



Contemporary International Scientific Forum  
for Educational, Social, Human, Administrative and Natural Sciences  
"Present Vs Future Outlook"

الملتقى العلمي الدولي المعاصر  
للعلوم التربوية والاجتماعية والانسانية والادارية والطبيعية

"نظرة بين الحاضر والمستقبل"

30 - 31 ديسمبر - 2019 - اسطنبول - تركيا

<http://kmshare.net/isac2019/>

---

## Influence of ageing on Isolated Elastin from White Male Rabbit Lungs

Sarab D.Alshamaa <sup>a</sup>, Ghazwa K.Al-Tae <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Biology Department/College of Science/University of Mosul

[drsarabalshamaa@yahoo.com](mailto:drsarabalshamaa@yahoo.com)

**Abstract:** Elucidation of ageing effects on some biochemical characters of isolated elastin proteins from white male rabbits lungs had been done in this research. The results revealed biochemical changes in purified elastin that include increase in its content in lung tissues extract between 0.214-0.957g in rabbits lungs aged on month and one year respectively while the percentage of total elastin dry weight/lung dry weight decreased in 3.5 years rabbits group 0.749 compared with rabbit group in 1.5 years 0.879. Structural changes of purified elastin with ageing had been also shown in this research, these changes elucidate increase in carbons content of lung tissues from  $0.02 \pm 0.002$ g in one month to  $0.138 \pm 0.007$ g in one year and  $0.263 \pm 0.01$ g in 3.5 year, while the percentage of carbon weight/purified elastin weight show significant increase  $0.31 \pm 0.02$ ,  $0.56 \pm 0.05$ ,  $0.7 \pm 0.07$  in one month, 1.5 years and 3.5 years respectively. Result also show a decreased in the fluorescent absorbance intensity of purified elastin that confirmed the decreased in elastin content in lungs tissues and the stiffness of purified elastin in ageing .

**Keywords:** Elastin proteins, White male rabbits lungs, lung tissues



## تأثير تقدم العمر على الايلاستين المعزول من رئات ذكور الارانب البيض

سراب داؤد الشماع\* استاذ مساعد غزوة خليل علي

قسم علوم الحياة /كلية العلوم /جامعة الموصل

### الملخص

تم في هذا البحث بيان تأثير تقدم العمر على بعض الصفات الكيموحيوية للايلاستين الذي تم عزله وتنقيته من مستخلصات انسجة رئات ذكور الارانب النيوزلندية البيضاء والتي تراوحت اعمارها بين شهر واحد - وثلاث سنوات ونصف حيث زادت كمية بروتينات الايلاستين المعزولة من مستخلصات هذه الانسجة زيادة طردية بتقدم العمر فبلغت  $0.957 \pm 0.009$  غم بعمر ثلاث سنوات ونصف و  $0.436 \pm 0.006$  بعمر سنة مقارنة بكميتها  $0.003 \pm 0.214$  غم بعمر شهر وظهر التحليل الاحصائي فرقا معنويا واضحا بكمية هذه البروتينات بينما أظهرت نسبة وزن الايلاستين/وزن الرئة الجاف انخفاضا معنويا واضحا بتقدم العمر فكانت  $0.749 \pm 0.005$  بعمر ثلاث سنوات ونصف مقارنة بعمر سنة ونصف  $0.879 \pm 0.005$  مما يدل على زيادة صلابة انسجة الرئة بتقدم العمر كون بروتينات الايلاستين هي التي تعطي المرونة لانسجة الرئة. اضافة الى ذلك فقد اظهرت النتائج تغييرات تركيبية هذه البروتينات حيث زادت كمية الكاربون في الرئة اليسرى من  $0.02 \pm 0.002$  غم بعمر شهر الى  $0.138 \pm 0.007$  غم بعمر سنة ونصف و  $0.263 \pm 0.01$  غم بعمر ثلاث سنوات ونصف اما نسبة وزن الكاربون/نسبة وزن الايلاستين الجاف فقد أظهرت زيادة طردية بتقدم العمر  $0.31 \pm 0.02$  بعمر شهر،  $0.56 \pm 0.05$  بعمر سنة ونصف و  $0.70 \pm 0.07$  بعمر ثلاث سنوات ونصف كما اظهر التحليل الاحصائي باستخدام اختبار دنكن فرقا معنويا واضحا عند مستوى احتمال  $P < 0.05$ . وعند قياس شدة الامتصاصية الفلورنسية للايلاستين المعزول فقد انخفضت بتقدم العمر مما يؤكد انخفاض كمية الايلاستين في انسجة الرئات وزيادة صلابتها بتقدم العمر.



