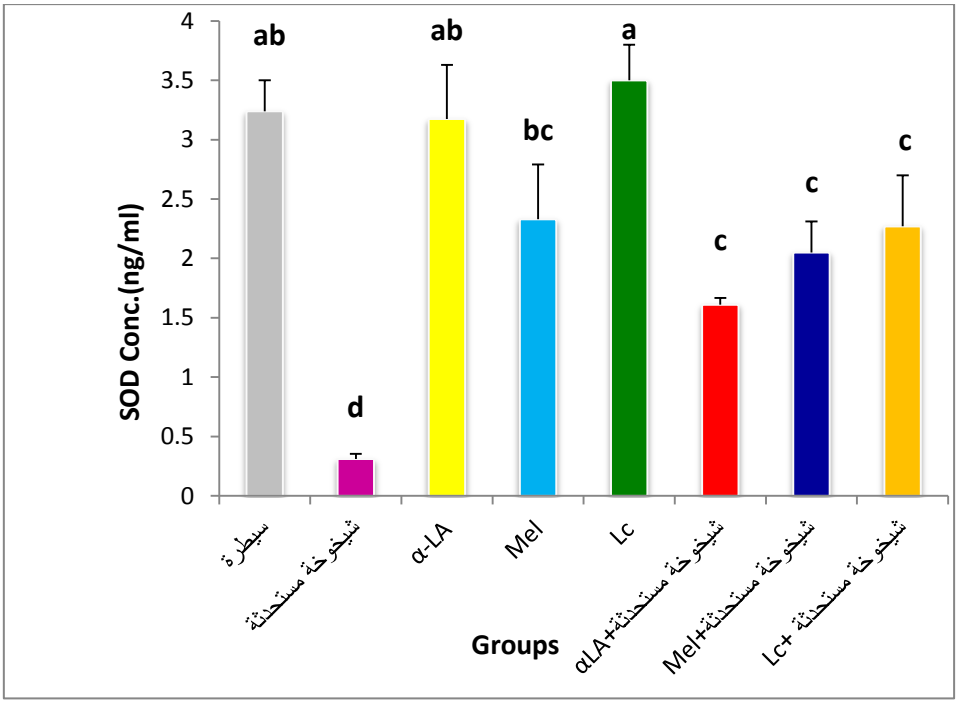
*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

8.4 انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز

1.8.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز Super oxide dismutase (SOD) في مصل الدم.

بينت نتائج التجربة الحالية بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز سببت انخفاض معنوي ($p\leq0.05$) في مستوى انزيم SOD مقارنة مع مجموعة السيطرة. فيما بينت نتائج التجربة ان المجاميع المعاملة بحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–الكارنتين في مستوى

انزيم SOD لم تختلف معنويا عن مجموعة السيطرة. كما اظهرت المجموعة المعاملة بسكر الكالاكتوز مع حامض الفا–ليبويك ومجموعة سكر الكالاكتوز مع هرمون الميلاتونين وسكر الكالاكتوز مع ل–كارنتين ارتفاعا معنويا ($p\leq0.05$) في مستوى انزيم SOD مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة. ولم يكن هنالك اختلاف معنوي بينها. لهذا فان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بكل من حامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين ادى الى تحسن في مستوى انزيم SOD لكن لم يصل الى مستواه الطبيعي في مجموعة السيطرة (الشكل18).



الشكل(18) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز SOD في مصل الدم.

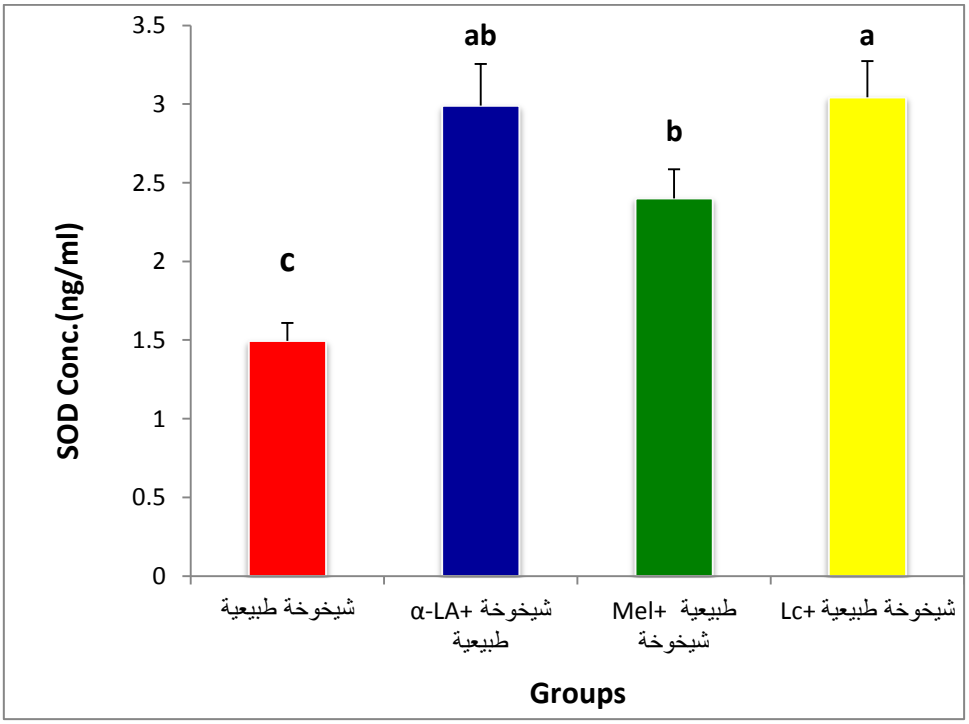
*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($P \leq 0.05$).

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

2.8.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز Super oxide dismutase (SOD) في مصل الدم .

اشارت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بكل من حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين، الكارنتين اظهرت ارتفاعا معنويا ($P\leq0.05$) في مستوى انزيم SOD مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية (السيطرة). وان المعاملة بالكارنتين اظهرت ارتفاعا معنويا ($P\leq0.05$) في مستوى انزيم SOD مقارنة مع مجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين لمجموعة الشيخوخة الطبيعية لكنها لم تختلف معنويا عن المجموعة المعاملة بحامض الفا–ليبويك (الشكل 19) .



الشكل (19) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى انزيم السوبر اوكسيد دسميوتيز SOD في مصل الدم.

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

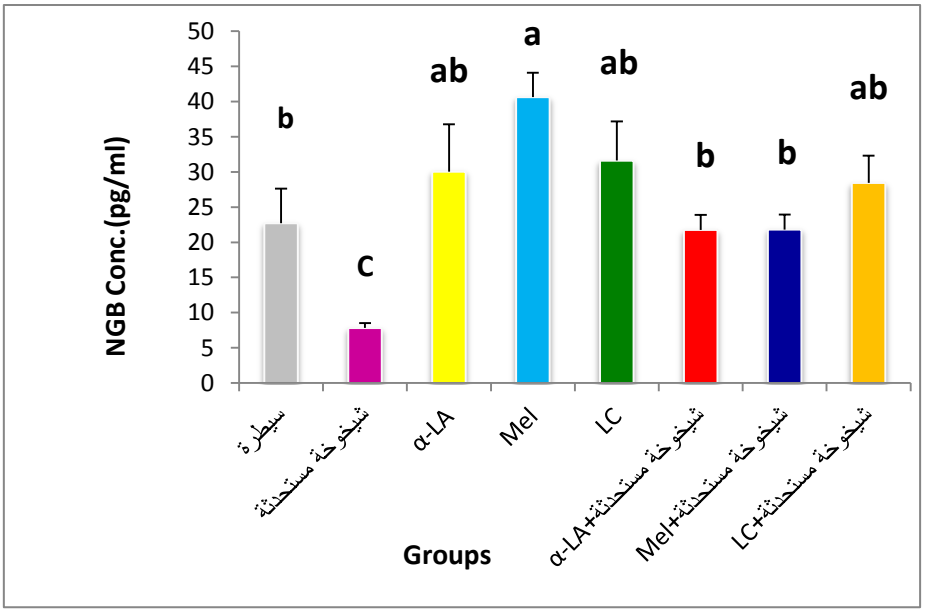
*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

9.4 النيوروكلوبين

1.9.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض-الفا ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في مستوى النيوروكلوبين Neuroglobin (NGB) في مصل الدم.

اظهرت نتائج التجربة الحالية بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة سببت انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في مستوى النيوروكلوبين لجرذان مجموعة الشيخوخة المستحدثة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. فضلا عن ذلك فقد بينت نتائج التجربة الحالية بان المجموعات المعاملة بهرمون الميلاتونين كانت مرتفعة معنويا ($P\leq0.05$) عن مجموعة السيطرة. وان المجموعة المعاملة بحامض الفا-ليبويك ومجموعة المعاملة بالكارنتين لم تختلف معنويا عن مجموعة السيطرة. وبينت النتائج لهذه التجربة ان مجاميع المعاملات بسكر الكالاكتوز مع حامض الفا-ليبويك ومجموعة سكر الكالاكتوز مع هرمون الميلاتونين ومجموعة سكر الكالاكتوز مع الكارنتين كانت مرتفعة معنويا ($P\leq0.05$) مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بسكر الكالاكتوز، في حين اظهرت هذه المجاميع الثلاثة عدم اختلافها معنويا فيما بينها. وعليه فان لحامض الفا-ليبويك ولهرمون الميلاتونين والكارنتين تأثير في ارجاع وزيادة مستوى النيوروكلوبين لكن لم يصل الى المستوى الطبيعي في مجموعة السيطرة (الشكل20).



الشكل (20) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى النيوروكلوبين NGB في مصل الدم.

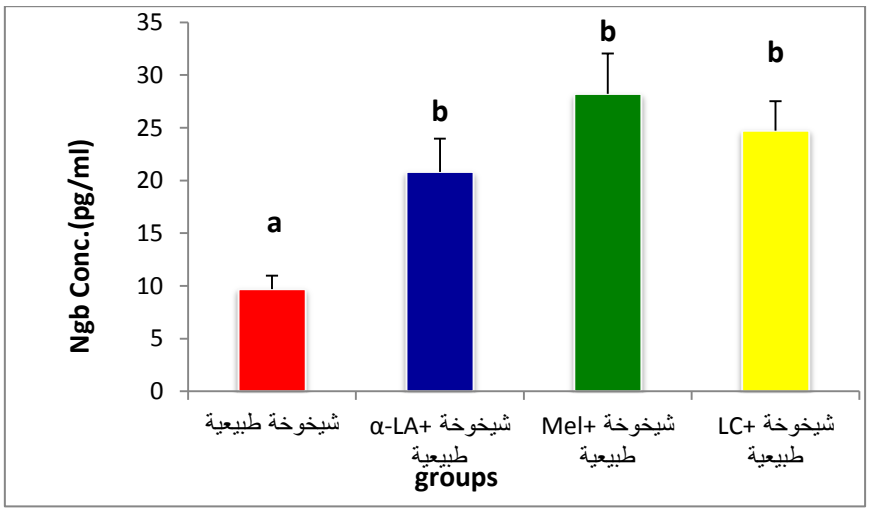
*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

2.9.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى النيوروكلوبين Neuroglobin (NGB) في مصل الدم .

اظهرت نتائج هذه التجربة بان مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا– ليبويك وهرمون الميلاتونين والكارنتين كانت مرتفعة معنويا ($P\leq0.05$) في مستوى النيوروكلوبين مقارنة مع الشيخوخة الطبيعية (مجموعة السيطرة). فضلا عن ذلك فان مجاميع المعاملات بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين والكارنتين لم تظهر اختلافا معنويا فيما بينها، بالرغم من ملاحظة الزيادة الحسابية لمجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين واختلافها عن مجموعتي المعاملتين الآخرتين الا انها لم تصل الى المعنوية، ايضا مجموعة المعاملة بالكارنتين اظهرت زيادة حسابية عن مجموعة المعاملة بحامض الفا– ليبويك الا انها لم تصل الى المعنوية (الشكل21) .



الشكل(21) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين في مستوى النيوروكلوبين NGB في مصل الدم .

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياس

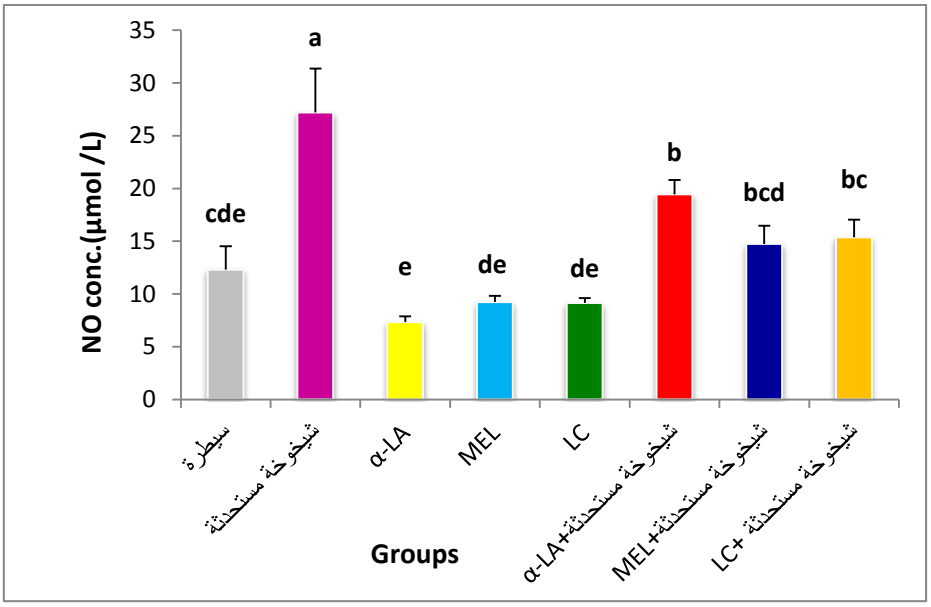
*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

10.4 اوكسيد النتريك

1.10.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ، حامض–الفا ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى اوكسيد النتريك Nitric oxide (NO) في مصل الدم.

اوضحت نتائج التجربة الحالية بان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ادت الى ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في مستوى اوكسيد النتريك مقارنة مع مجموعة السيطرة. والمعاملة بكل من حامض الفا– ليبويك وهرمون الميلاتونين ول –كارنتين لم تظهر اختلاف معنوي مقارنة مع مجموعة السيطرة كما لم يلاحظ اختلاف معنوي بين المعاملات الثلاثة فيما بينهم. احدثت معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بحامض الفا–ليبويك ول– كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في مستوى اوكسيد النتريك مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ولم تختلف المجموعتان معنويا فيما بينهما ولم تتمكن من ارجاع مستوى اوكسيد النتريك الى قيمة مجموعة السيطرة. وقد اظهرت معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بهرمون الميلاتونين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز. وتمكنت المعاملة من ارجاع مستوى اوكسيد النتريك دون فرق معنوي مقارنة مع مجموعة السيطرة (الشكل22).



الشكل (22) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض–الفا ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى اوكسيد النتريك (NO) مصل الدم.

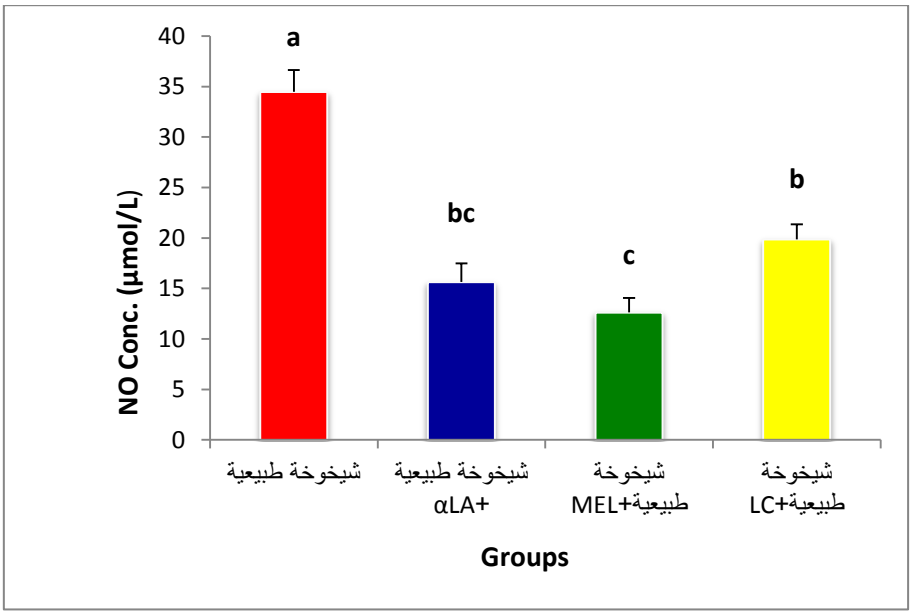
*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

2.10.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين في مستوى اوكسيد النتريك Nitric oxide (NO) في مصل الدم.

سببت معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بكل من حامض –الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في مستوى اوكسيد النتريك مقارنة مع جرذان الشيخوخة الطبيعية (السيطرة).وقد اشارت النتائج بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا– ليبويك لم تختلف معنويا عن مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين ومجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل– كارنتين. وقد اشارت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بهرمون الميلاتونين كانت منخفضة معنويا($P\leq0.05$) مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل–كارنتين. ولهذا فقد تمكنت المعاملة بحامض الفا– ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين من تحسين مستوى اوكسيد النتريك لجرذان الشيخوخة الطبيعية (الشكل 23).



الشكل (23) تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض–الفا ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في مستوى اوكسيد النتريك (NO) في مصل الدم.

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي
*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).
*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

11.4 اختبار الذاكرة والذكاء

1.11.4 الوقت اللازم للسباحة

1.1.11.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الوقت اللازم للسباحة (ثانية) في اختبار المتاهة المائية.

اظهرت نتائج التجربة الحالية ان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز سبب ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للسباحة مقارنة مع مجموعة السيطرة في الاسبوع السابع من التجربة.وقد اشارت النتائج الى ان المعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين لم تختلف معنويا عن مجموعة السيطرة في الوقت اللازم للسباحة خلال الاسبوع السابع من التجربة. سببت معاملة مجاميع الشيخوخة المستحدثة بحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للسباحة مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بسكر الكالاكتوز. واظهرت مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة ب ل–كارنتين خلال الاسبوع السابع من التجربة. اظهر اختبار السباحة في المتاهة المائية خلال الاسبوع الخامس عشر من التجربة ارتفاعا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للسباحة لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز مقارنة مع مجموعة السيطرة.وسببت المعاملة بحامض الفا –ليبويك انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للسباحة مقارنة مع مجموعة السيطرة، ولم تسبب المعاملة بهرمون الميلاتونين ول–كارنتين اختلافا معنويا مقارنة عن مجموعة السيطرة. كما بينت النتائج ان معاملة مجاميع الشيخوخة المستحدثة بكل من حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين سببتا انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للسباحة مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة غير المعاملة. وقد اظهرت مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ارتفاعا معنويا في

الوقت اللازم للسباحة خلال الاسبوع السابع والخامس عشر من التجربة مقارنة بفترة الصفر. وان المعاملة بكل من حامض الفا–ليبويك ول– كارنتين سببا انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للسباحة خلال الاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة بفترة الصفر ومجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين سببت انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للسباحة خلال الاسبوع السابع مقارنة مع فترة الصفر. لم تسبب معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بحامض الفا–ليبويك،هرمون الميلاتونين، ل–كارنتين تغيير معنوي في الوقت اللازم للسباحة خلال فترة الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة بفترة الصفر (الجدول7).

الجدول(7) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الوقت اللازم للسباحة (ثانية) في اختبار المتاهة المائية.

الاوقات / المجاميع	فترة الصفر	الاسبوع السابع	الاسبوع الخامس عشر
السيطرة	15.97 ± 1.16 A **a**	13.60 ± 3.36 A cb	12.01 ± 1.70 A bc
الشيخوخة المستحدثة (سكر الكالاكتوز)	16.44 ± 1.17 B a	31.10 ± 6.52 A a	35.72 ± 2.64 A a
حامض الفا–ليبويك	14.55 ± 2.79 A a	13.60 ± 3.36 AB bc	5.67 ± 1.50 B d
هرمون الميلاتونين	14.47 ± 0.58 A a	7.00 ± 1.54 B c	11.50 ± 1.54 A bc
ل–كارنتين	13.58 ± 1.14 A a	12.17 ± 1.92 AB c	7.61 ± 1.28 B cd
شيخوخة مستحدثة+ حامض الفا–ليبويك	16.44 ± 1.17 A a	12.60 ± 2.02 A c	15.22 ± 1.30 A b
شيخوخة مستحدثة+ هرمون الميلاتونين	16.58 ± 2.08 A a	12.08 ± 1.59 A c	13.82 ± 2.52 A b
شيخوخة مستحدثة + ل–كارنتين	14.42 ± 0.85 A a	17.00 ± 3.09 A b	13.67 ± 1.45 A b

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

*الاحرف الانكليزية الكبيرة المختلفة افقياً تعني وجود فروق معنوية بين الفترات عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

2.1.11.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا-ليبويك، هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في الوقت اللازم للسباحة (ثانية) في اختبار المتاهة المائية.

سببت معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا-ليبويك ،هرمون الميلاتونين، ل-كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للسباحة خلال الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية (السيطرة). مع انخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا-ليبويك ولم تختلف معنويا عن مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل -كارنتين في الاسبوع الخامس عشر من التجربة. لم تظهر معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا-ليبويك تغييرات معنوية في الوقت اللازم للسباحة خلال فترة الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر من التجربة. وازداد تاثير الميلاتونين المخفض وبشكل معنوي ($P\leq0.05$) للوقت اللازم للسباحة وباستمرار فترة المعاملة مقارنة مع وقت الصفر. فضلا عن ذلك فقد سببت معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل-كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة مع فترة الصفر من التجربة، ولم يختلف الوقت اللازم للسباحة معنويا في الاسبوع الخامس عشر مقارنة مع الاسبوع السابع من التجربة (الجدول 8).

الجدول(8) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين في الوقت اللازم للسباحة (ثانية) في اختبار المتاهة المائية.

الاوقات / المجاميع	وقت الصفر	الاسبوع السابع	الاسبوع الخامس عشر
شيخوخة طبيعية(السيطرة)	35.50 ± 5.58 a A	45.33 ± 3.80 a A	48.33 ± 3.72 a A
شيخوخة طبيعية +حامض الفا–ليبويك	41.50 ± 5.542 a A	31.67 ± 3.36 b A	31.50 ± 3.91 b A
شيخوخة طبيعية+هرمون الميلاتونين	45.50 ± 4.07 a A	31.67 ± 4.03 b B	17.83 ± 3.40 c C
شيخوخة طبيعية+ ل–كارنتين	46.17 ± 5.46 a A	25.33 ± 3.67 b B	23.50 ± 4.02 bc B

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال($P\leq0.05$).

*الاحرف الانكليزية الكبيرة المختلفة افقياً تعني وجود فروق معنوية بين الفترات عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

2.11.4 عدد مرات الدوران

1.2.11.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين في عدد مرات الدوران في اختبار المتاهة المائية.

سببت معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في عدد مرات الدوران في المتاهة المائية مقارنة مع مجموعة السيطرة في الاسبوع السابع من التجربة. وقد اظهرت النتائج ان المعاملة بحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين لم تختلف

معنويا عن مجموعة السيطرة في عدد مرات الدوران في الاسبوع السابع من التجربة. وقد سببت معاملة الجرذان المستحدثة الشيخوخة بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين، ل–كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في عدد مرات الدوران مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة مع عدم وجود فرق معنوي بين مجاميع المعاملة الثلاثة. وقد استمر الارتفاع المعنوي ($P\leq0.05$) في عدد مرات الدوران في الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز في الاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة. وبين اختبار جرذان مجاميع المعاملة بحامض الفا–ليبويك ، هرمون الميلاتونين، ل–كارنتين عدم اختلافها معنويا عن مجموعة السيطرة في الاسبوع الخامس عشر من التجربة. وقد سببت معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بحامض الفا – ليبويك، هرمون الميلاتونين، ل–كارنتين انخفاضا معنويا($P\leq0.05$) مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة في عدد مرات الدوران للأسبوع الخامس عشر من التجربة. لم تسبب استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز اختلاف معنوي في عدد مرات الدوران خلال فترتي التجربة مقارنة مع فترة الصفر، بينما سببت المعاملة بحامض الفا –ليبويك، ل–كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في عدد مرات الدوران خلال الاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة مع فترة الصفر، وسبب هرمون الميلاتونين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في عدد مرات الدوران خلال الاسبوع السابع من التجربة مقارنة بفترة الصفر. لم يسبب معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بحامض الفا –ليبويك تغييرات معنوية خلال فترتي التجربة مقارنة مع فترة الصفر.بينما سببت معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بهرمون الميلاتونين ،ل–كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في عدد مرات الدوران خلال الاسبوع السابع من التجربة مقارنة بفترة الصفر (الجدول9).لهذا فان المعاملة بحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين ادت الى تحسن في عدد مرات الدوران مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة سواء من خلال الاختلاف ما بين المعاملات او الاختلاف ما بين الفترات.

الجدول (9) تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في عدد مرات الدوران في اختبار المتاهة المائية.

الفترات / المجاميع	فترة الصفر	الاسبوع السابع	الاسبوع الخامس عشر
السيطرة	3.98 ± 0.97 A a	2.67 ± 0.66 A b	2.08 ± 0.61 A cd
الشيخوخة المستحدثة (سكر الكالاكتوز)	2.136 ± 0.36 A a	10.88 ± 4.94 A a	6.88 ± 0.62 A a
حامض الفا–ليبويك	4.00 ± 1.06 A a	1.83 ± 0.48 AB b	1.50 ± 0.51 B d
هرمون الميلاتونين	5.33 ± 1.02 A a	1.42 ± 0.55 B b	3.67 ± 0.80 AB bc
ل–كارنتين	5.23 ± 1.04 A a	3.00 ± 0.58 AB b	2.33 ± 0.49 B cd
الشيخوخة المستحدثة+ حامض الفا ليبويك	3.46 ± 1.33 A a	1.67 ± 0.33 A b	3.93 ± 0.64 A bc
الشيخوخة المستحدثة +هرمون الميلاتونين	5.23 ± 1.08 A a	1.83 ± 0.60 B b	3.67 ± 0.56 AB bc
الشيخوخة المستحدثة +ل–كارنتين	4.9 ± 0.83 A a	2.00 ± 0.56 B b	4.50 ± 0.92 A b

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال($P\leq0.05$).

*الاحرف الانكليزية الكبيرة المختلفة افقياً تعني وجود فروق معنوية بين الفترات عند مستوى احتمال($P\leq0.05$).

2.2.11.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في عدد مرات الدوران في اختبار المتاهة المائية.

لم تسبب معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين، ل–كارنتين اختلافا معنويا في عدد مرات الدوران في الاسبوع السابع من عند المقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية (السيطرة). لم تسبب معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعة بحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين فروقا معنوية مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية عند الاسبوع الخامس عشر من التجربة. في حين سببت معاملة مجموعة الشيخوخة الطبيعية ب ل–كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في عدد مرات الدوران عند المقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية في الاسبوع الخامس عشر من التجربة، ولم تختلف معنويا عن مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا– ليبويك وهرمون الميلاتونين. لم تسبب معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك تغييرات معنوية في عدد مرات الدوران خلال فترتي التجربة في الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر مقارنة مع وقت الصفر. في حين ادت معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بهرمون الميلاتونين الى انخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في عدد مرات الدوران عند الاسبوع الخامس عشر مقارنة مع فترة الصفر ولا يوجد فرق معنوي خلال الاسبوع السابع عند المقارنة مع وقت الصفر. سببت معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية ب ل–كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في عدد مرات الدوران بين اسبوعي المعاملة السابع والخامس عشر عند مقارنتهما مع وقت الصفر، ولم يظهر فرقٌ معنوي بين الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر من التجربة (الجدول 10).

الجدول(10) تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في عدد مرات الدوران في اختبار المتاهة المائية.

الاوقات / المجاميع	وقت الصفر	الاسبوع السابع	الاسبوع الخامس عشر
شيخوخة طبيعية (السيطرة)	11.67 ± A 1.12 a	15.67 ± A 2.63 a	11.83 ± A 1.01 a
شيخوخة طبيعية +حامض الفا –ليبويك	13.33 ± A 1.23 a	11.17 ± A 1.014 a	9.66 ± A 0.84 ab
شيخوخة طبيعية +هرمون الميلاتونين	15.33 ± A 1.69 a	11.83 ± AB 1.22 a	9.00 ± B 1.41 ab
شيخوخة طبيعية + ل–الكارنتين	16.17 ± A 1.67 a	10.67 ± B 1.08 a	6.83 ± B 1.64 b

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*عدد الجرذان في كل مجموعة= 6

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$).

*الاحرف الانكليزية الكبيرة المختلفة افقياً تعني وجود فروق معنوية بين الفترات عند مستوى احتمال($P\leq0.05$).

3.11.4 الوقت اللازم للوصول الى الهدف

1.3.11.4 تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الوقت اللازم للوصول الى الهدف (ثانية) في اختبار المتاهة المائية.

سبب استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ارتفاع معنوي ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للوصول الى الهدف مقارنة مع مجموعة السيطرة في الاسبوع السابع من التجربة. وقد بينت النتائج ان المعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين لم تختلف معنويا عن مجموعة السيطرة في الوقت اللازم للوصول الى الهدف خلال الاسبوع السابع من التجربة.

انخفض معنويا ($P\leq0.05$) الوقت اللازم للوصول الى الهدف في مجاميع الشيخوخة المعاملة بحامض الفا- ليبويك، الميلاتونين و ل- كارنتين مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز. وقد اظهرت مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بحامض الفا-ليبويك ،هرمون الميلاتونين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) عن مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة ب ل-كارنتين خلال الاسبوع السابع من التجربة.وعند اجراء الاختبار في الاسبوع الخامس عشر من التجربة فقد ظهر ان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز رفع معنويا ($P\leq0.05$) الوقت اللازم للوصول الى الهدف مقارنة مع مجموعة السيطرة.كما سببت المعاملة بحامض الفا -ليبويك انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للوصول الى الهدف مقارنة مع مجموعة السيطرة، فيما بينت النتائج ان المعاملة بهرمون الميلاتونين، ل-كارنتين لم تختلف معنويا عن مجموعة السيطرة. كما بينت النتائج ان مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بكل من حامض الفا- ليبويك، هرمون الميلاتونين ول-كارنتين سببت انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للوصول الى الهدف مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة. وقد اظهرت مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ارتفاعا معنويا ($P\leq0.05$) خلال الاسبوع السابع والخامس عشر من التجربة مقارنة بفترة الصفر. وان المعاملة بحامض الفا-ليبويك، ل- كارنتين سببت انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة بفترة الصفر وان مجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين سببت انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للوصول الى الهدف خلال الاسبوع السابع مقارنة مع فترة الصفر. لم تسبب معاملة الشيخوخة المستحدثة بحامض الفا-ليبويك، هرمون الميلاتونين ،ل-كارنتين تغير معنوي في الوقت اللازم للوصول الى الهدف خلال الاختبار في الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة بفترة الصفر (الجدول11) .

الجدول (11) تأثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا-ليبويك، هرمون الميلاتونين ول-كارنتين في الوقت اللازم للوصول الى الهدف (ثانية) في اختبار المتاهة المائية.

الفترات / المجاميع	فترة الصفر	الاسبوع السابع	الاسبوع الخامس عشر
السيطرة	17.08 ± 1.04 A a	14.60 ± 3.36 A bc	13.02 ± 1.70 A bc
الشيخوخة المستحدثة (سكر الكالاكتوز)	17.32 ± 0.93 B a	32.18 ± 6.47 A a	36.72 ± 2.64 A a
حامض الفا-ليبويك	15.55 ± 2.78 A a	14.60 ± 3.36 AB bc	6.66 ± 1.50 B d
هرمون الميلاتونين	15.47 ± 1.21 A a	7.67 ± 1.49 B c	12.50 ± 1.54 A bc
ل-كارنتين	14.58 ± 2.07 A a	13.17 ± 1.92 AB c	8.61 ± 1.28 B cd
الشيخوخة المستحدثة+ حامض الفا ليبويك	17.44 ± 0.58 A a	13.60 ± 2.01 A c	11.22 ± 1.30 A b
الشيخوخة المستحدثة +هرمون الميلاتونين	17.58 ± 1.16 A a	13.08 ± 1.59 A c	14.82 ± 2.52 A b
الشيخوخة المستحدثة +ل-كارنتين	15.42 ± 1.17 A a	18.00 ± 3.09 A ab	14.50 ± 1.43 A b

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال($P\leq0.05$).

*الاحرف الانكليزية الكبيرة المختلفة افقياً تعني وجود فروق معنوية بين الفترات عند مستوى احتمال($P\leq0.05$).

2.3.11.4 تـأثير معاملـة جـرذان الشـيخوخة الطبيعيـة بحـامض الفـا–ليبويـك، هرمـون الميلاتونين ول–كـارنتين فـي الوقت الـلازم للوصـول الـى الـهدف (ثانيـة) فـي اختبـار المتاهـة المائية .

سببت معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين، ل–كارنتين انخفاضا معنويا ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للوصول الى الهدف عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة خلال الاسبوع السابع من التجربة، مع عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع الثلاثة. رافق ذلك انخفاض معنوي في جميع المعاملات مقارنة مع السيطرة عند الاسبوع الخامس عشر، وقد اظهرت مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين انخفاضا معنويا($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للوصول الى الهدف عند مقارنتها مع مجموعة المعاملة بحامض الفا–ليبويك ،لكنها لم تختلف معنويا عن مجموعة المعاملة ب ل–كارنتين خلال الاسبوع الخامس عشر من التجربة. لم تسبب معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك اختلافا معنويا في الوقت اللازم للوصول الى الهدف خلال فترتي التجربة في الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة مع وقت الصفر. وازداد تاثير الميلاتونين المخفض معنويا ($P\leq0.05$) للوقت اللازم للوصول الى الهدف باستمرار مدة المعاملة مقارنة مع وقت الصفر. وقد اظهرت النتائج ان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية ب ل–كارنتين ادت الى انخفاض معنوي ($P\leq0.05$) في الوقت اللازم للوصول الى الهدف في اسبوعي التجربة السابع والخامس عشر مقارنة مع فترة الصفر، ولم يلاحظ اختلافاً معنوياً في الوقت اللازم للوصول الى الهدف خلال الاسبوع الخامس عشر مقارنة مع الاسبوع السابع من التجربة (الجدول 12).

الجدول(12) تأثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في الوقت اللازم للوصول الى الهدف (ثانية) في اختبار المتاهة المائية .

الاوقات / المجاميع	وقت الصفر	الاسبوع السابع	الاسبوع الخامس عشر
شيخوخة طبيعية (السيطرة)	35.50 ± A 5.70 a	46.33 ± A 3.80 a	49.33 ± A 3.72 a
شيخوخة طبيعية +حامض الفا–ليبويك	42.50 ± A 5.54 a	32.67 ± A 3.36 b	32.50 ± A 3.90 b
شيخوخة طبيعية +الميلاتونين	46.17 ± A 3.86 a	32.67 ± B 4.04 b	18.83 ± C 3.40 c
شيخوخة طبيعية +ل–كارنتين	47.17 ± A 5.46 a	26.33 ± B 3.67 b	26.17 ± B 4.61 bc

*الارقام تمثل المعدل± الخطأ القياسي

*عدد الجرذان في كل مجموعة =6

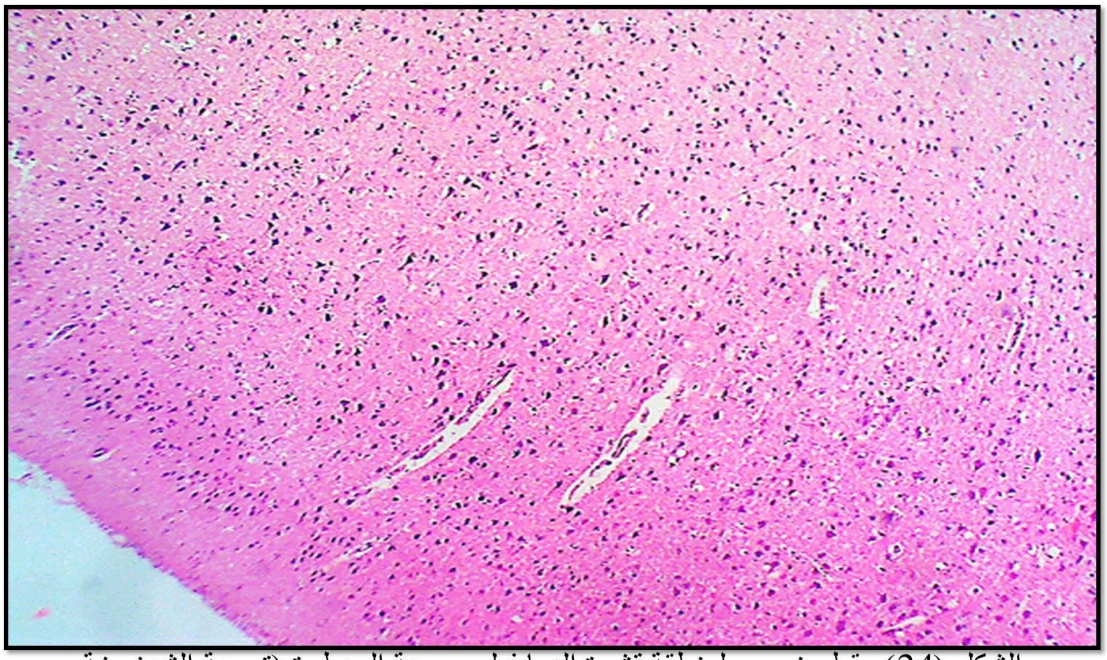
*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى ($P\leq0.05$).

*الاحرف الانكليزية الكبيرة المختلفة افقياً تعني وجود فروق معنوية بين الفترات عند مستوى ($P\leq0.05$).

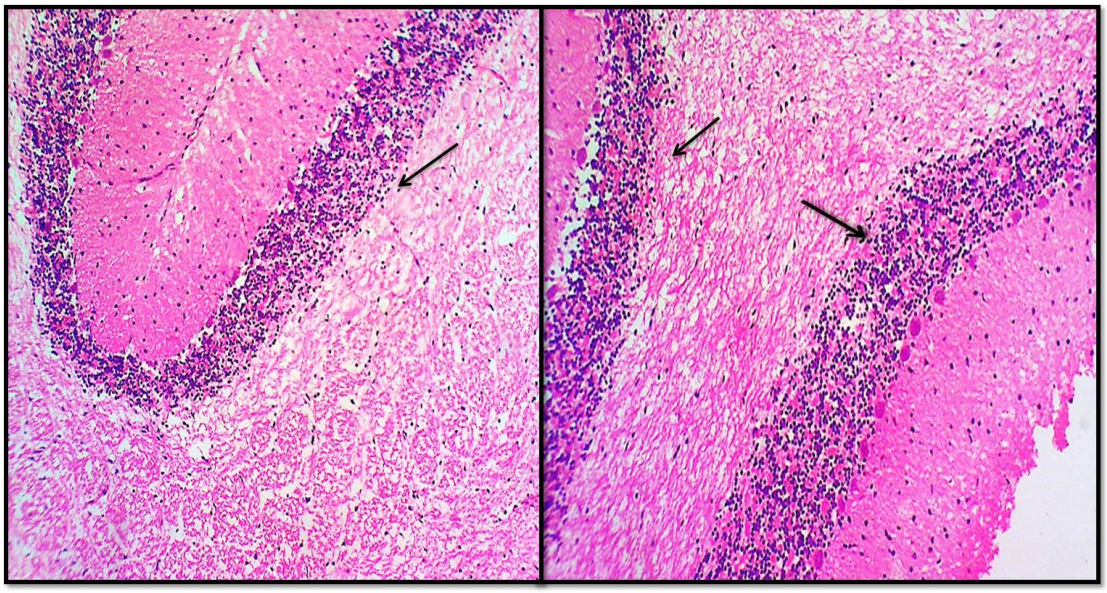
12.4 التغييرات النسجية في الدماغ

1.12.4 تاثير معاملة جرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين في تغييرات الدماغ النسجية.

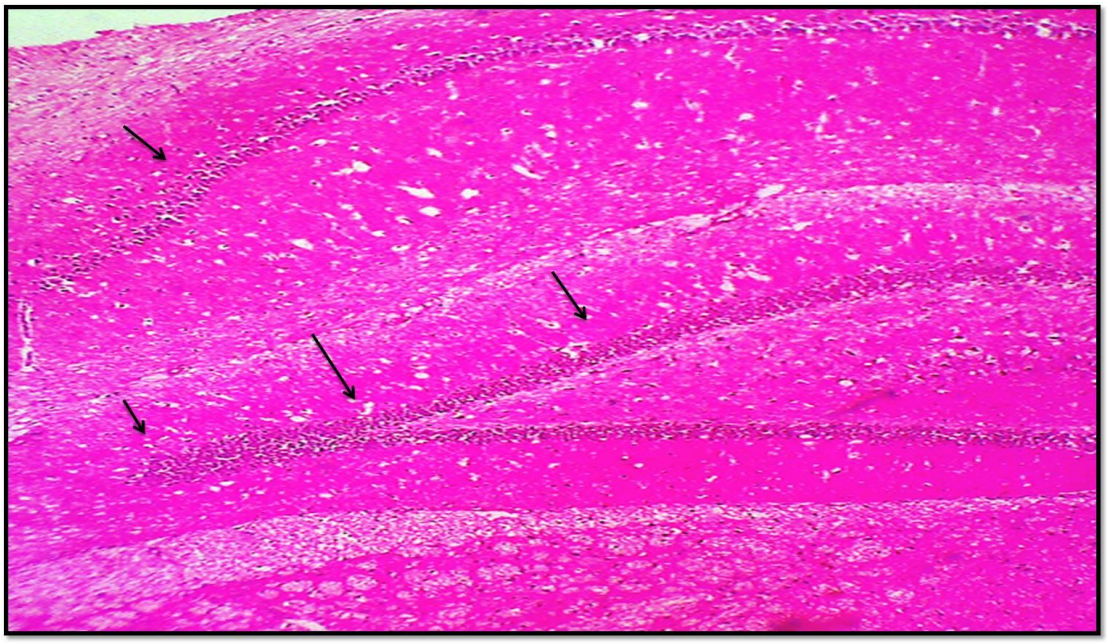
اظهرت نتائج الفحص النسجي للدماغ ظهور الدماغ بشكل الطبيعي وخلوه من التغييرات المرضية لمجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بحامض الفا- ليبويك، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين لجرذان تجربة الشيخوخة المستحدثة (الاشكال28,27,26,25,24) .



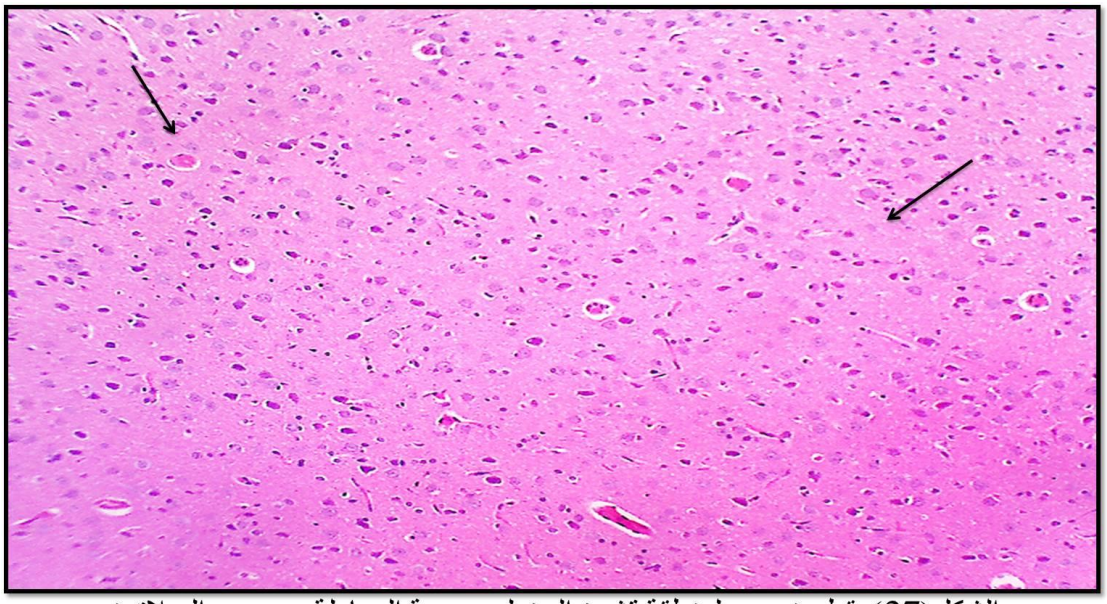
الشكل (24) مقطع نسجي لمنطقة قشرة الدماغ لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة المستحدثة) تبين خلوها من التغييرات المرضية وظهورها بشكل طبيعي. ملون هيماتوكسلين وايوسين (x4)



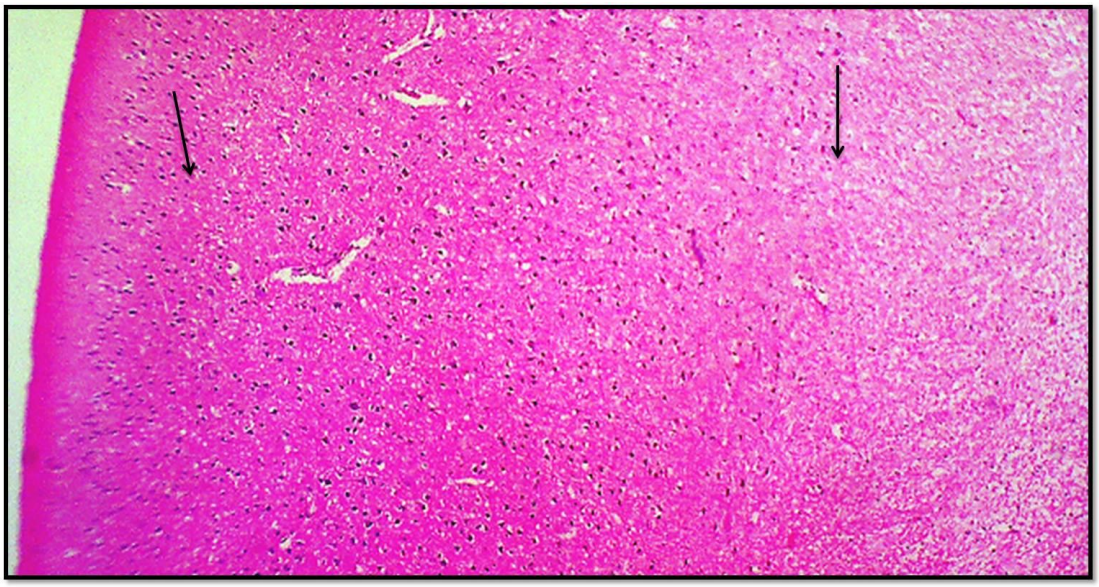
الشكل (25) مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة المستحدثة) تبين خلوها من التغييرات المرضية وظهورها بشكل طبيعي. ملون هيماتوكسلين وايوسين (x10)



الشكل(26) مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة المعاملة بحامض الفا- ليبويك لوحده (تجربة الشيخوخة المستحدثة) يلاحظ فيه ظهور المنطقة بشكل طبيعي مع ملاحظة اصطفاف خلايا CA3 بشكل نظامي ملون هيماتوكسلين (X4)

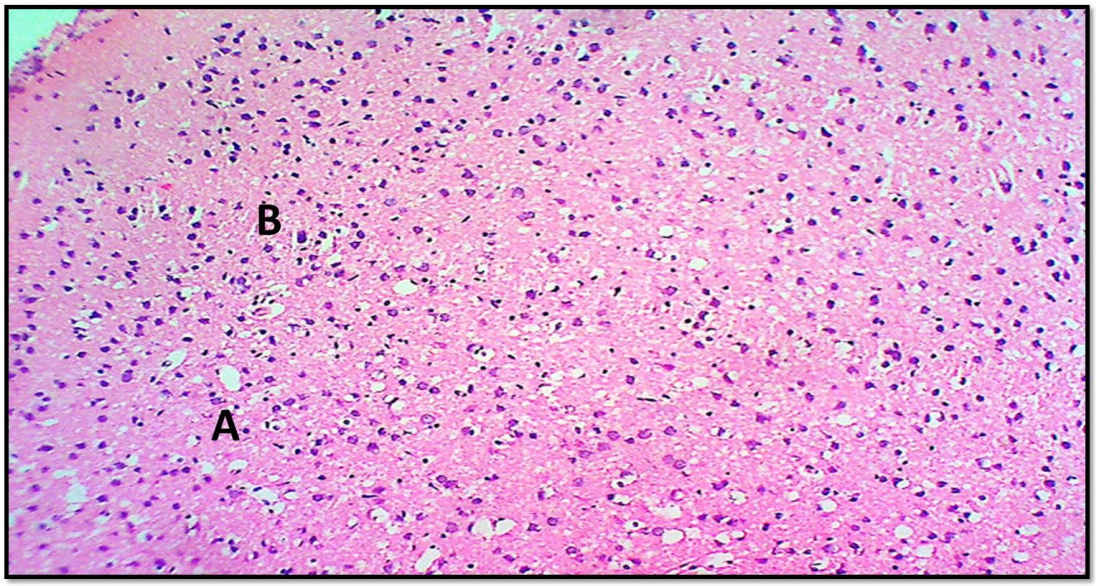


الشكل(27)مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين لوحده(تجربة الشيخوخة المستحدثة) يلاحظ ظهورها بشكل طبيعي وخلوها من التغييرات المرضية ملون هيماتوكسلين وايوسين (X4)

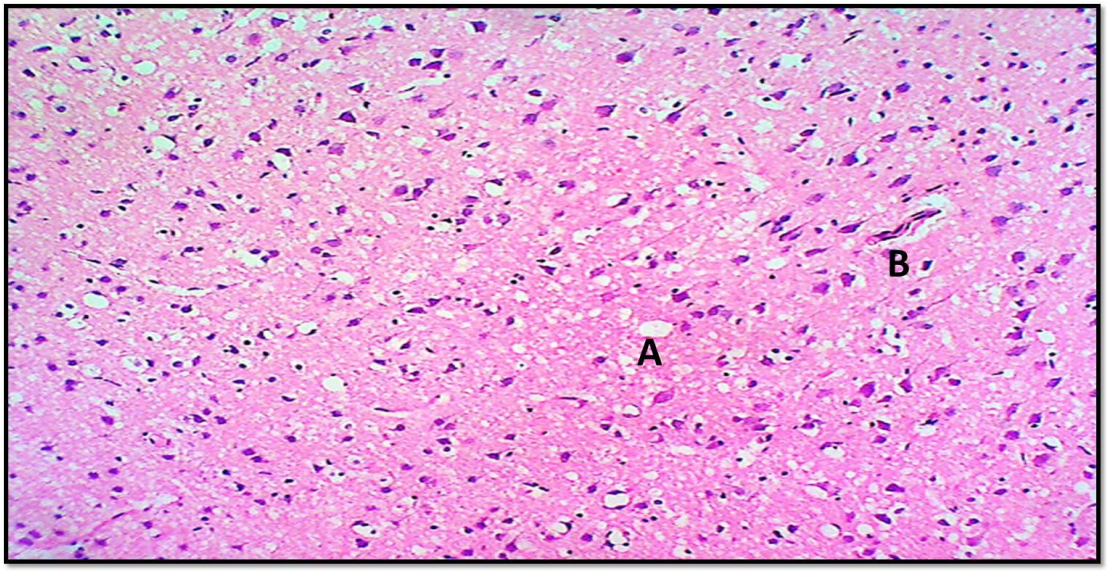


الشكل(28) مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة المعاملة ب ل-كارنتين لوحده(تجربة الشيخِوخة المستحدثة) يلاحظ خلو طبقتي المادة البيضاء والسنجابية من التغييرات المرضية ملون هيماتوكسلين وايوسين(x10)

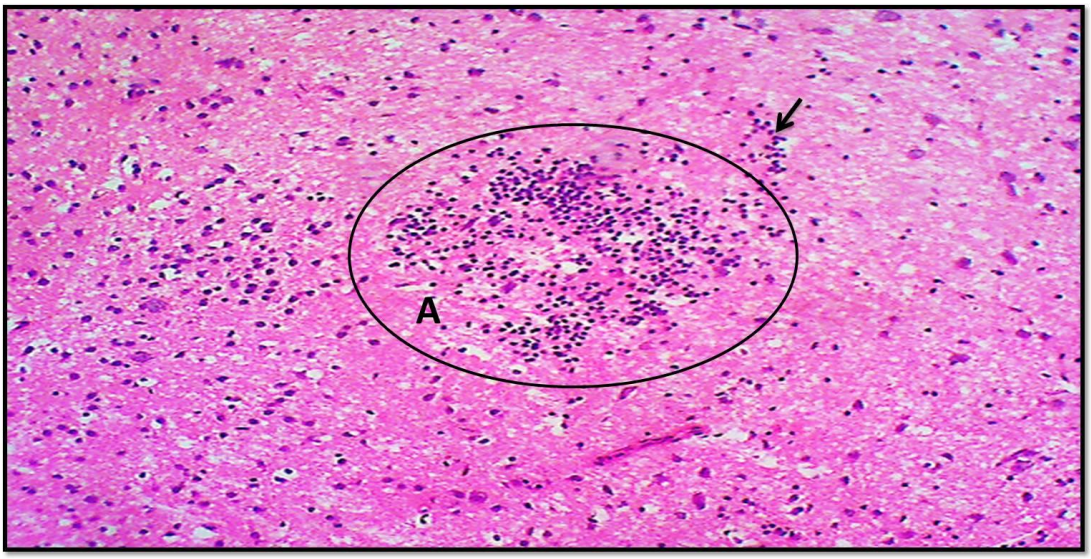
وقد اظهرت مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بسكر الكالاكتوز تغييرات نسجية مرضية واضحة في طبقات قشرة المخ وكذلك في منطقة قرن امون بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، حيث بين الفحص النسجي بان هناك تغييرات مرضية نسجية في الخلايا العصبية لقشرة المخ من خلال حدوث التنكس الفجوي Vacular degeneration في الخلايا وظهور زيادة في اعداد الخلايا الدباقية ، فضلا عن وجود الوذمة الوعائية في طبقات قشرة المخ. وقد لوحظ تجمع بؤري للخلايا الدباقية في منطقة القشرة مع ملاحظة ارتشاح الخلايا الدباقية في منطقة المادة الابيض White matter لقشرة المخ مع ظهور التنخر المائي الاستسقائي والتنكس الشديد لقشرة المخ. وقد اظهر ان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ادى الى ظهور تضخم في الخلايا للطبقة الحبيبية لمنطقة قرن امون و ظهور صبغة اللايبوفيوسين في منطقة القشرة لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز. كما تمت ملاحظة ظهور تراصف الخلايا الالتهابية على بطانة الاوعية الدموية استعدادا للدخول الى داخل النسيج العصبي. وقد لوحظ ظهور حالة موت الخلايا المبرمج للخلايا العصبية في منطقة قرن امون لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز (الاشكال 35,34,33,32,31,30,29).



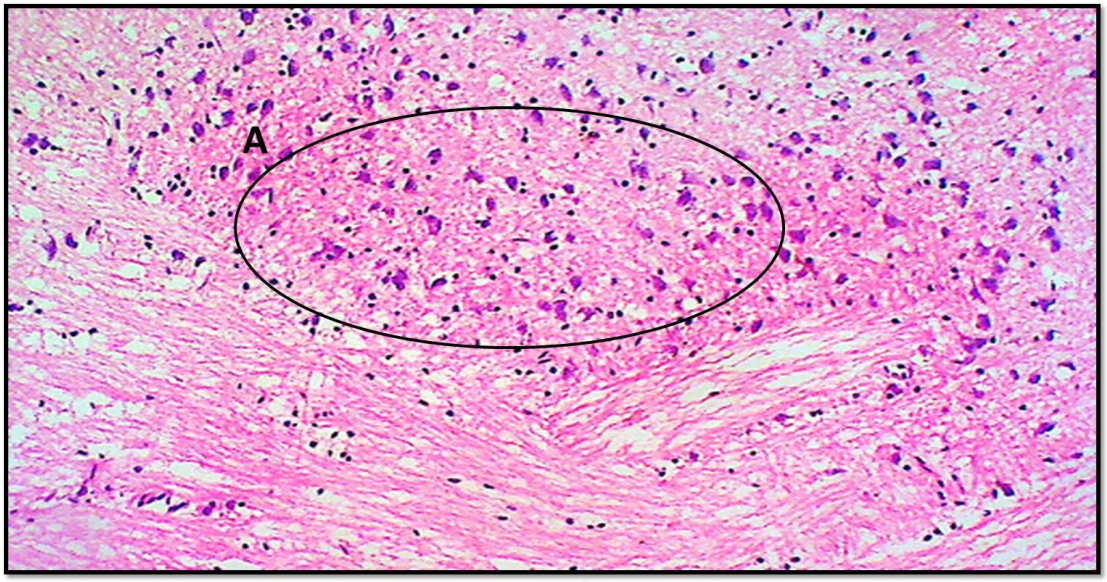
الشكل(29) مقطع نسجي لمنطقة قشرة الدماغ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز يلاحظ حدوث تنكس فجوي في الخلايا العصبية (A) مع ملاحظة وجود زيادة في اعداد الخلايا الدباقية مما ادى الى ظهور حالة الدباق gliosis (B) ملون هيماتوكسلين وايوسين(X10)



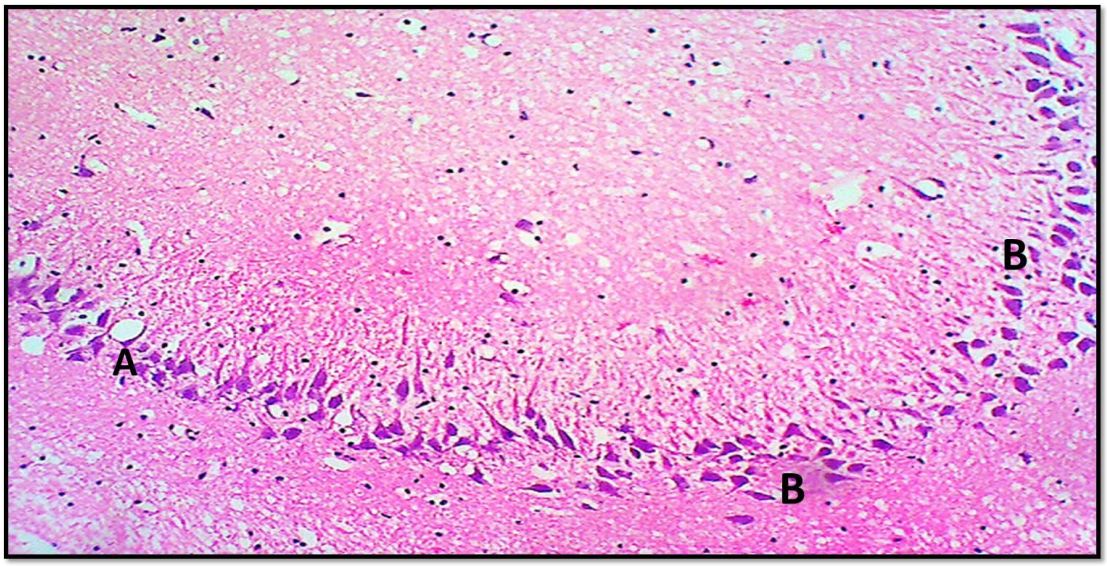
الشكل (30) مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز يلاحظ وجود التنكس الفجوي (A) مع وجود الوذمة الوعائية(B) ملون هيماتوكسلين وايوسين(X10)



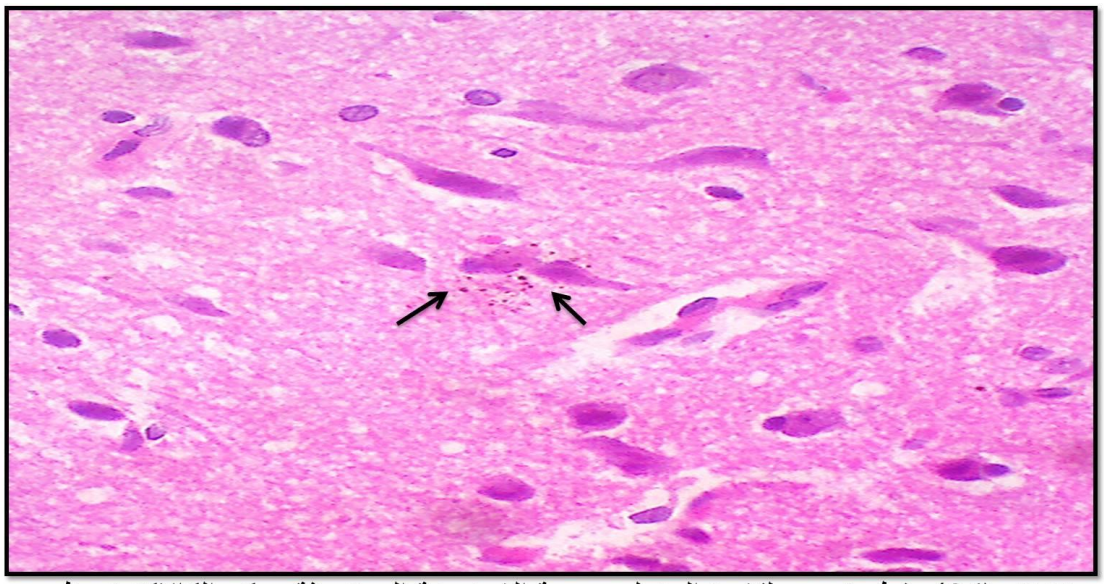
الشكل (31) مقطع نسجي لمنطقة قشرة الدماغ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز يلاحظ تجمع بؤري للخلايا الدباقية (A) (O) ملون هيماتوكسلين وايوسين(X10)



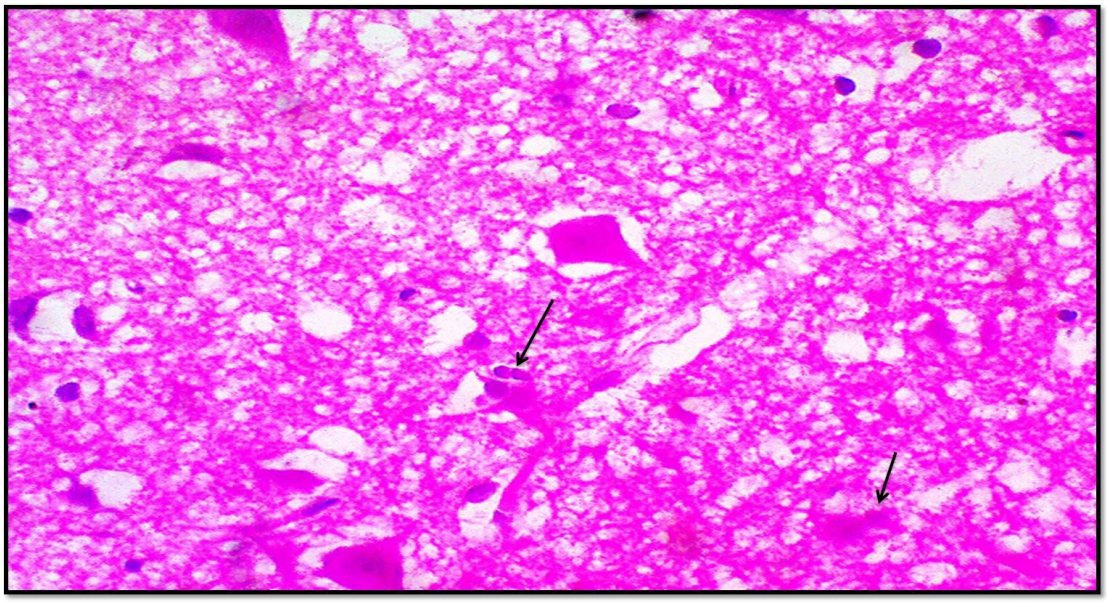
الشكل (32) مقطع نسجي لمنطقة اللب الأبيض لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز يلاحظ نخر بالألياف العصبية (A) ملون هيماتوكسلين وايوسين(X10)



الشكل(33) مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز يلاحظ ظهور قلة في اعداد الخلايا الدباقية (A) مع نخرها (B) وتغيير في اشكالها بالطبقة ملون هيماتوكسلين وايوسين(x10)

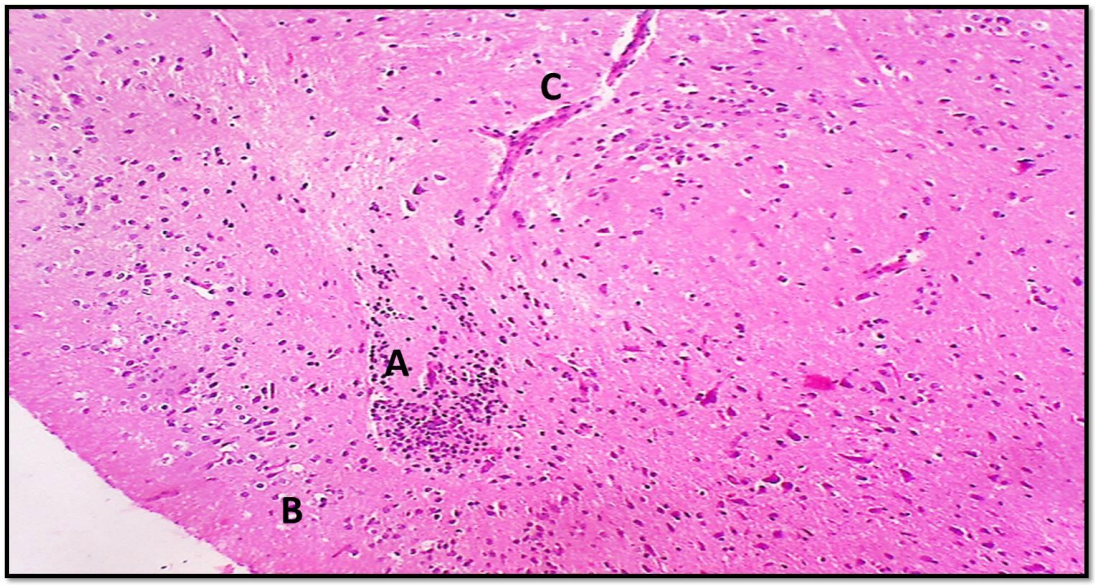


الشكل (34) مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز يظهر فيه صبغة اللايبوفيوسين ↑ملون الهيماتوكسلين وايوسين (X10)

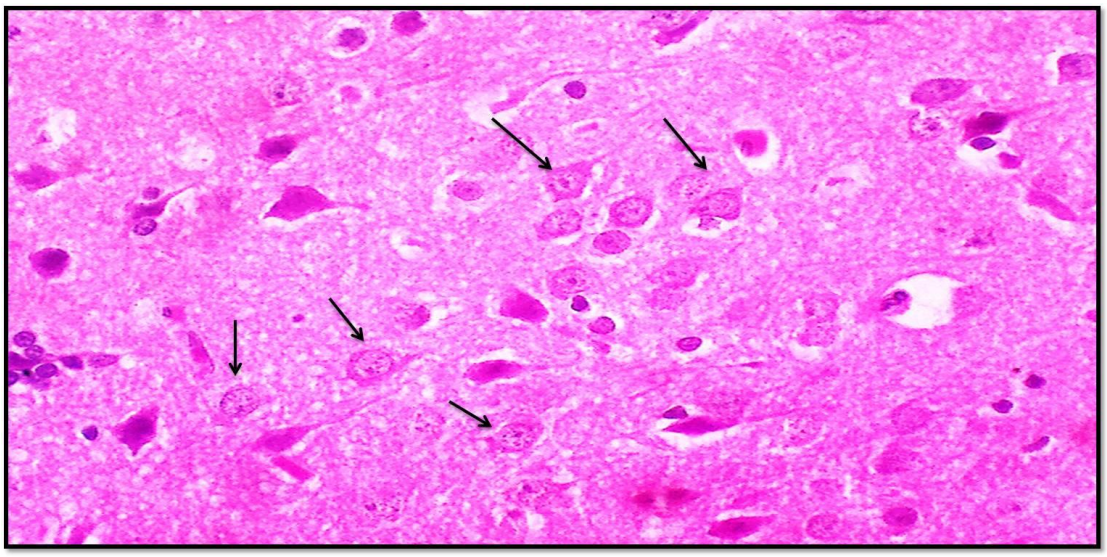


شكل (35) مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز يظهر فيه حالة موت الخلية المبرمج ↑ ملون هيماتوكسلين وايوسين (X40)

اظهرت نتائج الفحص النسجي بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بحامض الفا–ليبويك ادت الى تغييرات مرضية طفيفة في المقاطع النسجية للدماغ، حيث بين وجود الاحتقان الخفيف في الاوعية الدموية لقشرة المخ مع الوذمة الوعائية vasogenic odema ، وقد لوحظ ايضا العلامات الالتهابية واحتقان الاوعية الدموية مع وجود التنكس الفجوي لمنطقة قشرة المخ فضلا عن ذلك ظهور وتكاثر الخلايا النجمية Astrocytes في منطقة القشرة في حين لم يلاحظ تغييرات مرضية شديدة في منطقة قرن امون لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بحامض الفا–ليبويك ، وقد ظهرت ظاهرة التفجي لمنطقة الخلايا الحبيبية مع تنخر البعض الاخر منها لمنطقة قرن امون في الدماغ (الشكلين 37,36).

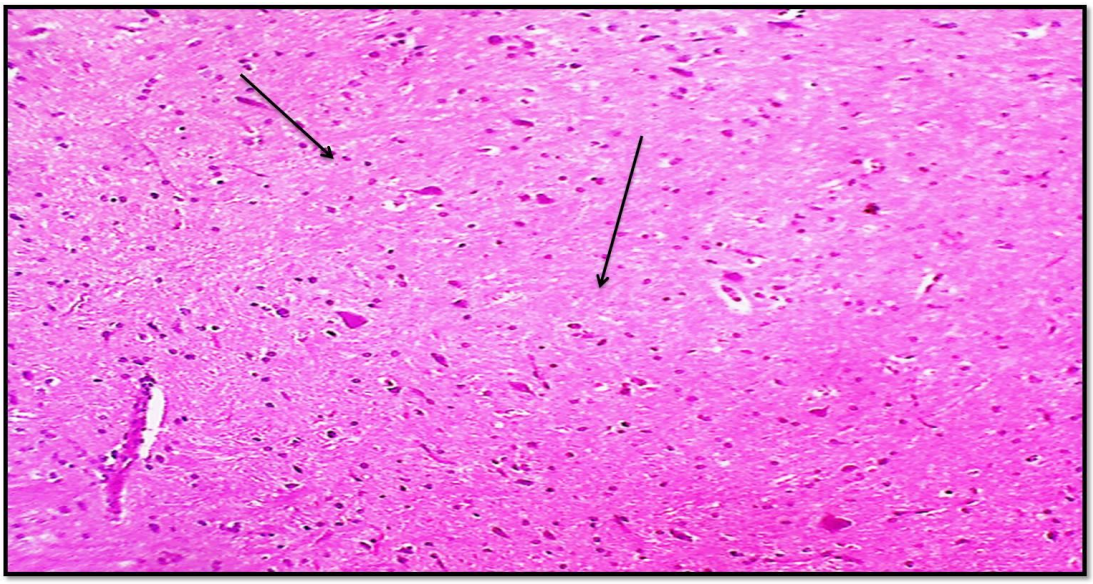


الشكل (36) مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بحامض–الفا–ليبويك يلاحظ ظهور الخلايا الالتهابية على شكل بؤري (A) مع ملاحظة وجود التنكس الفجوي(B) وايضا احتقان الوعاء الدموي(C) ملون هيماتوكسلين وايوسين (X10)



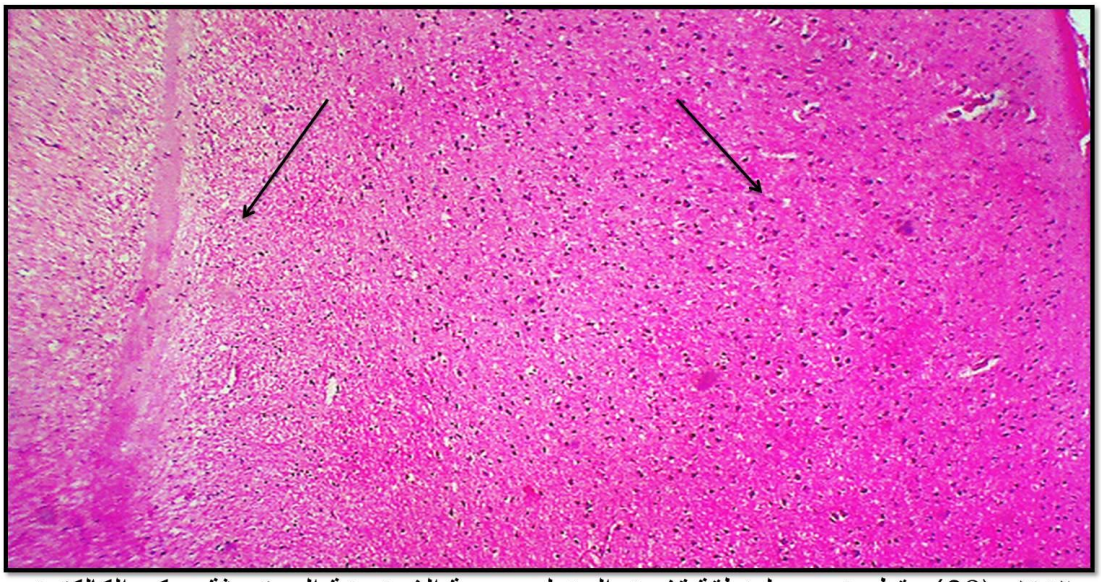
الشكل (37) مقطع نسجي في قشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بحامض–الفا–ليبويك يظهر فيه تكاثر الخلايا النجمية Astrocytes ↑ ملون هيماتوكسلين وايوسين (X40)

اشارت نتائج الفحص النسجي للدماغ بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بهرمون الميلاتونين الى عدم ظهور تغييرات مرضية واضحة في قشرة المخ ، فضلا عن ذلك فقد بين ظهور تغييرات نسجية اقل شدة في منطقة قرن امون وظهورها بشكل طبيعي لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بهرمون الميلاتونين لتجربة الشيخوخة المستحدثة (شكل 38).

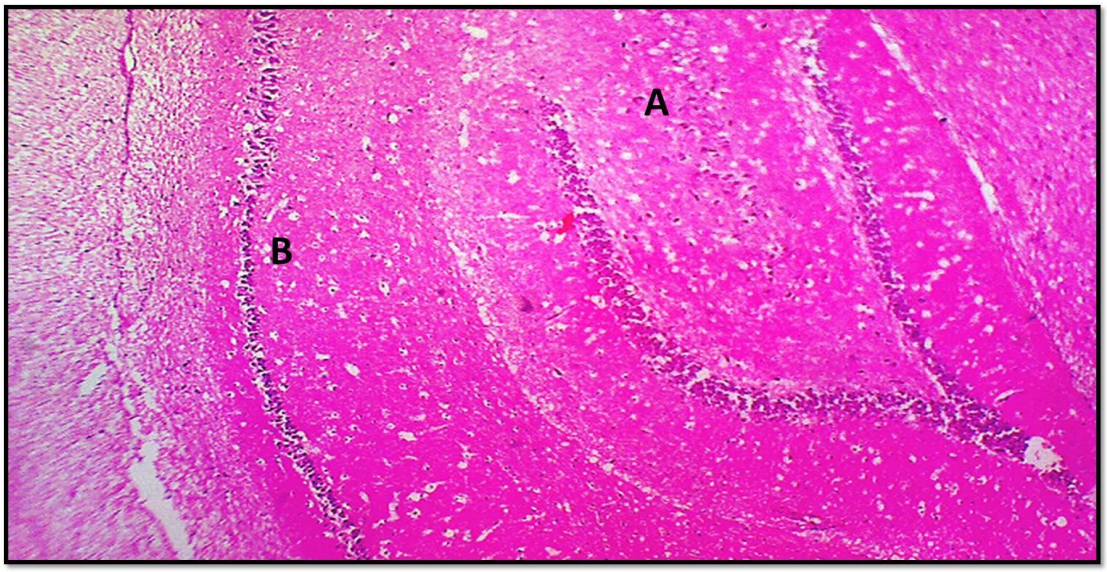


الشكل (38) مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بهرمون الميلاتونين يظهر فيه تغييرات مرضية اقل شدة من بقية المجاميع وظهورها بشكل طبيعي ملون هيماتوكسلين وايوسين (X10)

بينت نتائج الفحص النسجي للدماغ بان المجموعة المستحدث فيها الشيخوخة بسكر الكالاكتوز والمعاملة ب ل –كارنتين لم تظهر تغييرات مرضية واضحة في قشرة المخ ، فيما ظهر تغييرات مرضية من خلال ملاحظة قلة اعداد الخلايا الحبيبية (ضمور) في منطقة قرن امون وقد لوحظ ايضا فقدان ترتيب الخلايا الحبيبية في نفس المنطقة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ومجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين لمجموعة الشيخوخة المستحدثة (الشكلين40,39) .



الشكل (39) مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالكتوز المعاملة ب ل- كارنتين يظهر فيها عدم وجود تغييرات مرضية واضحة ملون هيماتوكسلين وايوسين (X4)

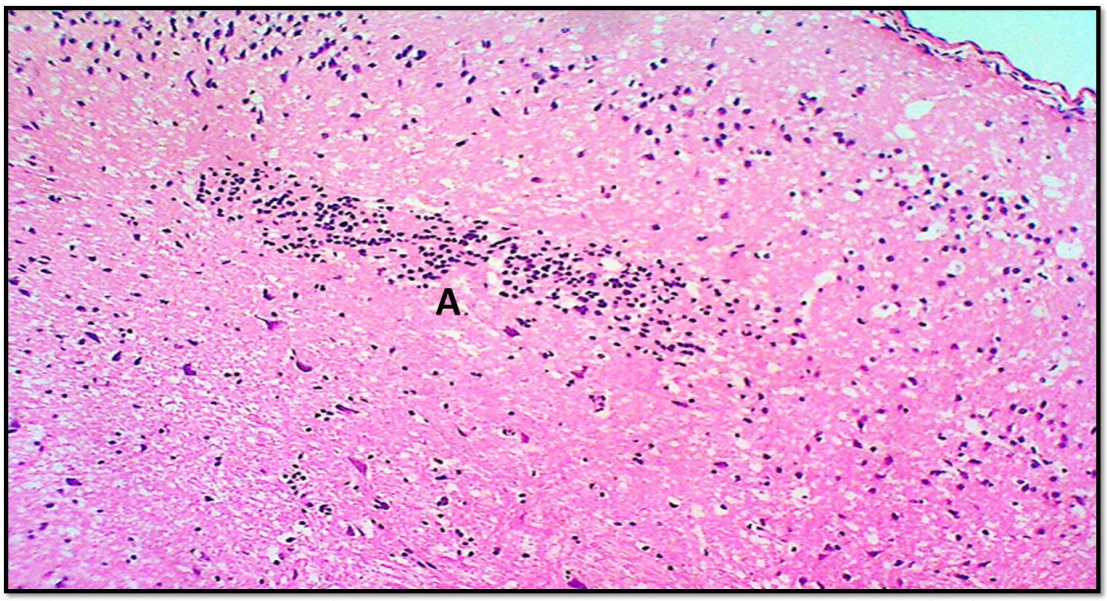


الشكل (40) مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة المعاملة بسكر الكالاكتوز المعاملة ب ل- كارنتين يظهر فيها(A) اظطراب ترتيب الخلايا الحبيبية مع ملاحظة قلة في اعدادها(B) ملون هيماتوكسلين وايوسين (X4)

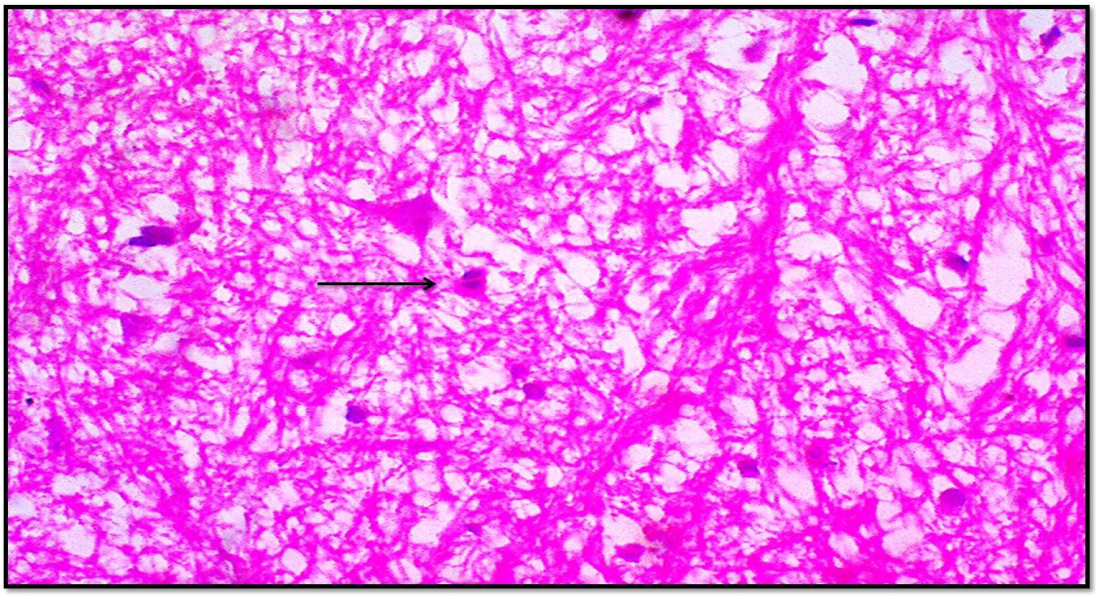
2.12.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا-ليبويك ،هرمون الميلاتونين و ل-كارنتين في تغييرات الدماغ النسجية.

اظهرت نتائج الفحص النسجي لأدمغة مجموعة الشيخوخة الطبيعية (السيطرة) تغييرات مرضية نسجية تمثلت بزيادة ارتشاح الخلايا الدباقية في منطقة القشرة، وقد لوحظ وجود التنكس الفجوي

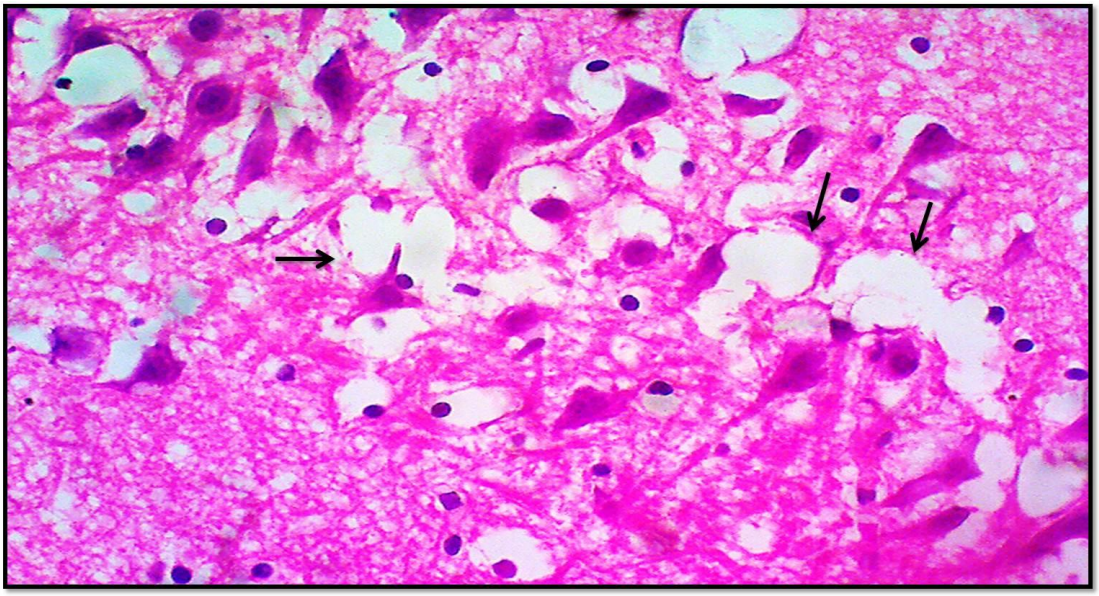
للغلاف النخاعيني لقشرة المخ في منطقة المادة البيضاء ، فضلا عن ملاحظة الخلايا العصبية في قشرة المخ قد اظهرت بعضها تغيير مرضي شديد حيث لوحظ ان بعض الخلايا العصبية تعاني من موت الخلايا المبرمج و ظهرت الانوية منقسمة الى جزئيين او اكثر مع ملاحظة عدم وضوح الغشاء النووي في داخل الخلية ، وقد اظهرت نفس المجموعة تغييرات مرضية في منطقة قرن امون بملاحظة وجود التنكس الفجوي الشديد في الطبقة الحبيبية لمنطقة قرن امون مع ظهور تبعثر للخلايا وفقدان ترتيبها في الطبقة الحبيبية لمنطقة قرن امون مع ظهور خلايا تعاني من موت الخلايا المبرمج في منطقة قرن امون مع ظهور زيادة بأعداد الخلايا الدباقية في منطقة قرن امون وضمور خلايا الطبقة الحبيبية مع التنكس الفجوي الواضح بين الخلايا لمجموعة الشيخوخة الطبيعية (مجموعة السيطرة) (الاشكال45,43,42,41) .



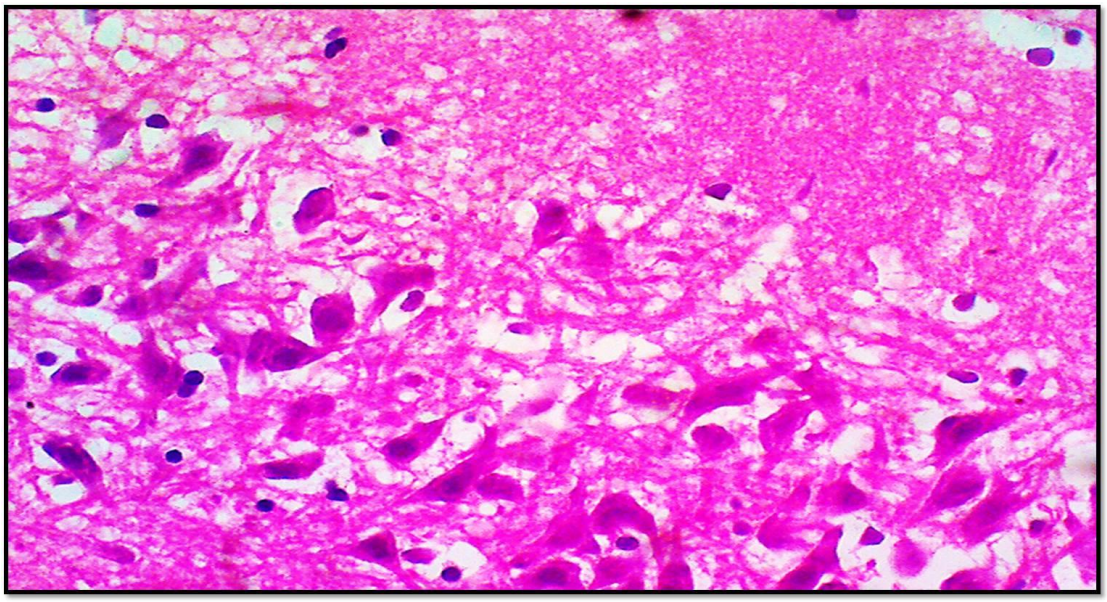
الشكل (41) مقطع نسجي لمنطقة قشرة المخ لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية) يلاحظ فيه وجود ارتشاح الخلايا الدباقية في منطقة القشرة (A) ملون هيماتوكسلين وايوسين (X10)



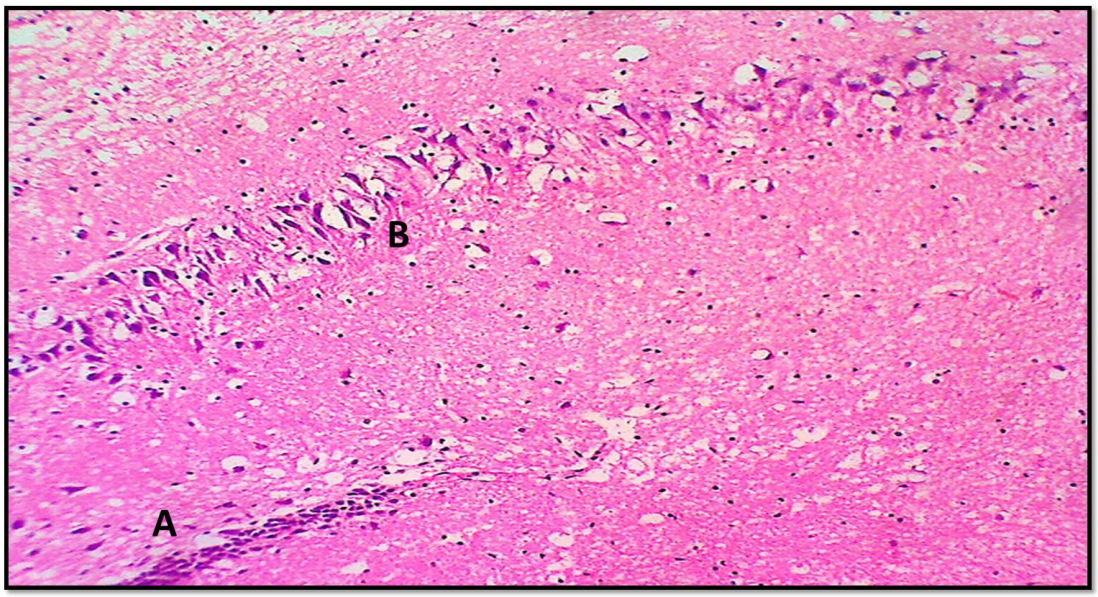
الشكل(42) مقطع نسجي لمنطقة القشرة لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية) يلاحظ ظهور خلية تعاني من موت الخلايا المبرمج Apoptosis ↑في (المادة البيضاء) ملون هيماتوكسلين وايوسين (x40)



الشكل(43) مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية) يلاحظ فيه التنكس الفجوي (التفجي) في منطقة الطبقة الحبيبية لقرن امون ↑ملون هيماتوكسلين وايوسين (X40)

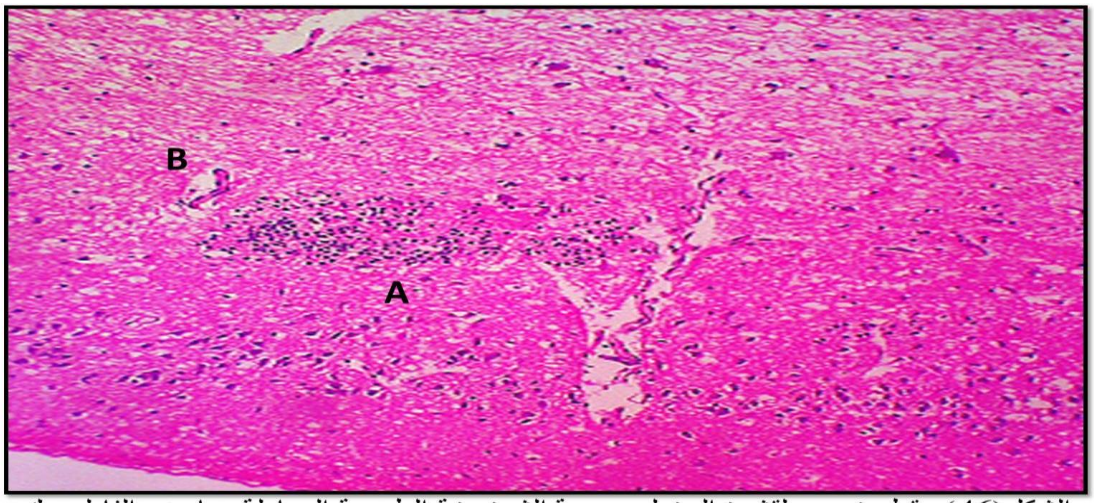


الشكل (44) مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية) يلاحظ تبعثر الخلايا (فقدان الترتيب) في الطبقة الحبيبية لقرن امون ملون هيماتوكسلين وايوسين (X40)



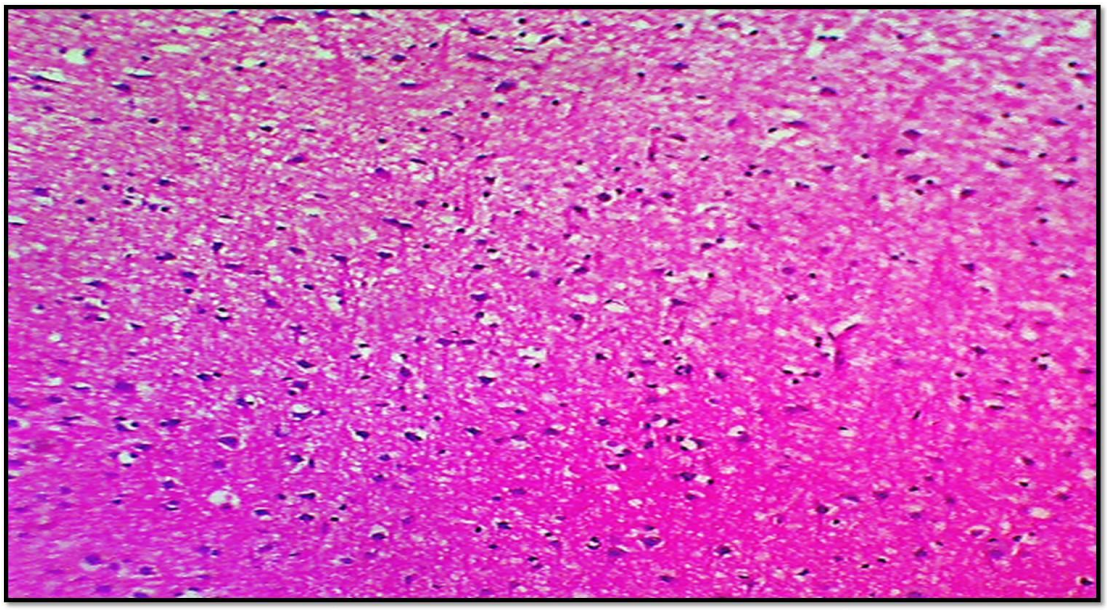
الشكل (45) مقطع نسجي لمنطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية) يلاحظ فيه ارتشاح بؤري للخلايا الدباقية (A) مع ملاحظة ضمور في خلايا الطبقة الحبيبية مع وضوح ظاهرة التفجي لبعض الخلايا (B) ملون هيماتوكسلين وايوسين(X10)

كما اظهرت نتائج التقطيع النسجي للدماغ تغييرات مرضية حيث اظهرت مجموعة الشيخوخة الطبيعية و المعاملة بحامض الفا–ليبويك خلايا عصبية في منطقة القشرة تعاني من موت الخلايا المبرمج فضلا عن ذلك فقد لوحظ ارتشاح الخلايا الالتهابية الدباقية Microglia بشكل بؤري في منطقة القشرة وكذلك تنكس فجوي حول الخلايا العصبية لمنطقة قشرة المخ فضلا عن احتقان الاوعية الدموية.ايضا لوحظت تغييرات مرضية في منطقة قرن امون تمثلت بوجود ضمور في طبقة الخلايا الحبيبية مع اصطفاف غير طبيعي للخلايا لمنطقة قرن امون (الشكل46).



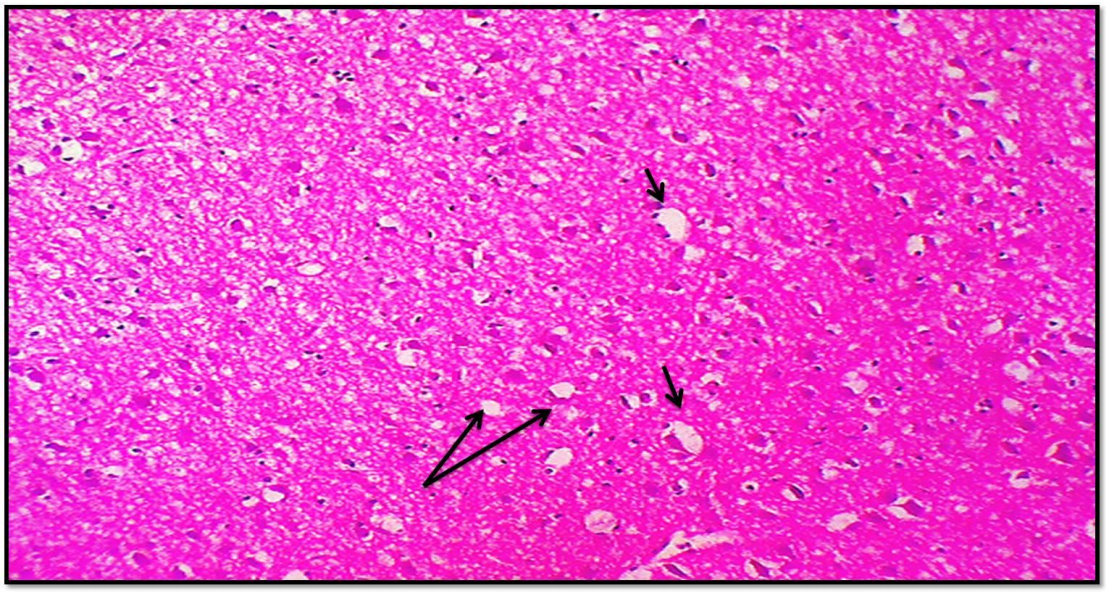
الشكل(46) مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا-ليبويك يلاحظ ارتشاح بؤري للخلايا الدباقية (A) مع ملاحظة احتقان الاوعية الدموية (B) ملون هيماتوكسلين وايوسين(X10)

اوضحت نتائج الفحص النسجي لأدمغة مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين (لتجربة الشيخوخة الطبيعية) خلو منطقة القشرة من التغييرات النسجية الواضحة ، كذلك فقد ظهرت منطقة قرن امون خالية من التغييرات المرضية مع ملاحظة الاصطفاف الطبيعي في خلايا الطبقة الحبيبية لمنطقة قرن امون بالمقارنة مع مجموعة السيطرة لمجموعة الشيخوخة الطبيعية (شكل47) .