## المقدمة

يبنى بروتين الايلاستين ويفرز من قبل العديد من أنواع الخلايا في الرئة مثل الأرومة الغضروفية الأرومة الليفية العضلية وخلايا العضلات الملساء وخلايا الظهارة المتوسطة (Abdelhalim et al. 2010). إن عملية ترجمة mRNA لبناء هذا البروتين تحدث على سطح الشبكة الاندوبلازمية الخشنة ومع تحرر ببتيده الاشارة ينتقل هذا البروتين عبر تجويف هذه الشبكة ويفرز عن طريق حويصلات افرازية الى غشاء البلازما كبروتين مذاب ذا وزن جزيئي KD72 يطلق عليه بالايلاستين الأولي proelastin الذي يرتبط مع بروتين خاص chaperons يقوده داخل الخلية ويقيه من التحلل (Hinek & Rabinovitch, 1994) ثم يتكون معقداً ثلاثياً من البروتين - الايلاستين بالارتباط مع مستقبلات خاصة تكون مهمة في توجيه الايلاستين الأولي الى مواقع تكوين الالياف. أوضح العديد من الباحثين (Vrhovski & Weiss, 1998) ان هناك العديد من متناظرات الايلاستين الأولي تم الحصول عليها بسبب القطع الانتخابي لنتائج استنساخ الجين المشفر للايلاستين ويعتقد بأن لهذا القطع الانتخابي المنظم أهمية تطويرية بالتغيرات الحاصلة أثناء تطور الرئة بتقدم العمر. يتفاعل الايلاستين الأولي مع بروتينات سكرية خاصة لتكوين الياف مرنة. ينظم هذه العملية أنزيم Lysyl oxidase بالاعتماد على النحاس في فعاليته والذي ينظم إزالة الأمين التأكسدي من الحامض الأميني E Lysine حيث يعمل على تحويله الى Allysine، وتتكاثر ثلاث وحدات من allysine مع الحامض الأميني E Lysine لتتكون تقاطعات تعرف بـ desmosine , isodesmosin (Reiser et al., 1992) . وبالرغم من كون الايلاستين الأولي ذائباً في الماء ويتم أبيضه سريعاً بواسطة مجموعة من الانزيمات المحللة للبروتين ، إلا أن الايلاستين الناضج والحاوي على التقاطعات الثانوية يكون غير ذائب وذا تركيب ثابت ، وإن حصول أي خلل نتيجة التحلل البروتيني غير المسيطر عليها أو عدم حصول التقاطعات الكاملة للايلاستين أو التنظيم غير الطبيعي لتكوين الالياف المرنة ينتج عنها حالات مرضية مختلفة تقلل من الكفاءة الوظيفية للرئة . لقد اوضح (Kielty et al., 2002) ان الالياف التي تحتوي على الايلاستين والتي يطلق عليها elastic fibers تتكون من مركز ايلاستيني محاط بمجموعة من الليفات الدقيقة microfiberils والتي تكون مؤلفة بصورة رئيسية من بروتينات fibrillin تتواجد هذه الالياف في الانسجة الرابطة المبطنة للاوعية الدموية ، الرئة ، الجلد ، حيث تعطى المرونة والصفات الاساسية التي تتطلبها طبيعة هذه الانسجة.