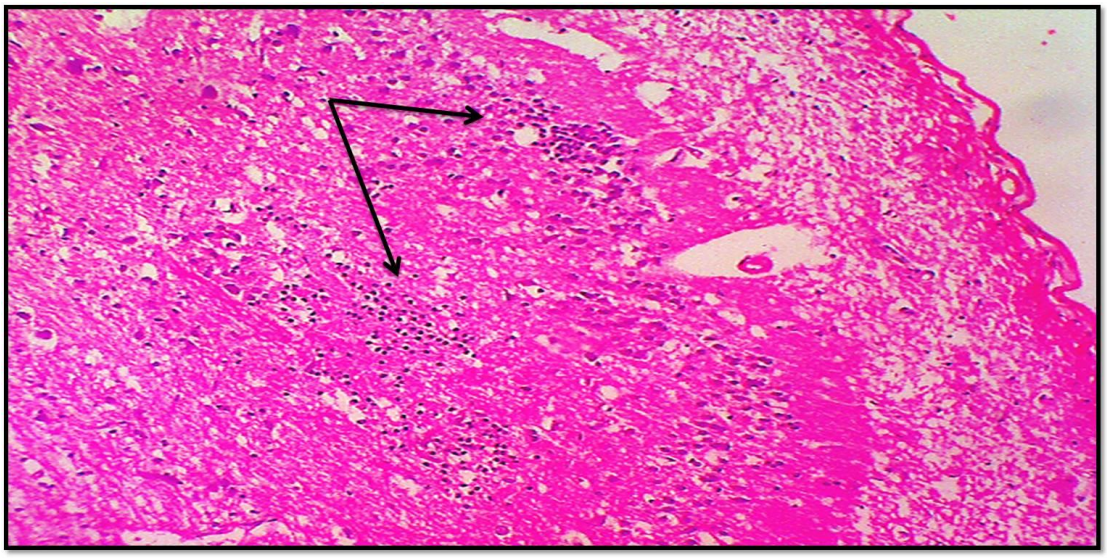


الشكل(47) مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين يلاحظ ظهورها بشكل طبيعي وخلوها من التغييرات المرضية ملون هيماتوكسلين وايوسين(X10)

بينت نتائج الفحص النسجي للدماغ بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية ب ل–كارنتين قد اظهرت مجموعة من التغييرات المرضية حيث لوحظ ظهور التنكس الفجوي في بعض الخلايا العصبية لمنطقة قشرة المخ وايضا لوحظ ارتشاح للخلايا الالتهابية الدباقية في منطقة القشرة ، مع ظهور التنكس الفجوي في الخلايا العصبية لمنطقة قرن امون بالمقارنة مع مجموعة السيطرة لمجموعة الشيخوخة الطبيعية (الشكلين49,48) .



الشكل (48) مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل –كارنتين يلاحظ ظهور التنكس الفجوي في بعض الخلايا العصبية ملون هيماتوكسلين وايوسين(X10)

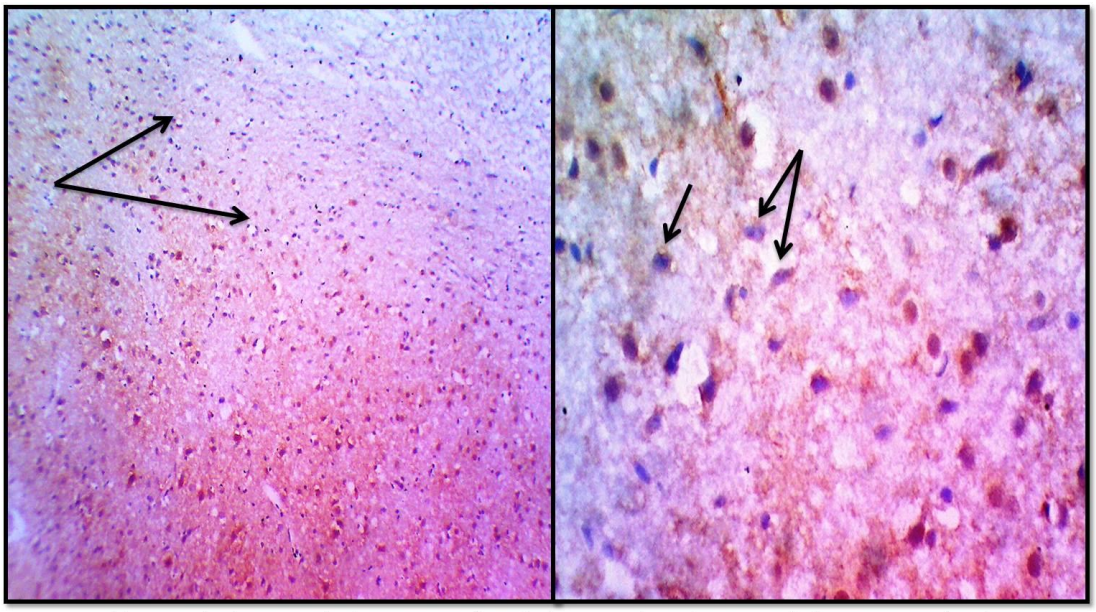


الشكل (49) مقطع نسجي لقشرة المخ لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل –كارنتين
يلاحظ فيه ارتشاح بؤري للخلايا الدباقية ملون هيماتوكسلين وايوسين(X10)

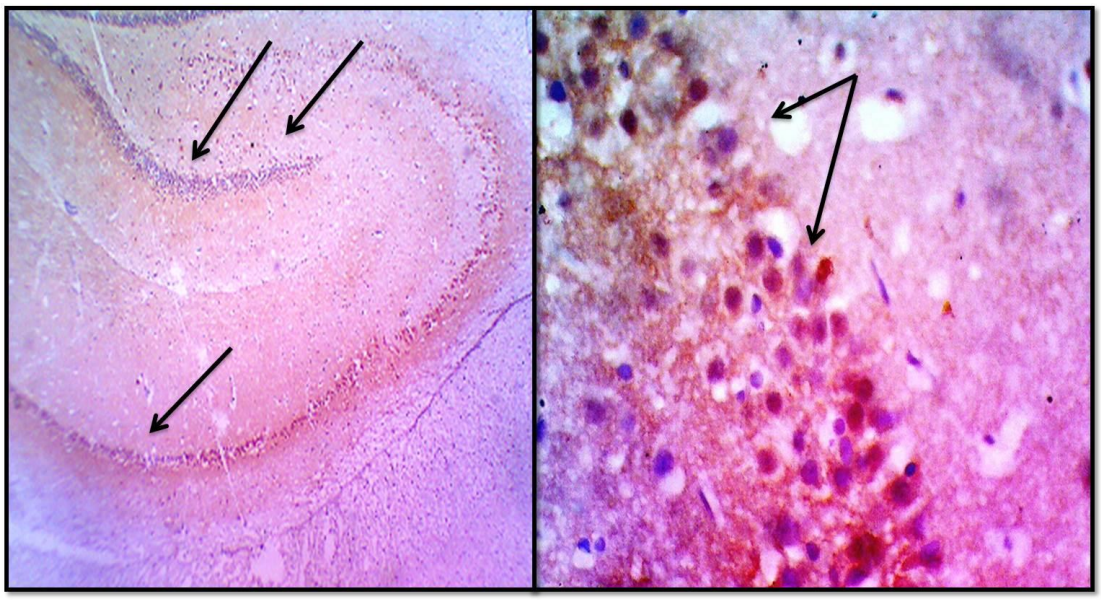
13.4 تركيز بروتين الانترلوكين–6

1.13.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا–ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على تركيز بروتين الانترلوكين–6 في الدماغ بطريقة الاصطباغ المناعي Imunohistochemistry for of IL-6 concentration .

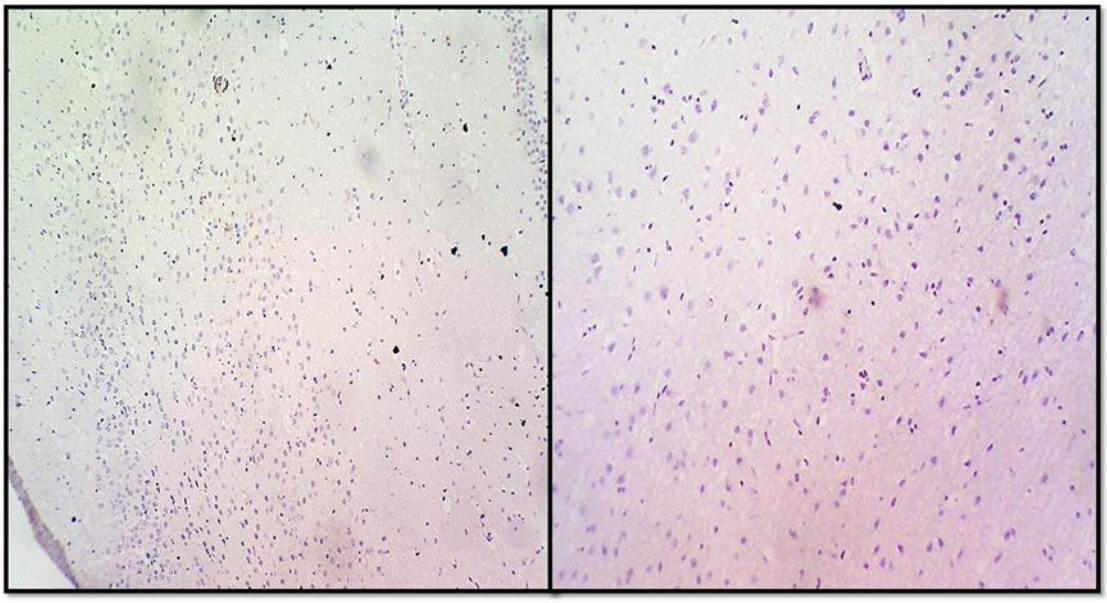
تم اجراء هذا الاختبار لمعرفة تمركز الانترلوكين –6 في ادمغة الجرذان من خلال معرفة توزيع البروتين مع الموقع ضمن اجزاء النسيج بالاعتماد على شدة اللون البني والذي يدل على وجود تعبير للبروتين في داخل الخلية و باستخدام المجهر الضوئي. فقد بينت نتائج هذه التجربة ان الخلايا العصبية في منطقة القشرة ومنطقة قرن امون لأدمغة الجرذان للمجموعة المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز (السيطرة) كانت اقل تصبغا باللون البني كتعبير لبروتين الانترلوكين –6 حيث ظهرت الخلايا باللون الازرق الغامق (الشكلين51,50).



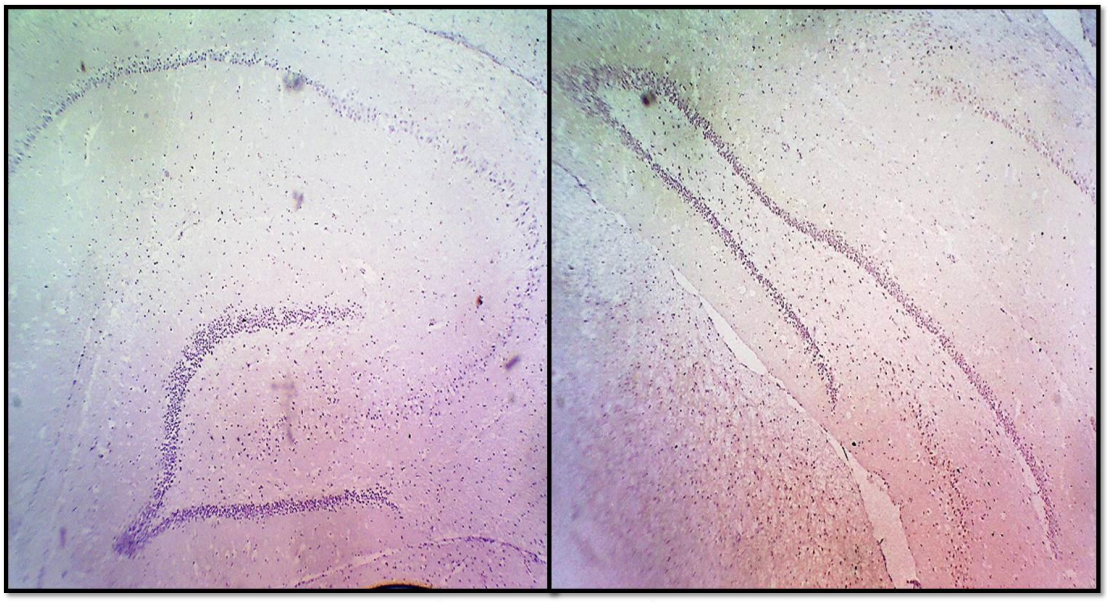
الشكل(50) منطقة قشرة المخ لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة المستحدثة)
ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 قليل من خلال ظهور الاصطباغ قليل الشدة
(اللون البني) X10،40



الشكل(51) منطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة المستحدثة)
ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 قليل من خلال ظهور الاصطباغ قليل الشدة
(اللون البني) X40،4

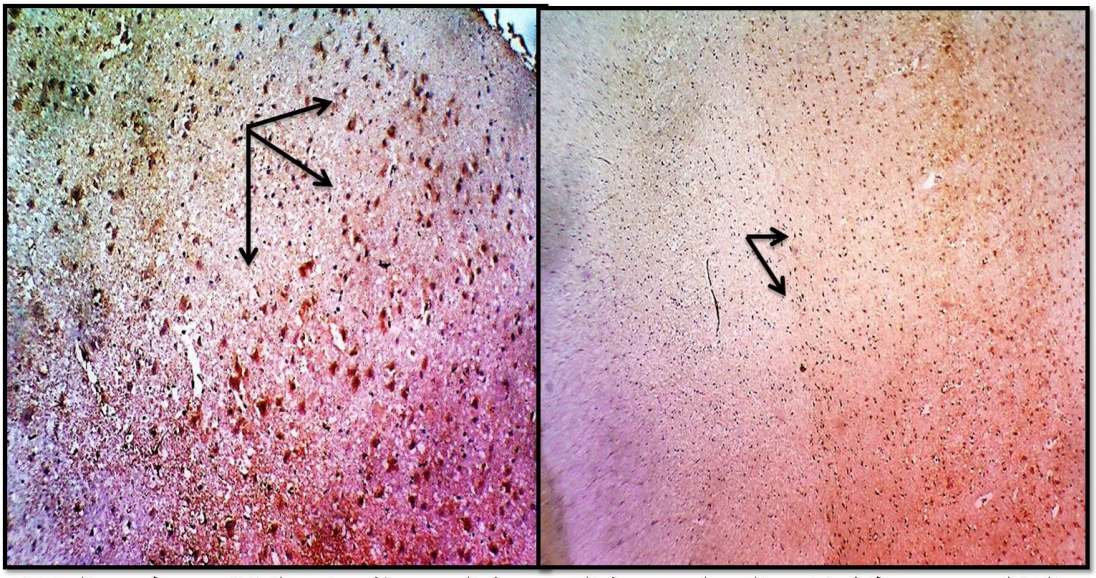


الشكل(52) منطقة قشرة المخ /سيطرة سالبة (X10)

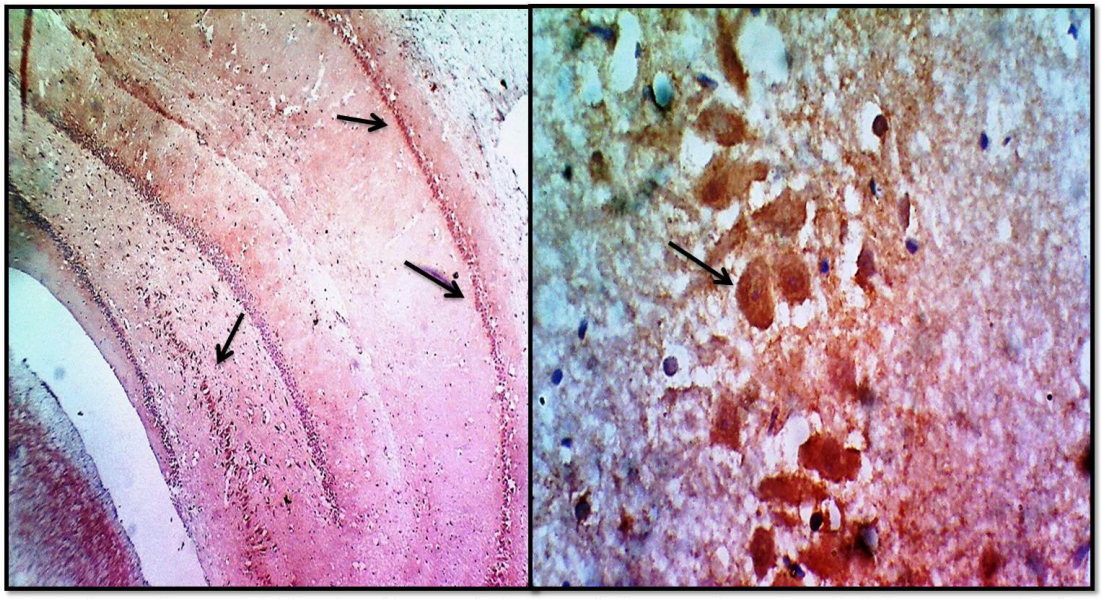


الشكل(53) منطقة قرن امون/سيطرة سالبة (X10)

ايضا بينت نتائج هذه التجربة ان منطقة القشرة ومنطقة قرن امون لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ظهرت شديدة الاصطباغ وظهورها باللون البني الغامق كدليل لتعبير بروتين الانترلوكين –6 مقارنة مع مجموعة السيطرة (الشكلين 54 , 55).

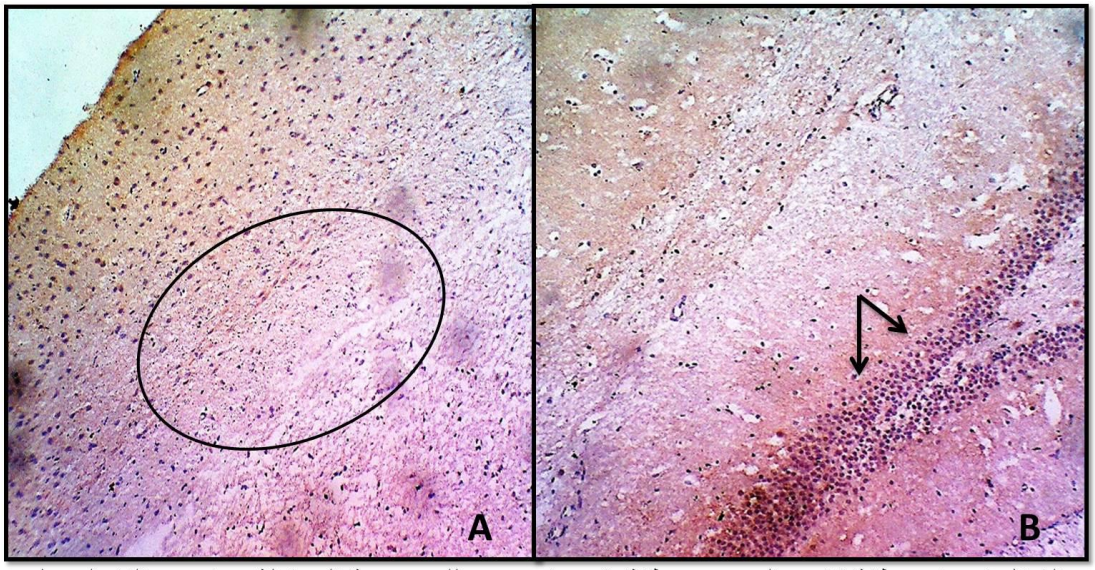


الشكل(54) منطقة قشرة المخ لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل كبير من خلال ظهور الاصطباغ الشديد (اللون البني) X10,4

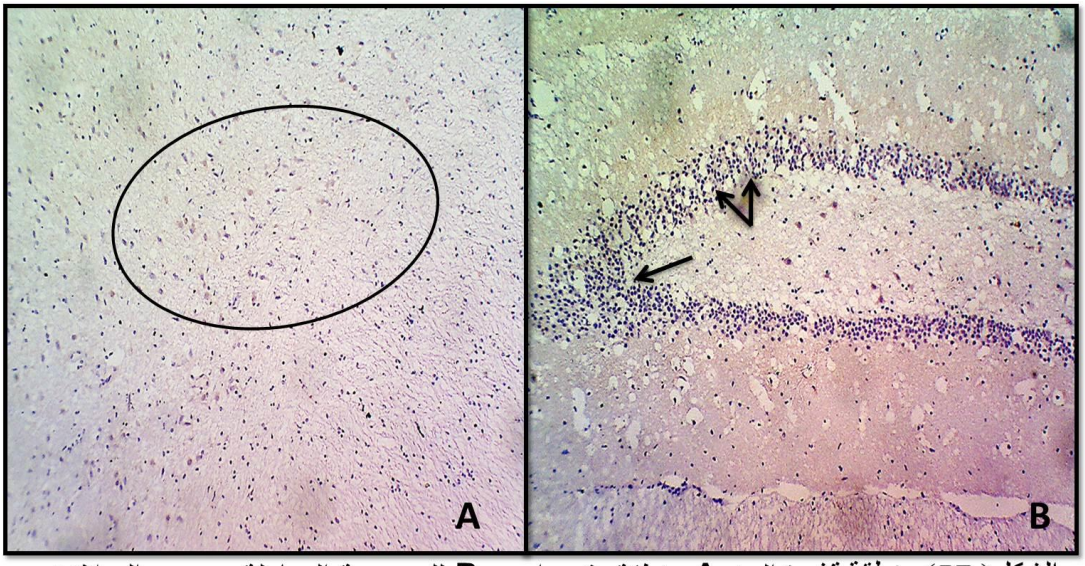


الشكل(55) منطقة قرن امون لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل كبير من خلال ظهور الاصطباغ الشديد (اللون البني) X4,40

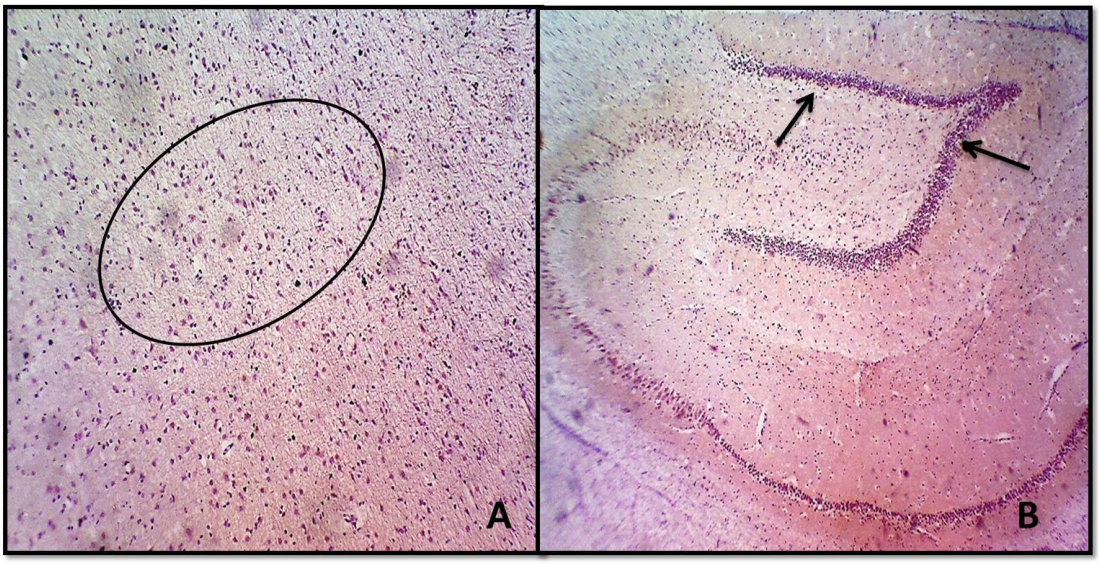
وقد اظهرت المجاميع المعاملة بحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين لوحدهم شدة اصطباغ منخفضة للتعبير عن بروتين الانترلوكين–6 في منطقة القشرة ومنطقة قرن امون مقارنة مع مجموعة السيطرة (الاشكال58,57,56).



الشكل(56) منطقة قشرة المخ **A** منطقة قرن امون **B** للمجموعة المعاملة بحامض الفا- ليبويك (تجربة الشيخوخة المستحدثة) ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ الخفيف (اللون البني) X10

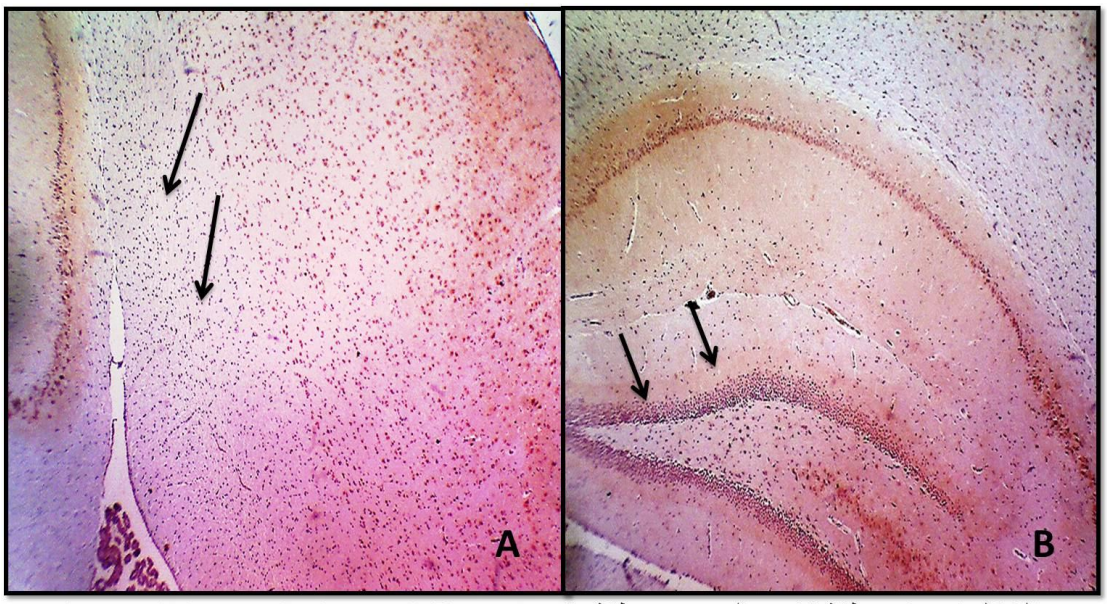


الشكل(57) منطقة قشرة المخ **A** منطقة قرن امون **B** للمجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين (تجربة الشيخوخة المستحدثة) لوحده ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين –6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ الخفيف (اللون البني) X10

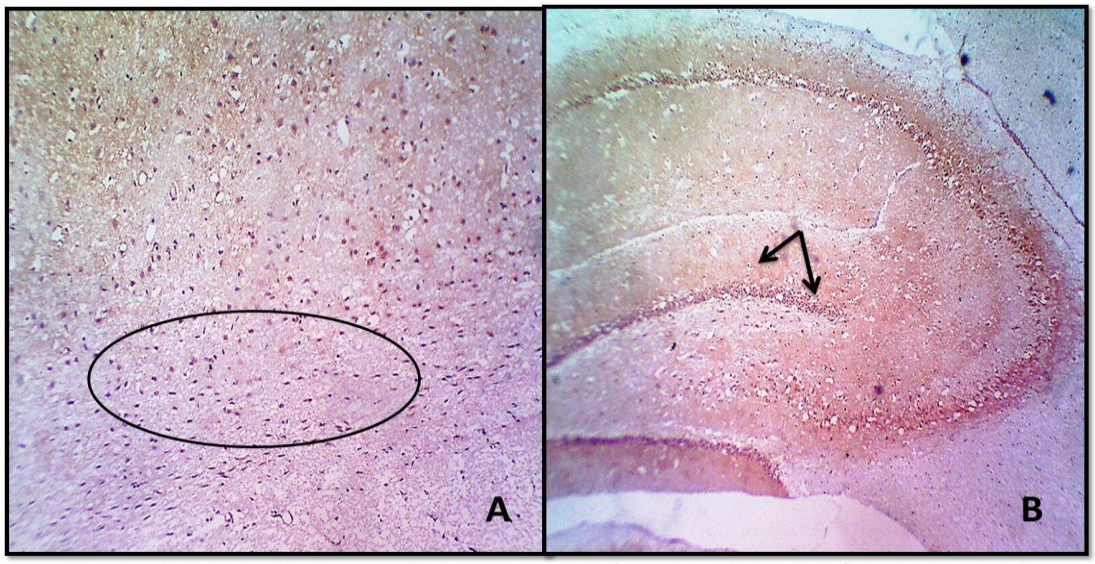


الشكل(58) منطقة قشرة المخ **A** منطقة قرن امون **B** للمجموعة المعاملة ب ل- كارنتين (لتجربة الشيخوخة المستحدثة) لوحده ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ الخفيف (اللون البني) X10,4

ان تعبير بروتين الانترلوكين-6 لمجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بكل من حامض الفا-ليبويك وكذلك ل-كارنتين كان اقل شدة للاصطباغ في الخلايا العصبية لمنطقتي القشرة وقرن امون مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز (الاشكال 59 ,60) .

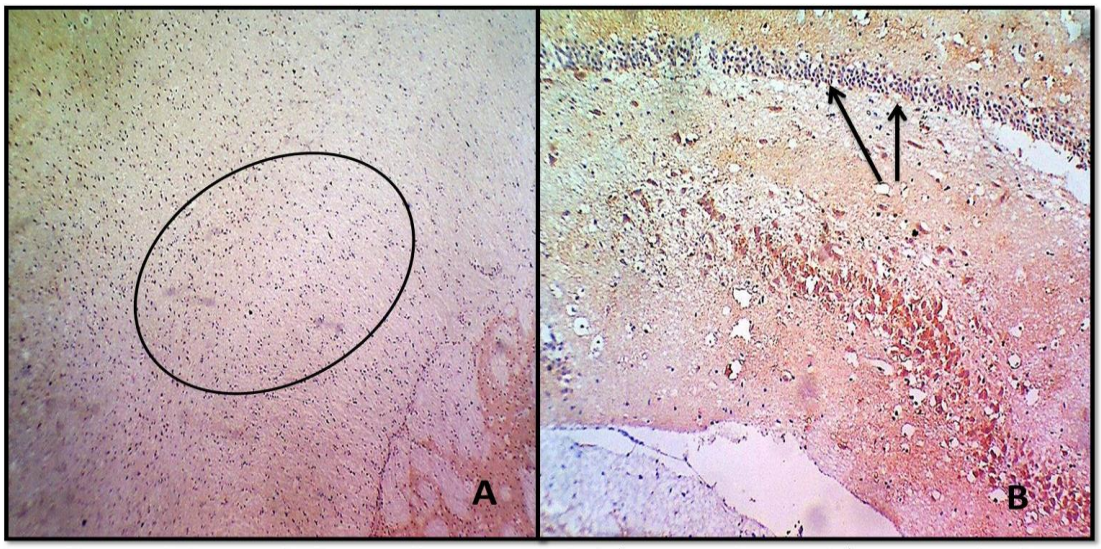


الشكل(59) منطقة قشرة المخ **A** منطقة قرن امون **B** للمجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بحامض الفا-ليبويك ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ المتوسط (اللون البني) X4



الشكل(60) منطقة قشرة المخ **A** منطقة قرن امون **B** للمجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة ب ل –كارنتين ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ المتوسط (اللون البني) X10,4

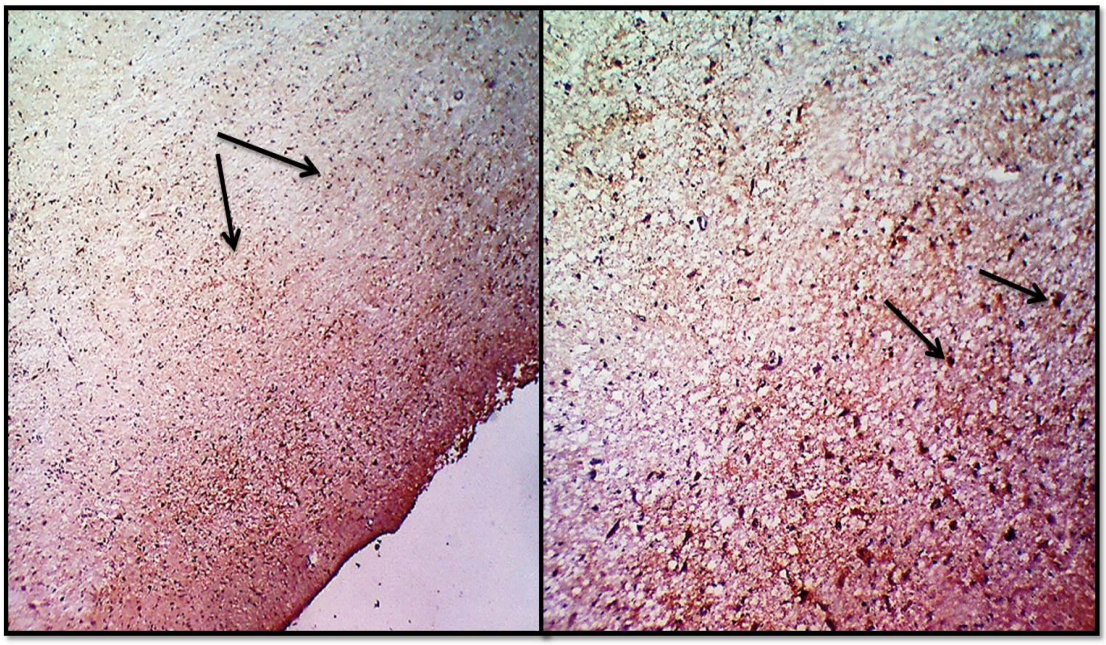
واظهرت مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بهرمون الميلاتونين اقل شدة للتصبغ لبروتين الانترلوكين–6 في منطقتي القشرة وقرن امون مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز فضلا عن انخفاض مستوى البروتين مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المعاملة بحامض الفا–ليبويك ول–كارنتين (الشكل61). مما يدل على ان التعبير لبروتين الانترلوكين –6 اقل حدوثا في مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بهرمون الميلاتونين مقارنة مع المجاميع الاخرى.



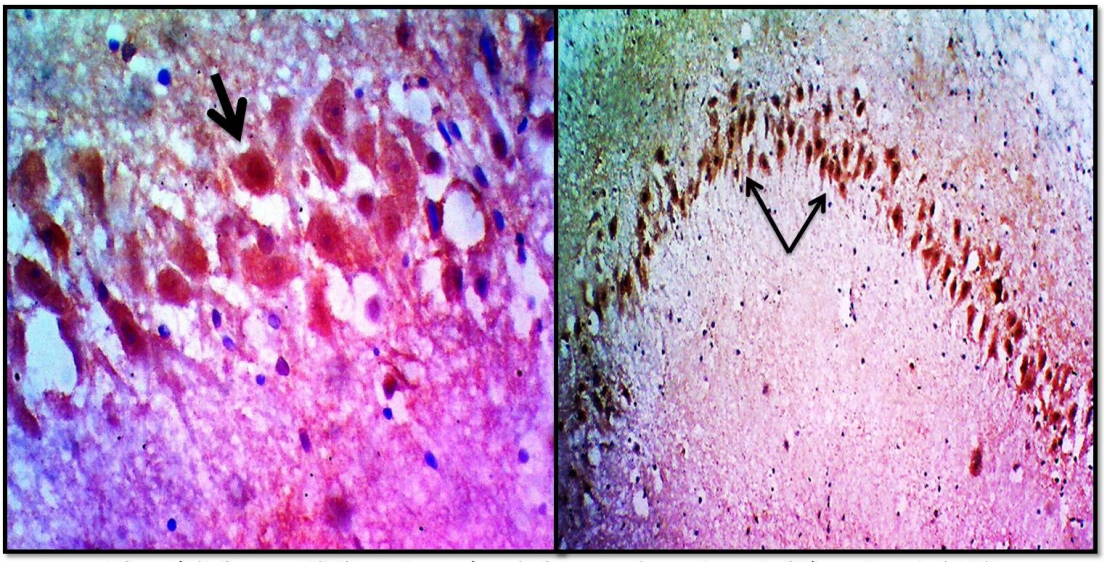
الشكل(61) منطقة قشرة المخ **A** منطقة قرن امون **B** للمجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بهرمون الميلاتونين ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل قليل من خلال ظهور التصبغ المتوسط (اللون البني) X4,10

2.13.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا-ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل-كارنتين على تركيز بروتين الانترلوكين-6 في الدماغ بطريقة الاصطباغ المناعي Imunohistochemistry of IL-6 concentration لأدمغة الجرذان لتجربة الشيخوخة الطبيعية.

اظهرت نتائج التجربة الحالية ان مجموعة الشيخوخة الطبيعية قد اظهرت شدة اصطباغ عالية لبروتين الانترلوكين-6 في الخلايا العصبية لمنطقتي قشرة المخ ومنطقة قرن امون (الشكلين 62، 63).

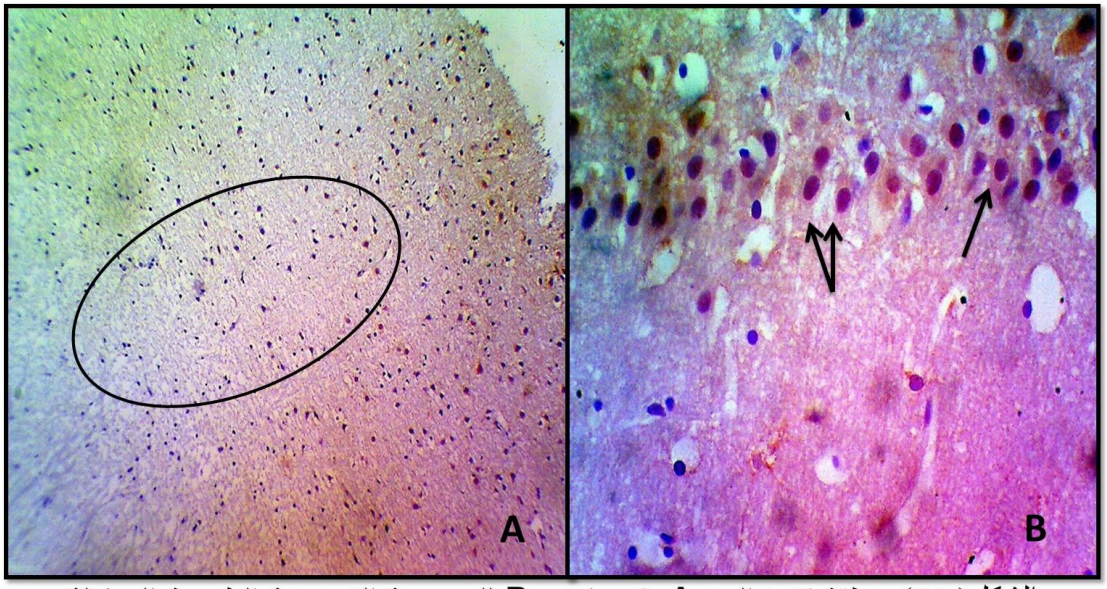


الشكل(62) منطقة قشرة المخ لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية)
ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل كبير من خلال ظهور الاصطباغ الشديد (اللون البني)X4,10

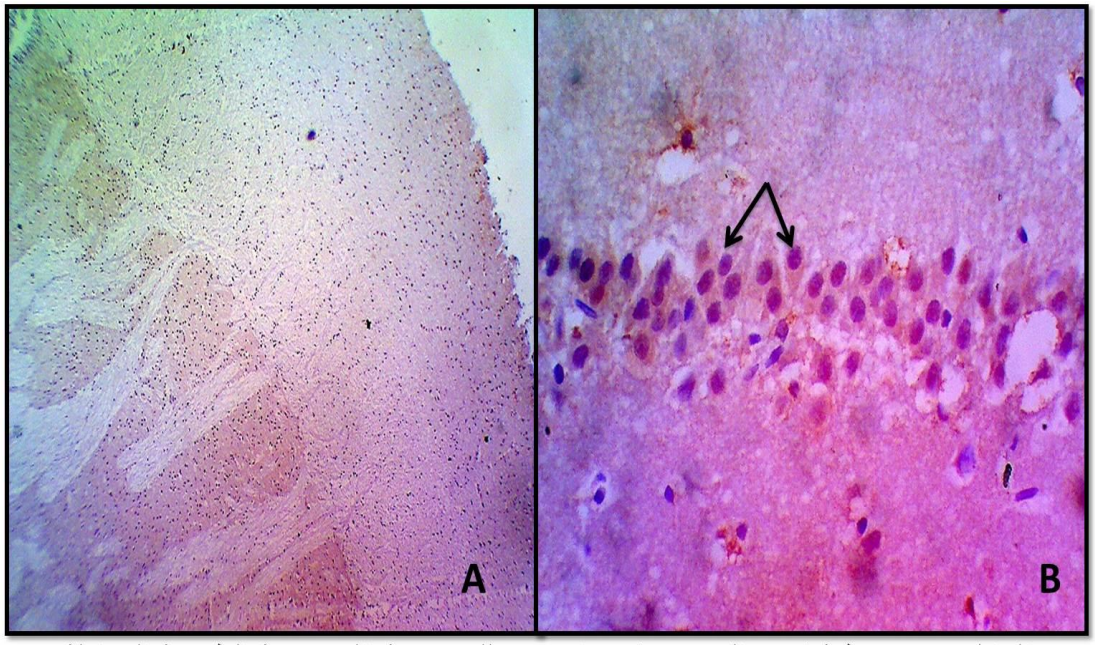


الشكل(63) منطقة قرن امون لمجموعة السيطرة (تجربة الشيخوخة الطبيعية)
ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل كبير من خلال ظهور الاصطباغ الشديد (اللون البني) X40,10

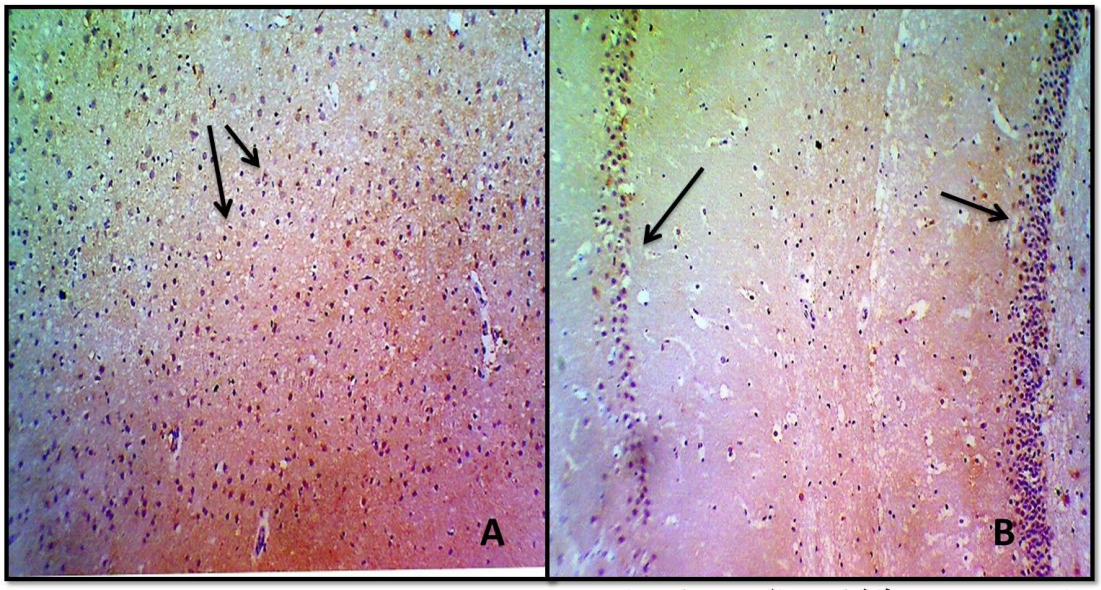
من جهة اخرى فقد لوحظ ان تعبير بروتين الانترلوكين–6 قد انخفض بشكل واضح حيث كان الاصطباغ ذو شدة قليلة في مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بكل من حامض الفا–ليبويك ، هرمون الميلاتونين، ل–كارنتين مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية لمنطقتي القشرة وقرن امون وقد اظهرت مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بكل من حامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين شدة اصطباغ اقل من مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل–كارنتين (الاشكال 64،65،66).



الشكل(64) منطقة قشرة المخ **A** قرن امون **B** للمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا–ليبويك ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين –6 بشكل متوسط من خلال ظهور الاصطباغ القليل (اللون البني) X10,40



الشكل(65) منطقة قشرة المخ **A** قرن امون **B** للمجموعة االشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل متوسط من خلال ظهور الاصطباغ القليل (اللون البني) X4,40



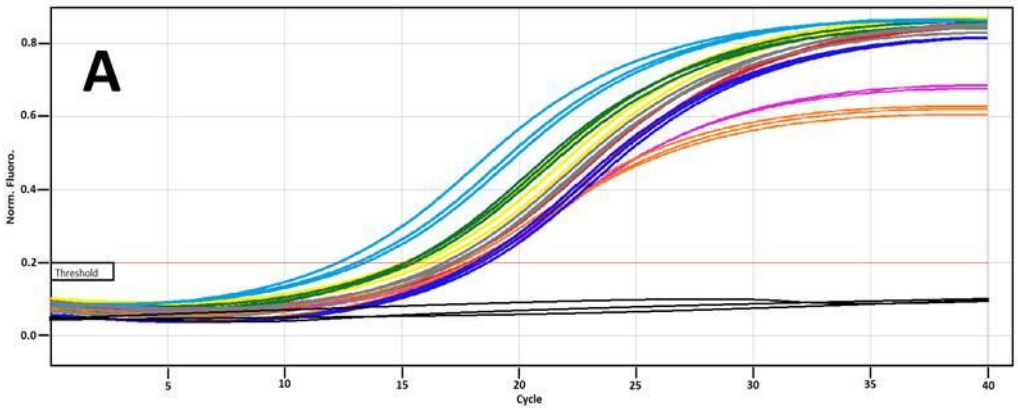
الشكل(66) منطقة قشرة المخ **A** قرن امون **B** للمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل- كارنتين ظهور الخلايا العصبية و تعبيرها للانترلوكين -6 بشكل متوسط من خلال ظهور الاصطباغ القليل (اللون البني) X10

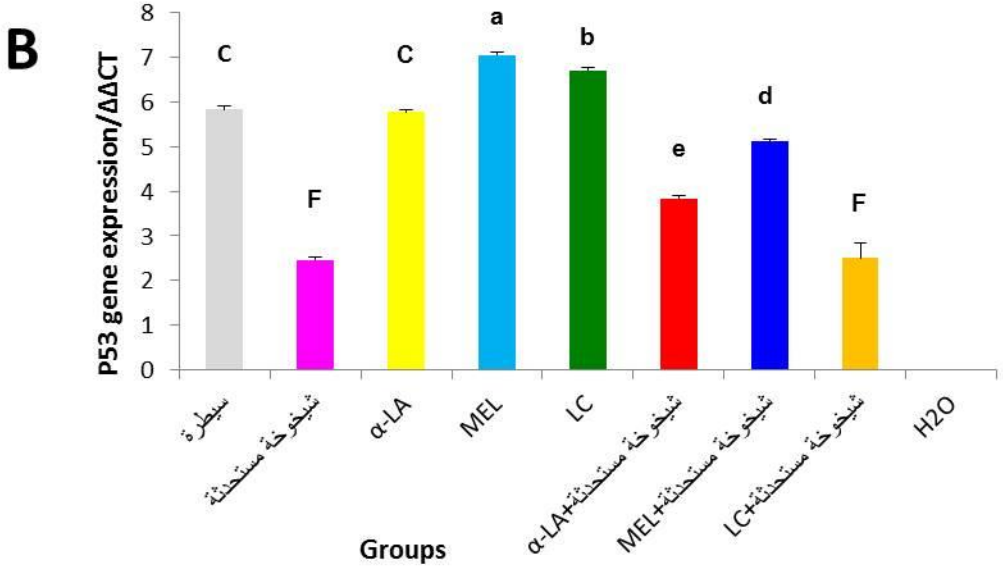
14.4 التقديرات الجزيئية المتمثلة بالتعبير الجيني لجين P53

1.14.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا-ليبويك، هرمون الميلاتونين ول-كارنتين على التقديرات الجزيئية للكشف عن التعبير الجيني لجين P53 Molecular biomarkers of gene expression for P53gene.

بينت نتائج التجربة الحالية بان مستوى الحامض النووي الريبوزي الرسول mRNA للتعبير الجيني لجين ال P53 في الخلية قد انخفض لمجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز مقارنة مع مجموعة السيطرة (الشكل67). كما بينت النتائج ان المعاملة بحامض الفا -ليبويك وهرمون الميلاتونين ول-كارنتين قد سبب ارتفاع في التعبير الجيني لجين P53 مقارنة مع مجموعة السيطرة، وقد لاحظ عند المعاملة بهرمون الميلاتونين كان مرتفع عن مجموعتي المعاملة بحامض الفا-ليبويك ول- كارنتين، وان المعاملة ب ل-كارنتين كانت مرتفعة عن مجموعة المعاملة بحامض الفا-ليبويك في التعبير الجيني لجين P53. وقد اوضحت نتائج هذه

التجربة بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بحامض الفا- ليبويك وهرمون الميلاتونين ول-كارنتين ادت الى ارتفاع في التعبير الجيني لجين P53 مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز غير المعاملة بمضادات الاكسدة المذكورة آنفاً. وقد بينت مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز و المعاملة بهرمون الميلاتونين ارتفاع بالتعبير الجيني لجين P53 مقارنة بمجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بحامض الفا-ليبويك ول-كارنتين، اما مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بحامض الفا ليبويك كانت مرتفعة في التعبير الجيني لجين P53 مقارنة مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة ب ل- كارنتين (الشكل67). من نتائج هذه التجربة فان للميلاتونين تأثير ايجابي في المحافظة على مستوى التعبير الجيني لجين P53 في الخلية.



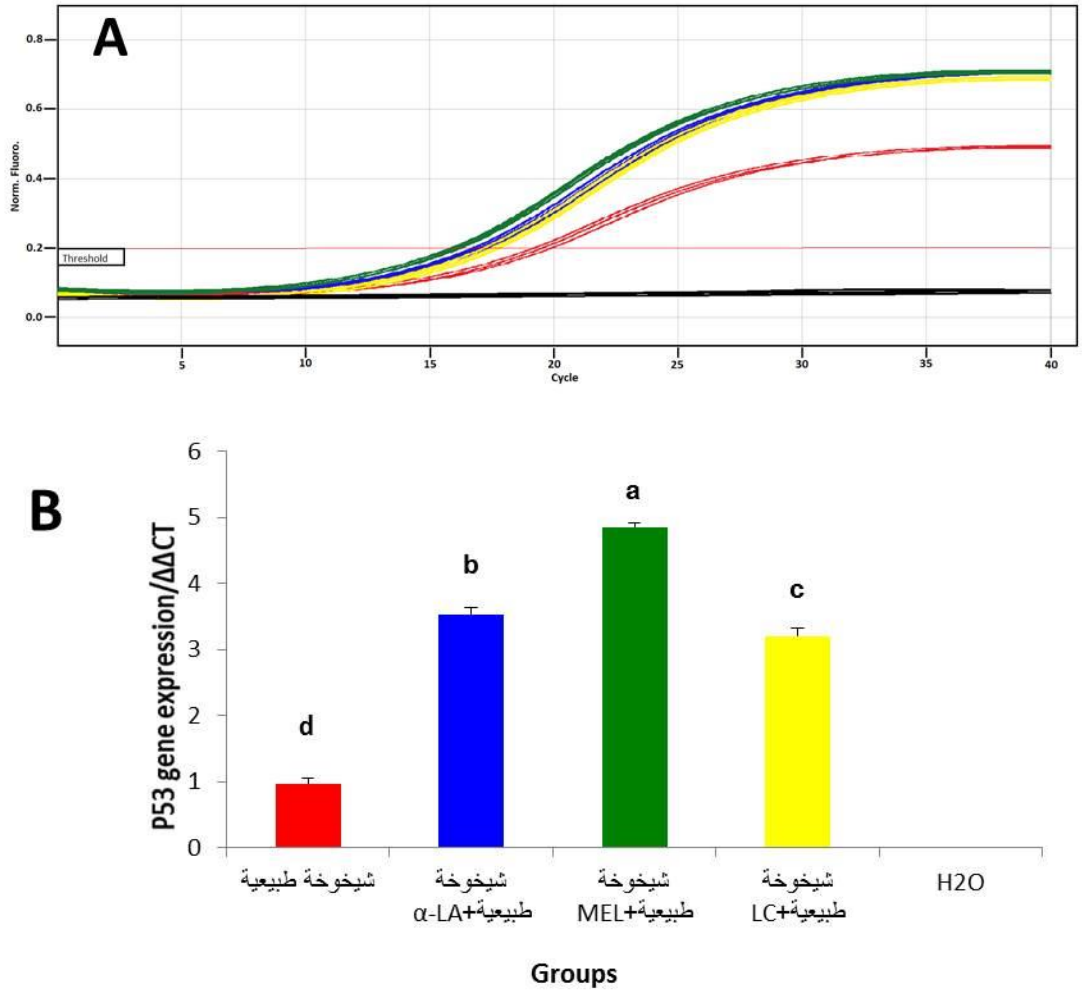


*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال($P\leq0.05$).
*عدد الجرذان في كل مجموعة = 6

الشكل(67) A –استخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل/ الوقت الحقيقي (RT/PCR) لتقدير التعبير الجيني لجين P53. B– نتائج التعبير الجيني لجين P53 لمجموعة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل–كارنتين .

2.14.4 تاثير معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول–كارنتين على التقديرات الجزيئية للكشف عن التعبير الجيني لجين P53 Molecular biomarkers of gene expression for P53 gene.

بينت نتائج التجربة الحالية بان التعبير الجيني للحامض النووي الرايبوزي الرسول mRNA لجين P53 في مجموعة الشيخوخة الطبيعية قد انخفض.كذلك فقد بينت نتائج التجربة بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين ادت الى زيادة في التعبير الجيني لجين P53 مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية. كما اوضحت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بهرمون الميلاتونين ادى الى زيادة في التعبير الجيني لجين P53 مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا– ليبويك ول– كارنتين. وان مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا– ليبويك قد اظهرت زيادة في التعبير الجيني لجين P53 مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل– كارنتين (الشكل 68).



*الاحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى($P\leq0.05$).

*عدد الجرذان فى كل مجموعة = 6

الشكل(68) A –استخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل/ الوقت الحقيقي (RT/PCR) لتقدير التعبير الجيني لجين P53 . B- نتائج التعبير الجيني لجين P53 لمجموعة جرذان الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا–ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين.

15.4 الارتباط بين التعبير الجيني لجين P53 والاصطباغ المناعي للانترلوكين–6

1.15.4 مدى الارتباط بين التعبير الجيني لP53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين –6 لتجربة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بسكر الكالاكتوز، حامض الفا – ليبويك ،هرمون الميلاتونين و ل– كارنتين

لقد بينت نتائج التجربة الحالية وجود علاقة ارتباط ايجابية عالية($P\leq0.01$) للتعبير لجين P53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين-6 بين المجموعة المستحدثة الشيخوخة .اظهرت نتائج التجربة الحالية ان مجموعة الشيخوخة المستحدثة بينت انخفاضا في معامل الارتباط للتعبير الجيني لP53 وشدة الاصطباغ للانترلوكين -6 مع المجاميع المستحدثة الشيخوخة المعاملة بحامض الفا -ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل- كارنتين ومجاميع المعاملة بحامض الفا-ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول- كارنتين. كما ان المعاملة بحامض الفا- ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين قد اظهرت علاقة ارتباط ايجابي عالي ($P\leq0.01$) لعاملي التعبير الجيني لجين P53 وشدة الاصطباغ للانترلوكين -6 مع المجاميع المعاملة بحامض الفا-ليبويك، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين. وان الارتباط لحامض الفا- ليبويك ول- كارنتين كان اعلى من ارتباط هرمون الميلاتونين للعاملين اعلاه (الجدول13)، مع بقاء الارتباط عالي بين المجاميع حامض الفا- ليبويك، هرمون الميلاتونين ول-كارنتين مع المجاميع المستحدثة الشيخوخة المعاملة بكل من حامض الفا- ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول كارنتين. لوحظ من نتائج التجربة بان معامل الارتباط قد انخفض ما بين المعاملات بحامض الفا- ليبويك، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة. وقد اظهر (الجدول13) ان مجموعة الشيخوخة المستحدثة المعاملة بكل من حامض الفا- ليبويك ،هرمون الميلاتونين ول-كارنتين معامل ارتباط متوسط للتعبير الجيني لجين P53 وشدة الاصطباغ للانترلوكين -6 مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة وبنفس الوقت كان الارتباط عالي ($P\leq0.01$) مع مجاميع المعاملة بحامض الفا- ليبويك، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين لوحدهم او عند المعاملة مع مجموعة مستحدثة الشيخوخة (الجدول13).

الجدول(13) الارتباط بين التعبير الجيني ل P53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين – 6 لتجربة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة بحامض الفا –ليبويك ،هرمون الميلاتونين و ل– كارنتين .

IL-6

		A	B	C	D	E	F	G	H
P53	السيطرة A	1	.994**	.999**	1.000**	.998**	.997**	.998**	.996**
	Sig. (2-tailed)		.001	.000	.000	.000	.000	.000	.000
	شيخوخة مستحدثة B	.994**	1	.995**	.995**	.997**	.996**	.997**	.995**
	Sig. (2-tailed)	.001		.000	.000	.000	.000	.000	.000
	حامض الفا-ليبويك C	.999**	.995**	1	.999**	1.000**	1.000**	1.000**	.999**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000		.000	.000	.000	.000	.000
	هرمون الميلاتونين D	1.000**	.995**	.999**	1	.999**	.999**	.999**	.997**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	.000		.000	.000	.000	.000
	ل-كارنتين E	.998**	.997**	1.000**	.999**	1	1.000**	1.000**	.999**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	.000	.000		.000	.000	.000
	شيخوخة مستحدثة+ حامض الفا-ليبويك F	.997**	.996**	1.000**	.999**	1.000**	1	1.000**	1.000**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	.000	.000	.000		.000	.000
	شيخوخة مستحدثة+ هرمون الميلاتونين G	.998**	.997**	1.000**	.999**	1.000**	1.000**	1	.999**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	.000	.000	.000	.000		.000
	شيخوخة مستحدثة+ ل-كارنتين H	.996**	.995**	.999**	.997**	.999**	1.000**	.999**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	

** الارتباط معنوي عند مستوى معنوية احتمال($P \leq 0.01$)

2.15.4 مدى الارتباط بين التعبير الجيني لP53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين – 6 لتجربة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين و ل– كارنتين.

بينت نتائج هذه التجربة وجود ارتباط عالي($P\leq0.01$) بين مجموعة الشيخوخة الطبيعية ومجموعتي الشيخوخة الطبيعية المعاملة بكل من حامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ومعامل ارتباط اقل مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل– كارنتين في التعبير الجيني لجين P53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين –6 .كما اظهرت النتائج بان مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا –ليبويك ارتباطا عالي ($P\leq0.01$) مع مجموعتي الشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين ول– كارنتين للتعبير الجيني لجين P53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين–6. ام بالنسبة لمجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين فقد اظهر ارتباطا عاليا ($P\leq0.01$) مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا–ليبويك واقل ارتباطا مع المجموعة المعاملة ب ل– كارنتين للتعبير الجيني لجين P53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين–6 .بينت النتائج بان مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة ب ل– كارنتين ارتباطا عاليا ($P\leq0.01$) مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا– ليبويك واقل ارتباطا مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بهرمون الميلاتونين للتعبير الجيني لجين P53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين–6 (الجدول14).

الجدول(14) الارتباط بين التعبير الجيني ل P53 وشدة الاصطباغ المناعي للانترلوكين – 6 لتجربة الشيخوخة الطبيعية المعاملة بحامض الفا –ليبويك ،هرمون الميلاتونين و ل– كارنتين.

		A2	B2	C2	D2
P53	A2 شيخوخة طبيعية	1	.999**	.999**	.995**
	Sig. (2-tailed)		.000	.000	.000
	B2 شيخوخة طبيعية +حامض الفا ليبويك	.999**	1	.997**	.998**
	Sig. (2-tailed)	.000		.000	.000
	C2 شيخوخة طبيعية+ هرمون الميلاتونين	.999**	.997**	1	.991**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000		.001
	D2 شيخوخة طبيعية + ل-كارنتين	.995**	.998**	.991**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	.001	

** الارتباط معنوي عند مستوى معنوية($P\leq 0.01$)

الفصل الخامس

المناقشة

1.5 تاثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول- كارنتين في وزن الجسم .

تنص النظرية الايضية للتقدم بالعمر على انه خلال مرحلة التقدم بالعمر يحدث اضطراب في الأيض، وفي حالة استخدام الكالاكتوز بوصفها مادة لاستحداث التقدم بالعمر وسبب استمرار حقن سكر الكالاكتوز بجرعة 300 ملغم/ كغم من وزن الجسم تحت الجلد ولمدة 15 اسبوعاً سبب انخفاض معنوي في وزن الجسم وقد يعود السبب الى ان الجرع العالية من سكر الكالاكتوز و زيادة مستواه سببت اضطراب في ايض الكلوكوز وبالتالي حدوث اضطرابات وظيفية في كل من القلب ،الكبد ،الكلية والدماغ فضلا عن اعضاء اخرى (Tang and He,2013). وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة مع نتيجة Fatemi *et al*., (2017) في ان اعطاء سكر الكالاكتوز للفئران يوميا وبجرعة 500 ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة 6 اسابيع ادى الى انخفاض معنوي في وزن الجسم .فضلا عن ذلك جاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما توصل اليه Tang and He (2013) حيث لاحظا ان اعطاء سكر الكالاكتوز للفئران بتركيز 50 % تحت الجلد ولمدة 6 اسابيع ادى الى انخفاض معنوي في وزن الجسم . وقد اتفقت هذه النتيجة ايضا مع Ma *et al*., (2019) الذي ذكر ان اعطاء سكر الكالاكتوز بجرعة 500 ملغم / كغم من وزن الجسم للجرذان بعمر شهرين ولمدة 90 يوماً سبب انخفاض معنوي في وزن الجسم. وقد اشار Liu *et al*., (2018) ان المعاملة بسكر الكالاكتوز بجرعة 200 ملغم / كغم عن طريق الحقن ادت الى انخفاض الوزن. وقد بين الباحث Kenawy *et al*., (2017) ان حقن الجرذان بسكر الكالاكتوز تحت الجلد بجرعة 150ملغم / كغم من وزن الجسم لمدة 90 يوم ادى الى انخفاض وزن الجسم. وقد لوحظ في الدراسة الحالية ان المعاملة ب ل-كارنتين ادت الى انخفاض معنوي في وزن الجسم في نهاية التجربة لمجموعتي الشيخوخة المستحدثة والشيخوخة الطبيعية، وقد يعود السبب الى ان من اهم وظائف الكارنتين نقله الاحماض الدهنية المشبعة طويلة السلسلة

الى داخل المتقدرات ومن ثم اكسدتها β−Oxidation، فضلا عن ذلك فانه يعمل على تكسير الدهون في الانسجة الدهنية في حالة عدم كفاية تجهيز الطاقة (Musser *et al*.,1999) وربما يعود السبب لدور الكارنتين المهم في تأثيره على هضم الكلوكوز في الجسم وبالتالي يؤدي الى زيادة صرف الطاقة (Wall *et al* .,2011 ; Kim *et al*.,2015). لوحظ في ابحاث أُجريت على القطط والكلاب التي تعاني من السمنة المفرطة Obese ان اعطائها ل− كارنتين خفض وزن الجسم (Center *et al*.,2000; Center *et al* .,1997). ايضا جاءت هذه النتيجة مطابقة مع دراسة Brandsch and Eder(2002) الذي بين ان اعطاء ل− كارنتين للجرذان بجرعة 5 غرام / كغم في الغذاء لمدة 23 يوماً ادى الى نقص في الوزن. اما فيما يخص انخفاض الوزن نتيجة المعاملة بسكر الكالاكتوز مع هرمون الميلاتونين فقد لوحظ عند نهاية التجربة الحالية انخفاض معنوي في وزن الجسم لتجربة الشيخوخة المستحدثة وكذلك في المجموعة المعاملة بهرمون الميلاتونين لتجربة الشيخوخة الطبيعية، وربما يعود السبب في ذلك الى انه بالإضافة الى تأثير سكر الكالاكتوز على وزن الجسم فان هرمون الميلاتونين ايضا يسبب فقدان الوزن حيث يعمل على تثبيط تجمع الدهون في الانسجة الدهنية خاصة في الجرذان التي تعاني من السمنة (Cardinali *et al*.,2011). وربما يعود السبب الى ان هرمون الميلاتونين يعمل على خفض الشهية وتناول الطعام وبالتالي يخفض الوزن (Piccinetti *et al*.,2010). وللميلاتونين دورا في تنظيم التمثيل الغذائي وتوازن الطاقة في الكائنات الحية (Bonnefont−Rousselot ,2014 ; Cipolla − Neto *et al*.,2014) . حيث يعمل على زيادة عملية صرف الطاقة عن طريق تنشيط الانسجة الدهنية البنية Brown adipose tissue (Jimenez−Aranda *et al*.,2013). وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة مع (2017) Szewczyk− Golec *et al*., الذي لاحظ ان تناول هرمون الميلاتونين بجرعة 10 ملغم/ كغم وعن طريق الفم ولمدة 30 يوماً ادى الى خفض الوزن في الانسان. وقد ذكر (2011) *et al*., Cardinali دور هرمون الميلاتونين في تنظيم وزن الجسم وعلاج بعض المشاكل الايضية في الانسان.

2.5 تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول- كارنتين في وزن الاعضاء الداخلية .

لقد وجد في الجرذان المستحدثة الشيخوخة في الدراسة الحالية انخفاض معنوي في وزن الدماغ والكبد، ربما قد يعود السبب كون هذه الاعضاء حساسة جدا وتعكس المؤشرات التي تدل على زيادة مستوى المواد الكيميائية في الجسم كالتسمم بالأدوية والتي تسبب حدوث تغييرات شكلية (Piao *et al*., 2013). ولهذا فان العديد من الاعضاء الداخلية في الجسم تظهر نقصان وضمور في الوزن (Tandon and Vohra,2006). بينت الدراسات بان حدوث الاجهاد التأكسدي يؤدي الى موت الخلايا المبرمج والذي يعد السبب الرئيس والاساس لحدوث الاضرار في الخلايا (Chen *et al*.,2018). وقد جاءت هذه النتيجة متطابقة مع ما وجده *et* (2018) *al*., Liu و الباحث Ye *et al*., (2014) اللذان اشارا الى ان معاملة الفئران بسكر الكالاكتوز بجرعة 100 ملغم /كغم من وزن الجسم ولمدة 24 يوماً ادت الى انخفاض في اوزان الاعضاء الداخلية الدماغ والكبد فضلا عن ان حقن سكر الكالاكتوز تحت الجلد سبب فقدان الذاكرة ونقص في وزن الاعضاء الداخلية (Baeto-Corral *et al*.,2018 ;Chen *et al*.,2018 ;Zhang *et al* ., 2018) .

3.5 تاثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول- كارنتين على مستوى AOPP.

يرافق حدوث الشيخوخة حدوث حالة الاجهاد التاكسدي مما يؤدي الى توليد اصناف الاوكسجين الفعالة (Jun De *et al*.,2009). حيث تتفاعل اصناف الاوكسجين الفعالة والمؤكسدات مثل HOCI او H_2O_2(Witko-Sarsat *et al*.,1996) مع بروتينات الدم كالألبومين حيث يحمل ال AOPP مع الالبومين ويؤدي الى اكسدة الالبومين في جهاز الدوران و يطرح الالبومين المؤكسد سريعا من قبل الكبد والطحال(Iwao *et al*.,2006). حيث بينت النتائج ان المعاملة بسكر الكالاكتوز ادت الى ارتفاع معنوي في مستوى نواتج البروتين المؤكسد المتقدمAOPP بالنسبة لمجموعة الشيخوخة المستحدثة. حيث تسبب الجذور الحرة تغييرات في جزيئة البروتينات

وتؤدي التغييرات التأكسدية الى حدوث خلل في وظائف البروتينات نتيجة خلل في التركيب الكيمائي وقابلية البروتينات على التحلل، ولهذا فان الاضرار التأكسدية تعكس من خلال تأثير الجذور الحرة على مستوى الثايول P-SH مسببة زيادة في مستوى AOPP (Cakatay *et al*.,2003) وجاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما تم التوصل اليه من قبل الباحث (2014) Banji *et al*., و(2011) ,.Yanar *et al* حيث لاحظوا ان اعطاء سكر الكالاكتوز بجرعة 150 و 60 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن تحت الجلد والبريتون ولمدة 56 يوماً و 6 اسابيع ادى الى زيادة مستوى AOPP في دماغ الجرذان. وسببت المعاملة بمضادات الاكسدة كحامض الفا- ليبويك وهرمون الميلاتونين ول- كارنتين انخفاض معنويا في مستوى AOPP في مجموعتي الشيخوخة المستحدثة و الشيخوخة الطبيعية ،وقد تبين ان لهرمون الميلاتونين التأثير الاكبر في خفض مستوى AOPP، وربما يعود السبب الى ان لهرمون الميلاتونين القابلية على عبور BBB بسهولة و يلاحظ ارتفاع تركيزه في الدماغ بعد المعاملة ،فضلا عن كونه من الكواسح القوية للجذور الحرة (Reiter *et al*.,2001). وقد توافقت هذه النتيجة مع ما وجده(2007) ,.Eskiocak *et al* الذي اثبت ان اعطاء هرمون الميلاتونين بجرعة10 ملغم /كغم من وزن الجسم للجرذان حديثة الولادة والتي تعاني من نقص الاوكسجين ادى الى خفض مستوى AOPP. اما بالنسبة الى تأثير حامض الفا- ليبويك والكارنتين فقد جاءت النتيجة متطابقة مع (2005) , Sethumadhavan and Chinnakannu حيث اثبت ان اعطاء حامض الفا-ليبويك بجرعة 100ملغم / كغم من وزن الجسم مع الكارنتين بجرعة 300ملغم / كغم من وزن الجسم ولمدة 28 يوم للجرذان الصغيرة والمتوسطة والكبيرة بالعمر ادى الى خفض مستوى AOPP ورجوعه الى المستوى الطبيعي .

4.5 تاثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا -ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين في مستوى TBARS.

لقد لوحظ من التجربة الحالية ارتفاع مستوى TBARS معنويا في مجموعة الشيخوخة المستحدثة وقد يرجع السبب الى ان سكر الكالاكتوز سبب زيادة تكوين ايونات السوبر اوكسيد و بيروكسيد الهيدروجين والتي تعمل على تجمع الدهون المؤكسدة في غشاء الخلية ولهذا فان مستوى MDA او TBARS يزداد (Liu *et al*.,2012). او قد يرجع السبب الى قلة مستوى الانزيمات

المضادة للأكسدة في الكبد وبالتالي تقل فعالية وقابلية مضادات الاكسدة في الجسم في حالة الشيخوخة. وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما لاحظه Honma *et al*.,(2013) من ارتفاع مستوى TBARS في الفئران بعمر52 اسبوعاً في الكبد مقارنة مع فئران عمرها 12 اسبوعاً. وايضا مطابقة مع Kenawy *et al*.,(2017) الذي وجد ان اعطاء سكر الكالاكتوز بجرعة 150 ملغم /كغم من وزن الجسم عن طريق الحقن في الجلد سبب ارتفاع في مستوى MDA في الدماغ. وكذلك مطابقة مع نتائج Ahangarpour *et al*., (2016) الذي لاحظ الزيادة المعنوية في مستوى MDA في كل من الرحم والمبايض عند معاملة اناث الجرذان بسكر الكالاكتوز بجرعة 500 ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة 45 يوماً. كما توافقت مع ما اكده (2015) Hadzi-Petrushev *et al*., من الارتفاع المعنوي في مستوى MDA في الجرذان مستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز والبالغة بعمر 3 اشهر وجرذان الشيخوخة الطبيعية بعمر15 شهر. وقد تسبب اعطاء حامض الفا- ليبويك الى جرذان الشيخوخة المستحدثة و الشيخوخة الطبيعية انخفاضا معنويا في مستوى TBARS وقد يرجع السبب الى اختزال حامض الفا- ليبويك داخل الجسم الى حامض ثنائي الهيدروليبويك (DHLA) والذي يعد مضادا للأكسدة فعال جدا وايضا يعتبر من اهم العوامل التي تعمل على تقوية مضادات الاكسدة الفسلجية للدهون مثل فيتامين E وفيتامين C والكلوتاثيون (Coombes *et al*.,2001;Chae *et al*.,2008). وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما ذكره Portari *et al*., (2017) الذي لاحظ ان اعطاء الفئران المعرضة الى تمرين شاق Exercise حامض الفا-ليبويك بجرعة 100 ملغم/كغم عن طريق الفم ادى الى خفض مستوى TBARS في هذه الفئران بعد اجراء التمرين باربع ساعات بالمقارنة مع الفئران الاخرى التي عرضت الى نفس التمرين والتي ظهر فيها مستوى TBARS مرتفع بأربع ساعات بعد التمرين. اظهرت الدراسة الحالية ان اعطاء الميلاتونين ادى الى تقليل بيروكسدة الدهون انعكس ذلك من خلال انخفاض في مستوى TBARS لتجربتي الشيخوخة المستحدثة و الطبيعية، وقد يعود سبب ذلك الى وصول الميلاتونين في موقع سطحي قرب طبقتي دهون الغشاء الخلوي وقريبة من الرؤوس القطبية(Ceraulo *et al* .,1999). وبحكم موقعه هذا فانه يعمل على حماية الغشاء الخلوي من هجوم الجذور الحرة على الجزيئات الدهنية في الغشاء الخلوي وثبت دور الميلاتونين في داخل وخارج الجسم وكذلك في العديد من الامراض (Venegas *et al* .,2012). او قد يعود سبب ذلك الى ان للميلاتونين دور مهم في معادلة

تاثير النواتج المهمة لأكسدة الدهون −ONOO و OH· وبهذا فانه يعمل على التقليل من تحلل الغشاء الخلوي (Cuzzocrea *et al*.,1997). وجاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما ذكره(2002) Shen *et al*., . وقد ادى اعطاء الكارنتين في الدراسة الحالية الى الانخفاض المعنوي في مستوى TBARS في دم الجرذان مستحدثة الشيخوخة و الشيخوخة الطبيعية، وقد يعود سبب ذلك الى احتواء التركيب الكيميائي للكارنتين على مجموعة الاستايل والذي قد يعمل على تثبيط الاضرار التأكسدية الحاصلة في البروتين والدهون والاحماض النووية. وجاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما وجده(2004) ,.Liu *et al* و (2017),.Saeed *et al*.

5.5 تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى الكلوتاثيون GSH .

بينت النتائج انخفاض مستوى GSH معنويا في مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز مقارنة مع مجموعة السيطرة. وقد يعود سبب ذلك الى حدوث حالة الاجهاد التأكسدي بفعل المعاملة المستمرة بسكر الكالاكتوز (Kumar *et al*.,2011). ونتيجة مشاركة الكلوتاثيون الفعال في عملية منع التأكسد في حالة الاجهاد التأكسدي أما من خلال الازالة المباشرة للجذور الحرة او عن طريق الانزيمات المضادة للاكسدة التي تكون المادة الاساس لها مثل الكلوتاثيون بيروكسيديز مما ينتج عنه زيادة استهلاك الكلوتاثيون وتحوله الى شكله غير الفعال الكلوتاثيون ثنائي الكبريت (Demir *et al*.,2003). وجاءت هذه النتيجة مطابقة مع(2019) ,.Ma *et al* حيث وجد ان اعطاء الجرذان بعمر شهرين سكر الكالاكتوز 500 ملغم/كغم لمدة 90 يوماً ادى الى انخفاض مستوى GSH في نسيج الكبد، الكلية وقرن امون. وكذلك مطابقة مع (2017) Kenawy *et al*.,الذي اكد بان اعطاء الجرذان المستخدمة كموديل لحدوث الشيخوخة سكر الكالاكتوز 150 ملغم/كغم .S.C لمدة 90 يوماً ادى الى انخفاض في مستوى GSH في نسيج الدماغ مقارنة مع مجموعة السيطرة غير المعاملة بسكر الكالاكتوز.

بينت النتائج ان اعطاء الجرذان المستحدثة الشيخوخة والشيخوخة الطبيعية مضادات الاكسدة منها حامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول–كارنتين ادى الى ارتفاع مستوى ال GSH مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية غير المعاملة.

ان حامض الفا –ليبويك يعمل على المحافظة على مستوى طبيعي ل GSH بالإضافة الى انه يعمل على تحسين التغييرات التي تحدث مع التقدم بالعمر في الانسجة ومنها تغيير في نسبة الكلوتاثيون الموكسد والمختزل GSH/GSSH خصوصا في انسجة الدماغ والقلب (Khan,2015).وقد ذكر Suh *et al*., (2004) ان حامض الفا–ليبويك يحافظ على مستوى GSH في الدماغ فضلا عن ذلك فانه يحافظ على مستوى GSH/GSSH في الدماغ والقلب في حالة التقدم بالعمر. وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة مع Khan,(2015) حيث اكد ان اعطاء الجرذان حامض الفا–ليبويك بجرعة100 ملغم/كغم عن طريق الفم لمدة 9 اسابيع بعد المعاملة بسكر الكالاكتوز بجرعة 300 ملغم / كغم ادى الى ارتفاع معنوي في نسبة GSH/GSSH مقارنة مع الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز. وتعتمد المحافظة على مستوى ال GSH في الخلايا على NADPH-dependent glutathione enzyme system والذي يضم انزيمي الكلوتاثيون بيروكسيديز والكلوتاثيون ريدكتيز بالإضافة الى انزيم Ƴ–glutamate–cysteine synthase والذي يعمل بوصفه شبكة لنظام مضادات الاكسدة في الجسم. يعمل هرمون الميلاتونين على المحافظة على مستوى الكلوتاثيون الخلوي للحد من بيروكسدة الدهن في خلايا المخ (Pandi–Perumal *et al*.,2006). تركيب هرمون الميلاتونين Amphiphilic nature الذي يعطيه خاصية الوصول الى خلايا الدم الحمر وعبور الحواجز الغشائية من خلال ميكانيكية خاصة والتي تكون غير معتمدة على وجود المستقبلات الخلوية Non–receptor mediated –mechanism فضلا عن ذلك فان لهرمون الميلاتونين القابلية على تنظيم بعض الانزيمات المضادة للأكسدة بشكل مباشر مثل الكلوتاثيون بيروكسيديز والكلوتاثيون ريدكتيز التي يتم تحفيزها بشكل مباشر من قبل الميلاتونين (Urata *et al*.,1997). وجاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما وجده(Yuzuak *et al*., (2014 الذي اشار الى ان اعطاء الميلاتونين بجرعة 10 ملغم / كغم تحت الجلد لمدة 7 ايام ادى الى ارتفاع معنوي في مستوى الكلوتاثيون المقدر في نسيج البنكرياس للجرذان ذات الاعمار المتوسطة. وجاءت النتيجة مطابقة ايضا مع Shen *et al*.,(2002) الذي وجد ان اعطاء هرمون الميلاتونين بجرعة 10,1,0.1 ملغم/كغم للفئران من نوع BALB/C ادى الى ارتفاع معنوي في مستوى GSH بالمقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز المعاملة 25 ملغم /كغم تحت الجلد لمدة 3 اشهر غير المعاملة. كذلك فان للمعاملة ب ل–كارنتين دور في زيادة مستوى GSH في الجرذان

المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية المعاملتان ب ل–كارنتين. وقد يرجع دور الكارنتين في رفعه لمستوى GSH الى ان فيتامين C العامل المساعد الاول لعملية التصنيع الحيوي للكارنتين (Rebouche,1991) ، وان تجهيز ل– كارنتين من خارج الجسم يؤدي الى زيادة مستوى فيتامين C، الذي يرتفع مع تجهيز ل– كارنتين وان لفيتامين C القابلية لتصنيع فيتامين E وبذلك يحافظ ل – كارنتين على مستوى فيتامين E، ولهذا فان لفيتاميني E وC تاثير تأزري مع ل –كارنتين للمحافظة على مضادات الاكسدة (Rajaseka r *et al*.,2005). وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما وجده(2013) ,.Yildirim *et al* الذي وجد ان اعطاء ل–كارنتين للجرذان التي تعاني من فرط الدرقية المستحدث بجرعة 100و 500 ملغم /كغم الحقن في التجويف الخلبي لمدة 10ايام ادى الى زيادة مستوى بعض مضادات الاكسدة ومنها كلوتاثيون بيروكسيديز مقارنة مع الجرذان التي تعاني فرط الدرقية غير المعاملة ب ل–كارنتين. وايضا مطابقة لما وجده (2005) ,.Rajasekar *et al* حيث اكد ان اعطاء الجرذان التي تتغذى على عليقة عالية من سكر الفركتوز ل–كارنتين بجرعة 300 ملغم/كغم .i.p ادى الى ارتفاع مستوى GSHمقارنة مع المجموعة التي غذيت على سكر الفركتوز لوحده.

6.5 تاثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى AGEs.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز اظهرت ارتفاع معنوي في مستوى AGEs مقارنة مع مجموعة السيطرة. حيث يعرف سكر الكالاكتوز على انه السم العصبي الذي يتفاعل بشكل مباشر مع مجاميع الامين الحرة الموجودة ضمن التركيب الجزيئي للأحماض الامينية في البروتينات و الببتيدات ليعمل على تكوين AGEs (Wu *et al*.,2008 ;Lei *et al*.,2008).يعتبر AGEs من البروتينات المحورة والمضرة التي تعمل على حث تكوين اصناف الاوكسجين الفعالة ROS وبالتالي الاجهاد التاكسدي يكون عالي والذي يؤدي الى تسريع عملية التقدم بالعمر (Srikanth *et al*.,2009).وان التداخل الذي يحدث ما بين AGEs مع المستقبلات السطحية للخلية RAGEs يعمل على تحفيز العامل النووي المعزز لسلسة كابا الخفيفة في الخلايا البائية النشطة Nuclear factor kappa B ($NF–_KB$) والذي يعمل على زيادة انتاج علامات الالتهاب Inflammatory markers فضلا

عن تعزيز الخلايا الدباقية و النجمية مما يؤدي الى حدوث الامراض كداء السكر، تصلب الشرايين وكذلك اضطرابات التنكسات العصبية منها مرض الزهايمر (Bierhaus *et al*.,2005). وجاءت هذه النتيجة متطابقة مع ما وجده(2010b) ,.Lu *et al* و,(2016) Chen *et al*. الذي اكد ان اعطاء الفئران بعمر 10 اسابيع سكر الكالاكتوز بجرعة 50 و200 ملغم/كغم تحت الجلد والحقن في التجويف الخلبي لمدة 8 اسابيع ادى الى زيادة معنوية في مستوى AGEs في الدماغ.

اظهرت النتائج ان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية بحامض الفا- ليبويك ادت الى انخفاض في مستوى AGEs مقارنة مع جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية فبالإضافة الى دور حامض الفا- ليبويك المضاد للالتهاب و المضاد للاكسدة و مضادا للشيخوخة فهو ايضا ذو حماية عصبية (Goraca *et al*., 2011 ;Ghelani *et al*.,2017)، حيث يؤثر حامض الفا- ليبويك على عملية تسكر البروتين وتكوين AGEs والتي يمكن تقديرها سواءاً في الجسم او خارجه ويعمل حامض الفا- ليبويك على تقليل تكون AGEs كونه يمنع عملية تسكر مجاميع الامين في البروتينات مع السكر الحر، او قد يرجع السبب الى منع حامض الفا- ليبويك لمجاميع الكاربونيل في السكر المختزل من حدوث عملية التسكر، او ربما قد يمنع حامض الفا -ليبويك تكوين مركبات نواتج الامادوري Amadori product من خلال منع قواعد الشيف من التحول الى نواتج الامادوري (Ahmed,2005 ;Kerkeni *et al*.,2013).وجاءت هذه النتيجة متوافقة مع ما وجده(2018) ,.Ghelani *et al* حيث اكد ان اعطاء حامض الفا- ليبويك يؤدي الى تخفيض تكوين شدة AGEs الضوئية Fluorescent AGEs في الاجهاد التأكسدي المحدث في المايوكلوبين Myoglobin. كما اكد(2003) ,.Midaoui *et al* ان التجهيز الغذائي لحامض الفا- ليبويك للجرذان المغذاة على سكر الكلوكوز بصورة دائميه ادى الى تقليل تكون AGEs في الابهر. اشارت نتائج التجربة الحالية الى ان لهرمون الميلاتونين تأثير مخفض لمستوى AGEs في جرذان الشيخوخة المستحدثة و الشيخوخة الطبيعية ، وقد يعود سبب ذلك الى ان من اهم تأثيرات الميلاتونين هي زيادة مستوى الطاقة ATP وكذلك تقليل عملية موت الخلايا المبرمج للمتقدرات من خلال تخفيض مستوى AGEs في المتقدرات (Guo *et al*.,2017). وقد اعتقد ان احد اسباب حدوث حالة موت الخلايا المبرمج هو زيادة مستوى

AGEs من خلال تنشيط المستقبلات RAGEs الخاصة لارتباط AGEs (Ramasamy *et al*.,2005 ;Chen *et al*.,2010b). ويسبب تنشيط الارتباط ما بين الرابط والمستقبل تعمل على حث انتاج جذور حرة غير منظمة والذي بدوره يؤدي الى حدوث حالة موت الخلايا المبرمج (Yao and Brownlee,2010). وقد توافقت هذه النتيجة مع Guo *et al*.,(2017) الذي لاحظ ان اعطاء الجرذان المستحدثة الشيخوخة سكر الكالاكتوز بعمر ثلاثة اشهر بجرعة 125ملغم /كغم الميلاتونين 10 ملغم/كغم الحقن في التجويف الخلبي لمدة 6 اسابيع ادى الى تقليل حالة موت الخلايا المبرمج وكذلك زيادة مستوى البروتينات المضادة لموت الخلايا المبرمج. وتوافقت هذه النتيجة ايضا مع(2014) ,.Ali *et al* الذي اكد ان اعطاء الميلاتونين بجرعة 10 ملغم/كغم الحقن في التجويف الخلبي للفئران المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز 100 ملغم/كغم الحقن في التجويف الخلبي لمدة 60 يوماً يعمل على تقليل التنكسات والالتهابات العصبية بسبب تقليل تنشيط مسار تحفيز المستقبل الخاصRAGEs للارتباط AGEs. وقد اشارت نتائج الدراسة الحالية بان للكارنتين دور في تخفيض مستوى AGEs في الجرذان المستحدثة الشيخوخة و الشيخوخة الطبيعية وقد يرجع سبب ذلك الى ان للكارنتين تأثير مضاد لعملية التسكر (Rajasekar and Anuradha ,2007) ويعتبر فعال جدا واقوى من المركب الكاربوني Aminoguanidine والذي يعتبر من الانواع التي لها القابلية على كبح إنتاج وتكون AGEs (Ishibashi *et al*.,2012). وقد جاءت هذه النتيجة متوافقة مع ما وجده (2007) Rajasekar and Anuradha, الذي بين ان للكارنتين تأثير يقلل من عملية التسكر التي تحدث في كولاجين الجرذان المغذاة على عليقة غنية بسكر الفركتوز.

7.5 تاثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى SOD .

اشارت نتائج الدراسة الحالية الى انخفاض مستوى SOD في جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز مقارنة مع مجموعة السيطرة. وسببت المعاملة بسكر الكالاكتوز إحداث حالة الاجهاد التأكسدي في الخلايا وبالأخص المتقدرات في خلايا الدماغ (Prakash and Kumar,2013 Banji *et al*.,2014) ; وعند زيادة مستوى سكر الكالاكتوز فانه سوف يتاكسد من خلال انزيم كالكتوز اوكسيديز Galactose Oxidase لتكوين بيروكسيد الهيدروجين والذي بدوره يعمل على

انخفاض مستوى SOD (Hsieh *et al*.,2009). جاءت هذه النتيجة متطابقة مع(2015) Hadzi-Petrushev *et al*., و Fatemi *et al*.,(2017) و Ahangarpour *et al*.,(2016) الذين لاحظوا ان اعطاء الجرذان المستحدثة الشيخوخة سكر الكالاكتوز ادى الى انخفاض مستوى ال SOD. وقد بينت نتائج الدراسة الحالية ان المعاملة بمضادات الاكسدة و حامض الفا-ليبويك وهرمون الميلاتونين ول- كارنتين ادت الى تحسين مستوى الSOD في الدم. ولحامض الفا-ليبويك دور مهم في حفظ مستوى SOD في الجرذان المستحدثة الشيخوخة و الشيخوخة الطبيعية، وقد يعود سبب ذلك الى ان لحامض الفا- ليبويك فعالية عالية للحماية من الاجهاد التأكسدي الذي يؤدي الى حدوث بيروكسدة الدهن (Sahin *et al*.,2010) ، فضلا عن قابلية حامض الفا- ليبويك على تدوير Recycle مضادات الاكسدة مثل GSH ، Vit.C Vit.E، (Ou *et al*.,1995).وقد جاءت هذه النتيجة متطابقة مع ما ذكره(2006) Cui *et al*., حيث اكد ان معاملة الفئران المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز 100 ملغم/ كغم تحت الجلد بحامض الفا-ليبويك بجرعة 100 ملغم/كغم الحقن في التجويف الخلبي لمدة 7 اسابيع ادى الى ارتفاع مستوى SOD في الدم. وقد اكد(2012) ,.Farr *et al* ان معاملة الفئران من نوع SAMP8 بعمر8 اشهر بحامض الفا-ليبويك 100 ملغم/كغم تحت الجلد لمدة اسبوعين ادى الى ارتفاع في مستوى SOD في الدم .كما ان لهرمون الميلاتونين تأثير على مستوى SOD من خلال ارتفاع مستواه عند المعاملة به مقارنة مع مجموعة الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية، ربما يعود سبب ذلك الى ان هرمون الميلاتونين من المركبات المحبة للدهون وله القابلية على العبور خلال الأغشية الخلوية وبالتالي يعمل على منع حدوث تأكسد الدهون فضلا عن ذلك فان تواجد مستقبلات الميلاتونين في مناطق مختلفة في الدماغ (Stankov *et al*.,1991) ، والذي له علاقة مهمة بتصنيع معظم الانزيمات المضادة للأكسدة وبالتالي تعمل على معادلة الجذور الحرة المتكونة خلال مرحلة الحماية العصبية. او قد يعود السبب الى دور هرمون الميلاتونين بشكل غير مباشر في تحفيز العديد من مضادات الاكسدة الانزيمية في الدماغ منها SOD، الكلوتاثيون بيروكسيديز، الكلوتاثيون اوكسيديز، الكلوكوز 6- فوسفيت ديهايدروجنيز والتي تعمل على حماية الدماغ من تاثير الجذور الحرة (Kotler *et al*.,1998). وجاءت هذه النتيجة متطابقة مع ما وجده Shen *et al*.,(2002) الذي ذكر ان معاملة الفئران BALB/C بعمر6 أشهر المستحدثة الشيخوخة بسكر

الكالاكتوز 25 ملغم/كغم تحت الجلد بهرمون الميلاتونين 10 ، 1 ،0.1 ملغم/كغم لمدة 3 أشهر ادى الى ارتفاع مستوى SOD. وقد اكد الباحث(2002) ,.*et al* Shen ان معاملة الجرذان بعمر 10 أشهر بهرمون الميلاتونين 0.1 و1 و10 ملغم/كغم بعد معاملة الجرذان بمادة $A\beta_{25-35}$ Amyloid peptide 25–35 الببتيد الذي يحدث تسمم عصبي، ادت الى ارتفاع مستوى SOD في انسجة الدماغ مقارنة مع الانخفاض الحاصل في SOD نتيجة المعاملة بمادة $A\beta_{25-35}$. بينت نتائج الدراسة الحالية بان معاملة الجرذان المستحدثة الشيخوخة والطبيعية بمادة ل–كارنتين ادى الى ارتفاع مستوى SOD مقارنة مع مجموعة السيطرة وقد يرجع سبب ذلك الى ان للكارنتين دور مهم في الحفاظ على التوازن الحاصل ما بين انتاج مضادات الاكسدة لمعادلة المؤكسدات التي تنتج في الخلية خصوصا خلايا الكبد والدماغ حيث انه يعمل على اظهار التأثير المضاد للأكسدة من خلال الحد من الاجهاد الايضي في الخلية Metabolic stress وذلك بزيادة مستوى SOD في نسيج الكبد والدماغ(Canbolat *et al*.,2017). وجاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما وجده (2017) ,.*et al* Saeed الذي اكد ان معاملة الجرذان ب ل–كارنتين 100 ملغم/كغم حدث ارتفاع في مستوى SOD في انسجة الدماغ.

8.5 تاثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى TNF–α .

بينت الدراسات السابقة بان هناك علاقة ما بين حدوث الالتهاب وزيادة مستوى السايتوكينات الالتهابية و الاجهاد التاكسدي، حيث ان حصول الاجهاد التاكسدي في الجسم يؤدي الى تنشيط عدد من السايتوكينات الالتهابية والمتضمنة TNF-α ، IL-6 و IL–1β والتي تعد الاساسية في تفاقم وتقدم الاجهاد التاكسدي لوجود علاقة وثيقة بين السايتوكينات و الجذور الحرة التي تعمل على تنظيم التعبير الخاص للجينات المتعلقة بالالتهاب وحدوث الاستجابة المناعية مثل iNOS و CoX_2 (Hritcu *et al*.,2015). اشارت نتائج الدراسة الحالية الى ان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز سبب ارتفاع معنوي في مستوى TNF-α في الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة، ربما قد يعود سبب ذلك الى ان سكر الكالاكتوز يعمل على زيادة بعض اعراض الالتهاب و حدوث التهاب في الخلايا العصبية من خلال تنشيط العامل النووي المعزز لسلسلة كابا الخفيفة في الخلايا البائية النشطة (NF–$_K$B) Nuclear factor kappa B والذي

يؤدي الى حدوث حالة ضعف الذاكرة (Shwe *et al*.,2018). وقد جاءت هذه النتيجة متطابقة مع(Chen *et al*., (2018 و Ghanbari *et al*., (2012) الذين لاحظوا ان معاملة الجرذان بعمر 4 اسابيع بسكر الكالاكتوز 100 و 500 ملغم/كغم لمدة 8 و 6 اسابيع ادى الى زيادة مستوى السايتوكينات الالتهابية منها TNF- α حيث انه ذكر ان لسكر الكالاكتوز تأثير على حدوث حالة الالتهاب المزمن الموضعي او العام في الجرذان. بينت نتائج الدراسة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا- ليبويك سببت انخفاض معنوي في مستوى TNF- α مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة والطبيعية غير المعاملة بحامض الفا- ليبويك، ربما قد يعود سبب ذلك الى قدرة حامض الفا -ليبويك على تقليل انتاج TNF- α في الانسان والحيوان من خلال فسفرته لعامل البروتين المثبط (IKK)$_K$B والتي تعمل على منع عملية تنشيط وتحرير NF-$_K$B، او قد يعمل بصورة مباشرة على منع استنساخ الجين المسؤول عن تصنيع البروتين المضاد للالتهاب الخاص لاستنساخ TNF- α و IL-6 (Zhang *et al*.,2011 ; Khabbazi *et al*.,2012). وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة لما ذكره(Sola *et al*., (2005 الذي اكد ان معاملة المرضى المصابين بداء السكر بحامض الفا- ليبويك 300-600 ملغم/ كغم لمدة 3-6 شهور ادى الى انخفاض في مستوى عامل النخر الورمي-الفا، وقد اتفقت هذه النتيجة مع ما وجده(Mendoza –Nunez *et al*., (2019 الذي لاحظ ان اعطاء المرضى المتقدمين بالعمر والمصابين بداء السكر حامض الفا -ليبويك 600 ملغم/كغم عن طريق الفم سبب انخفاض مستوى عامل النخر الورمي-الفا مقارنة مع المرضى غير المعالجين.

ان غدة التوثة عبارة عن عضو لمفاوي اساسي من الاعضاء اللمفاوية المسؤولة عن تمايز وبلوغ الخلايا اللمفاوية من نوع T (Boren and Gershwin,2004). ومع التقدم بالعمر تقل وظيفة غدة التوثة لانتاج الخلايا اللمفاوية من نوع T نتيجة حدوث تغير في الشكل والحجم فضلا عن المكونات الخلوية لها (Taub and Long ,2005)، وتظهر الغدة مع التقدم بالعمر منكمشة مع ظهور التنكسات الخلوية مع ملاحظة العديد من الخلايا تعاني من موت الخلايا المبرمج وبالتالي يؤدي الى حدوث الالتهاب الخلوي وزيادة تكون انتاج TNF-α في مصل الجرذان المتقدمة بالعمر طبيعيا(Ismail *et al*.,2018). ويؤثر افراز الغدة الصنوبرية لهرمون الميلاتونين على حجم الخلايا اللمفية فضلا عن تاثيره على شكل وتركيب خلايا غدة التوثة

(Nelson and Demas,1997). حيث ان اعطاء هرمون الميلاتونين يؤدي الى تقليل في انتاج TNF-α من خلال تاثيره المباشر على غدة التوثة بزيادة كثافة الخلايا اللمفاوية وتقليل عدد الخلايا التي تعاني من التنكسات (Provinciali *et al*.,1996).وجاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما توصل اليه(2018) ,.Ismail *et al* الذي ذكر ان اعطاء الجرذان الكبيرة بالعمر 16-18شهر هرمون الميلاتونين 10ملغم/كغم عن طريق الفم خمس مرات في الاسبوع لمدة 90 يوماً ادى الى انخفاض مستوى TNF-α مع ملاحظة بقاء مستواه مرتفع في الجرذان الكبيرة بالعمر والمعالجة بهرمون الميلاتونين مقارنة مع الجرذان البالغة بعمر3-4 شهر غير معالجة بهرمون الميلاتونين. واتفقت هذه النتيجة مع نتيجة (2014) ,.Ali *et al* الذي لاحظ ان معاملة الفئران المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز 100 ملغم/كغم الحقن في التجويف الخلبي لمدة 30 يوم ادى الى انخفاض الالتهاب العصبي من خلال انخفاض عدد من السايتوكينات الالتهابية ومنها TNF-α. وادى اعطاء ل- كارنتين انخفاض معنوي في مستوىTNF-α في جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز غير المعاملة وكذلك ادى ل- كارنتين الى خفض مستوى TNF-α في جرذان الشيخوخة الطبيعية، وقد يعود سبب ذلك الى ان ل- كارنتين يعمل على تقليل نشاط $NF\text{-}_KB$، ويؤدي قلة نشاط $NF\text{-}_KB$ الى تقليل تخليق النوع المختزل من اوكسيد النتريك (iNO) وهو بدوره مسؤول عن اظهار الحالة المرضية للالتهاب (Moeinian *et al*.,2013). او ربما قد يعود سبب ذلك الى دور ROS في حدوث و توليد حالة الالتهاب والذي يساهم بشكل رئيس في التعبير عن البروتينات للسايتوكينات قبل الالتهاب pro-inflammatory cytokine وبالتالي تنشيط مسار$NF-_KB$ (Siomek ,2012) ولهذا فان بعض مضادات الاكسدة مثل ل- كارنتين تعمل على تثبيط نشاط مسار $NF\text{-}_KB$ وتقليل حالة الالتهاب من خلال تثبيط تكوين ROS (Cetinkaya *et al*.,2006). وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة لما ذكره (2017) Mahdavi *et al*., الذي اكد ان للكارنتين تاثير مضاد للالتهاب بتخفيضه مستوى TNF-α في مصل دم المرضى المصابين بالتهاب المفاصل osteoarthritis . وقد اتفقت هذه النتيجة مع(2018) ,.Xia *et al* الذي ذكر بان معاملة الجرذان بعمر 12 اسبوع ب ل- كارنتين 1 غم /كغم الحقن في التجويف الخلبي لمدة 3 اسابيع ادى الى انخفاض مستوى عامل النخر الورمي -الفا في الجرذان المستحدثة التهاب الكبد.

9.5 تاثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين في مستوى NGB.