وتكون هذه الالياف ذات طبيعة بايولوجية معقدة لاحتوائها على العديد من المكونات المترابطة مع بعضها ويكون بناء وتنظيم توزيع هذه الالياف تحت سيطرة محكمة خاصة في المراحل التطورية المختلفة .

### المواد وطرائق العمل

#### تحضير المستخلص الرئوي

قطعت عينات الرئة اليمنى (R) واليسرى (L) ولجميع الاعمار الى قطع صغيرة وأجري لها عملية سحن ومجانسة مع محلول PBS و pH 7.4 باستخدام جهاز السحن والمجانسة الكهربائية لمدة 2/1 دقيقة عند سرعة 400 دورة/دقيقة للنسيج , وكانت انبوبة الجهاز مغمورة في الثلج المبروش اثناء عملية المجانسة ثم اجري بعدها تفجير للجدر الخلوية باستخدام جهاز الترددات فوق الصوتية وعلى ثلاث مراحل لمدة 10 ثانية، ثم أجري بعدها طرد مركزي بسرعة 3000 دورة /الدقيقة ولمدة 15 دقيقة للعينات الحاوية على المستخلص الرئوي لفصل الراشح عن الراسب , تُجمع الراشح للرئة اليسرى (L) بعناية لكل عمر لاستخدامه في الاختبارات البايوكيميائية اما الراسب للرئة اليمنى واليسرى (R)&(L) فأجريت له عملية استخلاص للدهون.

التي تمت لجميع الاعمار حسب طريقة (Daamen et al., 2001) باستخدام المذيبات العضوية الآتية: الميثانول: الكلوروفورم (حجم/حجم) 2:1. وتم متابعة الاستخلاص باستخدام الايثانول 100% (مرتان). الايثر : الايثانول (حجم/حجم) 50:50 (مرتان). واستخدام الايثر 100% (مرتان). غُسل الراسب بعدها بالمحلول الملحي الفسلجي وأحتفظ به لحين استخدامه في استخلاص الايلاستين.. بعد استخلاص الدهون من نسيج الرئة لكل عمر تجفد بقايا النسيج بدرجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة بعدها نحصل على نسيج جاف خالٍ من الدهون (DryFat-Freeweight D.F.F.wt) , يُخزن بالتجميد عند درجة حرارة - 20م لغرض استكمال عملية استخلاص الايلاستين.

#### استخلاص الايلاستين

تم استخلاص بروتينات الايلاستين من مسحوق نسيج الرئة الجاف الخالي من الدهون وحسب طريقة (Harris, 1986) أخذ مسحوق الرئة الجاف الخالي من الدهون لكل عمر ودُوب في كلوريد الصوديوم 0.15M NaCl بمعدل 1 سم<sup>3</sup>/50 ملغم، وُضع المعلق جانبا لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 4 م. البروتينات المذابة فصلت بجهاز الطرد المركزي



المبرد بسرعة  $105.000 \text{ g} \times$  ولمدة نصف ساعة عند درجة حرارة  $5 \text{ م}^{\circ}$  , و أُعيد استخلاص الراسب طول الليل بنفس الحجم السابق من  $0.15 \text{ M NaClO}$  ثم اجري طرد مركزي مبرد، الراشح يهمل لأنه يمثل البروتينات المذابة أما الرواسب المستخلصة أُضيف لها الماء المقطر و وُضعت في جهاز المعقم عند ضغط  $80 \text{ IPS}$  ودرجة حرارة  $120 \text{ م}^{\circ}$  ولمدة 6 ساعات , ثم تركت بعدها لتبرد الى درجة حرارة الغرفة بعدها أُستخدم جهاز الطرد المركزي المبرد لعزل الراشح الذي يمثل الكولاجين عن الراسب الذي يمثل الايلاستين . ذُوبت بقايا الراسب من كل مجموعة والمستحصل عليها في  $0.1 \text{ M NaOH}$  وسُخنت في حمام مائي مغلي لمدة ساعة كاملة ثم بُردت الى درجة حرارة الغرفة بعدها غُسلت مرتين , الاولى  $0.1 \text{ M NaOH}$  بارد متبوعة بالماء المقطر البارد . تُمثل البقايا القاعدية غير الذائبة اجزاء الايلاستين والتي جُفدت جيداً بجهاز التجفيد ثم وزنت لتُمثل الوزن الجاف للإيلاستين ثم اخذت النسبة المئوية لوزن الإيلاستين الجاف غم /وزن الرئة الجاف غم .