من جهة اخرى يعرف النيوروكلوبين على انه نوع من انواع الكلوبينات التي تعمل داخليا على حماية الخلايا العصبية ضد نقص الاوكسجين وكذلك نقص التروية في الدماغ (Yu *et al*.,2012). فضلا عن قابليته على تخفيف عملية الاجهاد التاكسدي وكذلك تقليل ROS (Yu *et al*.,2013). و حماية المتقدرات و مقاومة حالة موت الخلايا المبرمج (Brittian *et al*.,2010). حيث يحدث في حالة التقدم بالعمر انخفاض في مستوى النيوروكلوبين في ادمغة الجرذان والذي يدل على نقص تعبير هذا البروتين في داخل الخلايا العصبية مما يزيد احتمالية حدوث الاضطرابات العصبية المتعلقة بالتقدم بالعمر (Sun *et al*.,2005). فقد بينت الدراسة الحالية ان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز سببت انخفاض مستوى النيوروكلوبين في الدم فضلا عن انخفاض مستواه في جرذان الشيخوخة الطبيعية. وربما قد يعود سبب انخفاض مستوى النيوروكلوبين الى زيادة الاجهاد التاكسدي وانتاج الجذور الحرة المصاحبة لقلة فعالية مضادات الاكسدة والتي تؤثر على نسيج الدماغ وتعمل على حث اكسدة كل من البروتينات والدهون (Al-Ameen,2014). وهناك عدة نظريات مقترحة لحماية النيوروكلوبين من تأثير الاجهاد التأكسدي حيث انه مادة حساسة لتركيز الاوكسجين ويعتبر كمركب خازن له وخاصة في شبكية العين حيث تعتبر واحدة من اكثر الانسجة المستهلكة للاوكسجين (Schmidt *et al*., 2003). وقد يعمل النيوروكلوبين على الحماية العصبية من خلال كبح جذور الاوكسجين والنتروجين الحرة ROS/RNS او انه يعمل على حماية الخلايا من خلال تثبيط حالة موت الخلايا المبرمج (Raychaudhuri *et al*.,2010). ان النيوروكلوبين الخازن للاوكسجين Oxygenated neurogloin يحصل له اكسدة ذاتيا Auto-oxidation وبالتالي تقل قابلية الجزيئات الاخرى على الارتباط مع الاوكسجين (Brunori and Vallone,2006). فضلا عن ذلك فان الدور الفسلجي الوظيفي للنيوروكلوبين هو تداخله مع المتقدرات من خلال التفاعل السريع مع السايتوكروم C (Fago *et al*.,2006 ; Fago *et al*.,2008 ; Bonding *et al*.,2008) وبالتالي فان له تأثير مضاد لحالة موت الخلايا المبرمج (Duong *et al*., 2009 ; Liu *et al*.,2009). واتفقت هذه النتيجة مع ما توصل اليه الباحثون Sun (2005) *et*

al., الذي ذكر بان مستوى التعبير عن بروتين النيوروكلوبين في قشرة المخ ومنطقة قرن امون والمخيخ في ادمغة الجرذان بعمر 12 و 24 شهراً يكون منخفض واكد ان الانخفاض في مستوى النيوروكلوبين يزيد من احتمالية الاضطرابات العصبية المتعلقة بالتقدم بالعمر. وقد ادت المعاملة بكل من حامض الفا–ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين الى ارتفاع مستوى النيوروكلوبين في جرذان الشيخوخة المستحدثة و الشيخوخة الطبيعية، ربما قد يعود سبب ذلك الى ان كل من حامض الفا –ليبويك وهرمون الميلاتونين ول– كارنتين ذي تأثير مضاد للتأكسد وكاسح للجذور الحرة بنوعيها جذور الاوكسجين والنتروجين الحرة فعند زيادة مستوى مضادات الاكسدة يتم القضاء على الجذور الحرة المتولدة في جرذان الشيخوخة المستحدثة نتيجة المعاملة بسكر الكالاكتوز او في جرذان الشيخوخة الطبيعية نتيجة التقدم بالعمر وبذلك يرتفع مستوى النيوروكلوبين في الدم. وقد اكدت الدراسات السابقة انخفاض مستوى النيوروكلوبين مع التقدم بالعمر والشيخوخة في مناطق متعددة من الدماغ في كل من الانسان والحيوان وان لمستوى النيوروكلوبين علاقة وثيقة مع التقدم بالعمر والامراض العصبية التنكسية مثل مرض الزهايمر (Sun *et al*.,2005 ; Szymanski *et al*.,2010). لهذا فان من اهم وظائف النيوروكلوبين هو ادامة وسلامة الخلايا العصبية للجسم وكذلك حماية الدماغ من الاضرار الناتجة خصوصا مرض الزهايمر و السكتة الدماغية Stroke (Raychaudhuri *et al*.,2010).

10.5 تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول– كارنتين في مستوى NO.

تعمل التراكيز العالية من اوكسيد النتريك بوصفه مصدراً مهماً لإنتاج المواد المؤكسدة من انواع النتروجين الفعالة RNS (Nordberg and Arner ,2001). فالمعروف ان لأوكسيد النتريك دور في موت و خسارة الخلايا العصبية كدوره في مرض باركنسون (McCann *et al*.,2005). ويكون انتاج اوكسيد النتريك في داخل الخلايا العصبية كافي لحدوث التسمم الخلوي من خلال انتشاره في الخلايا العصبية الدوبامينية Dopaminergic والذي يتحد مع السوبر اوكسيد ليكون بيروكسي نتريت Peroxynitrite وهو يعتبر من الجذور الحرة الفعالة والقوية مقارنة مع جذر السوبر اوكسيد او مع جذر اوكسيد النتريك نفسه (Przedborski *et al*.,1996). من جهة اخرى يكون انتاج اوكسيد النتريك مميت للخلايا العصبية من خلال

تداخله مع مجموعة الهيم Heme group والانزيمات مما يسبب فقدان وظيفة الهيم وتعطيله inactivation وبالتالي يعمل على توقف التنفس الخلوي للخلايا العصبية ويؤدي الى موت الخلايا (McDonlad and Murad ,1996). ويحدث في الدماغ خلال التقدم بالعمر زيادة في وجود الخلايا النجمية غير الطبيعية ومن خلال الدراسات الكيميائية المناعية تبين انها تحتوي على IL-1. وان IL-1 يعمل كمحفز لانزيم اوكسيد النتريك سينثيز المستحث (iNOs) وبالتالي انتاج اوكسيد النتريك في داخل الخلايا العصبية والذي يعتبر العامل الرئيس لموت الخلايا العصبية (Griffin ,1998). و يعتبر انتاج IL-1 و NO احد اسباب حدوث موت الخلايا العصبية والذي يحدث في حالة التقدم بالعمر وقد يؤدي اوكسيد النتريك الى حدوث موت الخلايا المبرمج في حالة وجود الالتهاب في الجهاز العصبي المركزي مثل حالة كلم الدماغ و التصلب sclerosis (Griffin ,1998).وقد بينت نتائج التجربة الحالية ارتفاع معنوي في مستوى اوكسيد النتريك في مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية مقارنة مع مجموعة السيطرة. ولأوكسيد النتريك عدد من الوظائف الحيوية في الخلية مثل وظيفة الدفاع، تنظيم الاوعية الدموية والاتصال العصبي (Schmidt and Walter ,1994). فضلا عن دوره المهم في الجهاز العصبي المركزي للبائن من خلال النقل العصبي والذاكرة ومطاوعة الاشتباك العصبي (Hawkins, 1996; Holscher ,1997). من جهة ثانية فان وجود او انتاج اوكسيد النتريك بتركيز عالي مع الجذور الحرة يكون ذا تأثير سمي وايضا ينتج عنه موت الخلايا المبرمج في مختلف الخلايا العصبية (Heales *et al*.,1999 ;Hirsch and Hunot,2000). وربما يعود سبب الاضرار العصبية لاوكسيد النتريك الى تداخله مع مستقبلات الاحماض الامينية النشطة excitatory amino acids (Bonfoco *et al*.,1996). او نقصان او استنزاف NAD^+ (Mebmer and Brune ,1996). وقد يعمل على تحفيز انزيم الكاسبيز (Bosca and Hartelano,1999). او بسبب تداخل اوكسيد النتريك في المتقدرات كونها المكان الرئيسي لانتاج الجذور الحرة (Dugan *et al*.,1995 ; Du *et al*.,1998). حيث يعمل اوكسيد النتريك على تثبيط نشاط عدد من انزيمات السلسلة التنفسية مثل Complex I ، Complex II-III و Complex IV في الخلايا العصبية (Balanos *et al*.,1997). لهذا فان تثبيط السلسلة التنفسية في المتقدرات بوساطة اوكسيد النتريك يعمل على زيادة تسرب الالكترونات ويؤدي الى زيادة تكون الجذور الحرة خصوصا وبشكل رئيسي

جذر السوبر اوكسيد والذي يتواجد في داخل المتقدرات (Poderoso *et al*.,1996). وجاءت هذه النتيجة مطابقة لما وجده Zhong *et al*., (2016) الذي ذكر بان استحداث الشيخوخة في الفئران بعمر 3 اشهر بسكر الكالاكتوز 100 ملغم/كغم يوميا لمدة 8 اسابيع تحت الجلد سبب ارتفاع مستوى اوكسيد النتريك. ووافقت هذه النتيجة ما وجده Qu *et al*., (2016) الذي لاحظ ارتفاع مستوى اوكسيد النتريك في انسجة الدماغ في الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز 100 ملغم/كغم تحت الجلد. وقد ذكر(Jesko *et al*.,(2003 ارتفاع مستوى انزيم اوكسيد النتريك سينثيز في منطقة قرن امون للجرذان البالغة بعمر 14 شهر والمتقدمة بالعمر 24 شهر والذي ادى بدوره الى زيادة مستوى اوكسيد النتريك من خلال زيادة التعبير الجيني لأوكسيد النتريك في الجرذان. وقد اتفقت هذه النتيجة ايضا مع ما وجده Ming *et al*.,(2008) الذي لاحظ ان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز في الجرذان لمدة 6 اسابيع ادى الى حدوث تغييرات كيميائية ومرضية وزيادة مستوى اوكسيد النتريك في الخلايا النجمية في منطقة قرن امون. في حين خالفت هذه النتيجة ما وجده Lei *et al*.,(2016) الذي ذكر ان استحداث الشيخوخة في الفئران بعمر شهرين بسكر الكالاكتوز 100 ملغم /كغم لمدة 30 يوماً ادى الى انخفاض في مستوى اوكسيد النتريك في نسيج الدماغ والكبد ومصل الدم والقلب والكلية وكذلك الرئتين، ربما يعزى سبب اختلاف النتائج لصغر عمر الفئران فضلا عن قصر فترة المعاملة.

توصلت الدراسة الحالية الى ان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية بحامض الفا- ليبويك ادت الى انخفاض مستوى اوكسيد النتريك مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة والشيخوخة الطبيعية غير المعاملة. وربما يعود سبب ذلك الى دور حامض الفا- ليبويك المضاد للاكسدة و تقليله الاجهاد التاكسدي في الخلية فضلا عن ذلك فانه يعمل على تقليل الاجهاد التاكسدي المحدث بوساطة الاوكسجين و النتروجين في خلايا الكبد، لهذا فان زيادة تكوين اوكسيد النتريك هي ناتج لزيادة فعالية انزيم اوكسيد النتريك سينثيز المستحث iNOs خصوصا في الخلايا العصبية من نوع الخلايا الدباقية والتي لها أهمية كبيرة في تطور الاجهاد التأكسدي المحدث بالنتروجين. وقد اجمعت الدراسات التي تهتم بدراسة الاضطرابات العصبية الى ان لجذر البيروكسي نتريت اهمية كبيرة في امراضية التنكسات العصبية والامراض المتعلقة بها والتي خلالها تحدث عملية الاجهاد بوجود جذر النتروجين بحدوث تفاعل ما بين اوكسيد النتريك وجذر السوبر اوكسيد (Laskin *et al*.,2001; Haynes

et al.,2009) . حيث اكد الباحث(2000) Liang and Akaike ان حامض الفا- ليبويك يعد من المثبطات الفعالة والقوية لازالة iNOs وبدون اي اضرار خلوية. بينما اكد(2012) Yamada *et al*., ان المعاملة بحامض الفا- ليبويك تعمل على تثبيط التعبير الجيني ل iNOs عند مرحلة ما بعد النسخ لmRNA والذي ينتج عنه قلة في تكوين اوكسيد النتريك. وقد جاءت نتيجة التجربة متطابقة مع (2015) Veskovic *et al*., الذي اكد ان الجرذان بعمر 8 اسابيع و المغذاة بغذاء به نقص الكولين والميثيونين عوملت بحامض الفا-ليبويك 100 ملغم/ كغم انخفض مستوى اوكسيد النتريك في نسيج ادمغتها.

كما ان لهرمون الميلاتونين دوراً مهماً في خفض مستوى اوكسيد النتريك في الدم، حيث ادت المعاملة بالميلاتونين الى الخفض المعنوي في مستوى اوكسيد النتريك بالمقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة و الشيخوخة الطبيعية غير المعاملة. وقد يعود السبب الى ان هرمون الميلاتونين يعمل على تثبيط iNOs المسؤول عن انتاج اوكسيد النتريك (Laskin *et al*.,2001) . وبدوره فان الانتاج العالي من اوكسيد النتريك يتفاعل مع ايون السوبر اوكسيد (O_2^{-}) ليكون ايون بيروكسي نتريت وبعد اكسدة مجموعة Sulfahydral يؤدي الى تكوين جذر الهيدروكسيل (Brzezinki,1997). في نفس الوقت فان ارتفاع تركيز هرمون الميلاتونين يؤدي الى زيادة نشاط الانزيمات المضادة للاكسدة مثل الكلوتاثيون بيروكسديز والسوبر اوكسيد دسميوتيز والكاتاليز والمهمة جدا للمحافظة على الوظائف الحيوية للجسم كوظائف الكبد (Karasek and Winczyk,2006). وبهذا فان هرمون الميلاتونين يقلل مستوى اصناف الاوكسجين الفعالة ROS والتي لها علاقة في تطور الامراض والسرطانات (Jahovic *et al*.,2003 ;Bedini *et al*.,2019). وجاءت هذه النتيجة متطابقة مع (2014) Yuzuak *et al*., الذي لاحظ ان اعطاء هرمون الميلاتونين 10 ملغم /كغم تحت الجلد لمدة 7 ايام للجرذان البالغة والمتوسطة العمر ادى الى انخفاض مستوى اوكسيد النتريك في الجرذان. وايضا وافقت هذه النتيجة مع ما وجده(2019) Oleshchuk *et al*., الذي لاحظ ان اعطاء الجرذان هرمون الميلاتونين 10ملغم/كغم لمدة 8-10 اسبوع ادى الى انخفاض في مستوى كل من (iNOs,eNOs). كما بينت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز و جرذان الشيخوخة الطبيعية ب ل- كارنتين سببت انخفاض في مستوى اوكسيد النتريك في الدم. ربما يرجع سبب ذلك الى ان ل-كارنتين هو من اهم المواد التي تعمل

على الحد من الاجهاد التأكسدي باعتباره مضادا للأكسدة ،كذلك من وظائفه انه يعمل على تنظيم تركيز اوكسيد النتريك من خلال تنظيمه للتنفس الخلوي (Brown,1999) ويعمل على تنظيم نشاط الانزيمات التي لها دور مضاد للأضرار التأكسدية مثل انزيم الكاتاليز (Kremser *et al*.,1995). او ربما يعود السبب الى التدخل المعقد للكارنتين مع المتقدرات والاجسام الحالة في عملية المحافظة على الاتزان الخلوي لإنتاج الطاقة (Koeck and Kremser,2003). وقد اتفقت هذه النتيجة مع ما وجده Sharman *et al* ., (2002) الذي ذكر بان اعطاء ل-كارنتين 300 ملغم /لتر ماء لمدة 8 اسابيع للفئران البالغة بعمر 4 اشهر والفئران الكبيرة بالعمر 25 شهر ادى الى انخفاض مستوى (nNOs) neuronal nitric oxide synthaseفي الفئران الكبيرة بالعمر مع ملاحظة رجوع مستواه الى المستوى الطبيعي بعدم اختلافه معنويا عن الفئران البالغة بعمر 4 اشهر. ايضا فقد جاءت هذه النتيجة متطابقة مع ما ذكره(2003) ,Koeck and Kremser الذي لاحظ ان تعرض الخلايا في الوسط الزرعي والمأخوذة من الانسان من نوع Human genetic mutant respiratory cell للكارنتين بتركيز 0.1 و 1 مايكرومول انخفض فيها مستوى اوكسيد النتريك في الخلايا المعرضة للكارنتين. وقد تطابقت هذه النتيجة ايضا مع(2017) ,.Saeed *et al* الذي بين ان اعطاء الجرذان المستحدث فيها فشل الكبد الحاد بوساطة استخدام مركبات الثايوكاربونيل TAA لمدة ثلاثة ايام باستخدام ل-كارنتين 100 ملغم/كغم لمدة 3 اشهر ادى الى انخفاض مستوى اوكسيد النتريك في الدم و الدماغ والكبد.

11.5 تاثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين في مستوى التعلم والذاكرة.

ان نظرية حدوث الاجهاد التأكسدي هي من النظريات الاولى في حث وتقدم عملية تنكس خلايا الجهاز العصبي (Ansari and Scheff ,2010). من خلال انتاجها للجذور الحرة و المؤكسدات وقلة في انتاج مضادات الاكسدة الحيوية في الجسم وعرقلة التصليح الناتج من الاضرار التاكسدية (Gilca *et al*.,2007). لقد اتفق كل من علماء النفس وعلماء الاعصاب

بان منطقة قرن امون في الدماغ لها الدور المهم في تشكيل الذاكرة المبنية على الخبرة والتي تدعى بالذاكرة العرضية Episodic memory ; Eichenbaum and Cohen ,1993) Squire and Schacter ,2002). وجزء منها يعود الى دور قرن امون في الكشف عن الاحداث الجديدة للكائن الحي سواءاً الانسان او الحيوان كمكان جديد او محفز معين (Vanelzakker *et al*.,2008). ويؤدي التلف الشديد الذي يحدث في قرن امون الى صعوبات لتشكيل ذاكرة جديدة يتعرض لها الكائن الحي وغالبا ما يؤثر على الذاكرة التي تشكلت او تكونت قبل حدوث الضرر، وقد ترتبط منطقة قرن امون مع بعض الامراض مثل مرض الزهايمر والذي يعد الخلل في قرن امون من اهم العلامات المبكرة للمرض Hampel *et al*.,2008). حيث يلاحظ وجود تأثير شديد على العديد من انواع الادراك للدور الرئيس الذي يلعبه قرن امون في الذاكرة (Prull *et al*.,2000). لهذا فانه مع التقدم بالعمر يحدث تدهور في منطقة قرن امون نتيجة حدوث انكماش، او انه مع التقدم بالعمر تصبح منطقة قرن امون اقل نشاطا (Prull *et al*., 2000). اما في الجرذان فقد يحدث خلل في التوصيل العصبي لمناطق التشابكات العصبية خصوصا في منطقة التلافيف المسننة للدماغ dentate gyrus ومناطق مختلفة من قرن امون فضلا عن الانخفاض في الاستجابة عن طريق المستقبلات (Rosenzweig and Barnes,2003). لهذا فان شيخوخة الدماغ تلعب دوراً مهماً في الخلل الوظيفي للإدراك والاضطرابات التنكسية العصبية، حيث ينتج الدماغ كميات عالية من ROS لكل غرام من الانسجة مقارنة مع اعضاء اخرى (Gutman ,2008). فضلا عن ذلك يكون الدماغ في الجرذان المسنة اكثر عرضة للأضرار الاجهاد التأكسدي مقارنة مع الدماغ في الجرذان الصغيرة بالعمر (Uzun *et al*.,2010). حيث ان التعرض المستمر واليومي لسكر الكالاكتوز يتسبب في ضعف الادراك والمهارة الحركية والتي تكون مشابهة للعلامات التي تحدث في شيخوخة الانسان (Cui *et al*.,2006). لهذا فان التجهيز العالي لسكر الكالاكتوز يعمل على المساهمة في توليد ROS والتي تعمل على حدوث اضرار في الجزيئات الكبيرة والتي تساهم في حدوث شيخوخة الخلية (Yanar *et al*.,2011). ان تعطيل الذاكرة بسبب المعاملة بسكر الكالاكتوز يكون نتيجة تفاعله مع مجاميع الاحماض الامينية الحرة للبروتينات وببتيدات الخلايا العصبية والذي بدوره يكون AGEs (Cui *et al*.,2006)، وبدوره يعمل على الاكسدة الكيميائية والانحلال من خلال الارتباط مع AGER وتنشيط المسار الخاص بتكوين الجذور

الحرة وبالتالي حدوث الاجهاد التاكسدي (Yanar *et al*.,2011) لهذا فان الاجهاد التاكسدي الناتج او المتولد من اكسدة سكر الكالاكتوز يتخطى قابلية الخلية العصبية للتخلص منه وبالتالي فانه سوف ينتج سلسلة من التفاعلات متمثلة ببيروكسدة الدهون والانتاج العالي من MDA والذي بدوره يتحد مع فوسفات الدهن الموجود في الخلية وينتج اضرار خلوية وعرقلة لوظائف الجهاز العصبي المركزي (Gutman ,2008). لهذا فانه يمكن اختبار الذاكرة المكانية Spatial memory بوساطة اختبار متاهة موريس المائية MWM ويستعمل هذا الاختبار بشكل واسع للكشف عن نقص الادراك في الذاكرة المكانية لمعظم الدراسات العصبية ; (Kant *et al*.,1988 Brandeis *et al*.,1989) فضلا عن الدراسات المتعلقة بالشيخوخة ; (Issa *et al*., 1990 Joseph *et al*.,1999). لقد بينت نتائج التجربة الحالية بان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ادت الى اطالة الفترة الزمنية معنويا للوقت اللازم للسباحة خلال المتاهة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وايضا خلال فترتي التجربة بالمقارنة مع فترة ما قبل المعاملة، ايضا اطالة الفترة اللازمة معنويا للوصول الى الجزيرة وزيادة عدد مرات الدوران معنويا بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. ربما يعود سبب ذلك فضلا عن الاسباب السابقة الى ان زيادة سكر الكالاكتوز تؤدي الى تغيير نشاط الانزيم Mitogen –activated protein kinase (MARK) (Li *et al*.,2004). وانزيم Janus kinase (Tanikawa *et al*.,2009). ويعمل الانزيمان على حث التعبير عن $NF\text{-}_KBu$ (Li *et al*.,2009) . لهذا فان تنشيط $NF\text{-}_KB$ يلعب دور مهم في تطور الاستجابة الالتهابية ويؤدي الى حدوث اضرار نسجية نتيجة زيادة السايتوكينات الالتهابية والذي بدوره يحث عملية الاكسدة مؤديا الى حدوث موت الخلايا المبرمج (Libermann and Baltimer ,1990). فضلا عن ذلك فقد اشار Wang *et al*.,(2011) ان لسكر الكالاكتوز تأثير على حدوث العرقلة في الذاكرة من خلال تأثيره السلبي على التعبير لجين Phospho Erk1/2 (PErK 1/2) في منطقة قرن امون، لهذا فان تحفيز (PErK 1/2) و (ErK/MARK) يعمل على حث الحماية للخلايا العصبية من التقدم بالعمر فضلا عن الادوية التي تسبب الاضرار في الخلايا العصبية. وقد جاءت نتيجة هذه التجربة مطابقة لما ذكره(2017) Heidari *et al*., الذي ذكر بان مستحدثة الشيخوخة في الجرذان بسكر الكالاكتوز اظهرت اطالة الوقت اللازم للعثور على الجزيرة والوصول الى الهدف في المتاهة وكذلك اطالة الوقت اللازم للوصول الى الجزيرة بالمقارنة مع المجموعة غير المعاملة. واتفقت

هذه النتيجة مع ما ذكره(2017) ,. Kenawy *et al* و(2019) ,.Li *et al*. وقد اثبت الباحث(2017) ,.Rehman *et al* ان استخدام سكر الكالاكتوز لاستحداث موديل للشيخوخة في الجرذان ادى الى حدوث اعاقة شديدة في الإدراك مع ملاحظة الالتهاب الذي ظهر في الخلايا العصبية فضلا عن حدوث الاجهاد التأكسدي مع الاعاقة الشديدة للذاكرة والتعلم بالاستناد على اختبار متاهة موريس المائية.

اشارت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز بحامض الفا– ليبويك ادى الى انخفاض معنوي في الوقت اللازم للسباحة والانخفاض المعنوي لعدد مرات الدوران خلال المتاهة و في الوقت اللازم للوصول الى الجزيرة خلال الاسبوع السابع والخامس عشر من التجربة مقارنة مع مجموعة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز لاختبار متاهة موريس المائية، وكذلك بينت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بحامض الفا– ليبويك ادت الى الانخفاض المعنوي في الوقت اللازم للسباحة وفي الوقت اللازم للوصول الى الجزيرة خلال فترتي التجربة عند الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر مقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية غير المعاملة (السيطرة) في اختبار متاهة موريس المائية . هناك عدة ميكانيكيات مقترحة ومدروسة لبيان تأثير حامض الفا –ليبويك في تحسين ضعف الادراك والذاكرة، من خلال اظهار تأثير حامض الفا– ليبويك في تحسين الاشارات المتعلقة بالذاكرة او من خلال تأثيره على عملية الاجهاد التأكسدي فضلا عن تحسين وظيفة المتقدرات. و لحامض الفا – ليبويك تأثير مهم في الحفاظ على مستوى انزيم الاستايل كولين استريز وايضا مضخة Na^+,K^+_ATPase، ويكون نشاط الاستايل كولين استريز في قشرة المخ والمخيخ وقرن امون وتحت المهاد في الجرذان المسنة منخفض معنويا، وان اعطاء حامض الفا– ليبويك يعكس هذا الانخفاض في عدد من مناطق الدماغ (Arivazhagan *et al*.,2006). يلاحظ في الجرذان المسنة ارتفاع مستوى اللايبوفيوسين مع انخفاض نشاط مضخة Na^+,K^+_ATPase ، ويعمل حامض الفا– ليبويك على خفض اللايبوفيوسين فضلا عن رفع نشاط الانزيم Na^+,K^+_ATPase في قشرة المخ، قرن امون، المخيخ، تحت المهاد من الدماغ (Arivazhagan and Panneerselvam ,2004). ويعمل حامض الفا– ليبويك على تحسين الادراك عند تعرض الجرذان الى سكر الكالاكتوز و يعمل على التقليل من وظيفة الذاكرة المكانية Spatial Memory فضلا عن تقليل موت الخلايا المبرمج في الخلايا العصبية لمنطقة قرن

امون، مع ملاحظة موت الخلايا العصبية المتكونة حديثا في طبقة الخلايا الحبيبية (Cui *et al*.,2006). كما يعمل حامض الفا–ليبويك على تحسين ضعف الادراك وايضا التنكسات العصبية التي تحدث في الخلايا العصبية لقرن امون فضلا عن تقليل الاضرار التاكسدية المحيطية من خلال تقليل انتاج MDA وزيادة فعالية مضادات الاكسدة الكلية في الخلايا العصبية وكذلك مستوى SOD (Cui *et al*.,2006). فضلا عن ذلك فان لحامض الفا–ليبويك القابلية على عبور الحاجز الموي الدماغي BBB ويدخل الى الخلايا ويختزل الى Dihydro lipoic–acid (DHLA) وهو مركب له قابلية تاكسدية قوية ولا يتحطم بسهولة من قبل الجذور الحرة، وله القابلية الى العودة مرة ثانية الى شكله الاول، وهو يعمل في الاوساط المائية والدهنية (Baluchnejadmojarad *et al*.,2012). وجاءت هذه النتيجة مطابقة لما وجده(2006) Cui *et al*., . وايضا اتفقت هذه النتيجة مع(2001) Liu *et al*., و (2005) Sharma *et al*., . كما ان لهرمون الميلاتونين تأثير على عملية الذاكرة والذكاء والتعلم والادراك، حيث ان هناك علاقة ما بين انخفاض تركيز الميلاتونين في الامراض التنكسية العصبية والتقدم بالعمر و حدوث تكلس الغدة الصنوبرية الذي يحدث مع التقدم بالعمر والذي يؤدي الى انخفاض مستوى هرمون الميلاتونين في السائل المخي الشوكي (CSF) والذي يؤدي الى حدوث الاضطرابات الزمنية (المؤقتة) Chronological disturbances منها الارق، لهذا فان انخفاض تركيز هرمون الميلاتونين في سائل النخاع الشوكي CSF يؤدي الى زيادة الاضرار التي تحدث في الخلايا العصبية نتيجة تكون ROS و بالتالي الاسراع بحدوث اضطرابات تنكسية عصبية (Tan *et al*.,2018). فقد بينت نتائج التجربة الحالية ان لهرمون الميلاتونين تأثير على مستوى التعلم والذاكرة فضلا عن الذكاء الملاحظ في اختبار المتاهة المائية لموريس حيث اشارت النتائج بان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بهرمون الميلاتونين ادت الى الانخفاض المعنوي في الوقت اللازم للسباحة والوقت اللازم للوصول الى الجزيرة الخاصة بالمتاهة خلال الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة مع مجموعة جرذان الشيخوخة المستحدثة بدون معاملة. كذلك بينت نتائج التجربة الحالية ان معاملة جرذان الشيخوخة الطبيعية بهرمون الميلاتونين سببت انخفاضاً معنوياً في الوقت اللازم للسباحة والوقت اللازم للوصول الى الجزيرة في المتاهة خلال الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر من التجربة بالمقارنة مع مجموعة الشيخوخة الطبيعية. ربما يعود سبب ذلك الى دور هرمون الميلاتونين في

عملية الذاكرة (Argyriou *et al*.,1998). وقد اشارت احدى الدراسات الى دور هرمون الميلاتونين في اعادة بناء الاتصالات والتشابكات العصبية خلال مرحلة التعلم بذلك فهو يؤدي الى تحسين الذاكرة والقدرة على ادراك وتطوير المهارات الحركية للجسم (Baydas *et al*.,2002)، او ربما تعود الزيادة في قابلية التعلم والقدرة الادراكية والذكاء لتأثير هرمون الميلاتونين الايجابي على الخلايا العصبية الموجودة في منطقة قرن امون الخاصة والمسؤولة عن الذاكرة (El-sherif *et al*. , 2003). وجاءت هذه النتيجة مطابقة ل(Ashour *et al*., (2016 و اتفقت نتيجة التجربة الحالية مع ما وجده(Shen *et al*., (2002 و مع(Sharma *et al*., 2005). وكان لل–كارنتين مجموعة من التأثيرات الفسلجية من خلال استخدامه كعلاج للعديد من الامراض مثل ضعف الادراك في المرضى الذين يعانون من مرض الزهايمر (Hollister and Gruber,1996)، الجنون او الخرف الشيخوخي Senile dementia (Bonavita,1986). فقد اشارت عدد من الدراسات ان للكارنتين و الاستايل ل– كارنتين تأثيرات عصبية من خلال توفيره الحماية العصبية (Scafidi *et al*.,2010). لقد بينت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز وجرذان الشيخوخة الطبيعية ب ل–كارنتين ادت الى الانخفاض المعنوي في الوقت اللازم للسباحة وفي عدد مرات الدوران والوقت اللازم للعثور والوصول الى جزيرة المتاهة لاختبار متاهة موريس خلال الاسبوع السابع والاسبوع الخامس عشر من التجربة مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية. وربما يعود السبب الى ان للكارنتين تأثيراً مهماً في المحافظة على ثبوتيه وتركيب الاغشية الخلوية للخلايا العصبية (Jones *et al*.,2010). او ربما بسبب ان للكارنتين تأثير مهم في الحماية من تأثيرات الاجهاد التأكسدي (Xu *et al*.,2015). فضلا عن تأثيره في تسهيل نشاط عوامل النمو العصبي nerve growth factors (Chiechio *et al*.,2006). او ربما انه يحفز توليد الاستايل كولين ويحافظ على انزيم الكولين استريز بعد حدوث اضرار في الخلايا العصبية (White and Scates,1990). وجاءت هذه نتائج الدراسة الحالية مخالفة لما ذكره(Chang *et al*., (2014 الذي وجد بان معاملة ذكور الفئران البالغة بعمر 8 اسابيع بسكر الكالاكتوز 125 ملغم/كغم تحت الجلد لمدة 8 اسابيع لم تختلف معنويا في الوقت اللازم للوصول الى جزيرة موريس المائية مقارنة مع مجموعة السيطرة، وان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة ب ل–كارنتين 150 ملغم/كغم لمدة 8 اسابيع لم تؤدِ الى تغيير في

الوقت اللازم للعثور على الجزيرة مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة الشيخوخة المستحدثة. وقد يرجع سبب الاختلاف في نتيجة التجربة الى ان عمر الفئران المستخدمة في التجربة اصغر من عمر جرذان التجربة او ربما يعود لاختلاف الحيوان فضلا عن ذلك فان ل-كارنتين لم يظهر تأثير محسن لاختبار التعلم والذاكرة وذلك بسبب ان ل-كارنتين المستخدم في التجربة ليس لوحده وانما استخدم مع مواد اخرى وهي CO Q10 وPQQ و Tocopherol فربما لهذا السبب لم يظهر التأثير المحسن لظاهرة التعلم والذاكرة. وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة لما ذكره(2010) Kobayashi *et al.*, ان اعطاء الجرذان المتقدمة بالعمر 19 شهر ومعاملتها بالاستايل ل-كارنتين 100 ملغم/كغم مع ماء الشرب والتي تم اختبارها بمتاهة Hebb-Williams maze لتقدير ظاهرة التعليم والذاكرة الخاص لمعرفة مدى التدهور المصاحب لحالة التقدم بالعمر، فقد وجد ان الاستايل ل- كارنتين يعمل على تقليل مقدار الأخطاء الحاصلة بالاختبار. وقد اكد الباحث بان الاستايل ل- كارنتين يعمل على تحسين الوظائف الادراكية او تقليل الاعاقة التي تحدث في الجرذان نتيجة التقدم بالعمر .وايضا جاءت هذه النتيجة متوافقة مع(2001) Lohninger *et al.*, الذي لاحظ ان معاملة الجرذان المتقدمة بالعمر 21 شهر ب ل- كارنتين ادى الى تحسين قابلية التعلم من خلال اجراء اختبار متاهة T-Maze والذي اكد بان ل-كارنتين يعمل على تحسين الضعف في الوظائف الادراكية والتعلم والذاكرة المصاحبة للتقدم بالعمر.

12.5 تاثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا -ليبويك، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين في التغييرات النسجية لمنطقة قشرة المخ وقرن امون في الدماغ .

بينت نتائج التجربة الحالية بان مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز ومجموعة الشيخوخة الطبيعية قد اظهرت تغييرات نسجية تمثلت في منطقتي قشرة المخ وقرن امون، فقد لوحظ ظهور تنكس و وذمة وعائية مع تنخر في الخلايا العصبية ، فضلا عن حدوث الالتهاب تمثل بظهور الخلايا الالتهابية و ظهور حالة موت الخلايا المبرمج في الخلايا العصبية مقارنة مع مجموعة السيطرة .بينت الدراسات السابقة ان المعاملة بسكر الكالاكتوز سببت ظهور العلامات الالتهابية في الخلايا العصبية لدوره في استحداث الالتهاب نتيجة تحفيز عامل NF-

$_K$B من خلال عدد من المسارات وبالتالي فانه يؤدي الى أضرار في الخلايا العصبية مما ينتج عنه عرقلة في التعلم والذاكرة (Shwe *et al*.,2018). قد سببت المعاملة بسكر الكالاكتوز ظهور حالة موت الخلايا المبرمج من خلال تحفيز او تنشيط المسارات الداخلية والخارجية، فيما يخص المسار الخارجي فانه يعرف بموت المستقبلات Receptor death حيث يعمل سكر الكالاكتوز على التحفيز المباشر لإنزيم الكاسبيز Caspase الانزيم الذي ينتج عن تحفيزه الموت المبرمج للخلايا وبدوره يعمل مع المسار الداخلي من خلال تأثير سكر الكالاكتوز على احداث خلل في نشاط المتقدرات (Benn and Woolf, 2004) ، حيث يعمل على تنشيط المتقدرات لإنتاج السايتوكرومC Cytochrome C والذي يعمل على تقليل مستوى التعبير الجيني لمضاد موت الخلايا المبرمج Anti apoptotic Bcl_2 expression level Bcl_2 والذي يؤدي الى موت الخلايا العصبية (Qian *et al*.,2008) كذلك فان المعاملة بسكر الكالاكتوز تؤدي الى حدوث موت الخلايا العصبية المبرمج عن طريق تحفيز P-JNK والذي بدوره يعمل على زيادة مستوى السايتوكروم Cytochrome C C والذي يعمل على تنشيط انزيم الكاسبيز (Ali *et al*.,2014) . يعمل سكر الكالاكتوز على الاخلال في وظيفة الخلايا النجمية والذي ينتج عنه حدوث حالة الالتهاب (Lei *et al*.,2008) و هي من أهم أنواع الخلايا الدباقية الموجودة في الدماغ و لها وظيفة مهمة حيث انها تلعب دور مهم في الحفاظ على ديناميكية تكوين الاشتباك العصبي بين الخلايا العصبية و ابقاء نشاط الخلايا العصبية الكهربائي فضلا عن سلامة الحواجز الدموية (Lei *et al*.,2008). ان التجهيز الغذائي الذي يكون فيه مستوى سكر الكالاكتوز عالياً يؤدي الى ادامة طاقة الجسم، لكن من جهة اخرى فانه يعمل على حدوث اضطرابات تنكسية مهمة جدا في ادمغة الفئران فضلا عن ذلك فان انعدام التوازن في الطاقة يؤدي الى حدوث حالة الالتهاب الايضي Metabolic inflammation في حالة انعدام التوازن لفترات طويلة (Zhang *et al*.,2008). جاءت هذه النتيجة مطابقة لما وجده(2017) Kenawy *et al*., الذي لاحظ ان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز 150 ملغم/كغم تحت الجلد في الجرذان ادت الى حدوث تغييرات نسجية في الدماغ خصوصا في منطقة قشرة المخ وقرن امون واتفقت هذه النتيجة ايضا مع ما توصل اليه(2018) Chen *et al*., حيث ذكر بان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز 100 ملغم/كغم لمدة 8 اسابيع في الجرذان ادت الى حدوث تغييرات نسجية في الدماغ ، فضلا عن ذلك فقد لاحظ(2018) Chen *et al*., وجود

تنكسات في الخلايا الكبدية مع موت مبرمج للخلايا و ارتشاح للخلايا الالتهابية في نسيج الكبد. كما بينت نتائج الدراسة الحالية بان المعاملة بسكر الكالاكتوز ادت الى ظهور صبغة اللايبوفيوسين لمنطقة قشرة المخ ، ربما يعود سبب ذلك الى ان المعاملة بسكر الكالاكتوز قد تؤدي الى تجمع الاضرار المتعلقة بالتقدم بالعمر والتي تعمل على ادامة وجود حالة الاجهاد التأكسدي في الخلايا العصبية والذي بدوره يعمل على زيادة تجمع صبغة اللايبوفيوسين ضمن الانسجة العصبية(Vida,*et al*.,2017). وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة لما ذكره(2019) Ma *et al*., الذي لاحظ ان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز في الجرذان بجرعة 500ملغم / كغم من وزن الجسم لمدة 90 يوماً ادى الى ظهور صبغة اللايبوفيوسن في الخلايا العصبية لنسيج الدماغ فضلا عن ملاحظة هذه الصبغة في نسيج الكبد. بينت نتائج الدراسة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية بحامض الفا– ليبويك ادى الى تحسن في الصورة النسجية بسبب التقدم بالعمر حيث ظهرت معظم الخلايا بصورة طبيعية مع الانخفاض في شدة الالتهاب ولم يتم ملاحظة ظاهرة موت الخلايا العصبية المبرمج في منطقتي قرن امون و قشرة الدماغ بالمقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة والطبيعية غير المعاملة بحامض الفا– ليبويك. ويزداد خطر حدوث التنكسات العصبية مع التقدم بالعمر وربما يعود السبب الى الانتاج العالي من ROS وبالتالي الاجهاد التاكسدي (Finkel and Holbrook, 2000). ، يعد حامض الفا –ليبويك من مضادات الاكسدة القوية والتي لها القابلية على حماية ووقاية الخلايا العصبية ; Memeo and Loiero,2008) (Tomassion *et al*.,2013 فهو كاسح قوي للجذور الحرة (Mitsui *et al*.,1999). ولحامض الفا –ليبويك القابلية للعمل مع مضادات الاكسدة الاخرى في الجسم منها فيتامين E و فيتامين C (Goraca and Aslanowicz– Antkowiak,2009). فضلا عن ذلك فان له دور وقائي من الأضرار التي تحدث في متقدرات الخلايا العصبية وايضا التسمم العصبي الذي يحدث نتيجة العلاج الكيميائي (Melli *et al*.,2008). حيث ان لحامض الفا– ليبويك دور اساس كمساعد انزيمي ضمن التفاعلات الانزيمية في المتقدرات (Firuzi *et al*.,2011). كذلك فقد اثبت ان لحامض الفا– ليبويك التأثير الفعال لحماية الخلايا العصبية من الآفات التي تسبب الاضرار في الخلايا العصبية المحيطية (Tomassion *et al*.,2013). كما ويعمل على تقليل ظاهرة موت الخلايا المبرمج حيث يخفض $NF\text{-}_KB$ والذي له الدور المهم في عملية الالتهاب و

يعتبر عامل مهم في تحفيز موت الخلايا المبرمج (Constantino *et al*.,2014). وجاءت هذه النتيجة مطابقة لما ذكره(2006) ,.Cui *et al*. وقد اتفقت هذه النتيجة مع(2018) Kocaoglu *et al*., كما ذكر (2010) ,.Emmez *et al* ان لحامض الفا –ليبويك التأثير المضاد لموت الخلايا المبرمج في حالة نقص تروية الحبل الشوكي Spinal cord ischemia في الجرذان.

بينت نتائج الدراسة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة والشيخوخة الطبيعية بهرمون الميلاتونين ادت الى تعديل التغييرات النسجية المحدثة نتيجة التقدم بالعمر في الخلايا العصبية لمنطقة قرن امون وقشرة المخ مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة والشيخوخة الطبيعية غير المعاملة بهرمون الميلاتونين حيث ظهرت الخلايا العصبية بشكل طبيعي فضلا عن الاصطفاف المرتب للخلايا في منطقة قرن امون وقلة ارتشاح الخلايا الالتهابية للحد من حالة الالتهاب ولم يلاحظ ظهور خلايا تعاني من الموت المبرمج او التنكس. ان لهرمون الميلاتونين دوراً فعالاً في وقاية وحماية الخلايا العصبية حيث انه يعد مضادا قويا للأكسدة وكاسحاً للجذور الحرة كجذر الهيدروكسيل سوءا داخل الجسم او خارجه (Akbulut *et al*., 2008; Ozturk *et al*., .2012) كذلك فان للميلاتونين تأثيراً مضاداً لظاهرة موت الخلايا المبرمج ربما تقليله التعبير الجيني للجينات التي تعمل على بدء موت الخلايا منها Bax و Bak للتلافيف المسننة Dentate gyrus في الدماغ فضلا عن عمله على تثبيط H_2O_2 الذي يعمل على حث ظاهرة الموت المبرمج للخلايا في الخلايا النجمية للجرذان في الطبق بوساطة تعديل التعبير الجيني ل جين Bax وجين Caspase-3 (Juknat *et al*.,2005). جاءت هذه النتيجة مطابقة ل(2016) ,.Ashour *et al* الذي لاحظ تأثير هرمون الميلاتونين على الجرذان المستحدثة الشيخوخة بسكر الكالاكتوز حيث لاحظ بان لهرمون الميلاتونين تأثير على التغييرات النسجية المحدثة باستخدام الكالاكتوز بظهور عدد قليل من الخلايا تعاني من الموت المبرمج مع ظهور الخلايا و انويتها بشكل طبيعي في منطقة قرن امون مع ملاحظة زيادة اعداد الخلايا النجمية. كما اتفقت هذه النتيجة مع(2016) ,Hazza and El-Akabawy الذي لاحظ ان اعطاء هرمون لجرذان الشيخوخة الطبيعية بعمر 22-24 شهر ادى الى ظهور الخلايا العصبية بشكل طبيعي وزيادة اعداد الخلايا الدباقية والخلايا النجمية في منطقة قرن امون من الدماغ، وقد اكد على دور هرمون الميلاتونين المحسن لحالة جرذان الشيخوخة الطبيعية التي تعاني من التنكسات العصبية فضلا عن تحسين مستوى دلائل الاجهاد التأكسدي

و مستوى AGEs المقدرة في منطقة قرن امون. ان معاملة جرذان مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية ب ل- كارنتين قد ادت الى ظهور تغييرات مرضية طفيفة من خلال قلة اعداد الخلايا الحبيبية (ضمور) في منطقة قرن امون فضلا عن ذلك فلم يتم ملاحظة التنكسات الشديدة و الموت المبرمج للخلايا العصبية بالمقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية غير المعاملة ب ل-كارنتين. وربما يعود السبب لدور ل-كارنتين المضاد للأكسدة وبالتالي يعمل على تقليل الاضرار الخلوية وموت الخلايا المبرمج فضلا عن حماية الخلايا العصبية وحماية الجهاز القلبي الوعائي وادامة الوظائف العصبية والقلبية وعلاج حالات الخرف التي تكون مصاحبة لمرض الزهايمر (Fritz and Arrigoni-Martelli,1993 ; Winter *et al*.,1995; Aliev *et al*.,2003;Kim *et al*.,2012). وجاءت النتيجة مطابقة لما ذكره Aliev *et al*., (2007) الذي ذكر بان المعاملة بحامض الفا- ليبويك و الاستيل ل- كارنتين للجرذان المتقدمة بالعمر طبيعيا بعمر 21 شهراً عمل على حماية متقدرات الخلايا العصبية و تقليل الاضرار في متقدرات الخلايا العصبية في منطقة قرن امون فضلا عن تقليل نسبة تكون صبغة اللايبوفيوسين، كذلك فقد لاحظ Kim *et al*., (2012) ان اضافة ل-كارنتين الى الوسط الزرعي لخلايا اجنة الجرذان المعرضة لمشتقات الكلوكوز – الاوكسجين و التي تعمل على حدوث اضرار في الدماغ تؤدي الى موت ألاجنة ادى الى تقليل التنخر الحاصل في الخلايا العصبية مع منع موت الخلايا المبرمج وبهذا فانه يعمل على التقليل من موت الخلايا العصبية والاجنة نتيجة لتقليل مستوى ROS المتكون نتيجة المعاملة بالكلوكوز والاوكسجين.

13.5 تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين في مستوى الانترلوكين -6 في الدماغ.

بينت نتائج الدراسة الحالية بان مستوى التعبير للانترلوكين -6 قد ارتفع ارتفاعا معنويا في مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية من خلال ملاحظة شدة الاصطباغ لبروتين الانترلوكين -6 في نسيج الدماغ مقارنة مع مجموعة السيطرة. ويؤدي اعطاء

سكر الكالاكتوز بجرع قليلة وبصورة مزمنة للقوارض الى تسريع حدوث الشيخوخة فضلا عن انخفاض قابلية التعلم مع فقدان الذاكرة وحدوث تنكسات عصبية مع حدوث اضرار في الجهاز المناعي (Lu *et al*.,2010a ; Shwe *et al*.,2018). سبب سكر الكالاكتوز حدوث حالة التهاب والذي يحث تنشيط الخلايا النجمية و خلايا البطانة الظهارية على الدفاع ضد حالة الالتهاب (Khan *et al*.,2009; Liu *et al*.,2010). ويعمل تنشيط الخلايا الدباقية والخلايا الظهارية عند وجود حالة الالتهاب على زيادة التصاق الجزيئات التي لها علاقة بالالتهاب مثل السايتوكينات والكيموكينات والتي تعمل على تسهيل دورانها والتصاقها وتنشيطها وايضا تعمل على هجرة خلايا الدم البيض للدوران خلال حواجز الخلايا البطانية الى موقع الالتهاب (Saeed *et al*.,2005 ; Wang *et al*.,2010). والتي تعمل على حدوث الاضرار للأنسجة الوعائية العصبية والمتمثلة بموت الخلايا وكذلك اعاقة في الحاجز الدماغي والدموي Deterioration of Blood Brain Barrier (Tsukita and Furuse.,2000). وقد اكدت معظم الدراسات على ان سكر الكالاكتوز يسبب زيادة السايتوكينيات الالتهابية ومنها الانترلوكين −6 الذي ينتج عنه حدوث التهاب الخلايا العصبية عن طريق تحفيز وتنشيط $NF\text{-}_KB$ مؤديا الى حدوث اضطراب في الوظائف (Shwe *et al*.,2018). ويتفاعل سكر الكالاكتوز مع ROS في مجموعة الامين للببتيد الذي يكون البروتين والذي يؤدي الى انتاج AGEs و حدوث الاجهاد التأكسدي، لهذا فان سكر الكالاكتوز يعمل على تنشيط $NF-_KB$ و تنشيط للسايتوكينات الالتهابية TNF−α و IL−6 (luevano−Contreras and Chapman− Novakofski,2010 ; Tsai and Yin,2012) يعمل الانترلوكين −6 على حماية الخلايا العصبية والانسجة العصبية في الدماغ من الاجهاد التأكسدي ويعمل على تثبيط انسلال خلايا الدم البيض ومنها العدلة فضلا عن المحافظة على وظيفة الجهاز المناعي (Erta *et al*.,2012). جاءت هذه النتيجة متطابقة مع Ruan *et al*., (2014) الذي لاحظ ان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز في الجرذان ادت الى زيادة التعبير الجيني mRNA لكل من السايتوكينات الالتهابية منها TNF-α و IL-6 في منطقة قرن امون في الدماغ. واتفقت هذه النتيجة مع(2018) ,.Chen *et al* الذي لاحظ بان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز سببت زيادة معنوية في مستوى السايتوكينات الالتهابية TNF- α و IL-6 وIL−1B في مصل دم الجرذان المعاملة. وايضا اتفقت النتيجة مع ما ذكره(2012) ,.Ghanbari *et al* الذي

لاحظ بان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ادت الى ارتفاع المعايير الالتهابية TNF- α، IL- 6 وIL-1B المقدرة في الدم.

بينت نتائج التجربة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية بحامض الفا –ليبويك قد سببت انخفاض معنوي لتعبير بروتين الانترلوكين-6 و انخفاض مستواه بالمقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية غير المعاملة بحامض الفا- ليبويك. ربما قد يعود السبب في ذلك لتأثير حامض الفا- ليبويك المضاد للالتهاب من خلال تقليله تكوين الانترلوكين -6 في الجرذان والانسان، حيث يعمل على مستوى الفسفرة لعامل البروتين المثبط (IKK) Factor inhibitor protein والذي يؤدي الى منع تكوين NF-$_K$B، او انه يعمل على مستوى التعبير الجيني من خلال المنع المباشر لتخليق الجين المسؤول عن انتاج TNF- α، IL-6 و IL-1B (Zhang *et al.*,2011 ; Khabbazi,2012). وقد اتفقت هذه النتيجة مع ما ذكره Garcia- Martinez *et al.*, (2017) الذي لاحظ ان اعطاء حامض الفا- ليبويك للأشخاص المتقدمين بالعمر المصابين بداء السكر أدى الى انخفاض مستوى TNF- α، IL- 6 و IL-1B مقارنة مع الاشخاص غير المعاملين واكد ان لحامض الفا- ليبويك تاثيراً مضاداً للالتهاب . وقد لاحظ Mendoza-Nunez *et al*.(2019) ان معاملة الاشخاص المتقدمين بالعمر والمصابين بداء السكر بحامض الفا- ليبويك ادت الى تعديل مستوى العلامات الالتهابية ومنها TNF- α، IL-6وIL-1B في الدم. كما ان لهرمون الميلاتونين تأثير على مستوى التعبير لبروتين IL-6 في نسيج الدماغ، حيث بينت معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة والشيخوخة الطبيعية بهرمون الميلاتونين انخفاض في مستوى الانترلوكين -6 في الدماغ مقارنة مع جرذان الشيخوخة المستحدثة والشيخوخة الطبيعية غير المعاملة بهرمون الميلاتونين. ان التأثير المضاد للالتهاب لهرمون الميلاتونين يعتمد بالأساس على فعله القوي كمضاد للأكسدة كما يعمل هرمون الميلاتونين على تثبيط مسار NF-$_K$B النشط الذي من خلاله يتم السيطرة على مستوى العلامات الالتهابية المتمثلة بمستوى TNF- α وIL-6 (Permpoonputtana and Govitrapong, 2013; Wongprayoon and Govitrapong,2015). فضلا عن ذلك فان هرمون الميلاتونين يقلل الالتهاب من خلال تقليله التعبير الجيني mRNA للسايتوكينات الالتهابية TNF- α، IL-6 و IL-1B (Cuesta *et al.*, 2011). وقد جاءت هذه النتيجة

متطابقة مع(Permpoonputtana *et al*., (2017 الذي ذكر بان معاملة الفئران المتقدمة بالعمر ادت الى انخفاض مستوى السايتوكينات الالتهابية TNF- α ،IL-6 و IL-1B في نسيج الدماغ و لم يتمكن هرمون الميلاتونين من ارجاع مستوى الانترلوكين –6 الى مستواه الطبيعي المقدر في الفئران البالغة بعمر شهرين. وقد اتفقت النتيجة مع ما وجده(Ismail *et al*., (2018 الذي ذكر بان معاملة الجرذان المتقدمة بالعمر بهرمون الميلاتونين ادت الى انخفاض مستوى الانترلوكين–6 في الدم مع ملاحظة بقاء مستوى الانترلوكين –6 اعلى من مجموعة الجرذان البلغة بالعمر 3-4 شهر. بينت نتائج الدراسة الحالية ان لل ل– كارنتين دور مهم في تقليل مستوى التعبير لبروتين الانترلوكين –6 في نسيج الدماغ لجرذان الشيخوخة المستحدثة و الشيخوخة الطبيعية حيث تم ملاحظة ذلك من خلال الانخفاض الملحوظ في شدة اصطباغ الخلايا العصبية في نسيج الدماغ مقارنة مع جرذان الشيخوخة المستحدثة والشيخوخة الطبيعية غير المعاملة ب ل–كارنتين. تعمل اصناف الاوكسجين الفعالة ROS على حدوث عملية الالتهاب وبالتالي تؤدي الى تحفيز التعبير للبروتينات الخاصة بعملية الالتهاب من خلال تحفيزها ل $NF–_{K}B$ تعمل على تشفير الاستجابة المناعية والالتهابية المناعية والالتهابية المنظمة مثل السايتوكينات والكيموكينات وغيرها من الجزيئات التي لها دور في عملية الالتهاب (Siomek,2012). لهذا فان ل– كارنتين يعمل على تثبيط $NF-_{K}B$ ويقلل من عملية الالتهاب من خلال توقف انتاج ال ROS (Conner and Grisham 1996; Kurutas *et al*.,2005 ; Cetinkaya *et al*.,2006). حيث اكد(Hua *et al*., (2014 ان للكارنتين دوراً مهماً في توقف تعبير Cyclo oxygenase II وايضا توقف عملية تكوين اصناف الاوكسجين الفعالة ROS في الخلايا البطانية للإنسان والذي يعمل على تثبيط السايتوكينات الالتهابية. وجاءت هذه النتيجة مطابقة لما ذكره(Xia *et al*., (2018 الذي ذكر بان معاملة الجرذان ب ل– كارنتين ادت الى انخفاض مستوى IL-6 في نسيج الكبد للجرذان المعاملة مقارنة مع الجرذان التي اعطيت endotoxin lipo polysaccharide(0.1 ملغم/كغم).

14.5 تأثير الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والشيخوخة الطبيعية والمعاملة بحامض الفا –ليبويك، هرمون الميلاتونين ول- كارنتين في التعبير الجيني لجين P53 في الطحال.

ان تقليل كفاءة ووظيفة جبن P53 في داخل الخلية مع التقدم بالعمر يساهم بشكل كبير في احداث امراض السرطان، وتحدث هذه الحالة نتيجة تجمع الاضرار (الطفرات) التي تحدث في المادة الوراثية ولا تستطيع الخلية معالجة هذه الاخطاء نتيجة خلل معين في مورثات الخلية. وهذا يقود الى التساؤل: عن سبب حدوث مرض السرطان عادة في الانسان والحيوان في المراحل المتقدمة من العمر ؟(Feng *et al*.,2008). تختص بعض المورثات في الخلية بإيقاف تكاثر او تضاعف الخلية وفي حال تأذى احدهم وتوقفه عن العمل، ستستمر الخلية بالانقسام وستصبح الخلية خالدة لا تموت، وهذه إحدى خصائص الخلايا السرطانية. ان اكثر مورثة معروفة بكبحها للسرطان هي جين P53، حيث تقوم بإيقاف الخلايا الحاوية على مورثات متأذية وتحثها على تدمير نفسها بالموت المبرمج للخلايا (الانتحار/ الاستماتة). لهذا فان معظم انواع السرطانات يكون جين P53 مفقوداً او متأذياً. حيث ان لجين P53 القابلية على اطالة فترة الحياة من خلال تقليل الاصابة بمرض السرطان الذي يعد من الامراض المتعلقة بالتقدم بالعمر والتي تصيب الكائن الحي في المراحل المتقدمة من العمر، فضلا عن ذلك ان جين P53 يعمل على تحفيز التعبير الجيني لتقليل حالة الاجهاد التأكسدي (Sablina *et al*.,2005 ; Matoba *et al*.,2006). وذلك بسبب دور ومساهمة الاضرار الناتجة عن الاجهاد التأكسدي في احداث مرض السرطان المتعلقة بالتقدم بالعمر والتغييرات التنكسية خلال مرحلة الشيخوخة (Bokov *et al*.,2004 ; Balaban *et al*.,2005). كما ان لجين P53 القابلية على معرفة مصير الخلية Cell fate وان البعض من قرارات الخلية تؤدي الى حدوث التقدم بالعمر في الانسجة المتضررة (Rodier *et al*.,2007). وتقل كفاءة مسار جين P53 مع التقدم بالعمر بوصفها وظيفة من العمر الافتراضي للتقدم بالعمر. حيث ان مسار جين P53 يضمن دقة Fidelity الاحداث خلال الانقسام الخلوي والاستجابة للكرب الحاصل في الخلية والذي ينتج عنه طفرات وراثية واخطاء في الانقسام الخلوي (Levine ,1997). وتنتج خسارة بروتين P53 عدم ثبوتية المادة النووية (الجينوم) Genomic instability والمؤدي الى حدوث السرطان (Feng *et*

(*al*.,2007). بعد حدوث اضرار في المادة النووية DNA فان انزيم Ataxia Teleangectasia –Mutated Kinase (ATM Kinase) في الموقع (Ser15) للجينوم يعمل على الكشف عن الجينوم المنقطع (المتكسر) DNA breaks وبدوره فانه يرسل اشارة من خلال عملية الفسفرة الى جين P53 وMDM2 وهو يعد من المورثات الورمية Oncogen والذي يعمل على تقليل نشاط MDM2 وزيادة مستوى ونشاط جين P53 (Khorsravi *et al*.,1999 ; Bakkenist and Kastan,2003). ويؤدي تنشيط مسار جين P53 الى استجابة خلوية كاستنساخ سلسلة من الجينات والتي بدورها تؤدي الى حدوث الموت المبرمج للخلايا او توقف الدورة الخلوية Cell cycle arrest او قد يؤدي الى حدوث شيخوخة الخلايا(Levine,1997). ان عدم الكشف عن الاضرار التي تحدث في المادة النووية DNA خلال مرحلة التقدم بالعمر تحدث نتيجة انخفاض نشاط وفعالية انزيم ATM Kinase والذي ينتج عنه انخفاض في تحفيز جين P53 وبالتالي يقل مستواه، ولهذا فان انخفاض مستوى ATM Kinase في الفئران والانسان يؤدي الى التقدم بالعمر (شيخوخة مبكرة) (Hande *et al*., 2001). لهذا يعمل تقليل فعالية ونشاط جين P53 على تقصير الحياة من خلال تعزيزه للسرطان Promoting censer. بينت نتائج الدراسة الحالية انخفاض معنوي في التعبير الجيني لجين P53 في جرذان الشيخوخة المستحدثة والشيخوخة الطبيعة مقارنة مع مجموعة السيطرة. وجاءت هذه النتيجة مطابقة لما وجده Feng *et al*., (2008) الذي ذكر بان مستوى وفعالية جين P53 تقل مع التقدم بالعمر عند تقديره بنسيج الطحال في الفئران فضلا عن اختلافه بين الجنسين. اتفقت هذه النتيجة مع ما توصل اليه Chen *et al*., (2016) الذي لاحظ ان استحداث الشيخوخة بسكر الكالاكتوز ادى الى تقليل التعبير الجيني لجين P53 في الدماغ. اتفقت هذه النتيجة مع ما توصل اليه Zhu *et al*., (2014) الذي بين ان استحداث الشيخوخة في الجرذان البيض ادى الى تقليل التعبير الجيني لجين P53 في الدماغ .بينت نتائج الدراسة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة والشيخوخة الطبيعية بحامض الفا –ليبويك ادت الى زيادة وتحفيز التعبير الجيني لجين P53 في الطحال مقارنة مع مجموعة جرذان الشيخوخة المستحدثة بسكر الكالاكتوز والطبيعية غير المعاملة بحامض الفا– ليبويك. وقد يرجع سبب ذلك التأثير المضاد لحامض الفا– ليبويك لحدوث السرطان، حيث عند وجود الخلايا السرطانية فانه يعمل على تحفيز عملية موت الخلايا المبرمج في سرطان الانسان وبالتالي فانه يقلل من الخلايا

السرطانية (Van *et al*.,2003 ; Wenzel *et al*.,2005). P53 يلعب دوراً مهما في البدء بعملية موت الخلايا المبرمج من خلال حث تعبير البروتين –قبل الاستماتة Pro-apoptotic proteins والذي يؤدي الى تنظيم نشاط بروتينات الغشاء2–Bcl (Chipuk *et al*.,2004). وان بروتينات الغشاء2– Bcl تعد الهدف لجين P53 ,(Thornborrow and Manfred, 2001) او قد يعمل حامض الفا– ليبويك على تسريع فسفرة جين P53 في الخلية مؤديا الى تنشيط التعبير الجيني لجين P35 (Columbano *et al*.,2007). او قد يعمل حامض الفا– ليبويك على تحفيز انزيم ATM Kinase مؤديا الى تحفيز التعبير الجيني لجين P35، لهذا فان لحامض الفا– ليبويك قابلية كبح تطور ونمو الخلايا السرطانية لسرطان القولون في الانسان والحيوان من خلال تحفيزه لمسار انزيم ATM Kinase المؤدي الى تنشيط جين P53 Park *et al*.,2015) و Columbano *et al*., 2007) .اوضحت نتائج الدراسة الحالية بان معاملة جرذان الشيخوخة المستحدثة والشيخوخة الطبيعية بهرمون الميلاتونين سببت ارتفاع معنوي في التعبير الجيني لمورث P53 مقارنة مع جرذان الشيخوخة المستحدثة والطبيعية غير المعاملة بهرمون الميلاتونين. ان مستوى جين P53 في الخلايا الطبيعية يكون طبيعي (kubbutat *et al*.,1997). اما عند وجود او حدوث كرب مؤدي الى اضرار جينية فان مستوى المورث يتغير لان وجود اضرار المادة الوراثية تعمل على تحفيز المورث (Shieh *et al*.,1997)، مؤديا الى تحديد مصير الخلية من خلال توقف وقتي لنمو الخلية والذي يعكس بحدوث الشيخوخة ومن ثم موت مبرمج للخلية (Oren,2003). ان للميلاتونين دوراً مهماً في تحفيز وتنشيط جين P53 من خلال ادامته وتجمعه وايضا يعمل على احداث فسفرة المورث عند Ser 15 (Santoro *et al*.,2012). او ان للميلاتونين تأثيراً على منع حدوث تجمع اضرار المادة الوراثية لمعظم انواع الخلايا الطبيعية والخلايا المتحولة Transformed cell، فضلا عن تنشيط انزيم ATM Kinase والذي بدوره ينشط الجين (She *et al*.,2000). جاءت هذه النتيجة مطابقة مع ما ذكره(2012) ,.Santoro *et al* الذي لاحظ بان هرمون الميلاتونين يحفز جين P53 عند Ser 15 للخلايا الليفية الجينة في الفئران. بينت نتائج الدراسة الحالية بان معاملة جرذان المستحدثة الشيخوخة و الشيخوخة الطبيعية ب ل–كارنتين سببت ارتفاع معنوي في التعبير الجيني لجين P53 مقارنة مع مجموعة الشيخوخة المستحدثة والطبيعية غير المعاملة ب ل– كارنتين. وقد يعود السبب الى ان عمل ل–كارنتين ومشتقاته على منع تكوين ROS فضلا عن ازالته للجذور

الحرة وحماية الخلايا من الاجهاد المتسبب بوساطة البيروكسيد Peroxidative stress (Dokmeci *et al*.,2000; Sener *et al*.,2004). فعند تعرض الخلية الى محفزات خارجية مضرة External damage stimuli بالمادة النووية فانها تعمل على تفعيل التعبير الجيني للجينات ومنها جين P53 وهو البروتين القامع الذي يعمل على تنظيم معدل النسخ لجينات عدة تشترك في تنظيم الدورة الخلوية واصلاح الحامض النووي والموت المبرمج للخلايا (Wang *et al*.,2005;Tousson *et al*.,2011a). اما اذا لم يتم اصلاح الاضرار في المادة النووية فانه سوف يؤدي الى الموت المبرمج للخلايا (Tousson *et al*.,2011b). وجاءت هذه النتيجة مطابقة ل(2014) ,.Tousson *et al* الذي اكد بان التعبير الجيني لجين P53 يرتفع عند تقديره في نسيج الرئة بطريقة كيمياء الانسجة المناعية للجرذان المعاملة ب amethopterin الذي يعمل على حدوث اضرار في الرئة والمعاملة ب ل-كارنتين بجرعة 300 ملغم/كغم عن طريق الفم لمدة اربعة اسابيع .

الاستنتاجات Conclusions

تبين من نتائج هذه الدراسة الاستنتاجات الآتية:-

1- اثبتت نتائج الدراسة علاقة الاجهاد التاكسدي و الجذور الحرة بالتقدم بالعمر.

2- ان استحداث الشيخوخة بالمعاملة بسكر الكالاكتوز يحدث من خلال انتاج الجذور الحرة ROS وكذلك تكوين النواتج النهائية لعملية التسكر AGEs مع حدوث بيروكسدة الدهون فضلا عن الاضرار في بروتينات الخلية والتي انعكست بزيادة مستويات AOPP و TBARS في الدم وايضا تغيير في مستوى NO، NGB ، SOD. والتي تؤدي الى حدوث الاجهاد التأكسدي في الخلايا وبالتالي الى حدوث اضرار خلوية تؤدي الى فقدان وظيفة الخلايا والتي يمكن ان تكون سبب لحدوث علامات التقدم بالعمر.

3-ان التقدم بالعمر يؤدي الى حدوث عملية الالتهاب وذلك من خلال زيادة مستوى السايتوكينات الالتهابية المتمثلة ب TNF-α و IL-6 .

4-اثبتت الدراسة بان للتقدم بالعمر المستحدث والطبيعي تأثير على الذاكرة و القدرة على التعلم والادراك.

5- ارتباط عملية التقدم بالعمر مع التغييرات في التعبير الجيني لجين p53 في طحال جرذان مجموعتي الشيخوخة المستحدثة و الطبيعية .

6-اثبتت نتائج الدراسة بان المعاملة بكل من حامض الفا- ليبويك ، هرمون الميلاتونين ول-كارنتين ادت الى تحسن في المعايير الكيموحيوية و الفسلجية ودلائل الاجهاد التأكسدي وقللت من التغييرات النسجية للدماغ فضلا عن التحسن الواضح في قابلية التعلم والذاكرة والذكاء والتعبير الجيني لل p53 .

7- من خلال نتائج الدراسة ظهر لهرمون الميلاتونين التأثير الاكبر في التقليل من التغييرات المرافقة للتقدم بالعمر بوصفه مضاداً للأكسدة.

التوصيات Recommendations

من نتائج هذه الدراسة يوصى بالمقترحات الآتية:-

1-دراسة المؤشرات الحيوية الجزيئية الاخرى للشيخوخة والتغييرات المرتبطة بالتقدم بالعمر متمثلة بالتعبير الجيني لجين P21 وجين P16 في الطحال والدماغ.

2-دراسة المؤشرات الحيوية الجزيئية للشيخوخة والتغييرات التي تحدث على مستوى المتقدرات مع التعبير الجيني للجينات الخاصة بها.

3-دراسة التعبير الجيني لجين INK 4a/Arf والذي يعد من أهم الجينات التي لها علاقة بالتقدم بالعمر.

4-دراسة تعبير بروتين P35 في نسيج الدماغ من خلال استخدام الاصطباغ المناعيImmunoHisto Chimestry أو عن طريق استخدام تقنية الصبغات المتالقة.

5-دراسة بعض المظاهر الدالة على حدوث الموت المبرمج للخلايا من خلال تقدير انزيم الكاسبيز-3 .

6- دراسة تاثير تداخل مضادات الاكسدة مع بعضها للحد من التغييرات المرتبطة بالعمر.

المصادر الاجنبية

Ahangarpour ,A.; Najimi,S.A. and Farbood.Y.(2016).Effects of *Vitex agnus-castus* fruit on sex hormones and antioxidant indices in a D-galactose – induced aging female mouse model. Journal of the Chinese Medical Association .79 :589-596.

Ahmed , N. and Thornally, P.J. (2003). Quantitative screening of protein biomarkers of early glycation advanced glycation, oxidation and nitrosation in cellular and extracellular proteins by tandem mass spectrometry multiple reaction monitoring. Bio-Chem Soc.Trans., 31:1417-22.

Ahmed ,N.(2005).Advanced glycation end products-role in pathology of diabetic complications. Diabetes Res. Clin. Pract. 67(1):3-21.

Akbulut, k,G.; Gonul,B. and Akbulut,H.(2008).Exogenous melatonin decrease age- induced lipid peroxidation in the brain .Brain Res. 31(1238):31-5.

Al-Ali,M.S.A.H.(2018). Role of Alpha Lipoic acid on pituitary-Testicular Function and gene expression of glutathione reductase in H2O2 treated adult rats.PhD.Thesis .College Of Vet.Med.Uneversity Of Baghdad.

Al-Ameen,S.A.T.(2014).Biochemical study of autism spectrum disorder patients. Ph.D.Thesis.University of mousl.Collage of Science.

Ali ,T.;Badshah ,H.; kim ,TH. and Kim,MO.(2014). Melatonin attenuates D-galactose-induced memory impairment neuroinflammation and neurodegeneration via RAGE/NF-KB/JNK signaling pathway in aging mouse model .J Pineal Res .Jan;58(1):71-85.

Aliev,G.; Liu,J. ;Shenk,J.C.;Fischbach,K.;Pacheco,G.J. ;Chen, S.G. ; Obrenovich ,M.E.;Ward ,W.F.; Richardson, A.G.; Smith,M.A. ;Gasimov ,E.;Perry, G. and Ames,B.N.(2007). Neuronal mitochondrial amelioration by feeding acetyl-L-carnitine and lipoic acid to aged rats .J. cell Mol. Med .13(2):320-333.

Aliev,G.;Smith,M.A.;Obrenovich, M.E.;Torre,J.C. and Perry,G. (2003). Role of vascular hypoperfusion–induced oxidative stress and mitochondria failure in the pathogenesis of Alzheimer disease. Neurotox. Res .5:491-504.

Ansari, N.A. and Dash, D.(2013). Amadori glycated proteins: role in production of autoantibodies in diabetes mellitus and effect of inhibitors on non-enzymatic glycation. Aging Dis. 4, 50–56.

Ansari,M.A. and Scheff,S.W.(2010). Oxidative stress in the progression of Alzheimer disease in the frontal cortex.J.Neuropathol.Exp.Neurol. 69:155-167.

Argyriou, A. ;Prast,H. and Philippu,A.(1998**).** Melatonin facilities short-term memory. Eur. J. Pharmacol.349:159-162.

Arivazhagan, P.; Ramanathan ,K. and Panneerselvam, C.(2001). Effect of DL-alphalipoic acid on the status of lipid peroxidation and antioxidants in mitochondria of aged rats. *J Nutr Biochem*,12: 2–6.

Arivazhagan,P. and Panneerselvam,C.(2004).Alpha-lipoic acid increase Na+ K+ ATPase activity and reduces lipofuscin accumulation in discrete brain regions of aged rats. Ann. N .Y .Acad .1019:350-354.

Arivazhagan,P.; Ayusawa,D. and Panneerselvam,C.(2006).Protective efficacy of alpha-lipoic acid on acetylcholinesterase activity in aged rat brain regions. Rejuvenation Res .9:198-201.

Arnao,and Hernadez-Ruiz.(2006). The physiological functions of melatonin in plants .Plant Signal Behav. 1(3):89-95.

Aruoma,O.(1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in *human health and disease. J. Amer. Oil.ChemSoc.75(2):199-212.*

Ashok ,B.T. and Ali , R.(1999). The ageing paradox :free radical theory of ageing .Exp Gerontol 34: 293-303.

Ashour, F.A.; abdel-Razek, H.; Youssef, G.S.; Ewida,S.F. and Abdel,M.M.(2016). Effect of exercise and/or melatonin on spatial learning and memory of D-galactose – treated rats. Menoufia Medical Journal.29(4):944-953.

Atta,A.H.;Shalaby,M.A.M.;Shokry,I.M. and Ahmed,A.A. (1993). Interaction between oral hypoglycemic and antibiotics on blood glucose level of normal fasted and allaoxan-diebetic rats.Vet .Med. J.31(1):11-18.

Aubert, G. and Lansdorp, P. M. (2008). Telomeres and aging. Physiol fungi, plants and animals. Comp Biochem Physiol C Toxicol.88:557-679.

Awenius ,C.; Hankeln ,T. and Burmester,T.(2001). Neuroglobins from the zebrafish Danio rerio and the pufferfish Tetraodon nigroviridis. Biochem Biophys Res Commun ;287:418-421.

Baeta-Corral,R. ; Castro-Fuentes,R. and Gimenez- Llort , L . (2018) .Sexual dimorphism in the behavioral responses and the immunoendocrine status in D-galactose induced aging . The Journal of Gerontology Series A, Biological Sciences and Medical Sciences .73(9):1147-1157.

Bagchi,K. and Puri,S.(1998). Free radicals and antioxidants in health and disease. East Mediterranean Health Jr.4:350-60.

Bakkenist,C.J. and Kastan,M.B.(2003) .DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. Nature. 421:499-506.

Balaban,R.S.; Nemoto,S. and Finkel,T.(2005). Mitochondria, oxidants, and aging. Cell .120:483-495.

Balanos, J.P.; Almeida,A.; Stewart, V.; Peuchen,S.; Land, J.M.; Clark, J.B. and Heales, S.J. R.(1997).Nitric oxide-mediated mitochondrial ndamage in the brain :mechanisms and implications for neurodegeneration diseases. Neuro. Chem.68:2227-2240.

Baluchnejadmojarad, T. ; Roghani,M.; Kamran,M. and Karimi, N.(2012) . The effect of alpha-lipoic acid on learning and memory deficit in a rat model of temporal lobe epilepsy. basic and Clinical Neuroscience.3(3):58-66

Bancroft,J.D.(1975). Histological Techniqes .2 nd batter worth.London and Boston.

Banji , O.;Banji,D. and Ch ,K.(2014).Curcumm and hesperidin improve congnition by suppressing mitochondrial dysfunction and apoptosis induced by D-galactose in rat brain.Food Chem. Toxicol .74:51-9.

Baskol,G.;Korkmaz,S.; Erden,F.;Caniklioglu,A.;Kocyigit,M. and Aksu, M.(2012). Assessment of nitric oxide, advanced oxidation protein products ,malondialdehyde, and thiol levels in patients with restless leg syndrome.Sleep Med.13:414-418.

Baydas,G.; Nedzvetsky,V.S.; Nerush,P.A.; Kirichenko,S.V .; Demchenko , H.M. and Reiter,R.J.(2002).A novel role for melatonin:

regulation of the expression of cell adhesion molecules in the rat hippocampus and cortex .Neurosci .326:109-112.

Beattie,C.;Stellwagen,D. and Morishita,W.(2002). Control of synaptic strength by glial TNF α.Science .295(5563):2282-2285.

Beausejour,C.N.; Krtolica,A.; Galimi,F.; Narita,M.; Lowe,S.W.; Yaswen ,P. and Campisi,J.(2003). Reversal of human cellular senescence: roles of P53 and P16 pathways.EMBO. J.22(16):4212-4222.

Beckman , K.B. and Ames ,B.N.(1998). The free radical theory of aging matures. Physio. Rev. 78(2):547-581.

Bedini,A.;Fraternale,A.Crinelli,R.,Mari,M.; Bartolucci,S. ;Chiarantini, L .and Spadoni,G.(2019). Design synthesis , and biological activity of hydrogen peroxide responsive arylboronate Melatonin hybrids .Chem .Res. Toxicol. 32:100-112.

Been ,S.C. and Woolf,C.J.(2004). Adult neuron survival strategies–slamming on the brakes. Nat. Rev. Neurosci. 5: 686–700.

Berger,D.(2013).Detoxification and methylation. Family Resource. 15:189.

Berry, G.T., (1993). Classic galactosemia and clinical variant galactosemia. National library of medicine, National center for biotechnology information . University of Washington.

Beste,C.;Baune,B.T.; Falkenst ,M. and Konrad,C.(2010). Variation in the TNF- α gene (TNF- α – 308g—A) affect attention and action selection mechanisms in a disorder fashion. Journal of Neurophysiology .104(5) :2523-2531.

Bieber,L. (1988). L.Carnitine. Annu. Rev. Biochem.57:261-283.

Bierhaus,A.;Humpert ,P.; Morcos,M.; Wendt,T.; Chavakis,T. ;Arnold,B. ;Stern,D. and Nawroth ,P.(2005). Understanding RAGE , the receptor for advanced glycation end products. J. Mol .Med .83:876-886.

Biswas,S.; Shah,P. and Shukla, P.K.(2018). Methylation of DNA bases by methyl free radicals: mechanism of formation of C8-methylguanine .Structural Chemistry.1-8.

Bjelakovic , G. ; Stojanovic , I. ; Jevtovic-Stoimenov , T. ; Saranac , L j .; Bjelakovic , B . ;Pavlovic , D . ; Kocic ,G. and Bjelakovic , B.G.

(2011). Hypoglycemia as apathological result in medical praxis .Type 1 diadetes complications .chapter 5 :109-142.

Blaise,G.;Gauvin,D.;Gangal,M. and Autheir,S.(2005). Nitric oxide ,cell signaling and cell death. Toxicology .208(2):177-192.

Bodnar,,A.G.; Ouellette,M.; Frolkis,M. ; Holt,S.E.; Chiu,C.P. ; Morin,G.B.; Harley, C.B.;Shay,J.W.; Lichtsteiner,S. and Wright,W.E .(1998). Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells .Science .279:352

Bokov,A.;Chaudhuri,A. and Richardson,A.(2004). The role of oxidative damage and stress in aging. Mech. Ageing Dev. 125:811-826.

Bonavita,E.(1986). Study of the efficacy and tolerability of L-acetyl carnitine therapy in the senile brain .Int .J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.24:511-516.

Bonding ,S.H.; Henty, K.; Dingley,A.J. and Brittain ,T.(2008). The binding of cytochrome c to neuroglobin :a docking and surface plasmon resonance study .Int. J. Biol. Macromol.43:295-299.

Bonfoco, E.; Leist, M.; Zhivotovsky, B.; Orrenius, S.; Lipton ,S.A. and Nicotera,P.(1996). Cytoskelet al breakdown and apoptosis elicited by NO donors in cerebellar granule cells require NMDA receptor activation . J. Neuro. Chem .67:2484-2493.

Bonnefont- Rousselot ,D.(2014)."Obesity and oxidative stress: potential roles of melatonin as antioxidant and metabolic regulator " . Endocrine Metabolic , and Immune Disorders Drug Targets .14(3):159-168.

Boren, E. and Gershwin, M.E.(2004). Inflamm-aging autoimmunity , and the immune–risk phenotype .Autoimmunity reviews .3:401-406.

Bosca ,L. and Hortelaon ,S.(1999). Mechanisms of nitric oxide –dependent apoptosis: involvement of mitochondrial mediators. Cell Signal.11:239-244.

Brandeis.,R,; Brandys,Y. and Yehuda,S.(1989). The use of Morris water maze in the study of memory and learning. Int. J. Neurosci.48:29-69.

Brandsch ,C. and Eder ,K.(2002).Effect of L-carnitine on weight loss and body composition of rats fed hypocaloric diet .Annals of Nutrition and Metabolism .46:205-210.

Brittain, T.; Sk0mmer, J.; Raychaudhuri,S. and Birch,N.(2010).An anti-apoptotic Neuroprotective role for neuroglobin. Int. J. Mol Sci. 11:2306-2321.

Brown,G.C.(1999). Nitric oxide and mitochondrial respiration. Biochim. Biophys .Acta.1411:351-369.

Brown,R.K. and Kelly,F.J.(1996). Peroxidase and other products in free radicals a practical approach. Oxford University Press, Oxford :119-131.

Brunori,M. and Vallone,B.(2006). A globin for the brain. FASEB J. ,20:2192-2197.

Bruunsgaard,H.;Anderson-Ranberg,K.;Jeune,B.; Pedersen,A.N.; Skinhoj, P. and Pederson,B.K.(1999).A high plasma concentration of TNF-alfa is associated with dementia in contenarians.J.Gerontol Med.Sci.54A:M357-M364.

Brzezinski,A.(1997). Melatonin in humans. N.Engl.Med.,336:186-195.

Burton ,DGA. ;Matsubara , H. and Ikeda , k.(2010). Pathophysiology of vascular calcification : pivotal role of cellular senescence in vascular smooth muscle cells. Exp Gerontol ,45(11):819-824.

Bustin, S.A. (2002). Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. Trends and problems. J. Mol. Endocrinol. 29(1): 23–39.

Calabrese, V.; Cornelius, C.; Rizzarelli, E.; Owen, JB.; Dinkova-Kostova, A.T. and Butterfield, D.A. (2009). Nitric oxide in cell survival: a Janus molecule. Antioxid. Redox. Signal. 11:2717–39**.**

Campisi,J.(2005). Senescent cells tumor suppression, and organismal aging :good citizens, bad neighbors. Cell.120(4):513-522.

Campuzanp,O.;Castillo-Ruiz,M.;Acarin,L.;Castellano,B. and Gonzalez, B.(2009). Increased levels of proinflammatory cytokines in the aged rat brain attenuate injury- induced cytokine response after excitotoxic damage .J.Neurosci. Res.87:2484-2497.

Canbolat,E.P.; Sogsoz, N. ;Noyan,v.;Yucel, A. and Kisa,U.(2017).Effects of L- carnitine on oxidative stress parameters in oophorectomized rats. Alexandria J. Medi. Available .35(1).

Cardinali ,D.P.; Pagano,E.S.; Scacchi Bernasconi ,P.A. ;Reynoso , R . and Scacchi ,P.(2011).Disrupted chronobiology of sleep and cytoprotection in obesity :possible therapeutic value of metabolism .Neuro. Endocrinol .Lett .32:588-606.

Carswell,E.A.;Old,I.J.;Kassel R.L.; Green,S.Fiore,N. and Williamson, B.(1975). An endotoxin induced serum factor that cuases necrosis of tumors.Proceeding of the the National Academy of Sciences of the United States of America.72(9):3666-3670.

Castroviejo,D.;Escames,G.;Leon,J.;Carazo,A. and Khaldy,H.(2003). Mitochondrial regulation by melatonin and its metabolites. Developments in tryptophan and serotonin metabolism.Adv.Exp.Med.Biol.527:549-557.

Cakatay ,U.;Telic ,A.; Kayali, R.; Tekeli,F. ;Akcay ,T. and Sivas, A.(2003).Relation of aging with oxidative protein damage parameters in the rat skelet al muscle .Clin. Biochem .36:51-5.

Catania,A.;**Airaghi,L.;Motta,P.;Monfredi,M.G.; Annoni, G. ; Pettenati,C. ; Brambilla,F. and Lipton,J.M.(1997).**Cytokine antagonists in aged subjects and their relation with cellular immunity. J.Gerontol Med.Science .52:B93-B97.

Center ,S.A.; Harte, J. ; Watrous ,D.D.; Reynolds ,A. ;Watson ,T.D. ;Markwell, P.J. ;Millington ,D.S.; Wood ,P.A.; Yeager, A.E. and Erb ,H.N.(2000). The clinical and metabolic effects of rapid weight loss in obese pat cats and the influence of supplemental oral L-carnitine .J. Vet. Int. Med .14:598-608.

Center,S.A.; Reynolds ,A.P.; Harte, J.; Watson ,T; Markwell, P.J.; Erb ,H.N. ;Millington ,D.S.; Wood ,P.; Yeager, A.E. and Watrous ,D .(1997) . Clinical effects of rapid weight loss in obese pat cats with and without supplemental L-carnitine .ACVIM. Abstr. 118-58.

Ceraulo ,L.;Ferrugia ,M. ; Tesoriere, L. ; Segreto ,S. ;Livrea, M.A. and TurcoLiveri ,V.(1999).Interactions of melatonin with membrane models: portioning of melatonin in AOT and Lecithin micelles .J. Pineal Res . 26:108-112.

Cetinkaya,A.; Bulbuloglu,E.; Kantarceken, B.; Ciralik,H. ; Kurutas,E.B. ; Buyukbese ,M.A. and Gumusalan,Y.(2006).effects

of L-carnitine on oxidant/anti-oxidant status in acetic acid- induced colitis. Dig. Dis. Sci.51:488-94.

Chae ,C.H. ;Shin ,C.H. and Kim, H.T.(2008).The combination of alpha-lipoic acid supplementation and aerobic exercise inhibits lipid peroxidation in rat skelet al muscles .Nutr. Res .28(6):399-405.

Chandrasekaran ,A; Idelchik ,M and Melendez,J.A.(2017). Redox control of senescence and age –related disease. Redox Biol.11:91-102.

Chang ,L.; Liu,X.; Liu,J.;Li,H.; Yang ,Y.;Liu,J.;Guo,Z.;Xiao,K.;Zhang ,C.;Liu,J.;Zhao-Wilson,X. and Long,J.(2014).D-galactose induces a mitochondrial complex I deficiency in mouse skelet al muscle :potential benefits of nutrient combination in ameliorating muscle impairment. Journal of Medicinal Food.1-8.

Charles, R.L, Schröder, E., May, G., Free, P., Gaffney, PR. and Wait, R. (2007). Protein sulfenation as a redox sensor: proteomics studies using a novel biotinylated dimedone analogue. Mol Cell Proteomics, 6:1473-1484.

Chauhan,A. and Chauhan,V.(2006). Oxidative stress in autism. Pathophysiology .13:171-181.

Cheeseman,K.H. and Slater, T.F.(1993). An antioxidants in health and disease . Br. Med. Bull. 49:481-93.

Chen , b.; Zhong , y.; Peng , W. ; Sun ,Y. and Kong ,W.(2010a). Age-related changes in the central auditory system :comparison of D-galactose – induced aging rats and naturally aging rats. Brain Res ,1344:43-53.

Chen ,J.;Song ,M.;Yu,S.;Gao,P.;Yu,Y. ,Wang ,H. and Huang ,L. (2010b). Advanced glycation end products alter functions and promote apoptosis in endothelial progenitor cells through receptor for advanced glycation end products mediated overpression of cell oxidant stress . Mol. Cell Biochem .335:137-146.

Chen ,P. ;Chen ,F. and Zhou,B.(2018).Antioxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of ellagic acid in liver and brain of rats treated by D-galactose. Scientific Reports.8(1):1645.

Chen ,X.;Li,Y.;Chen,W.;Nong,Z.;Huang,J. and Chen ,C.(2016). Protective effect of hyperbaric oxygen on congnitive impairment induced by D-galactose in mice. Neurochemical Research .41(11):3032-3041.

Chen, B.;Zhong,Y.;Peng,W.;Sun,Y.;Hu,Y.and Yang,Y. (2011). Increased mitochondrial DNA damage and decreased base excision repair in the auditory cortex of D-galactose-induced aging rats. Mol. Biol. Rep. 38, 3635–3642.

Chen,C.;Huang,L.;Nong,Z.;Li,Y.;Chen,W.;Huang,J.; Pan,X.;Wu,G. and Lin,Y.(2017). Hyperbaric oxygen prevents cognitive impairments in mice induced by D-galactose by improving cholinergic and anti-apoptotic functions. Neurochemical Research.42:1240-1253.

Chen, C.T. ; Green , S.K. and Bazient ,R.P.(2008). Regulation of brain polyunsaturated fatty acid uptake and turnover .Prostagl Leukot .Essent .Fat Acids ,79:85-91.

Chen,Q.M.; Bartholomew, J.C.; Campisi,J.;Acosta,M.;Reagan,J.D. and Ames,B.N.(1998). Molecular analysis of H_2O_2- induced senescent-like growth arrest in normal human fibroblasts:P53 and Rb control G1 arrest but not cell replication .Biochem. J.332(1):43-50.

Chiechio,S.;Copani, A. ;Nicoletti,F. and Gereau,R.W.T.(2006).L-acetyl carnitine: a proposed therapeutic agent for painful peripheral neuropathies. Curr. Neuropharmacol.4:233-237.

Childs,B.G.;Durik,M.;Baker,D.J.and VanDeursen,J.M.(2015). Cellular senescence in aging and age-related disease:from mechanisms to therapy .Nat.Med.21(12):1424-1435.

China Articles.(2011). Neuroglobin protect the mechanism of nerve cell profiles,Chinese Version,8.Medicine articles.Clinical medicine Articles.

Chipuk,J.K.;Kuwana,T.; Bouchier-Hayes,L.; Drion,N.M.; Newmeyer ,D.D. and Green, D.R.(2004). Direct activation of Bax by P53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis .Science .303:1010-1014.

Cho,K.A.;Ryu,S.T.; Oh,Y.S.; Park,J.H.; Lee,J.W.; Kim,H.P.; Kim,K.T.; Jang,I.S. and Park,S.C.(2004). Morphological adjustment of senescent cells by modulating caveolin-1 status .J.Biol.Chem.279(40):42270-42278.

Cipolla-Neto ,J.; Amaral ,F.G. ; Afeche ,S.C.;Tan ,D .X. and Reiter , R.J . (2014) ."Melatonin ,energy metabolism , and obesity :a review". Journal of Pineal Research .56(4):371-381.

Clancy ,D. and Birdsall , J . Files (2013). Worms and the free radical theory of ageing .Ageing Research Reviews 12(1):404-12.

Clark,I.A**.(2007).**How TNF was recognized as a key mechanism of diseas.Cytokine and Growth Factor Reviews.18(3-4):335-343.

Coelho, A.I.; Berry, G.T. and Rubio-Gozalbo, M.E. (2015). Galactose metabolism and health. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care 18, 422–427.

Cohen,H.J.**;Pieper,C.F.;Harris,T.;Rao,K.K. and Currie,M.S.(1997).**The association of plasma IL-6 levels with functional disability in community dwelling elderly .J. Gerontol Med.Sci.52:M120-M208.

Colavitti,R. and Finkel,T.(2005). Reactive oxygen species as mediators of cellular senescence.IUBMB Life.57(4/5):277-281.

Columbano,G.;Deidda,G. and Pibiri,A.(2007). Increased ROS generation and P53 activation in α- lipoic acid-induced apoptosis of hepatoma cells. Apoptosis. 12:113-123.

Conner,E.M. and Grisham,M.B.(1996). Inflammation,free radicals and antioxidants. Nutrition .12:274-77.

Constantino,M.; Guaraldi,C.; Constantino,D.; De Grazia,S. and Unfer,V.(2014). Peripheral neuropathy in obstetrics: Efficacy and safety of α-lipoic acid supplementation .Eur. Rew. Med. Pharmacol. Sci.18:2766-2771.

Coombes ,J.S. ;Powers ,S.K. ; Rowell,B. ;Hamilton ,K. L. ; Dodd ,S.L.; Shanely ,R.A.; Sen ,C. K. and Packer ,L. (2001). Effects of vitamin E and alpha-lipoic acid on skelet al muscle contractile properties . J. App. Physiol. 90(4):1424-30.

Cornelius, E.(1972). Increased incidence of lymphomas in thymectomized mice-evidence for an immunological theory of aging .Experientia ,28:459.

Cuesta,S.;Kireev,R.;Garcia,C.;Forman,K.Escames,G.and Vara, E . (2011) . Beneficial effect of melatonin treatment on inflammation,

apoptosis and oxidative stress on pancreas of a senescence accelerated mice model.Mech. Ageing Dev.132:573-82.

Cui,X.; Zuo ,P.; Zhang, Q.; Li, X.; Hu, Y.; Long, J.; Packer,L. and Liu,J.(2006). Chronic systemic D- galactose exposure induces memory loss ,neurodegeneration, and oxidative damage in mice: Protective effects of R-α-lipoic acid. Journal of Neuroscience Research .84:647-654.

Cummings ,B.P.; Stanhope ,K.L. ; Graham ,J.L. ; Evans ,J.L. ; Baskin ,D.G. ; Griffen , S.C. and Havel ,P.J.(2010). Dietary fructose accelerates the developments of diabetes in UCD-T2DM rats :amelioration by the antioxidant, alpha-lipoic acid. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol ;60 :1463-1470.

Cura, A.J. and Carruthers, A., (2012). Role of monosaccharide transport proteins in carbohydrate assimilation, distribution, metabolism, and homeostasis. Compr. Physiol. 2:863–914.

Cuzzocrea,S.;Zingarelli ,B,;Gilad,E.;Itake , P.;Salzman ,A.L. and Szabo,C.(1997). Protectivev effect of melatonin in carrageenan-induced models of local inflammation : relationship to its inhibitory effect on nitric oxide production and its peroxynitrite scavenging activity .J. Pineal Res. 23:106-116.

d'Adda di Fagagna,F.(2008). Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage respose.Nat.Rev. Cancer.8(7):512-522.

D,Hooge,R. and DeDeyn,P.P.(2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory .Brain Res.Brain Res.Rev.36:60-90.

Dalle- Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R. and Milzant, A. (2003). Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol. Med.*, 9:169–176.

Dammann, P., Sell, D.R., Begall, S., Strauch, C. and Monnier, V.M. (2012). Advanced glycation end-products as markers of aging and longevity in the long-lived Ansell's mole-rat (Fukomys anselli). *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 67:573– 583.

De La, FM. (2002). Effects of antioxidants on immune system ageing. *Eur J Clin Nutr.*, 56:S5–S8.

Demir, S., Yilmaz, M., Koseoglu, M., Akalin, N., Aslan, D., and Aydin , A. (2003). Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. Turkish Journal of Gastroenterology. 14(1): 39-43.

Di Micco,R.; Fumagalli,M.; Cicalese,A.;Piccinin,S.; Gaspairin,P.; Luise,C.; Schurra,C.; Garre,M.;Nuciforo,P.G.; Bensimon,A.; Maestro,R.;Pelicci,P.G. and D Adda ,D.I.(2006). Oncogene- induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication. Nature 444:638-642.

Dimir,G.P.(2005). What has senescence got to do with cancer? Cancer Cell .7:505-512.

Dizdaroglu,M.(2012). Oxidatively induced DNA damage:mechanisms, repair and disease.Cancer Lett.327:26-47.

Dokmeci, D.; Akpolat, M.; Aydogdu, N.;Doganay L. and Turan, F.N.(2000). L-carnitine inhibits ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. Pharmacol. Rep.57:481–8.

Donehower,L.A.; Harvey,M.;Slagle,B.L.;McArthur,M.J.; Montgomery, C.A.; Butel,J.S. and Bradley.A.(1992). Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. Nature.356:215-221.

Droge,W.(2002). Free radicals in the physiological control of cell function.Physiol.Rev.82(1):47-95.

Dronca,M. and Pasca,S.P.(2010). Paraoxnase 1status, environmental exposure and oxidative stress in autism spectrum disorders.In :Chauhan et al.,Autism: Oxidative stress, inflammation and immune abnormalities. Tayor and Francis group ,USA:91-104.

Drury,R.A.B.;Wailgtion,E.A. and Cameron,S.R.(1985). Carleton's histological technique .4 th ed .Oxford university press.New york.

Du, G. ;Mouithys-Mickalad,A. and Sluse,F.E.(1998). Generation of superoxide anion by mitochondria of their functions during anoxia and reoxygenation in vitro . Free Radic. Biol. Med.25:1066-1074.

Dugan ,L.L.; Sensi,S.L.; Canzoniero,L.M.; Handran,S.D.; Rothman, S.M.;Lin,T.S. ; Goldberg, D.W. and Choi,D.W.(1995). Mitochondrial production of reactive oxygen species in cortical

neurons following exposure to N-methyl-D-aspartate. J. Neuro. Sci.15:9377-6388.

Duong ,T.T.; Witting ,P.K.; Antao, S.T.;Perry,S.N.; Kennerson,M.;Lai,B.;Vogt,S.;Lay,P.A. and Harris, H.H. (2009). Multiple protective activities of neuroglobin in cultured neuronal cells exposed to hypoxia re-oxygenation injury .J .Neurochem .108:1143-1154.

Dural,M.; Loof,N.E.; Ketting,D. and Dorland, L.(1990). Secratory carnitine deficiency .J.Clin.Chem.Biochem.28:359-363.

Ebadi,M.(2001). Antioxidants and free radicals in health and disease: An introduction to reactive oxygen species, oxidative injury, neuronal cell death and therapy in neurodegeneration disease. Arizona.

Eichenbaum,H. and Cohen, N.(1993). Memory, amnesia, and the hippocampal system .Cambridge .MA.US.

Elias,R.J.;Kellerby,S.S. and Decker,E.A.(2008). Antioxidant activity of proteins and peptides. Critical Review in food science and mutation .48(5):430-441.

EL-Missiry,M.O.(2012). Antioxidant enzyme. In Tech. Janeza.Trdine. Rijeka. Croatia. 1st ed pp4-19.

EL-Sherif,Y,; Tesoriero,J.; Hogan,M.V, and Wieraszko,A. (2003) .Melatonin regulates neuronal plasticity in the hippocampus. J. Neurosci.72:454-460.

Emmez,H.; yildirim,Z.; kale,A.;Tonge,M.;durdage,E.;Borcek,A.O.; Ucankus ,L .N.;Dogulu ,F.;Kilic,N. and Baykaner,M.K.(2010). Anti-apoptotic and Neuroprotective effects of alpha-lipoic acid on spinal cord ischemia-reperfusion injury in rabbits. Acta. Neurochir .152:1591-1601.

Erbas ,M. and Sekerci ,H.(2011). Importance of free radicals and occurring during food processing . Serbest Radikallerin Onemi Ve Gide Isleme Sirasinda ,36(6):394-56.

Ersahin,M.;Toklu,H.Z.;Cetinel;S.;Yuksel,M.;Erzik,C.;Berk-man,M.Z.; Yegen,B.C. and Sener,G. (2010). Alpha-lipoic acid alleviates oxidative stress and preserves blood brain permeability in rats with subarachnoid hemorrhage. Neurochemical Research.35(3):418-428.

Ershler,W.B.(2003). Biological interactions of aging and anemia: a focus on cytokines. J.Am.Geriatr.Soc.51(3):S18-S21.

Ershler,W.B. and Keller,E.T.(2000). Age-associated increased interlukin-6 gene expression, Late-life diseases, and fraily. Ann Rev.Med. 51:245-270.