#### قياس شدة المطيافية الفلوريسية

ذُوبت عينات الايلاستين المستخلصة من نسيج الرئة وبمحدود  $20 \text{ ملغم}$  للأعمار المختلفة وذلك بإضافة  $5 \text{ سم}^3$  من حامض الهيدروكلوريك المركز داخل انابيب زجاجية و وُضعت في حمام مائي مغلي لمدة ساعتين حسب طريقة (Jone & Thomas, 1972) . تقاس الفعالية الفلوريسية عند الاطوال الموجية  $200-800 \text{ nm}$  باستخدام المحلول القياسي  $1 \text{ مايكرومولار quinine sulphate}$  مع  $0.1 \text{ مولار } \text{MH}_2\text{SO}_4$  كمحلول كفي (Blank) , لأعطاء شدة بمحدود  $40\%$  .

#### الكشف عن وجود الكاربوهيدرات في المادة المستخلصة (الايلاستين)

أجري كشف مولش على جميع العينات المستخلصة لجميع الاعمار حسب طريقة (Plummer, 1978) : حيث أُضيفت كميات متساوية من محلول العينة المراد الكشف عن وجود الكاربوهيدرات فيها مع كاشف مولش داخل انبوية اختبار زجاجية، تُرَج جيداً , بعدها أُضيفت قطرات من حامض الكبريتيك المركز بعناية وعلى جدران الانبوية الزجاجية المائلة.



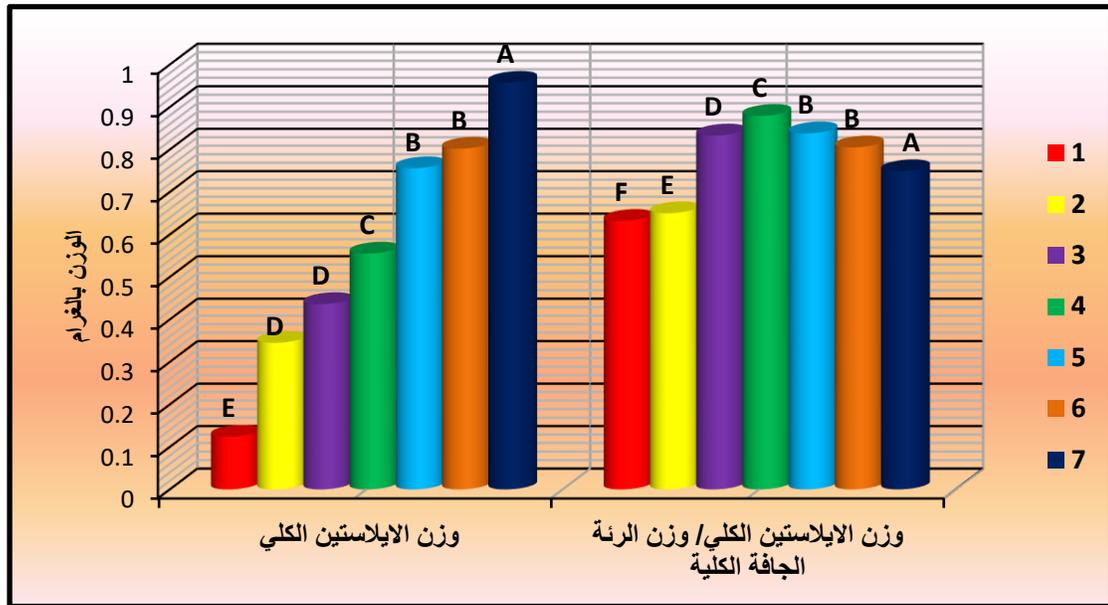
### تقدير كمية الكربون في الايلاستين

قُدرت كمية الكربون الموجودة في الإيلاستين المنقى للأعمار المختلفة حسب طريقة (John & Thomas, 1972) حيث وضع الإيلاستين المجفد في أنابيب زجاجية صغيرة وأُضيف له حامض  $MHCl 5.7$  بمعدل 5 سم<sup>3</sup> لكل 30 ملغم وتم غلقها بإحكام و وضعها في حمام مائي مغلي لمدة ساعتين ثم بُدلت بجهاز الطرد مركزي لفصل بقايا الكربون التي غُسلت بالماء المقطر أكثر من مرة ثم رُشحت وجُففت بالفرن ثم وُزنت .

### النتائج والمناقشة

بينت نتائج هذه الدراسة زيادة الوزن الكلي للإيلاستين زيادة طردية بتقدم العمر حيث بلغت هذه الأوزان (0.957غم) في رئات الأرناب بعمر 3.5 سنة مقارنة بكميتها في رئات الأرناب في عمر شهر حيث كانت (0.214غم) للإيلاستين وأظهر التحليل الإحصائي فرقاً معنوياً بكمية الايلاستين بين هذين العمرين ، أما نسبة وزن الايلاستين الكلي غم/ وزن الرئة الجاف الكلي غم فإنها تزداد زيادة طردية في رئات الأرناب من عمر (شهر ولحد السنة والنصف) حيث تصل الى (0.879غم) ولكنها تعود فتتخفف في الاعمار المتقدمة حتى تصل الى (0.749غم) في رئات الأرناب بعمر ثلاث سنوات ونصف مما يدل على قلة مرونة الانسجة الرئوية بتقدم العمر. شكل (1) وأظهرت نتائجنا اتفاقاً مع النتائج التي حصل عليها كل من (Cattel , واخرون 1996) في دراسة قاموا بها على 20 أبقار لأشخاص تتراوح أعمارهم بين 14-90 سنة ، حيث وجدوا ان تركيز كل من الكولاجين والايلاستين يزداد بصورة ملحوظة بتقدم العمر وأن هذه الزيادة تحدث بعد عمر 45 سنة . وكذلك (Cantini et al., 2001) في دراستهم حول التغييرات المختلفة لجدار الأبقار حيث وجدوا بأن الوزن الجاف لجدار الأبقار للجردان بأعمار مختلفة يتناقص ببطء (-14%) مع تقدم الجردان بالعمر ، كما استنتجوا بأن المحتوى الكلي للبروتينات وبروتيني الايلاستين و الكولاجين لا يحصل بها تغير ملحوظ بتقدم العمر. وأشار الباحثان (Nadrell & Brody, 1982) إلى ارتباط التغييرات المظهرية والخصائص الميكانيكية لرئات الجردان بتركيز كل من بروتيني الايلاستين والكولاجين ، فالايلاستين له علاقة بحجم الرئة واتساع الاسنخ الرئوية أما الكولاجين فله علاقة بسلامة تركيب الرئة ومقاومته للتمزق . أما الباحثين (Osakabe et al., 2001) فقد توصلوا الى أن المحتويات الحشوية ما بين الخلايا للأربطة الصفراء في الإنسان مثل الايلاستين والكولاجين والبروتينات السكرية تميل إلى الانخفاض مع التقدم بالعمر ووجدوا أيضاً انخفاض التقاطعات الحاصلة للإيلاستين بتكوين 1-Desmosine و 2-Desmosine بتقدم العمر. في حين بين الباحثين (Mikulikova et al 2008) ، بأن التغييرات في نسيج الرئة والمرافقة لتقدم العمر تشمل

انخفاضاً تدريجياً لكل من الايلاستين والكولاجين، في حين ينخفض المحتوى الليفي للايلاستين ويرتفع المحتوى الكولاجيني في النسيج الخلالي مابين الخلايا. (Shifren et al., 2007) استنتجوا أن المستويات المنخفضة للايلاستين تعد عاملاً محددًا في تطور الرئة الطبيعية عند دراستهم على الفئران ، ويبدو أن الكميات المنخفضة من تقاطعات الايلاستين يكون مطلوب لتعزير النمو الطبيعي والوظيفي للاسناخ الرئوية . حيث تساهم تقاطعات الكولاجين والايلاستين في استقرار اللييفات عن طريق التقاطعات بين الجزيئات الداخلية والبينية ومتانة الحشوة الخارج خلوية .