Erta,M.; Quintana ,A. and Hidalgo,J.(2012). Interleukin-6 ,a major cytokine in the central nervous system. Int. J .Biol. Sci .8(9):1254-1266.

Eskiocak, S. ;Tutunculer, F. ; Basaran,U.N.; Taskiran, A and Cakir,E. (2007). The effect of melatonin on protein oxidation and nitric oxide in the brain tissue of hypoxic neonatal rats. Brain and Development .29 :19-24.

Fago,A.; Mathews, A.J. and Brittain ,T.(2008).A role for neuroglobin : resetting the trigger level for apoptosis in neuronal and retinal cells.IUBMB Life .60:398-401.

Fago, A.; Mathews, A.J.; Moens ,L.;Dewilde,S. and Brittain,T.(2006). The reaction of neuroglobin with potential redox protein partners cytochrome b5 and cytochrome c .FEBS Lett .580:4884-4888.

Faipoon,H.;Calabrese,V.;Calvani, M. and Butterfield,D.A.(2006). Proteomics analysis of specific protein oxidation and protein expression in aged rat brain and its modulation by L-Acetylcarnitine: Insights into the mechanisms of action of this proposed therapeutic agent for CNS disorders associated with oxidative stress.Antioxidants and Rodex Signaling.8(3): 4.

Faltraco,F.; Burger.K. and Zill,P.(2003).intetlekin-6-174G/C promoter gene polymorphism C allele reduce Alzheimer's disease risk.J. Am. Geriatr Spc.35:537-544.

Farr, S.A.; Price ,T.O.; Banks ,W.A.; Ercal, N. and Morley ,J.E .(2012). Effect of alpha-lipoic acid on memory , oxidation , and lifespan in SAMP8 mice. Journal of Alzheimer's Disease .32:447-455.

Farr ,S.A. ;Poon ,H.F. ;Dogrukol -AK,D. ; Drake , J. ; Banks ,W.A. ; Eyerman ,E. ; Butterifield , D. A. ;Morley , J.E.(2003). The antioxidants alpha-lipoic acid and N- acetyl cysteine reverse memory impairment and brain oxidative stress in aged SAMP8 mice .J . Neurochem ,48:1173-1183.

Fatemi ,I .; Khaluoi ,A.;Kaeidi ,A.; Shamsizadeh ,A.;Heydari ,S.and Allahtavakoli, M.(2017). Protective effect of metformin on D-galactose –induced aging model in mice .Iranian Journal of Basic Medical Sciences .21:19-25.

Fei,P. and El-Deiry, W.S. (2003). P53 and radiation response. Oncogene.22:5774-83.

Feng,Z.; Hu,W.; Rajagopal,G. and Levine,A.(2008). The tumor suppressor P53.Cell Cycle.7(7):842-847.

Feng,Z.; Hu,W.; Teresky,A.K.; Hernando,E.; Cordon-Cardo,C.and Levine ,A.(2007). Declining P53 function in the aging process: A possible mechanism for the increased tumor incidence in older population.PNAS. 16(104):16633-16638.

Ferre-Sueta , G. and Radi, R.(2009). Chemical biology of peroxynitrite :Kinetics, diffusion , and radicals . ACS Chem Biol. ; 4(3):161-77.

Finkel ,T.and Holbrook,N.(2000). Oxidative stress and the biology of ageing. Nature.408:239-247.

Firuzi,O.;Miri,R.; Tavskkoli,M. andSaso,L.(2011). Antioxidant therapy :Current status and future prospects.Curr. Med. Chem.18:3871-3888.

Flatt,T.(2012).A new definition of aging? Front. Genet.3:148.

Freeman,B.A. and Crapo,J.D.(1982). Biology of disease:Free radicals and tissue injury.Lab Invest.47:412-26.

Fritz,I.B. and Arrigoni-Martelli,E.(1993). Sites of action of carnitine and its derivatives on the cardiovascular system: interactions with membranes .Trends Pharmacol. Sci .14:355-60.

Garcia-Martinez,B.; Rosado-Perez,J.;Ruiz-Ramos,M. and Mendoza-Nunez,V.M.(2017).183- Effect of alpha-lipoic acid on oxidative stress and chronic inflammation markers in diabetic older adults .Free Radical Biology and Medicine.112:130.

Gardner, J.M. and Aust, S.D. (2009). Quantification of hydroxyl radical produced during phacomalsification.Gender Aust.J.cataract. Refract. Surg.35(12):2149-53.

Garry,D.J. and Mammen,P.P.(2003). Neuroprotection and the role of neuroglobin.Lancet.362:342-343.

Ghanbari, S. ;Yonessi, M.;Mohammadirad, A.; Gholami,M.;Baeeri ,M.;Khorram-Khorshid, H.;Gharibdoost,F. and Abdollahi, M.

(2012). Effects of IMOD^{TM} and Angipars^{TM} on mouse D-galactose – induced model of aging.Ghanbari DARU Journal of Pharmaceutical Sciences 20:68.

Ghelani, H. ;Razmovski- Naumovski, V. and Nammi,S.(2017). Chronic treatment of (R)-α-lipoic acid reduces blood glucose and lipid levels in high-fat diet and low–dose streptozotocin– induced metabolic syndrome and type 2 diabetes in Sprague-Dawley rats. Pharmacol .Res .Perspect .5(3):e00306.

Ghelani,H.;Razmovski-Naumovski,V.;Pragada,R.R. and Nammi,S. (2018). (R)-α-lipoic acid inhibits fructose-induced myoglobin fructation and the formation of advanced glycation end products(AGEs)in vitro.BMC Complementary and Alternative Medicine.18:13.

Gilca, M.; Stonia,I.; Atanasiu, V. and Virgolici,B.(2007).The oxidative hypothesis of senescence.J. Postgrad .Med .53:207-213.

Gill,R.;Tsung,A. and Billiar,T.(2010). Linking oxidative stress to inflammation :Toll-like receptors.Free Radic.Biol. Med.48:1121-1132.

Gladwell , M. (1996). The new age of man .New Yorker .

Glowinski,K. and Iverson,L.L.(1996). Regional studies of catecholamines in the rat brain.The disposition of {^{3}H} dopamine and {3H}DOPA in various regions of rat brain.J.Neurochem.13:655-699.

Godbout,J.P.;Chen,J.;Abraham,J.;Richwine,A.F.;Berg,B.M.;Kelley,K. W. and Johnson,R.W.(2005). Exaggerated neuroinflammation and sickness behavior in aged mice following activation of the peripheral innate immune system.FASEB.J.19:1329-1331.

Golubev, A.; Hanson, A.D.and Gladyshev, V.N.(2017). Non-enzymatic molecular damage as a prototypic driver of aging. J. Biol. Chem. 292, 6029–6038.

Gonzalez-Arto ,M. ; Hamilton ,T.R. ; Gallego ,M. ;Caspar-Torrubia ,E. ; Aquilar, D.; Serrano-Blesa,E. ; Abecia , J.A. ; Perez-Pe , R. ; Muino -Blanco ,T. ; Cerbrain – Perez ,J.A. and Casao, A . (2016) . Evidence of melatonin synthesis in the ram reproductive tract. Andrology ,4(1):163-171.

Goraca,A.; Huk-Kolega ,H.; Piechota, A.;Kleniewsk,P.;Ciejke ,E. and Skibska,B.(2011). Lipoic acid-Biological activity and therapeutic potential .Pharmacol .Res.63(4):849-58.

Goraca,A.and Aslanowicz-Antkowiak,K.(2009). Prophylaxis with α-lipoic acid against lipopolysaccharide- induced brain injury in rats. Arch. Immunol .Ther.57:141-146.

Gotting ,M. and Nikinmaa , M.(2015). More than hemoglobin – the unexpected diversity of globin's in vertebrate red blood cells. Physiological Reports . ;3 (2),e12284.

Goudoever , J.B. ; Vlaadingerbroek , H. ; Van den Akker , C.H. ; Groof , F.D. ; Van der Schoor , S.R. (2014). Amino acids and proteins. National Care of Preterm Infants: Scientific Basis and Practical Guidelines . Word Rev Nutr. Diet .Basel ,Karger 110 :94-63.

Griffin, S.(1998). Neuroimmunomodulation symposium .Am .Assoc. Immunol. Meet. San Francisco.

Gu,Y.;Dee,C.M. and Shen,J.(2011). Interaction of free radicals, matrix met al-loproteinases and caveolin-1 impacts blood brain barrier permeability.Front Biosci (Schol Ed).3:1216-1231.

Gulewtisch,W. and Krimberg,R.(1905). Zur kenntnis der extrkions stofe der muskelin.2, mitteilung uber das carnitin.Hoppe Seylers. Physiol. Chem.45:326-330.(Cited by Kobayashi *et al*.,2010.)

Guo,X.;Huali,Y.;Zhao,Y.Zhizhai,Y. and Zhang,L.(2017). Antiaging effects of melatonin on the myocardial mitochondria of rats and associated mechanisms. Molecular Medicine Reports .15:403-410

Gutman,J.(2008). Psyconeurobiology and glutathione.In:Schettini S. (ed). GSH your body's most powerful protector glutathione .Chapter 20 .G and S Health Books Inc., Montreal .191-93.

Habib,S. and Ali,A.(2011). Biochemistry of nitric oxide .Indian Journal of Clincal Biochemistry .26(1):3-17.

Haddad,J.J.;Saade,N.E. and Safieh-Garabedian,B.(2002).Cytokines and neuro-immune-endocrine interactions: a role for the hypothalamic-pituitary –adrenal revolving axis.J.Neuroimmunol 133:1-19.

Hadzi-Petrushev ,N.;Stojkovski,V.;Mitrov,D. and Mladenov,M.(2015). D-galactose induced changes in enzymatic antioxidant status in rats of different ages .Physiol. Res. 64:61-70.

Hampel,H.; Burger, K.;Teipel, S.J.; Bokde,A.L.; Zetterberg, H. and Blennow, K.(2008). Core candidate neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. Alzheimer's and Dementia. 4(1):38-48.

Hanasand,M.; Omdal,R.; Norheim,K.B.; Goransson,L.G.; Brede,C. and Jonsson,G.(2012). Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma.Clin.Chem.Acta.413:901-906.

Hande,M.P.; Balajee,A.S.; Tchirkov,A.;Wynshaw Boris ,A. and Lansdorp, P.M .(2001). Extra-chromosomal telomeric DNA in cells from Atm (-/-) mice and proteins with ataxia –telangiectasia. Hum. Mol. Genet. 10:519-28.

Hardeland , R ; Cardinali , D. P. ; Srinivasan , V. ;Spence , D.W. ; Brown ,G. M. and Pandi-Perumal ,S.R. (2011). Melatonin, a pleiotropic orchestrating regulator molecule. Prog. Neurobiol. 93:350-384.

Hardeland,R.(2013).Melatonin and the theories of aging :a critical appraisal of melatonin's role in anti-aging mechanisms. Pineal. Res.55:325-56.

Harderland ,R. and Poeggeler , B. (2003). Non- vertebrate melatonin . J. Pinal. Res. 34:233-241.

Harley,C.B.;Futcher,A.B.and Greider,C.W.(1990). Tolemeres shorten during ageing of human fibroblasts.Nature.345:458-460.

Harman D. (1956). Aging :a theory based on free radical and radiation chemistry .J Gerontol. 2:298-300.(Cited by Bas,2018).

Hawkins, R.D.(1996). NO honey , I don't remember . Neuron 16 :465-467.

Hayflick, L. and Moorhead , P.S. (1961). The serial cultivation of human diploid cell strains.Exp. Cell . Res. 25 :585-621.(cited by pole et al.,2016).

Haynes,R.L.; Folkerth,R.D.;Trachtenberg,F.L.; Volpe, J.J. and Kinney, H.C.(2009). Nitrosative stress and inducible nitric oxide synthase expression in perventricular leukemalacia.Acta. Neuropathol. 118:391-9.

Hazza,S.M. and El-Akabawy,G.(2016). Neuroprotective effect of melatonin in the hippocampus of rats brain in normal aging model. Med. J. Cairo. Univ.84(1):97-106.

Heales,S.,J.R. ; Bolanos ,J.P.; Stewart,V.C.; Brookes,P.S.;Land, J.M. and Clark ,J.B.(1999). Nitric oxide , mitochondria and neurological disease. Biochem .Biophys .Acta ,215-228.

Heidari,S.; Mehri,S. and Hosseinzadeh,H.(2017). Memory enhancement and protective effects of crocin against D-galactose aging model in the hippocampus of wistar rats. Iranian Journal of Basic Medical Science .20:1250-1259.

Hekimi ,S.; Lapoint ,J. and Wen ,Y. (2011). Taking a "good" look at free radicals in the ageing process. Trends Cell Biol 21(10):569-576.

Held, JM. and Gibson, BW. (2012). Regulatory control or oxidative damage? Proteomic approaches to interrogate the role of cysteine oxidation status in biological processes. Mol Cell Proteomics, 11: R111.013037

Herold,S.;Fago,A.;Weber,R.E.;Dewilde,S.and Moens,L. (2004). Reactivity studies of the Fe(III)and Fe(II)NO forms of human neuroglobin reveal a potential role against oxidative stress.J.Biol.Chem.279:22841-7.

Hirsch,E.C.and Hunot,S.(2000). Nitric oxide ,glial cells and neuronal degeneration in parkinsonism.Trends Pharmacol.Sci.21:163-165.

Hollister L. and Gruber,N.(1996). Drug treatment of Alzheimer's disease .Effects on caregiver burden and patient quality of life .Drug Aging .8:47-55.

Holloway,A.F.;Rao,S. and Shannon,M.F.(2002). Regulation of cytokine gene transcription in the immune system .Mol.Immunol.38:567-580.

Holscher, C.(1997). Nitric oxide, the enigmatic neuronal messenger: its role in synaptic plasticity . Trends. Neuro. Sci .20:298-303.

Honma,T.;Tasuduki,T.;Sugawara,S.;Kitano,Y.;Ito,J.;Kijima,R.;Tsubata, M.;Nakagawa,K.and Miyazawa ,T.(2013). Aging decreases antioxidant effects and increases lipid peroxidation in the apolipoprotein E deficient mouse .J .Biochem .Nutr. 52(3):234-240.

Hritcu ,L.; Bagci, E. and Mihasan,M.(2015). Antiamnesic antioxidants effects of Ferulago angulata ,Essential oil against Scopolamine-induced memory impairment in laboratory rats. Neurochem. Res. 40(9):1799-809.

Hsieh, H.M.; Wu, W.M.and Hu, M.L.(2009). Soy isoflavones attenuate oxidative stress and improve parameters related to aging and Alzheimer's disease in C57BL/6J mice treated with D-galactose. Food Chem. Toxicol. 47, 625–632.

Hua,X.;Deng,R.; Zhang,Z.; Su,Z.;De-Quan,L. and Pflugfelder,S.C. (2014). L- carnitine suppresses the production of pro-inflammatory cytokines by preventing the hyperosomolarity –induced oxidative stress in human corneal epithelial cells.IOVS.55:3058.

Huang,C.;Ma,W.Y.;Li,J.;Hecht,S.S. and Dong,Z.(1998). Essential role of P53 in phenethyl isothiocyanate – induced apoptosis. Cancer Res. 58:4102-6.

Hulbert,A.J.; Pampolona,R.;Buffenstein, R. and Buttemer,W.A. (2007). Life and death: metabolic rate, membrane composition ,and life span of animals.Phsiol.Rev.87:1175-1213.

Hundahl , C.A.; Allen ,G.C. ; Nyengaard, J.R. ; Dewilde , S. ; Carter , B.D. ; Kelsen , J. and Hay-Schmidt , A.(2008). Neuroglobin in the rat brain : Localization. Neuroendocrinology ;88:173-82.

Inman, D.M.; Lamber ,W.S. ; Calkines ,D.j. and Homer, P.J. (2013). Alpha-lipoic acid antioxidant treatment limits glaucoma-related retinal ganglion cell death and dysfunction. PLoS One 8, e65389.

Irwin,M. and Pinkert,C.(2010).D- galactose effectiveness in modeling aging and therapeutic antioxidant treatment in mice. Rejuvenation Research .13(6).

Ishibashi ,Y.; Matsui , T.; Takeuchi, M. and Yamagishi ,S.(2012). Beneficial effects of metformin and irbesartan on advanced glycation end products (AGEs)-RAGE-induced proximal tubular cell injury .Pharmacol. Res .,65:297-302.

Islam ,M.T.(2009). Antioxidant activities of dithiol alpha-lipoic acid.Bangladash.J . Med .Sci ,8:1-5.

Ismail, I.A. ; El-Bakry,H.A. and Soliman ,S.S.(2018). Melatonin and turmeric ameliorate aging –induced changes: implication of immunoglobulins ,cytokines, DJ-1/NRF2 and apoptosis regulation.Int. J. physiol. Pathophysiol. Pharmacol .10(2):70-82.

Issa,A.M.; Rowe,W.; Gauthier,S. and Meaney ,M.J. (1990). Hypothalamic – pituitary –adrenal activity in aged ,cognitively impaired and cognitively unimpaired rats .J. Neurosci .10(10):3247-3254.

Itahana,K.; Campisi,J.; and Dimri,G.P.(2004). Mechanism of cellular senescence in human and mouse cells.Biogerontology.5:1-10.

Iwao ,Y.;Anraku ,M.;Hiraike, M.; Kawai,K.; Nakajou, K. ;Kai,T.; Suenaga ,A . and Otagiri, M.(2006). The structural and pharmacokinetic properties of oxidized human serum albumin ,advanced oxidation protein products (AOPP). Drug Metab .Pharmacokinet. 21:140-146.

Izgut-Uysal,V.N.;Agae,A. and Derin,N.(2001). Effect of carnitine on stress- induced lipid peroxidation in rat gastric mucosa.J. Gastroenterol.36:231-236.

Jacob,C.and Belleville,F.(1992). L-carntine : metabolism, functions and value in pathology. Pathol. Biol.(Paris).40:910-919.

Jacob,K.D.;Hooten,N.N.and Trzeciak,A.R.(2013). Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age –related disease. Mech . Aging Dev.134:139-592.

Jahovic, N.; Cevik,H.; Sehirli,A.O.; Yegen,B.C. and Sener,G .(2003). Melatonin prevents methotrexate- induced hepatorenal oxidative injury in rats.J.Pineal Res.34:282-287.

Jayachandran,M.; Jayanthi,B.;Sundaravadival,B. and Panneerselvam ,C.(1996). Status of lipids,lipid peroxidation and antioxidant systems with vitamin C supplementation during aging in rats.J.Nutr. Biochem.7:272-275.

Jenwitheesuk ,A.; Boontem ,P.;wongchitrat, P.;Tocharus,J.;Mukda, S.and Govitrapong, P.(2017). melatonin regulates the aging mouse hippocampal homeostasis via the SIRTUIN-FOXO1 pathway.EXCLI journal 16:340-353-ISSN 1611-2156.

Jeremy,M.;Gurusubramanian,G. and Roy, V.K. (2017). Localization pattern of visfatin (NAMPT) in D-galactose induced aged rat testis.Annals of anatomy =Anatomischer Anzeiger:Officical organ of the Anatomische Gesellschaft.211:46:54.

Jesko ,H.; Chalimoniuk,M. and Strosznajder,J.B.(2003). Activation of constitutive nitric oxide synthase (s) and absence of inducible isoform in aged rat brain. Neurochemistry International .42(4):315-322.

Jeyapalan, JC. and Sedivy, JM. (2008). Cellular senescence and organismal aging. *Mech Ageing Dev*., 129: 467-474.

Jimenez-Aranda,A. ;Fernandez –Vazquez ,G. and Campos ,D. (2013) . " Melatonin induces browning of inguinal white adipose tissue in Zucker diabetic fatty rats" Journal of Pineal Research .55(4):416-423.

Jin, K. (2010). Modern biological theories of aging. Aging and Disease.,1(2):72-74.

Johanson,F. and Giulivi,C.(2005). Superoxide dismutase and their impact upon human health.Mol. Aspects Med.26:340-52.

Johanson ,l.C. ; De Van ,A.E. ; Justice , J.N. and Seals ,D.R. (2017). Nitrate and Nitrite in Aging and Age –Related Disease .N.S. Bryan .J. Loscalzo (eds),Nitrite and Nitrate in Human Health and disease, Nutrition and health. DOI 10 :1007:319-461.

Jones,L.L. ;McDonald,D.A. and Borum,P.R.(2010). Acyl carnitines: role in brain. Prog Lipid Res .49:61-75.

Joseph,J.A.; Shukitt-Hale,B.; Denisova,N.A.; Bielinski,D.; Martin,A.; MeEwen ,J.J. and Biekford,P.C.(1999). Reversals of age –related declines in neuronal signal transduction,cognitive and motor behavioral deficits with blueberry ,spinach or strawberry dietary supplementation**.**J .Neurosci.19:8114-8121.

Juknat,A.A.;Mendez Mdel,V.; Quaglino,A.;Fameli,C.I.;Mena,M. and Kotler,M.L.(2005). Melatonin prevents hydrogen peroxide – induced Bax expression in cultured rat astrocytes .J. Pineal Res.38(2):84-92.

JunDe ,Z.;ZiJang ,Y. ;ChaoSheng ,K. and Yan ,Y.(2009). Effect of intracercbro-ventricular injection of noggin on learning and memory and neurogenesis in hippocampal dentate gyms of D-galactose induced aging mice .J. Shandong Univ.(HealthScience).47:72-4.

Kadir,A.;Kamarudin,M.N.R.;Mohd Raflee,N.A.Syed Hussein,S.S.; Lo. J.Y. and Supriady, H.(2014). (R)-(+)-α-Lipoic acid protected NG108-15 cells against H_2O_2 –induced cell death through PI3K-AKT/GSK-3β

pathway and suppression of NF-$_K$β-cytokines.Drug Desgin Development and therapy.8:1765-1780.

Kagan,V.E.(2018). Lipid peroxidation in biomembranes. CRC press. Institute of Physiology Bulgarian Academy of Sciences .Sofia, Bulgaria

Kaliora, CA. and Dedoussis, GVZ. (2007). Natural antioxidant compounds in risk factors for CVD. *Pharmacological Research*., 56(2):99–109.

Kaneko,M.; Stellwagen,D.; Malenka,R.C. and Stryker,M.P. (2008) . Tumor necrosis factor – α mediates one component of competitive , experience-dependent plasticity in developing visual cortex. Neuron 58(5):673-680.

Kant,G.J.;Yen,M.H.; D'Angelo, P.C. ; Brown, A.J. and Eggleston ,T.(1988). Maze performance: a direct comparison of food vs. water maze. Pharmacol. Biochem. Behav.31:487-491.

Karasek ,M.(2006). Role of melatonin in aging. In aging and Age –Related Diseases. N .Y , Nova Sciencs :83-102.

Karasek,M. and Winczyk,K.(2006). Melatonin in humans. J. Physiol. Pharmacol.57:19-39

Karasek ,M.(2004). Melatonin, human aging, and age –related disease. Experimental Gerontology; 39(11-12):1723-1729.

Kastenhuber,E.R, and Lowe,S.W.(2017). Putting P53in context. Cell. 170(6):1062-1078.

Kenawy ,S.; Hegazy ,R.;Hassan,A.;El-Shenawy,S.;Gomaa, N.;Zaki,H. and Attia ,A.(2017). Involvement of insulin resistance in D-galactose – induced age –related dementia in rats: protective role of metformin and sexagliptin .Plos. One .12(8) :e0183565.

Kerleni ,M.;Saidi,A.;Bouzidi ,H.;Letaief ,A .Ben Yahia,S. and Hammami ,M. (2013). Pentosidin as abiomarker for microvascular complication in type 2 diabetic patients. Diab. Vasc. Dis. Res.10(3):239-45.

Kerner,J. and hoppel,C.(1998). Genetic disorders of carnitine metabolism and their nutritional management.Anna. Rev. Nut.18:179-206.

Khabbazi,T.;Mahdavi,R.; Safa,J .and Pour-Abdollahi,P.(2012). Effects of alpha-lipoic acid supplementation on inflammation , oxidative stress, and serum lipid profile levels in patients with end-stage renal disease on hemodialysis .Journal of Renal Nutrition .22(2):244-250.

Khan ,M.; Im,Y.M.;Shunmmugavel, A.;Gilg, A.G .;Dhindsa ,R.K.;Singh ,A .K. and Singh,I.(2009). Administration of S-nitrosoglutathione after traumatic brain injury protects the neurovascular unit and reduces secondary injury in a rat model of controlled cortical impact .J. Neuroinflamm. 6:32.

Khan ,S.H.S.(2015). Biomolecular and physiological study of some antiaging factor in animal cell senescence markers in aged rats. A thesis submitted to the council of collage of science /university of mousl in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctorate of physiology .

Khosravi,R.; Maya,R.; Gottlieb,T.; Oren,M.; Shiloh,Y. and Shkedy, D.(1999). Rapid ATM-dependent phosphorylation of MDM2 precedes p53 accumulation in response to DNA damageProc.Natl. Acad. Sci. USA.96:14973-14977.

Kidd, P.M.(2003). Glutathione: Systemic protectant against oxidative .Alt.Med.Rev.2(3):155-176.

Kim ,C.S. ; Park , S. and Kim ,J. (2017). The role of glycation in the pathogenesis of aging and its prevention through herbal products and physical exercise.J.Exerc .Nntration Biochem. 21(3):055-061.

Kim ,J.H. ; Pan ,J.H.; Lee, E.S.and Kim,Y.J.(2015). L-carnitine enhances exercise endurance capacity by promoting muscle oxidative metabolism in mice. Biochem. Biophys. Res. Commun .464:568-73.

Kim,Y.J.; Kim,S.Y.; Sung,D.K.;Chang,Y.S. and Park,W.S. (2012). Neuroprotective effects of L-carnitine against oxygen-glucose deprivation in rat primary cortical neurons. Korean J. Pediatr. 55(7):238-248.

Kobayashi,S.;Iwamoto,M.;Kon,K.;Waki,H.;Ando,S. and Tanaka,Y . (2010). Acetyl-L-carnitine improves aged brain function. Geriatr Gerontol. Int .10(1):s99-s106.

Kocaoglu,S.;Aktas,O.; Zengi,O.; Tufan,A. and Guzey,F.K.(2018). Effects of alpha lipoic acid on motor function and antioxidant enzyme activity

of nerve tissue after sciatic nerve crush injury in rats. Turk. Neurosurg. 28(5):740-747.

Koeck,T. and Kremser,K.(2003).L-carnitine alters nitric oxide synthase activity in fibroblasts depending on the peroxisomal status. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology.35:149-156.

Kotler,D.X.; Mancherter, L.C.; Reiter,R.J. ; Qi,W.; Kim,S.J. and EL-Sokkary,G.H.(1998). Melatonin increases gene expression for anti-oxidant enzymes in rat brain cortex. J .Pineal Res .24:83-89.

Kremser,K.;Stangl,H.;Pahan,K. and Singh,I.(1995). Nitric oxide regulates peroxisomal enzyme activities, Eur.J.Clin. Chem.Clin. Biochem. 33:763-774.

Krueger,J.M.(2008). The role of cytokines in sleep regulation .Current Pharmaceutical Design .14(32):3408-3416.

Kubbutat, M.H. ;Jones, S.N. and Vousden, K.H.(1997). Regulation of P53 stability by Mdm2. Nature.387:299-303.

Kumar ,A.; Prakash ,A. and Dogra,S.(2011). Centella asiatica attenuates D- galactose –induced cognitive impairment , oxidative and mitochondrial dysfunction in mice .Int. J. Alzheimer's Dis .347569.

Kumar, A.; Dogra, S.and Prakash, A.(2009). Effect of carvedilol on behavioral, mitochondrial dysfunction, and oxidative damage against D-galactose induced senescence in mice. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 380, 431–441.

Kurutas,E.B.**;Cetinkaya,A.;Bulbuloglu,E.and Kantarceken, B.(2005).** Effects of anti-oxidant therapy on leukocyte myeloperoxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase and plasma malondialdehyde levels in experimental colitis.Mediators Inflamm.390-94.

Lakin,N.D.and Jackson,S.P.(1999). Regulation of P53 in response to DNA damage.Oncongene.18:7644-55.

Lamhonwah,A.M.; Shaug,J.;Scherer,S.W. and Tein,I.(2003).A third human carnitine /organic cation transportor(OCTN3) as a candidate for the 5p31 Crhon,s disease locus (IBD5).Biochem. Biophys. Res. Commun .301(1):98-101.

Laskin ,J.D .; Heck ,D.E.; Gardner, C.R. and Laskin,D.L.(2001) .Prooxidant and antioxidant function of nitric oxide in liver toxicity .Antioxid. Redox Signal.3:261-271.

Lee,W.Y.;Orestes,P.;Latham,J.;Naik,A.K.;Nelson,M.T.;Vitko,I.;Perez-Reyes,E.;Jevtovic-Todorovic,V. and Todorovic, S.M. (2009). Molecular mechanisms of lipoic acid modulation of T-type calcium in pain pathway.J.Neurosci.29:9500-9509.

Lei ,L.; Ou, L. and Yu,X.(2016). The antioxidant effect of *Asparagus cochinchinensis* (Lour.)Merr. Shoot in D-galactose induced mice aging model and *in vitro* .Journal of the Chinese Association .79:205-211.

Lei ,M.; Hua, X.; Xiao,M.; Ding,J.;Han,Q.and Hu,G.(2008). Impairment of astrocytes are involved in the D-galactose – induced brain aging .Biochem .Biophys. Res. Commun .369:1082-1087.

Leng,S.;Chaves,P.;Koenig,K. and Walston,J.(2002). Serum interlukin-6 and hemoglobin as physiological correlates in the geriatric syndrome of frailty :a pilot study.J. Am. Geriatr. Soc.50:1268-1271.

Lerner, A.B. ; Case ,J.D.; Heinzelman , R.U. (1959). Structure of melatonin . J Am .Chem Soc,81:6084-6085.

Lerner ,A.B. ; Case,J.D. ; Takahashi , Y. ; Lee, T.H. ; Mori. N . (1958) . Isolation of melatonin ,Pineal factor that lightens melanocytes .J.Am Chem Soc ,80:2587.(Cited by Karasek,2007).

Levine,A.J.(1997). P53, the cellular gatekeeper for growth and division. Cell.88:323-331.

Li ,H.; Zheng,L.; Chen,C.; Liu ,X. and Zhang,W.(2019). Brain senescence caused by elevated levels of reactive metabolite methylglyoxal on D-galactose – induced aging mice .Frontiers in Neuroscience.13:1004.

Li, X.Z.;Bai,L.M.;Yang,Y.P.;Luo,W.F.;Hu,W.D.;Chen,J.P.;Mao,C.J. and Liu,C.F.(2009). Effects of IL-6 secreted from astrocytes on the survival of dopaminergic neurons in lipopolysaccharide-induced inflammation .Neurosci.Res.65:252-258.

Li, R.C.**; Morris,M.W.;Lee,S.K.;Pouranfar,F.;Wang,Y. and Gozal,D (2008).** Neuroglobin protects PC12cells against oxidative stress .Brain Res.1190:159-66.

Li, J.H.; Wang, W.; Huang,X.R.; Oldfield, M.;Schmidt,A.M. Cooper.M.E.and Lan,H.Y. (2004). Advanced glycation end products induce tubular epithelial- myofibroblast transition through the RAGE-

ERK1/2 MAP kinase signaling pathway. Am. J. Pathol .164:1389-1397.

Liang, J.F. and Akaike ,T.(2000). Inhibition of nitric oxide synthesis in primary cultured mouse hepatocytes by alpha-lipoic acid .Chem. Biol. Interact .124:53-60.

Libermann,T.A. and Baltimore ,D.(1990). Activation of interlukin-6 gene expression through the NF-Kappa B transcription factor .Mol. Cell .Biol. ,10:2327-2334.

Liu,J.;Chen,D.;Wang,Z.;Chen,C.;Ning,D. andZhao,S.(2018). Protective effect of walnut on D-galactose-induced aging mouse model.Food Sci.Nutr.1-8.

Liu, J. ;Liu ,M.;Ye ,X.; Liu ,K.;Huang,J.; Wang ,L.; Ji,G.;Liu,N.; Tang ,X .; Baltz ,J.M.;Keefe ,D.L. and Liu ,L.(2012). Delay in oocyte aging in mice by the antioxidant N-acetyl-cysteine (NAC).Hum. Reprod. 27 :1411-20.

Liu,L.; Su,Y.;Yang,W.;Xiao,M; Geo,J. and Hu,G.(2010). Disruption of neuronal –glail vascular units in the hippocampus of ovariectomized mice injected with D-galactose. Neuroscience .169:596-608.

Liu ,J.; Yu,Z.; Guo,S.;Lee,S.R.; Xing,,C.;Zhang,C ,;Gao,Y.;Nicholls, D.G.; Lo,E.H. and Wang,X. (2009). Effects of neuroglobin overexpression on mitochondrial function and oxidative stress following hypoxia / re oxygenation in cultured neurons .J Neurosci. Res .87:164-170.

Liu ,j. ;Head , E. ;Kuratsune , H.; Cotman ,C.R. and Ames ,B.(2004) .Comparison of the effect of L-carnitine and acetyl-L-carnitine on carnitine level , ambulatory activity , and oxidative stress biomarkers in the brain of old rats.Ann.N.Y.Acad.Sci,1033:117-131.

Liu ,j. ; Head ,E. ; Gharib ,A.M. ; Yuan , W. ; Ingersoll ,R. t. ; Hagen ,T.M. ; Cotman ,c.w. and Ames ,B.N. (2002). Memory loss in old rats is associated with brain mitochondrial decay and RNA/DNA oxidation : Partial reversal by feeding acetyl- L carnitine and /or R – alpha –lipoic acid . Proc . Natl Acad Sci U S A 99:2356-2361.

Liu,J.;Killilea,',D.W. and Ames,B.W.(2002). Age associated mitochondrial oxidative decay: improvement of carnitine

acetyltransferase substrate –binding affinity and activityin brain by feeding old rats acetyl-L-carnitine and /orR-alpha-lipoic acid.Proc.Natl.Acad.Sci. USA. 99(4) :1876-81.

Liu, J.; Head,E.; Gharib,A.S.; Yuan,W.; Ingersoll,R.T.; Hagen,T.M .; Cotman, C.W. and Ames ,B.N.(2001). Memory loss in old rats is associated with brain mitochondrial decay and RNA/DNA oxidation: Partial reversal by feeding acetyl-L-carnitine and /or R-α-lipoic acid. Neurobiology.99(2):2356-2361.

Liu, T.; Stern,A. and Roberts, L.J.(1999). The isoprostanes: Novel prostaglandin-like products of the free radical catalyzed peroxidation of arachidonic acid.J. Biomed. Sci.6:226-35.

Lobo,V.; Patil,A.; Phatak,A. and Chandra,N.(2010). Free radicals, antioxidants and functional food:impact on human health.Pharmacogn Rev.4(8):118-126.

Lohninger,S.;Strasser, A. and Bubna-Littiz,H.(2001).The effect of L-carnitine on T-maze learning ability in aged rats. Science Direct.32(3):245-253.

Long , J. ; Wang ,X.; Geo ,H.; Liu,Z.; Liu ,C.; Miao, M.; Cui ,X.; Parker ,L. and Liu, J.(2007). D-Galactose toxicity in mice is associated with mitochondrial dysfunction :Protecting effects of mitochondrial nutrient R-alpha-Lipoic acid . Bio gerontology ,8(3):373-381.

Lopez, L.C., Escames, G., Lopez, A., Garcia, JA., Carolina D. and D. Acuña- Castroviejo. (2010). Melatonin, neurogenesis, and aging brain. The Open Neuroendocrinology Journal,3:121-133.

Lovell , M.A.; Xie ,C.; Xiong S.and Markesbery , W.R.(2003). Protection amyloid beta peptide and iron hydrogen peroxide toxicity by alpha-lipoic acids . J Alzheimers Dis. 5:229-239.

Lovell,M.A.; Ehmann,W.D.; Buffer,B.M. and Markesberry, W.R .(1995). Elevated thiobarbituric acid reactive substance s and antioxidant enzyme activity in the brain in Alzemers disease.Neurology.45:1594-601.

Lowe,S.W.;Cepero,E. and Evan,G.(2004). Intrinsic tumour suppression ,Nature .4(432):307-315.

Lu ,J.; Wu,D.; Zheng,Y.;Hu,B. and Zhang,Z.F.(2010a). Purple sweet potato color alleviates D-galactose – induced brain aging in old mice by promoting survival of neurons via P13K pathway and inhibiting cytochrome c-mediated apoptosis. Brain Pathol. 20:598-612.

Lu ,J.;Wu,D.;Zheng, Y.;Hu,B.;Zhang,Z.;Ye,Q.;Liu,C.;Shan,Q. and Wang Y.(2010b). Ursolic acid attenuates D-galactose – induced inflammatory response in mouse prefrontal cortex through inhibiting AGEs/RAGE/NF-$_k$B pathway activation .Cerebral cortex .20:2540-2548.

Luevano-Contreras,C. and Chapman-Novakofski,K.(2010). Dietary advanced glycation end products and aging. Nutrients .2:1247-1265.

Luna,L.J.(1968). Manual of histology staining methods of armes forces institute of pathology .3 rd ed . NewYork.Blakistan Division.McGram.

Lundberg,J.O.; Gladwin,M.T.; Ahluwalia,A.; Benjamin,N.; Bryan,N.S.and Butler,A.(2009). Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. Nat. Chem.Biol.5(12):865-9.

Luo,S.;Lei,H.;Qin,H. and Xia,Y.(2014). Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling.Curr. Pharm. Des.20(22):3548-53.

Lushchak ,V.I. (2014). Free radicals ,reactive oxygen species ,oxidative stress and its classification .Chem Biol interact 224:164-175.

Lushchak, V.I. (2012). Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. J Amino Acids 2012:736837,

Lushchak, V.I. (2011). Adaptive response to oxidative stress: bacteria, fungi, plants and animals. Comp. Biochem. Pysiol.C. Toxocol. Pharmacol.153(2):175-90.

Lynch,A.M.**; Loane,D.J.; Minogue, A.M.; Clarke, R.M.; Kilroy, D.; Nally, R.E.; Roche, O.J. ; O'Connell, F. and Lynch, M.A.(2007).** Eicosapentaenoic acid confers neuroprotection in the amyloid –beta challenged aged hippocampus .Neurobiol.Aging .28:845-855.

Lynch,M.A.(2010). Age –related neuroinflammatory changes negatively impact on neuronal function.Frontiers in Aging Neuroscience.1(6).

Ma,J.; Wang ,H.; Liu ,B.; Shan,Y.; Zhou ,H.; Qi, X.; Wu, W. and Jia, L.(2019). Combination of chick embryo and nutrient mixture prevent

D-galactose –induced congnitive deficits , immune impairment and oxidative stress in aging rat model. Scientific Reports .9:4092.

Mahdavi, R.; Kolahi, S.; Attari,V.E. and Mahdavi, A.M.(2017). L-carnitine supplementation ameliorates serum tumor necrosis factor-alpha and matrix met alloproteinase -3 in knee osteoarthritis women. Bangladesh J. Pharmacol .12:28-34.

Makarov, P.; Kropf, S.; Wiswedel, I.; Augustin, W. and Schild L (2006). Consumption of redox energy by glutathione metabolism contributes to hypoxia/reoxygenation-induced injury in astrocytes. Mol.Cell. Biochem.286(1-2):95-101.

Maldonado ,M.D. ; Maro-Santos ,M.; Naji , L.; Carrascosa- Salmoral ,M.P. ; Naranjo ,M.C. and Calvo, J.R.(2010). Evidence of melatonin synthesis and release by mast cells. Possible modulatory role on inflammation . Pharmacol . Res. ; 62(3):282-287.

Mammen ,P.P.; Shenlton,J.M.; Goetsch,S.C.; Williams,S .C.; Richardson, J.A. Garry, M.G. and Garry, D.J.(2002). Neuroglobin ,a novel member of the globin family .is expressed in focal regions of the brain.J.Histochem. Cytochem.50:1591-1598.

Maniastis,T.;Fritsh,E.F.and Sambrook,J.(1982). Molecular cloning :A laboratory manual, cold spring harbor laboratory,New York.

Marí, M.; Morales, A.; Colell, A.; García-Ruiz, C. and Fernández-Checa, J.C. (2009). Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. Antioxid Redox Signal 11:2685–700, PMID: 19558212.

Mario Diaz,A.C.(2016). Impact of lipid peroxidation on physiology and pathophysiology of cell membranes.Front .Physiol.7.

Marmol, F.; Sanchez, J.; Lopez, D.; Martinez, N.; Xause, C.; Peralt, C.; Rosello-Catafau, J.; Mitjavila, M. and Puig-Parellada, (2010). Role of oxidative stress and adenosine nucleotides in the liver of aging rats. Physiol. Res., 59: 553-560.

Matoba,S.; Kang,J.G.; Patino,W.D.; Wragg,A.; Boehm,M.; Gavrilova ,O.; Hurley ,P.J.; Bunz,F. and Hwang,P.M.(2006). P53 regulates mitochondrial respiration .Science.312:1650-1653.

McCANN,S.M.; Mastronardi,C. ;Delaurentiis, A. and Rettori, V (2005). The nitric oxide theory of aging revisited. Ann .N.Y.Acad.Sci.1057:64-84.

McDonald, L.J. and Murad,F.(1996). Nitric oxide and cyclic GMP signaling .Proc. Soc. Exp.Biol .Med.211:1-6.

Mchugh, D. and Gil, J.(2018). Senescence and aging:causes ,Consequences , and theraputeic avenues.J.Cell Biol.217(1):65-77.

Mebmer, U.K. and Brune, B.(1996). Nitric oxide (NO) in apoptotic versus necrotic RAW 264.7 macrophage cell death :the role of NO-donor exposure ,NAD^+ content, and P53 accumulation .Arch Biochem .Biophys. 327:1-10.

Melli,G.;Taiana,M.; Camozzi,F.; Triolo,D.; Podini ,P.; Quattrini,A.; Taroni,F. and Lauria,G. (2008). Alpha-lipoic acid prevents mitochondrial damage and neurotoxicity in experimental chemotherapy neuropathy. Exp. Neurol. 214:276-284.

Memeo,A. and Loiero,M.(2008). Thioctic acid and acetyl-L-carnitine in the treatment of sciatic pain caused by a herniated disc. A randomized ,double –blind ,comparative study .Clin. drug Invest .28:495-500.

Mendoza-Nunez,V.M.;Garacia-Martinez,B.I.;Rosado-Perez,J.; Santiago -Osorio, E.; Pedraza-Chaverri,J.andHernandez-Abad,V. J. (2019). The effect of 600 mg alpha-lipoic acid supplementation on oxidative stress,inflammation,and RAGE in older adults with type2 diabetes mellitus. Hindawi, Oxidative Medicine and Cellular Longevity.12:3276958.

Michaud,M.;Balardy,L.and Moulis,G. (2013). Proinflammatory cytokines, aging, and age -related disease. Journal of the American Medical Directors Association.14(12) **.**

Midaoui,A.E.;Elimadi,A.;Wu,L.;Haddad,P.S. and De Champlain,J. (2003). Lipoic acid prevents hypertension ,hyperglycemia , and the increase in heart mitochondrial superoxide production .Am. J. Hypertens .16(3):173-9.

Ming, L.; Xiangdong,H.; Ming,X.;Jiong,D.; Qunying,H. and Gang, H.(2008). Impairments of astrocytes are involved in the D-galactose –induced brain. Biochemical and Biophysical Research Communications. 369(4):1082-1087.

Mitsui,Y.;Schmelzer, J.D.;Zollman,P.J.;Mitsui,M.;Tritschler,H.J. and Low,P. A.(1999). Alpha-lipoic acid provides neuroprotection from ischemia-reperfusion injury of peripheral nerve.J .Neurol .Sci .163:11-16.

Miura,T.; Mattson, M.P. and Rao,M.S.(2004). Cellular lifespan and senescence signaling in embryonic stem cell. Aging Cell.3:333-343.

Moazamian,R.; Polhemus,A.; Connaughton,H.; Fraser,B.; Whiting,S. ;Gharagozloo ,P. and Aitken,R.J.(2015). oxidative stress and human spermatozoa :diagnostic and functional significance of aldehydes generated as a result of lipid peroxidation. MHR: Basic Science of Reproductive Medicine.21(6):502-515.

Moeinian , M.; Ghasemi-Niri, S.F.; Mozaffari,S. and Abdollahi,M .(2013). Synergistic effect of probiotics ,Butyrate and L-carnitine in treatment of IBD.JMHI.7:50-53.

Mohammadirad,A.;Aghamohammadali-Sarraf,F; Badiei,S.;Faraji,Z.; Hajighaee, R.; Baeeri,M.; Gholami,M. and Abdollahi,M. (2013) .Anti-aging effects of some selected Iranian folk medicinal herbs – biochemical evidences. Iranian Journal of Basic Medical Sciences.16:1170:1180.

Moini,H.;Packer,L. and Saris,N.E.(2002). Antioxidant and prooxidant activites of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid.Toxicol. App. Pharmacol.182:48-90.

Momtaz, S. and Abdollahi, M.(2012). A comprehensive review of biochemical and molecular evidences from animal and human studies on the role of oxidative stress in aging: an epiphenomenon or the cause. Asian J .Anim. Vet. Adv. 7:1–19.

Montgomery, S.L. **and Bowers,W.J.(2012).** Tumor necrosis factor-alpha and the roles it plays in homeostatic and degenerative processes within the central nervous system.Journal of Neuroinnune Pharmacology. 7(1):42-59.

Morava, E. (2014). Galactose supplementation in phosphoglucomutase -1 deficiency; review and outlook for a novel treatable CDG. Mol. Genet. Metab. 112, 275–279.

Morley,J.E. **and Baumgarther,R.N.(2004).** Cytokine-related aging process. Journal of gerontology :Medical Sciences.59(9):924-929.

Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. Journal of Neuroscience Methods. 11 (1): 47–60.

Morris, R.G.M. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. Learning and Motivation. 2 (2): 239–260.

Mukda,S.;panmanee,j.;Boontem,P.and Govitrapong,P.(2016). Melatonin administration reverses the alteration of amyloid precursor protein –cleaving secretases expression in aged mouse hippocampus .Neurosci. Lett.621:39-46.

Murnane, J.P. and Sabatier, L. (2004). Chromosome rearrangements resulting from telomere dysfunction and their role in cancer. Bioessays, .26(11):1164-1174.

Musser ,R.E. ;Goodband ,R.D. ; Tokach , M.D. ; Owen , K. Q.; Nelessen ,J .L. ; Blum,S.A.;Dritz ,S.S.and Civis,C.A.(1999). Effect of L-carnitine fed during gestation and lactation on sow and litter performance . J. Anim. Sci.77:3289-3295.

Nagai, R., Mori, T. and Yamamoto, Y.(2010). Significance of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-Aging Medicine*., 7:112-119.

Nanda, S.; Mishra, S.; Varshney, V.P. and Singh, RB.(2010). A biotechnological approach to apoptosis of somatic and germ cells in living organisms. Open Nutra. J. 3: 81-93.

Navarro-Yepes ,J.; Burns ,M. ;Anandhan , A. ,Khalimonchuk ,O.;Razo , L. M. ;Quintanilla –Vega ,B . and Franco ,R .(2014) . Oxidative stress ,redox signaling ,and autophagy : cell death versus survival .Antioxidant and redox signaling ,21(1),66-85.

Naziroglu,M.; Blum,W.;Josvay,K.; Gig,B.; Henzi,T.; Olah,Z. and Pecze, L .(2018). Menthol evokes Ca+2 signals and induces oxidative stress independently of the presence of TRPM8(methanol)receptor in cancer cells.Rodex Biology .14:439-449.

Nekhaeva ,E .;Bodyak N.D. ;Kraytsberg ,Y. ;Mcgrath ,S.B. and Orsouw ,N.V.(2002). Clony expanded mtDNA mutations are abundant in individual cells of human tissues .Proc Natl Acad Sci 99:5521-5526.

Nelson R.J. and Demas ,G.E.(1997). Role of melatonin in mediating seasonal energetic and immunological adaptations. Brain Res. Bull. 44:423-430.

Neumann,H.(2001). Control of glial immune function by neurons.Glia. 36:191-199.

Nguyen ,H.P. ; Katta , R. and Sugar ,S.(2015). Glycation and the role of diet in aging skin .Skin Therapy lett. 20:1-5.

Niki ,E.(2009). Lipid peroxidation :Physiological levels and dual biological effects . Free Radic Biol Med 47:469-484.

Nishanthi, J. and Anuradha, R. (2012). Efficacy of Tagetes erecta on lead acetate induced oxidative injury in rat kidney. International Journal of PharmTech Research., 4(4):1377-1382.

Nordberg, J. and Arner, E.S.J.(2001). Reactive oxygen species anti-oxidants , and the mammalian thioredoxin system .Free Radical Biology and Medicine .31(11):1287-1312.

Oja, S.S.; Jenei ,Z.; Janáky, R.; Saransaari, P. and Varga, V .(1994). Thiol reagents and brain glutamate receptors. Proc .West. Pharmacol. Soc. 37:59–62**.**

Oleshchuk,O.; Ivankiv,Y.;Falfushynska,H.;Mudra,A. and Lisnychuk ,N. (2019). Hepatoprotective effect of melatonin in toxic liver injury in rats. Medicina .55:304.

Orchin ,M. ;Macomber , R.S. ;Pinhas , A. and Wilson , R.M.(2005). The vocabulary and concepts of organic chemistry. 2 nd.

Oren, M.(2003). Decision making by P53:life, death and cancer. Cell Death Differ.10:431-442.

Ott ,C. ; Jacobs ,K.; Haucke , E. ; Navarrete Santos ,A.; Grune ,T.and Simm , A.(2014). Role of advanced glycation end products in cellular signaling. Redox Biol. 2:411-29.

Ou ,P. ; Tritschler , H.J. and Wolff , S.P. (1995). Thioctic (lipoic) acid : a therapeutic met al – chelating antioxidant. Biochem Pharmacol ,50:123-126.

Ozturk,G.;Akbulut,K.G.; Guney,S. and Acunacastroviejo,D.(2012). Age-related changes in the rat brain mitochondrial anti-oxidative enzyme ratios:Modulation by melatonin.Exp .Gerontol.47(9):706-11.

Paffl, M.W. and Horgan, G.W. (2005). (REST-2005©) Technical. University of Munich and Corbett Research.

Pandi-Perumal ,S.R.; Sirnivasan ,V.; Maestroni ,G.J.M.; Cardinali, D.P.;Poeggeler,B. and Hardeland ,R.(2006). Melatonin :nature's most versatile biological signal? .FEBS Journal.273(13):2813-2838.

Paradies,H.; Petrosillo,G.; Gadaleta,M.N. and Ruggiero,F.M.(1999) . The effect of aging and acetyl-L-carnitine on the pyruvate transport and oxidation in rat heart mitochondria.FEBS Letters.454:207-209.

Parameshwaran,K.;Irwin,M.H.;Steliou,K. and Pinkert,C.A.(2010). D-galactose effectiveness in modeling aging and therapeutic antioxidant treatment in mice .Rejuvenation Research.13:729-735.

Park,S.; Choi,S.K.; Choi,Y. and Moon,H.(2015). AMPK/P53 Axis is essential for α- lipoic acid- regulated metastasis in human and mouse colon cancer cells. Journal of Investigative Medicine .63(7).

Parrinello,S.; Samper,E.; Krtolica,A.; Goldstein,J.;Melov,S. and Campisi ,J.(2003). Oxygen sensitivity severely limits the replicative life span of murine fibroblast. Nat. Cell. Biol. 5:741-747.

Paryldar, H., Dooru-Abbasoolu, S., Mehmetcik, G., Ozdemirler, G., Koçak Toker, N. and Uysal, M. (2008). Lipid peroxidation potential andantioxidants in the heart tissue of -alanineor taurine-treated old rats. J Nutr Sci Vitaminol., 54:61-65.

Pathath , A.W. (2017). Theories of aging .The international journal of indian psychology .VOL 4 ,Issue 3.

Payette,H.;Roubenoff, R. and Jacques, P.F.(2003). Insulin-like growth factor-1 and interleukin -6 predict sarcopenia in very old community – living men and women : the Framingham heart study.J.Am. Geriater. Sci. 51: 1237 -1243.

Perez,V.L.; Bokov,A.and Van Remmen,H.(2009). Is the oxidative stress theory of aging of aging dead? Bio. Chemi .Biophys.:1005-1014.

Permpoonputtana,K.;Tangweerasing,P.;Mukda,S.;Boontem,P.Nopparat,C. and Govitrapong,P.(2017). Long term-administration of melatonin attenuates neuroinflammation in the aged mouse brain. EXCLI. Journal.17:634-646.

Permpoonputtana,K. and Govitrapong,P.(2013). The anti-inflammatory effect of melatonin on methamphetamine – induced proinflammatory mediators in human neuroblastoma dopamine SH-SY5Y cell lines.Neurotox Res .23:189-99.

Phaniendra,A.;Jestadi, D. B. and Periyasamy, L.(2015). Free radicals: properties, source, targets, and their implication in various disease. Indian Journal of Clinical Biochemistry.30(1):11-26.

Piao,Y.; Liu, Y. and Xie, X. (2013). Change trends of organ weight background data in sprague dawley rats at different ages. J. Toxicol. Pathol. 26: 29–34.

Piccinetti ,C.C. ; Migliarini ,B.; Olivotto,I.; Coletti, G.;Amici, A. and Carnevali , O.(2010). Appetite regulation :the central role of melatonin in Danio rerio. Horm. Beha .58:780-5.

Pierpaoli, W. and Maestroni, G.J.(1987). Melatonin: a principle neuroimmunoregulatory and anti-stress hormone :its anti-aging effects . Immunol let. ;16(3-4):355-361.

Plata-Salamari,C.R.(2001). Cyt okines and feeding. International Journal of obesity .25(5):S48-S52.

Poderoso,J.J. ;Carreras,M.C.; Lisdero,C.; Riobo,N.; Schopfer,F. and Boveris,A.(1996). Nitric oxide inhibits electron transfer and increases superoxide radical production in rat heart mitochondria and submitochondrial particals.Arch. Biochem. Biophys. 328:85-92.

Poeggeler ,B.(2005). Melatonin, Aging, and Age – Related Diseases. Endocrine, 27(2):201-212.

Poeggeler,B.;Reiter,R.J.;Tan,D-X.;Chen,L-D.and Manchester ,L. (1993). Melatonin ,hydroxyl radical-mediated oxidative damage ,and aging:a hypothesis . Pineal Research.14(4):151-168.

Pole,A.;Dimri,M. and Dimri,G.(2016). Oxidative stress,cellular senescence and ageing.AIMS Molecular Science.3(3):300-324.

Poppel,G.V. and Golddohm,R.A.(1995). Epidemiologic evidence for β-cartene and cancer prevention. Am. J.Clin.Nutr.62:1393-5.

Portari, G.V.;Macedo de Moraes,R.C. ;Deminice ,R. ;Orsatti,F.L. and Merino ,S.(2017). Effect of the supplementation with alpha-lipoic acid on muscular antioxidant biomarkers of trained mice .Medical Express .4(1):M170105.

Prakash, A. and Kumar, A.(2013). Pioglitazone alleviates the mitochondrial apoptotic pathway and mito-oxidative damage in the d-

galactose-induced mouse model. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 40, 644–651.

Provinciali, M. ;Di Stefano ,G. ;Bulian, D. ;Tibaldi ,A. and Fabris, N.(1996). Effect of melatonin and pineal grafting on thymocyte apoptosis Dev .90:1-19.

Prull,M.W.; Gabrieli ,J.D.E. and Bunge,S.(2000). Age related changes in memory: A cognitive neuroscience perspective .The Handbook of aging and cognitive .2nd ed . 91-153.

Przedborski,S.; Jackson- Lewis, V. ;Yokoyama,R.;Shibata,T.; Dawson,V.L. and Dawson,T.M.(1996). Role of neuronal NO in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (MPTP)- induced dopaminergic toxicity.Proc. Natl.Acad. Sci. USA .39:4565-4571.

Pun,,P.B. and Moochhala,S.(2009). Involvement of ROS in BBB dysfunction. Free Radic. Res .43:348-364.

Qian, Y.F.;Wang,H.; Yao,W.B. and Gao,X.D. (2008). Aqueous extract of the Chinese medicine, Danggui-Shaoyao-San, inhibits apoptosis in hydrogen peroxide-induced PC12 cells by preventing cytochrome c release and inactivating of caspase cascade. Cell Biol. Int. 32:304–311.

Qu, Z.,Zhang ,j. ;Y ang ,H. ; Huo, H. ; Huo, L., Gao, j.;Chen, H.and Gao,W. (2016). Protective effect of tetrahydropalmatine against d-galactose induced memory impairment in rat. Physiol. Behav. 154, 114–125.

Rae ,C.D. and Williams, S.R.(2017). Glutathione in the human brain :Review of its roles and measurement by magnetic resonance spectroscopy. Analytic biochemistry .529:127-143.

Ragini,M.; Banji,O.J.; Banji,D.; Pratusha, G.; Kumar,K. and Ananthulos, M.R . (2011). Biomarkers in autism. International Journal of Pharma. Tech.Research.3(3):1281-1289 .

Rahman, K.(2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. Clinical Interventions in Aging.2(2):219-36.

Rajasekar,P. and Anuradha, C.v.(2007). L-carnitine inhibits protein glycation in vitro and in vivo :Evidence for a role in diabetic management .Acta. Diabetol .44:83-90.

Rajasekar,P.; Kaviarasan,S. and Anuradha ,C.V.(2005). L-carnitine administration prevents oxidative stress in high fructose-fed insulin

resistant rats. Original Scientific Paper. Department of Biochemistry ,Faculty of Science .India.

Ramasamy, R. ;Vannucci,S.J.; Yan,S.S. ;Herold,K.;Yan,S.F. and Schmidt, A.M.(2005). Advanced glycation end products and RAGE:a common thread in aging. Glycobiology .15:16-28.

Ratajczak, H.V.(2011). Theoretical aspects of autism. Biomarkers-a review .J. Immunolotoxicology.8(1):80-94.

Raychaudhuri,S.;Skommer,J.;Henty,K.; Birch,N. and Brittain,T. (2010) . Neuroglobin protects nerve cells from apoptosis by inhibiting the intrinsic pathway of cell death.Apoptosis .15:401-11.

Rebouche,C.J.(1991). Ascorbic acid and carnitine biosynthesis .Am. J. Clin. Nutr .54(6):1147s-1152s.

Rehman,S.U.; Shah,S.A.;Ali,T.;Chung,J.I. and Kim, M.O.(2017). Anthocyanins reversed D-galactose –induced oxidative stress and neuroinflammation mediated cognitive impairment in adult rats. Mol. .Neurobiol.54:255-271.

Reiter,R.J.; Manchester, L.C.and Tan,D.X.(2010). Neurotoxin:free radical mechanism and melatonin protection. Current Neuropharmacology .8(3):194-219.

Reiter, R.J. ; Tan , D-X .; Burkhardt , S.(2002b). Mechanism of aging and development. Mech. Ageing Dev. ;30:1007-1019.

Reiter, R.J. ; Tan ,D.X. ; Allegra ,M.(2002). Melatonin : reducing molecular pathology and dysfunction due to free radicals and associated reactants. Neuro Endocrinol Lett ; 23(1):3-8.

Reiter ,R.J. ;Tan, D-X. ; Mayo ,J.C. ; Sainz, R.M. and Burillo ,S. (2002a) . Melatonin ,Longevity and health in the aged :An assessment . Free radical Research .36:12.

Reiter ,R.J.;Tan,D.X. ; Manchester,L.C. and Qi, W.(2001). Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species: a review of the evidence .Cell Biochem. Biophys.34:237-56.

Reiter ,R.J.(1998). Oxidative damage in the central nervous system :orotection by melatonin . Progr Neurobiol ;56:359-384.

Reiter,R.J.(1995). Oxidative stress and ant oxidative defense mechanism in the aging brain. FASEB .9:351-358.

Reutov, V.P. and Sorokina,E. G. (1998).NO-synthase and nitrite-reductase components of nitric oxide cycle . Biochemistry ;63(7):874-84.

Richter, C. ; Park ,J.W.and Ames ,B.(1988). Normal oxidative damage to mitochondril and nuclear DNA is extensive. Proc.Natl. Acad. Sci. USA 85(6465-6467).

Rock,C.L .;Jacob ,R.A. and Bowen ,P. E.(1996). Update of biological characteristics of the antioxidant micronutrients-Vitamin C,Vitamine E and the carotonids. J. Am. Diet. Assoc. 96 :693-702.

Rodier,F.;Campisi,J. and Bhaumik,D.(2007). Two faces of P53: aging and tumor suppression. Nucleic Acids Research.35(22):7475-7484.

Rolewska, P., Al-Robaiy, S., Navarrete Santos, A., Simm, A., Silber, R.E. and Bartling, B. (2012). Age-related expression, enzymatic solubility and modification with advanced glycation end-products of fibrillar collagens in mouse lung. Exp Gerontol. 15.

Rosenzweig,E.S. and Barnes,C.A.(2003). Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition. Prog. Neurobiol.69(3):143-79.

Ross,R.(1999). Atherosclerosis- an inflammatory disease. N.Engl .J. Med.340:115-26.

Rouveix, B.(1997). Clinical pharmacology of cytokines. Eur Cytokine Netw.8:291-293.

Rozemuller, A.J. ;Van Gool, W.A. and Eikelenboom,P.(2005). The neuroinflammatory response in plaques and amyloid angiopathy in Alzheimer ’s disease :therapeutic implications. Curr Drug Targets CNS Neurol Disord , 4: 223-233.

Ruan,Q.; Hu,X.; Ao,H.;Ma,H.;Gao,Z.;Liu,F.;Kong,,D.;Bao,Z. and Yu,Z . (2014). The Neurovascular protective effects of huperzine A on D-galactose-induced inflammatory damage in the rat hippocampus. Gerontology. 60:424-439.

Ruan,Q.;Liu,F.;Gao,Z.;Kong,D.;Hu,X.,Shi,D.;bao,Z. and Yu,Z. (2013). The anti-inflamm-aging and hepatoprotective effects of huperzine A in D-galactose-treated rats.Mech.Ageing Dev.134:89-97.

Sablina, A.A.; Budanov, A.V.; Ilyinskaya, G.V.; Agapova, L.S. ;Kravchenko, J.E. and Chumakov, P.M. (2005). The antioxidant function of the P53 tumor suppressor. Nat.Med. 11:1306-1313.

Saeed ,R.M.;Ahmed,H.H. ;Saleh,A.A.S. and Ahmed ,Y.S . (2017). Curative role of lactose,L-carnitine ,alpha-lipoic acid and combination of L-carnitine and Alpha-lipoic acid in a rat model of acute hepatic encephalopathy:biochemical observation. Topical Journal of Pharmaceutical Research .16 (9) : 2161 - 2168 .

Saeed,R.W.; Varma,S.; Peng-Nemeroff,T.; Sherry, B.; Balakhaneh, D.; Huston, J.Tracey,K.J.;Al-Abed,Y.and Metz,C.N.(2005). Cholinergic stimulation blocks endothelial cell activation and leukocyte recruitment during inflammation .J .Exp. Med .201:1113-1123.

Salim,S.(2016). Oxidative stress and the central nervous system. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapuetics.360:201-205.

Sahin, K.; Orhan, C.; Tuscu, M.; Ali, S.; Sahin, N. and Hayirli, A. (2010). Epigallocatechin-3-gallate prevents lipid peroxidation and enhances antioxidant defense system via modulating hepatic nuclear transcription factors in heat-stressed quails. Pultry .Science. 89: 2251-2258.

Santello, M. and Volterra, A.(2012).TNF alpha in Synaptic function: switching gears. Trends in Neurosciences.35(10):638-647.

Santello, M.; **Bezzi,**P. **and Volterra,A.(2011).**TNF α control glutamatergic gliotransmission in the hippocampal denta gyrus.Neuron.69(5):988-1001 .

Santoro,R.; Marani, M.; Blandino, G.; Muti,P. and Strano,S.(2012). Melatonin triggers P53 phosphorylation and prevents DNA damage accumulation. Oncogene . 31:2931-2942.

Scafidi, S.; Racz, J.;Hazelton ,J.; McKenna,M.C. and Fiskum,G.(2010). Neuroprotection by acetyl-L- carnitine after traumatic injury to the immature rat brain. Dev. Neurosci.32:480-487.

Schabath,M.B.;Wu,X. and Wei,Q.(2006). Combined effects of the P53 and P73 polymorphisms on lung cancer risk.Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.15:1581-61.

Scheller,J.;Chalaris,A.;Arass,D.S. and John,.R.(2011). The pro and anti-inflammatory properties of the cytokine interlukin-6 .Biochimica et Biophysca.Acta:878-888.

Schmidt, M.; Giessl,A.; Laufs,T. ;Hankeln, T.; Wolfrum U. and Burmester ,T.(2003). How does the eye breath? Evidence for neuroglobin –mediated oxygen supply in the mammalian ratina.J .Biol. Chem .278:1932-5.

Schmidt,H.W. and Walter ,U.(1994). NO at work. Cell 78:919-925.

Schreiber,B.(2005). Levocarnitine and dialysis.: a review.Nut. Clin. Pract .20:218-243.

Seals, D.R.**; Jablonski, K.L. and Donato, A.J.(2011**). Aging and vascular endothelial function in humans.Clin. Sci.120(9):357-75.

Sedlack, J. and Lindsay, R.H.(1968). Estimation of total, protein –bound ,and non-protein sulfhydryl groups in tissues with Ellman's reagent .Analytical biochemistry.25:192-205.

Sell, D.R. and Monnier ,V.M. (2012). Molecular basis of arterial stiffening :role of glycation – a mini – review . Gerontology .58:227-37.

Sener, G.; Paskaloglu, K.; Satiroglu, H.; Alican, I.; Kacmaz, A. and Sakarcan, A.(2004). L-carnitine ameliorates oxidative damage due to chronic renal failure in rats. J. Cardiovasc. Pharmacol.43:698–705.

Sethumadhavan, S. and Chinnakannu, P.(2005). Carnitine and lipoic acid alleviates protein oxidation in heart mitochondria during aging process .Biogerontology .7:101-109.

Shahroudi,M.I.; Mehri,S. and Hosseinzadeh,H.(2017). Anti-aging effect of nigella sativa fixed oil on D- galactose –induced aging in mice .Journal of Pharmacopuncture .20:29-35.

Sharma,V.; Singh,P.; Pandey,A.K. and Dhawan,A.(2012). Introduction of oxidative stress ,DNA damage and apoptosis in mouse liver after sub-acute oral exposure to zinc oxide nanoparticles. Mutation Research /Genetic toxicology and EnvironmentalMutagenesis.745(1):84-91.

Sharma, S. and Black, M.S.(2009). Carnitine homostasis, mitochondrial function, and cardiovascular disease. Drug Discov. Today Dis. Mech.4(6-1):e31-e39.

Sharma ,M.;Briyal,S. and Gupta,Y.K.(2005). Effect of alpha-lipoic acid,melatonin and trans resveratrol on intracerebroventricular streptozotocin induced spatial memory deficit in rats. Indian J. Physiol. Pharmacol. 49(4):395-402.

Sharman,E.; Vaziri,N.D.; Ni,Z.;Sharman,K.G. and Bondy,S.C. (2002). Reversal of biochemical and behavioral parameters of brain aging by melatonin and acetyl L-carnitine. Brain Research. 957:223-230.

Sharpless, N.E. and Sherr, C.J.(2015). Forging a signature of in vivo senescence. Nat. Rev. Cancer.15(7):397-408.

Sharpless, N.E. and Depinho,R.A.(2006). The mighty mouse :genetically engineered mouse models in cancer drug development.Nat. Rev. Drug Discov.5(9):741-754.

Sharum ,I.B.(2017). Regulation of TGFβ/Smad Signalling During Early Follicle Development in the Mouse Ovary. PhD Thesis. University of Sheffield,**.**

Shay ,K.P.; Moreau ,R.F. ; Smith, E.J. , Smith , A.R. and Hagen , T.M. (2009). Alpha-lipoic acid as a dietary supplement molecular mechanisms and therapeutic potential . Biochim Biophy Acta ,1790:1149-1160.

She, Q.B.; Chen, N. and Dong,Z.(2000). ERKS and P53 kinase phosphorylate P53 protein at serine 15 in response to UV radiation. J.Biol. Chem.275:20444-20449.

Shen, Y.X.; Xu, S.Y.; Wei, W.; Sun, X.X. ;Liu, L.H.; Yang, J.; and Dong, C.(2002). The Protective effects of melatonin from oxidative damage induced by amyloid beta- peptide 25-35 in middle –aged rats. J. Pineal Res. 32:85-89.

Shen,Y.X.; Xu,S.Y.; Wei,W.;Sun, X.X.;Yang, J.; Liu,L.H.;Dong,C. (2002). Melatonin reduces memory changes and neural oxidative damage in mice treated with D-galactose .Journal of Pineal Research 32:173-178.

Shieh, S.Y.; Ikeda,M.; Taya,Y. and Prives,C.(1997). DNA damage – induced phosphorylation of P53 alleviates inhibition by MDM2.Cell.91:325-334.

Shigenaga, M.K.; Hagen ,T.M. and Ames,B.N. (1994) .Oxidative damage and mitochondrial decay in aging .Proc.Nati. Acadi. Sci .USA . 91, 10771-10778.

Shimokawa, I. and Trindade, LS. (2010). Dietary Restriction and Aging in Rodents: a Current View on its Molecular Mechanisms. Aging and Disease, 1: 89-104.

Shwe,T.;Pratchayasakul,W.;Chattipakorn,N.and Chattipakorn ,S.C. (2018). Role of D-galactose – induced brain aging and its potential used for therapeutic interventions .Experimental Gerontology .101:13-36.

Siems, W.; Crifo, C.; Capuozzo, E.; Uchida, K.; Grune, T.and Salerno, C. (2010). Metabolism of 4-hydroxy-2-nonenal in human polymorphonuclear leukocytes. Arch. Biochem. Biophys. 503:248–52.

Singh, U. and Jialal ,I.(2008). Alpha-lipoic acid supplementation and diabetes .Nutr. Rev. 66:646-657.

Siomek,A.(2012). NF-$_K$B signaling pathway and free radical impact. Acta. Biochim. Pol .59:323-31.

Sohal, R. S., Sohal, B. H. and Brunk, U.T. (1990). Relationship between antioxidant defenses and longevity in different mammalian species Mech. Ageing Dev. 53, 217 – 227.

Sola,S.;Mir,M.Q.S.;Cheema.F.A.; Khan-Merchant, N.; Menon, R.G.; Parthasarathy, S. and Khan,B.V. (2005). Irbesartan and lipoic acid improve endothelial function and reduce markers of inflammation in the metabolic syndrome: result of the Irbesartan and lipoic acid in endothelial dysfunction. (ISLAND) study.Circulation.111(3):343-348.

Song,X.;Xu,R.;Xie,F.;Zhu,H.;Zhu,J. and Wang,X.(2014). Hemin offers neuroprotection through inducing exogenous Neuroglobin in focal cerebral hypoxic-ischemia in rats .International Journal of Clinical and Experimantal Pathology.7(5):2163-3171.

Song ,X. ; Bao,M. ;Li ,D. and Li ,Y.M. (1999). Advanced glycation in D – galactose induced mouse aging model .Mech .Ageing Dev .108:239-251.

Spuch , C. ; Antequera , D. ; Bachiller ,M.F. ;Franco , M.R. and Carro, E. (2010). Anew tacrine –melatonin hybrid reduces amyloid burden and behavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease . Neurotox Res ;17:421-431.

Squire,L.R. and Schacter,D.L.(2002). Neuropsychology of memory.3rd ed .New york. NY. US.

Srikanth ,V. ; Maczurek,A,;Phan,T.;Steele ,M.; Westcott,B.; Juskiw,D. and Munch,G.(2009). Advanced glycation endproducts and their receptor RAGEin Alzheimer's disease .Neurobiol Aging.32(5):763-77.

Srinivasan, V.;Brzezinsk,A.; Oter,S. and Shillcutt,S.(2014). Melatonin's antioxidant properties :molecular mechanisms.In: Melatonin and melatonergic drug in clinical practice.Spriger,India:17-26.

Stadtman, E.R.(2006). Protein modification in aging. Free Radicals Res. 40:1250-8.

Stadtman , E.R.(2004). Protein modification in aging . Curr, Med. Chem. ,11:1105-1112.

Stadtman,E.R.(1992). Protein oxidation and aging. Science. 257 (5074): 1220-1224.

Stankov ,B.; Fraschini,F.and Reiter ,R.J.(1991). Melatonin binding sites in the central nervous system.Brain Res. 16:245-256.

Stanley,C.A.(2004). Carnitine deficiency disorders in children.AnnN. Y. Acad. Sci..1033:42-51.

Staveness, D.; Bosque, I. and Stephenson, C.R.(2016). Free radical chemistry enabled by visible light- induced electron transfer.Accounts of Chemical Research.49(1):2295-2306.

Steel,R. G.D. and Torrie, J.H.(1980). Principles and procedures of stastics.2nd ed .New York:MC Grow-Hill book company Inc.pp78-80.

Suh, J.; Wang, H.; Liu, R.; Liu, J. and Hagen, T. (2004). (R)-a-Lipoic acid reverses the age-related loss in GSH redox status while improving cerebral GSH levels by increased cysteine availability. Arch. Biochem. Biophys. 423:126–35.

Suh, J. H.; Shigeno, E. T.; Morrow, J. D.; Cox, B.; Rocha, A. E.; Frei, B. and Hagen, T. M.(2001). Oxidative stress in the aging rat heart is reversed by dietary supplementation with (R)-a-lipoic acid. FASEB J. 15: 700–706.

Suji, G. and Sivakami, S.(2004). Glucose , glycation and aging. Bio. gerontology .5:365-73.

Sun, J.H.; Liu, Y.M.; Cao, T. and Ouyang WQ.(2013). Effect of kinetin on ovary and uterus in D-galactose-induced female mouse model of aging. Acta Physiologica Sinica., 65(4):389–394.

Sun, S.W.; Yu,H.Q.; Zhang,H.; Zheng,Y.L.; Wang,J.J. and Luo,L. (2007). Quercetin attenuates spontaneous behavior and spatial memory impairment in D-galactose –treated mice by increasing brain oxidant capacity. Nutr.Res.27:169-175.

Sun,Y.; Jin, K..; Mao,X.O.; Xie, L.;Peel,A.;Childs, J.T.;Logvinova, A. ; Wang,X. and Greenberg, D.A.(2005). Effect of aging on neuroglobin expression in rodent brain. Neurobiol. Aging .26:275-278.

Szewczyk- Golec ,K.;Rajewski,P. ;Gackowski,M. ;Mila-Kierzenkowska, C. ; Wesolowski,R.; Sutkowy,P.; Pawlowska ,M. and Wozniak,A. (2017). Melatonin supplementation lowers oxidative stress and regulates adipokines in obese patients on a calorie-restricted diet. Oxidative Medicine and Cellular Longevity .Article ID8494107.

Szymanski, M.; Wang, R.; Fallin, M.D.; Bassett, S.S. and Avramopoulos, D.(2010). Neuroglobin and Alzheimer's dementia: genetic association and gene expression changes .Neurobiol Aging .31:1835-42.

Tachkonia, T.; Zhu,Y.; Van Deursen,J.; Campisi, J. and Kirkland, J. L (2013). cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities .J. Clin. Invest .123:966-972.

Tan, D.X.; Xu,B.;Zhou,X. and Reiter, R.J.(2018). Pineal calcification, melatonin production ,aging ,associated health consequence and rejuvenation of the pineal gland.Molecules.23:301.

Tan,F.C.; Hutchison,E.R.;Eitan, E. and Mattson,M.P.(2014). Are the roles for brain cell senescence in aging and neurodegeneration disorder ?Biogerontology .15:643-660.

Tan, D.X. ; Manchester, L.C. ; Sanchez-Barcelo,E. ; Mediavilla, M.D. and Reiter, R.J. (2010). Significance of high levels of endogenous melatonin in mammalian cerebrospinal fluid and in the central nervous system. Curr Neuropharmacol.;8(3):162-167.

Tandon, S. and Vohra, V K.(2006). Ageing; Current R&D Highlights, January March.

Tang ,T. and He,B.(2013). Treatment of D-galactose induced mouse with *LYCIUM BARBARUM* polysaccharides and it's mechanism study. Tang. and He Afr J. Tradit Complement Altern. Med. 10(4):12-7.،

Tanikawa,T.; Okada,Y.; Tanikawa,R. and Tanaka, Y.(2009). Advanced glycation end products induce calcification of vascular smooth muscle cells through RAGE/P38 MAPK. J .Vasc. Res .46:572-580.

Tartora,G.J. and Nilson,B.H.(2009). Principles of anatomy and physiology .12th ed. Vol.(1).John Wiley and Sons:448-451,625.

Taub, D.D. and Long,D.L.(2005). Insights into thymic aging and regeneration .Immuol. Rev .205:72-93.

Thornborrow, E.C. and Manfred, J.J.(2001). The tumor suppressor protein P53 requires a cofactor to activate transcriptionally the human Bax promoter. J.Biol. Chem. 276:15598-15608.

Tilives,R.S.;Kahonen-Vare,M.H.;Jolkkonen,J.;Valvanne,J.;Pitkala,K.H. and Strandberg,T.E.; (2004). Predictors of congnitive decline and mortality of aged people over a 10-years period .J. Gerontol. Med .Sci. 59A :268-274.

Tomassoni,D.;Amenta,F.; Di Cesare Mannelli,L.; Ghelardini, C. ; Nwankwo,I.E.; Pacini,A. and Tayebati, S.K. (2013). Neuroprotective activity of thioctic acid in central nervous system lesion consequent to peripheral nerve injury .Bio.Med. Res. Int 9:985093.

Torgerson, J.S.; Hauptman,J.; Boldrin, M.N. and Sjostrom,L.(2004). XEnical in the prevention of diabetes in obese subjects(XENDOS) study: a randomized study of orlistat as an adjust to lifestyle changes for the prevention of type 2 diabetes in obese patients. Diabetesv Care. 27:155-61.

Torregrossa, A.C.; Aranke,M. and Bryan,N.S.(2011). Nitric oxide and geriatrics implications in diagnostics and treatment of the elderly.J.Geriatr. Cardiol.8(4):230-42.

Tousson,E.; Hafez,E.;Zaki,S. and Gad,A.(2014). P53, Bcl-2 and CD68 expression in response to amethopterin- induced lung injury and ameliorating role of L- carnitine. Biomedicine and Pharmacotherapy. 68:631-639.

Tousson, E,; Rafat, B.; Hessien, M.; El Barbary, A.and Sami, A (2011a). P53 and Bcl2 Apoptosis proteins in meso-2,3-dimercaptosuccinic acid (DMSA) treated lead intoxicated rabbits. Toxicol. Ind. Health.27(3):271–8.

Tousson, E.; Alm-Eldeen, A. and El-Moghazy, M.(2011b). p53 and Bcl-2expression in response to boldenone induced liver cells injury. Toxicol. Ind. Health.27(8):711–8.

Tsai, S.J. and Yin,M.C.(2012). Anti-glycation and anti-inflammatory effects of protocatechuic acid in brain of mice treated by D-galactose .Food Chem .Toxicol.50:3198-3205.

Tsukita, S. and Furuse, M.(2000). Pores in the wall: claudins constitute tight junction strands containing aqueous pores. J. Cell Biol.149:13-16.

Ugart,N.; Petropoulos,I. and Friguet,B.(2010). Oxidized mitochondrial protein degradation and repair in aging and oxidative stress . Antioxid Redox Signal 13:539-549.

Ullah, F.; Ali , T. ; Ullah , N.and OK kim, M.(2015). Caffeine prevents d-galactose-induced cognitive deficits, oxidative stress, neuroinflammation and neurodegeneration in the adult rat brain. Neurochemistry International 90, 114–124.

Urata, Y. ;Honma ,S.and Goto,S. (1997). Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein -1 in human vascular endothelial cells. Free Radical Biology and Medicine ,27(1-2) 838-847.

Uzun, D. ; Korkmaz, G.G. ; Sitar, M.E. ; Cebe , T. ; Yanar,K.; Cakaty ,U.and Aydin, S.(2013). Oxidative damage parameters in renal tissues of aged and young rats based on gender. Clinical Intervention in Aging ,8:809-815.

Uzun,H.; Kayali, R. and Cakatay,U.(2010). The chance of gender dependency of oxidation of brain proteins in aged rats. Arch. Gerontol Geriatr .50:16-9.

Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M.T.; Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell. Biol. 39:44–84.

Van De Mark, K.; Chen,J.; Steliou, K.;Perrine,S.P. and Faller,D.(2003). α- lipoic acid induces $P27^{Kip1}$ –dependent cell cycle arrest in non-transformed cell lines and apoptosis in tumor cell lines. J. Cell Physiol .149:325-340.

Vandesompele, J. ; De Preter, K.; Pattyn, F.; Poppe, B.; Van Roy, N.; De Paepe, A. and Speleman, F. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. Genome Biol. 3(7): 0034.1–0034.11

VanElzakker,M.B. ; Fevurly ,R.D.;Breindel,T. and Sqencer,R. (2008). Enviromental novelty is associated with a selective increase in Fos expression in the output elements of the hippocampal formation and the peripheral cortex . Learn and Memory,15(12):899-908.

Varghese,J.F.; Patel,R. and Yadav,U.(2018). Novel insight in the metabolic syndrome -induced oxidative stress and inflammation-mediated atherosclerosis .Current Cardiology Reviews.14(1):4-14.

Velarde, MC., Flynn, JM., Day, NU., Melov, S. and Campisi, J.(2012). Mitochondrial oxidative stress caused by Sod2 deficiency promotes cellular senescence and aging phenotypes in the skin. *AGING J*., 4(1):3-12.

Venegas,C.; Garcia,J.;Escames,G. ; Ortiz, F.; Lopez,A.; Doerrier ,C.; Garcia-Corzo,L.; Lopez, L.C. ; Reiter ,R.J. and Acuna-Castrovieio,D. (2012). Extra pineal melatonin :analysis of its subcellular distribution and daily fluctuactions . J. Pineal Res.52:217-227.

Veskovic ,M.; Mladenovic, D.;Jorgacevic,B.; Stevaovic ,I.;Luka,S.D. and Radosavljevic,T.(2015). alpha-lipoic acid affects the oxidative stress in various brain structure in mice with methionine and choline deficiency. Experimental Biology and Medicine .240:418-425.

Victor,V.;**Rocha,M. and De La Fuente,M.(2004).** Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis .International Immunopharmacology. 4(3):327-347.

Vida,C.;De Toda,I.M.;Cruces,J.; Garrido,A.;Gonzales-Sanchez,M. and De La Fuente,M. (2017). Role of macrophage in age-related oxidative stress and lipofuscin accumulation in mice .Redox Biology.12,423-437.

Vina ,J. ; Borras ,C. and Miqual, J. (2007). Theroies of aging .IUBMB Life. 59(4-5):249-254.

Wall, B.T,; Stephaens ,F.B.; Constantin – Teodosiu,D. ; Marimuthu, K. ; Macdonald, I.A. and Greenhaff,P.L.(2011). Chronic oral ingestion

of L-carnitine and carbohydrate increases muscle carnitine content and alters muscle fuel metabolism during exercise in humans . J .Physiol .589:963 -73.

Wang, Z.; Wei,D. and Xiao,H.(2013). Methods of cellular senescence induction using oxidative stress. Methods Mol. Biol.1048:135-144.

Wang, D.L.; Liu, M.X.and Cao, J.C.(2012). Effect of Colla corii asini (E'jiao) on D-galactose induced aging mice. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 35(12):2128–2132.

Wang,X.; Wang, Z.; Yao,Y.; Li, J.;Zhang,X. Li, C. ;Cheng, Y.; Ding,G.;Liu,L. and Ding,Z.(2011). Essential role of ERK activation in neurite outgrowth induced by alpha- lipoic acid .Biochim. Biophys. Acta .1813:827-838.

Wang,J.; Zhang,H.Y. and Tang,X.C.(2010). Huperzine A improves chronic inflammation and cognitive decline in rats with cerebral hypoperfusion .J. Neurosci. Res.88:807-815.

Wang, L.; Bowman, L.; Lu, Y.; Rojanasakul, Y.; Mercer, R.R.; Castranova, V. and Ding,M. (2005). Essential role of p53 in silica-induced apoptosis. Am. J. Physiol.288: 488–96.

Watanabe,S.; Takahashi,N.;Urchida,H. and Wakasugi,K.(2012). Human neuroglobin function as an oxidative stress-responsive sensor for neuroprotection. Journal of Biological Chemistry.287:30128-30138.

Watanabe , S. and Wakasugi ,K. (2008). Neuroprotective function of human neuroglobin is correlated with its guanine nucleotide dissociation inhibitor activity . Biochem Biophys Res Commun ; 369:695-700.

Weinert, B.T. and Timiras, P.S. (2003). Theories of aging. Journal of Applied Physiology, 95:1706-1716.

Wenzel,U.; Nickel,A. and Daniel,H.(2005). α-lipoic acid induces apoptosis in human colon cancer cells by increasing mitochondrial respiration with a concomitant O_2^- generation.Apoptosis 10:359-368.

White,H.L. and Scates, P.W.(1990). Acetyl-L- carnitine as a precursor of acetylcholine.Neurochem Res ,15:597-601.

Wickens,A.P.(2001). Ageing and the free radical theory .Respir. Physiol. 128:379-391.

Winiarska, K.; Malinska, D.; Szymanski, K.; Dudziak, M. and Bryla J.(2008). Lipoic acid ameliorates oxidative stress and renal injury in alloxan diabetic rabbits. Biochimie. 90:450–459.

Winter,S.Jue,K.;Prochazka,J.;Francis,P.;Hamilton,W.andLinn,L. (1995) . The role of L-carnitine in pediatric cardiomyopathy. J .Child. Neruol .10(2):45-51.

Witko-Sarsat, V.; Friedlander,M.;Capeillere-Blandin,C.; Nguyen-Khoa,T .;Nguyen,A.T.; Zingraff,J.Jungers,P. and Descamps-Latscha ,B.(1996). Advanced oxidation protein products as a novel markers of oxidative stress in uremia. Kidney Int.49:1304-13.

Wongprayoon,P. and Govitrapong,P.(2015). Melatonin attenuates methamphetamine- induced neuroinflammation through the melatonin receptor in the SH-SY5Y cell line .Neurotoxicology.50:122-30.

Woodworth,J.C.**;Minton,j.e.and Tokach,M.D.(2004).** Dietary L-carnitine increases plasma leptin concentrations of gestating sows fed one meal per day.Domest. Anim.Endocrinol.26:1-9.

Wu,J. Q. ; Kosten,T. R. and Zhang, X.Y.(2013). Free radicals antioxidant defense system and schizophrenia. Progress in Neuro-Psychopharmacology and biological Psychiatry ,45,200-206.

Wu,D.M.;Lu,J. ;Zheng ,Y.L., Zhou ,Z.; Shan ,Q. and Ma,D.F . (2008) . Purple sweet color repairs D-galactose –induced spatial learning and memory impairment by regulating the expression of synaptic proteins. Neurobiol Learn Mem .90:19-27.

Wu,X.;George,R.L.;Huang,W.;Wang,H.;Conway,S.J.;Leibach,F.H. and Ganapathy,V.(2000). Structural and functional characteristics and tissue distribution pattern of rat OCTN1, an organic cation transporter, cloned from placenta. Biochim. Biophys. Acta.1466(1-2):315-327.

Xia,Z., Tian, X.; Kong , W.; Li, X.; Song,J.; Cai ,C. and Xu ,Q.(2018). Effects of L-carnitine on liver injury in rats and its impact on blood lipids. Int. J .Clin. Exp. Med .11(9):9768-9773.

Xu, S.; Waddell, J.; Zhu,W.; Shi,D.;Marshall,A.D.;McKenna,M.C. and Gullapalli, R.P.(2015). In vivo longitudinal proton magnetic resonance spectroscopy neonatal hypoxic-ischemic rat brain injury: Neuroprotective effects of acetyl-L- carnitine .Magn Reson Med .74:1530-1542.

Xu,W.L. ; Wang , C. L. ; Liao , Z. Y. ; Zhang , Y. L. ; Yu , L.H. ; Meng , F.W. ; Wang , X.X. ; Meng ,F.W. ; Yin , Z. Y. ; Qian , L. J. and Zhang , G.G.(2003). Identification of interaction and interaction domains between neuroglobin and Na(+), K(+)-ATPase beta 2 subunit .Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao (Shanghai) 35: 823-8.

Yamada,M.;Kaibori,M.;Tanaka,H.; Habara,K. ;Hijikawa,T.; Tanaka, Y.; Oishi, M.;Okumura,T.; Nishizawa,M. and Kwon, A.H. (2012). Alpha-lipoic prevents the induction of iNOS gene expression through destabilization of its mRNA in pro inflammatory cytokine-stimulated hepatocytes.Dig. Dis .Sci .57:943-51.

Yanar, k.; Aydin,S.; Cakatay, U.; Mengi, M.; Buyukpinarbasilr, N. ; Atukeren,P.; Sitar, M.; Sonmez,A.and Uslu,E.(2011). Protein and DNA oxidation in different anatomic regions of rat brain in amimetic aging model.Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology ,109:423-433.

Yang, P.; Jia,Q.;Jiang, Z.L. and Zhao, X.(2013). The influence of eleutheroside on blood glucose and blood lipid of D-galactose-induce rats through inhibiting blood superoxide dismutase activities. Advance Journal of Food Science and Technology, 5(7): 900-903.

Yao,D. and Brownlee,M.(2010). Hyperglycemia – induced reactive oxygen species increase expression of the receptor for advanced glycation end products (RAGE)and RAGE ligands . Diabetes ,59:249-255.

Ye, Y.; Jia, R.; Tang,L. and Chen, F. (2014) .In vivo antioxidant and anti-skinaging activities of ethyl acetate extraction from idesia polycarpa defatted fruit residue in aging mice induced by D-galactose. Evid. Based Complement Alternat Med. 18;571-6.

Ye,S.M. **and Johnson,R.W.(1999).**Increased interlukin-6 expression by microglia form brain of aged mice.J.Neuroimmunol.93:139-148.

Yildirim,S.; Yildirim ,A.;Dane,S.;Aliyev ,E . and Yigitoglu ,R.(2013). Dose-Dependent protective effect of L-carnitine on oxidative stress in the livers of hyperthyroid rats. The Eurasian Journal of Medicine.45:1-6.

Yu, Z.; Poppej,L. and Wang , X.(2013). Mitochoondrial mechanism Neuroglobins neuroprotection. oxidative medicine and cellular Longevity.1-11.

Yu,Z.; Liu,N.;Liu,J.;Yang,K. and Wang,X.(2012). Neuroglobin a novel target of endogenous neuroprotection against stroke and neurodegenerative disorders.Int. J. Mol.Sci.13:6995-7014.

Yuzuak ,H.; Akbulut,A.G. and Yuzuak,S.(2014).The effects of melatonin on the oxidants and antioxidants in the pancreatic tissue during the aging process. Journal of Clinical and Experimental Investigations.5(4):583-588.

Zhang,H.; Li,Y.;Cui.C.;Sun,T,;Han,J.;Zhang,D. and Su,X.(2018). Modulation of gut microbiote by dietary supplementation with tuna oil and algae oil alleviates the effects of D-galactose –induced ageing.Applied Microbiology and Biotechnology.102(6):2791-2801.

Zhang,B.; Ji , X.; Zhang , S. ; Ren ,H. ; Wang ,M. ; Guo , C. and Li , Y.(2013). Hemin- mediated neuroglobin induction exerts neuroprotection following ischemic brain injury through PI3K/AKT signaling . Molecular Medicine Reports ;8(2):681-685.

Zhang, Y.; Han,P.;Wu,N.;He,B.;Lu,Y.;Li,S.;Liu,Y. ; Zhao,S.;Liu,L. and Li,Y.(2011). Ameliorated of lipid abnormalities by α-lipoic acid through antioxidative and anti –inflammatory effects .Obesity (Silver Spring).19(8):1647-1653.

Zhang,X.I.;An,L.J.;Bao,Y.M.;Wang,J.Y. and Jiang,B.(2008).D-galactose administration induces memory loss and energy metabolism disturbance in mice : protective effects of catalpol. Food Chem .Toxicol .46:2888-2894.

Zhang,Y. and Herman,B.(2002). Ageing and apoptosis .Mech. Ageing Dev.123:245-260.

Zhong , J. and Liu , Y. (2018). Melatonin and age –related cardiovascular diseases. Aging Medicin ;1:197-203.

Zhong,L.;Huang,F.;Shi,H.;Wu,H.;Zhang,B.;Wu,X.;Wei,X. and Wang, Z.(2016). Qing ' E formula alleviates the aging process in D-galactose –induced aging mice.Biomedical Report.5:101-106.

Zhu, J.; Mu,X.; Zheng,J.; Xu,C.; Liu,J.;Zhang,M.;Li,C.; Chen,J.; Li,T.and Wang,Y.(2014). Ginsenoside Rg1 prevents cognitive impairment and hippocampus senescence in a rat model of D-galactose-induced aging. PLoS. One. 30. 9(6): e101291.

Zhu, X.; Gallogly, M.M.; Mieyal, J.J.; Anderson, V.E. and Sayre, L.M. (2009). Covalent cross-linking of glutathione and carnosine to proteins by4-oxo-2-nonenal. Chem. Res. Toxicol. 22:1050–9.

Zhu,X.; Smith,M.A.;Honda,K.; Aliev,G.; Moreira,P.I.; Nunomura,A. ;Casadesus,G.;Harris,P.L.; Siedlak,S.L. and Perry, G .(2007) . Vascular oxidative stress in Alzheimer disease.J .Neurol. Sci .257:240-246.

Zieve, D.(2009). In protein in diet : Medline Plus Medical Encyclopedia .Retrieved June 1.

Abstract

The present study was designed to identify the accompanying Senescence and aging as a physiological changes in the physiological functions and functions of the body and link physiological changes with the studied criteria and investigate the possibility of some of the substances described as possessing anti-aging properties to return or limit the change In these criteria will be assessed as an indicator of aging to its normal physiological level. The present study consisted of forty eight males of 4 months old white rats with an average weight of 250 grams and 24 male males aged 24 months with an average weight of 450 grams. The study was conducted in the animal house college of Veterinary Medicine / University of Mosul. The present study investigated the role of alpha-lipoic acid, melatonin and l-carnitine as antioxidants and anti-aging in rats, inducing aging with D- galactose and natural aging rats. Studied of some biomarkers of inflammation, such as tumor necrosis factor, interleukin-6 protein expression by immunohistochemistry, as well as some genetic markers of P53 gene expression and brain tissue changes due to oxidative damage to cells in D- galactose-induced aging rats and normal aging rats were studied. The present study was divided into two experiments: the first experiment used the rats created with induced aging with D- galactose, and the second experiment used the normal aging rats. In the first experiment, four-month-old rats were divided into eight groups with six rats per group. The groups were treated as follows the first group with distilled water orally and sub cutaneous administration and the control group was considered, the second group with D- galactose (300 mg / kg body weight) sub cutaneous and is induced aging group, the third group with alpha-lipoic acid (100 mg / kg body weight)orally, the fourth group with hormone Melatonin (10 mg / kg bw) orally, the fifth group with l-carnitine (100 mg / kg bw)orally, the sixth with D-galactose and alpha-lipoic acid, the seventh with D-galactose and melatonin, and eight with D-galactose and L-carnitinefor 15 months. In the second experiment the four natural aging groups were treated as follows: the first group with distilled water orally and considered control group, the second group with alpha-lipoic acid (100 mg / kg bw)orally, the third group with melatonin (10 mg / kg bw)orally, the fourth group with L - Carnitine (100 mg / kg bw) orally for 15 months. Morris water Maze test to test the memory and learning ability of the aging rats induced aging with D-

galactose and natural aging was conducted at three intervals experiment period, during which time was determined for swimming time, number of crossing and time required to reach the target (Platform). After fifteen weeks of daily treatment, blood samples were collected and serum was kept at -20 ° C for estimates. Brain samples were taken and histopathology was performed to determine the histological changes associated with aging. Small pieces of spleen were weighed and placed with liquid nitrogen and then kept at -80 ° C to detect the gene expression of the P53 gene. The results showed a significant decrease in body and brain weight and a significant increase in the level of Advanced oxidation protein products(AOPP), TBARS and Advanced glycation end products (AGEs), and a significant decrease in the level of glutathione(GSH). Treatment of the induced aging and normal aging group with alpha-lipoic acid, melatonin and L-carnitine resulted in significant decrease in AOPP, TBARS and AGEs levels and significant increase glutathione level in the blood. induced and natural aging caused significant increase in TNF-α, and Nitric oxide (NO) levels With lower levels when treated with alpha-lipoic acid, melatonin and L-carnitine. The study also showed a significant decrease in the level of Super oxide dismutase (SOD) and Neuroglobin (NGB) in the blood. The treatment with alpha-lipoic acid and the hormone melatonin and L-carnitine caused a significant increase in the level of the SOD and NGB. In addition, it showed a significant increase in swimming time, numbers of crossing, and time required to reach the target(platform)in the Morris Water Maze. While treatment with alpha-lipoic acid, melatonin hormone and l-carnitine significantly reduced the time required for swimming, the number of crossing and the time required to reach the target during the experiment period accompanied by histological changes of the hippocampus and cerebral cortex in the brain tissue of induced and natural aging rats. And the Treatment decrease with alpha-lipoic acid, melatonin and L-carnitine from these changes. Induced and natural aging led to a significant increase in the expression of interleukin-6 protein estimated in the brain tissue of the hippocampus and cerebral cortex by immunohistochemistry. And reduced by the treatment with alpha-lipoic acid, melatonin and L-carnitine caused significantly decrease in the expression of IL-6 protein. The level of gene expression of p53 gene estimates in the spleen by RT-PCR in the induced and natural aging rats was significantly decreased.

While the treatment with alpha-lipoic acid, melatonin and L-carnitine causes increase in the P53 gen expression significantly. We conclude from this study that aging works to induce oxidative damage and vital indicators of the occurrence of oxidative stress significantly way in rats. As well as tha t aging has a genetic influence by affecting the P53 gene. Treatment with galactose has accelerated the occurrence of aging process through the high production of AGEs and consequently harm to cellular molecules and oxidation of protein and lipid molecules. And the treatment with alpha-lipoic acid, melatonin and L-carnitine as antioxidant and anti-aging process reduced indicators of oxidative stress and reduce the effects associated with the aging process.

Role of Alpha-lipoic acid, melatonin and L-carnitine on Senescence biochemical and brain histolopathological changes in Galactose-induced male rats

A Thesis Submitted
By
Enas Osama H. A. Al-Babily

To
The Council of the College of Veterinary Medicine
University of Mosul
In
Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of philosophy Doctorate
In
Veterinary Medicine/Veterinary physiology

Supervised by

Prof.Dr.Fadwa Kalid Tawfeek

2020 A.D. **1441 A.H**

University of Mosul
College of veterinary medicine

Role of Alpha-lipoic acid, melatonin and L-carnitine on Senescence biochemical and brain histolopathological changes in Galactose-induced male rats

Enas Osama H. A. Al-Babily

Ph.D.Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary physiology

Supervised by

Prof.Dr.Fadwa Kalid Tawfeek

2020 A.D. **1441 A.H.**

University of Mosul
College of veterinary medicine

Role of Alpha-lipoic acid, melatonin and L-carnitine on Senescence biochemical and brain histolopathological changes in Galactose-induced male rats

Enas Osama H. A. Al-Babily

Ph.D.Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary physiology

Supervised by

Prof.Dr.Fadwa Kalid Tawfeek

2020 A.D. **1441 A.H**