- القيم معبر عنها بالمتوسط الحسابي  $\pm$  الانحراف القياسي هو 3 مكررات.
- الاشكال المتبوعة بحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال ( $P \leq 0.05$ ) والعكس صحيح حسب اختبار دنكن.

الشكل (1): تأثير تقدم العمر على وزن الايلاستين الكلي ونسبة وزن الايلاستين الكلي/وزن الرئة الجاف الكلي

لرئات الارانب بأعمار مختلفة تتراوح بين (شهر - ثلاث سنوات ونصف)

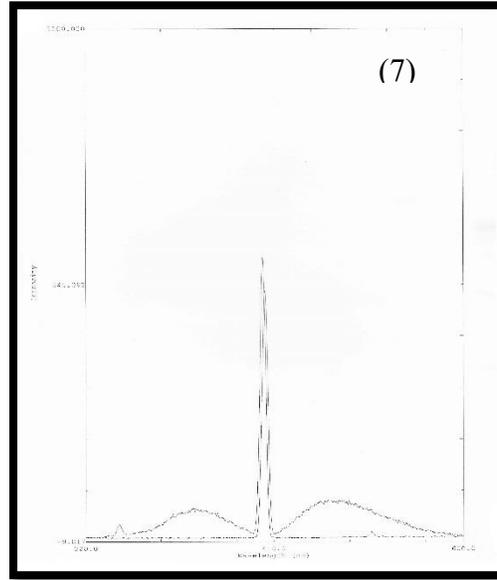
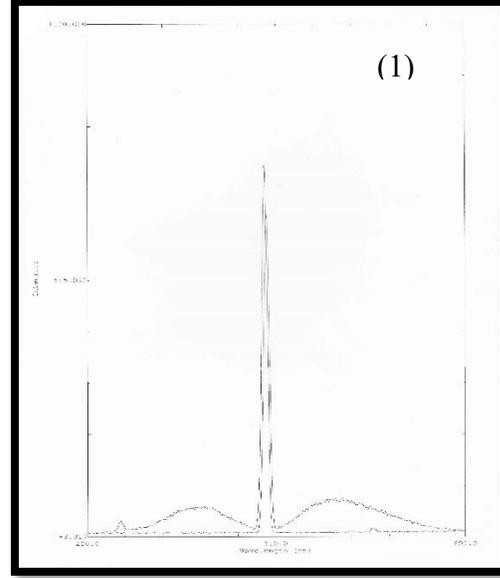
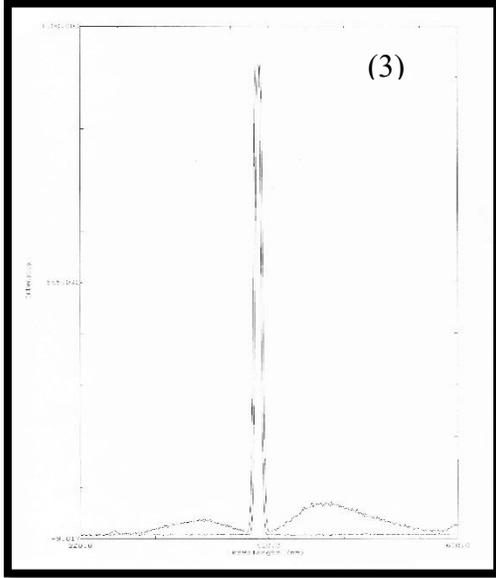
فضلاً عن التحور التناظري Racemization الذي يمثل تفاعلاً كيميائياً تلقائياً يؤدي إلى تغيير الأحماض الأمينية من نوع L-aminoacid إلى D-aminoacid للبروتينات التركيبية مثل الايلاستين والكولاجين خاصة الحامضين الامينين Serine و Asparagine اللذين تحدث فيهما هذه التحورات التناظرية (Fujii, 2005). ووجد



(Hipkiss, 2006) إن نسبة التحور التناظري للبروتينات التركيبية تزداد بتقدم العمر وتعد دليلاً للأنسجة المتقدمة في العمر. وإن التغيير في تركيب ووظيفة البروتين عن طريق التحور التناظري للـ Asparagine قد سجل أولاً في الببتيدات المصنعة خارج الجسم الحي invitro من قبل Sakai-Kato وجماعته (2007).

### قياس شدة المطيافية الفلورنسية للايلاستين

يوضح الشكل (2) شدة المطيافية الفلورنسية للايلاستين المستخلص من أنسجة رئات الأرنب باعمار مختلفة (شهر - سنة ونصف - ثلاث سنوات ونصف) وعند الأطوال الموجية (nm-600220)، حيث تم الحصول على أعلى شدة مطيافية فلورنسية عند الطول الموجي nm397 مع وجود قمتين مطيافيتين أخرتين عند الأطوال الموجية (334 و nm450). وعند مقارنة شدة المطيافية الفلورنسية للايلاستين المستخلص من هذه الرئات، أظهر الايلاستين المستخلص من رئات الأرنب بعمر سنة ونصف أعلى شدة فلورنسية حيث بلغ nm938 في حين أظهر الايلاستين المستخلص من رئات الأرنب بعمر ثلاث سنوات ونصف أقل شدة مطيافية nm650. قد يشير هذا إلى قلة التقاطعات الفلورنسية في بروتين الايلاستين بتقدم العمر عند مقارنتها بالتقاطعات في العمر المتوسط، كما أن هذا الاختلاف في شدة المطيافية الفلورنسية تعد مؤشراً بوجود اختلاف في كمية الايلاستين المستخلصة بتقدم العمر. وهذا يتفق مع ما جاء به الباحثان (John & Thomas, 1972) بأن كمية الايلاستين المستخلص من النسيج البرنكي للثة تزداد بحوالي 8% في الأعمار الصغيرة مقارنة بالأعمار الكبيرة في الإنسان، ولكن بنفس الوقت قلت نسبة كمية الكولاجين / الايلاستين، كما أوضحنا اختلافاً في كمية الأحماض الأمينية المختلفة في الايلاستين ما بعد العقد الخامس من العمر فالاحماض الأمينية aspartic acid، glutamic acid، arginine، lysine أصبحت أعلى فضلاً عن كل من الأحماض الأمينية serine، threonine، alanine، glycine أما الاحماض الأمينية valine فقد قلت، والأحماض الأمينية للتقاطعات desmosine و isodesmosine فقد قلت كميتها أيضاً في الايلاستين المستخلص من الأعمار الكبيرة في حين زادت الأحماض الأمينية لتقاطعات Lysinonorleucine في ايلاستين الأعمار الكبيرة.



الشكل (2): تأثير تقدم العمر على شدة المطيافية الفلوريسية للايلاستين المستخلص من رئات الارانب باعمار مختلفة.

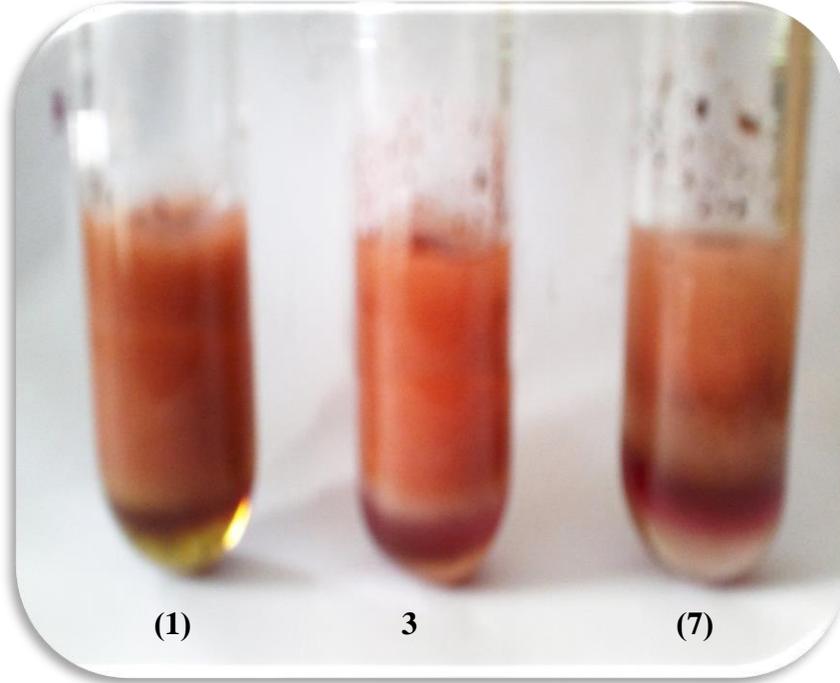
(1) عمر شهر واحد؛ (3) عمر سنة ونصف؛ (7) عمر ثلاث سنوات ونصف



وعند مقارنة شدة المطيافية الفلورنسية التي تم قياسها في الدراسة الحالية للأيلاستين وجد أنها تشابه المطيافية الفلورنسية التي حصل عليها كل من (John & Thomas, 1972) عند الأطوال الموجية 393/336nm حيث تم الحصول على أعلى شدة مطيافية فلورنسية عند الطول الموجي 397nm فضلاً عن شدة مطيافية فلورنسية أقل عند الطول الموجي 334 وعند الطول الموجي 450nm ، ولذا فإن استخدام هذه التقنية يعد مؤشراً على مدى نقاوة الأيلاستين المستخلص في الدراسة الحالية مقارنة بالمطيافية الفلورنسية للأيلاستين المستخلص من قبل هذين الباحثين أما (Yamamoto et al., 2002) فقد بينوا دور الأكسدة السكرية Glycooxidation وبيروكسدة الدهن Lipid peroxidation في إيلاستين الأبر في الإنسان وعلاقتها بأمراض الأوعية القلبية وخاصة مرض تصلب الشرايين المرافقة للتقدم في العمر . وأوضحت دراسات عديدة بأن نواتج التأخر السكري المتقدم (Carboxymethyle) NE-Lysine (AGES) وكذلك pentosidin تتجمع في ألياف إيلاستين الجلد والأرطة الصفراء للإنسان (Chen et al., 2000). أما الباحث (Monici, 2005) فقد أوضح بأن شدة المطيافية الفلورنسية الذاتية Autofluorescence من الممكن ملاحظتها في بعض الجزيئات الحيوتية مثل NADH- Flavin فضلاً عن المكونات الأساسية للحشوة الخارج خلوية الكولاجين والأيلاستين لأنسجة الجسم المختلفة ، وأن هذه الفلورنسية تزداد بتقدم العمر .

### الكشف عن وجود الكاربوهيدرات في المادة المستخلصة

يشير الشكل (3) أن الأيلاستين الذين تم استخلاصه وتنقيته يحتوي على وحدات كاربوهيدراتية أي أنها بروتينات سكرية glycoprotein وذلك من خلال ملاحظة النتيجة الموجبة لكشف مولش (تكوين حلقة بنفسجية) وهذا مماثل لما استنتجه العديد من الباحثين من أن هناك تحويرات في التركيب البروتيني يصاحب التقدم في العمر يعزى إلى التفاعل الحاصل بين البروتين والسكريات المختزلة Maillard reaction والذي يعتقد بأنه يتداخل مع العديد من التغييرات النسيجية المرتبطة بتقدم العمر (Ulrich & Cerami, 2001) .



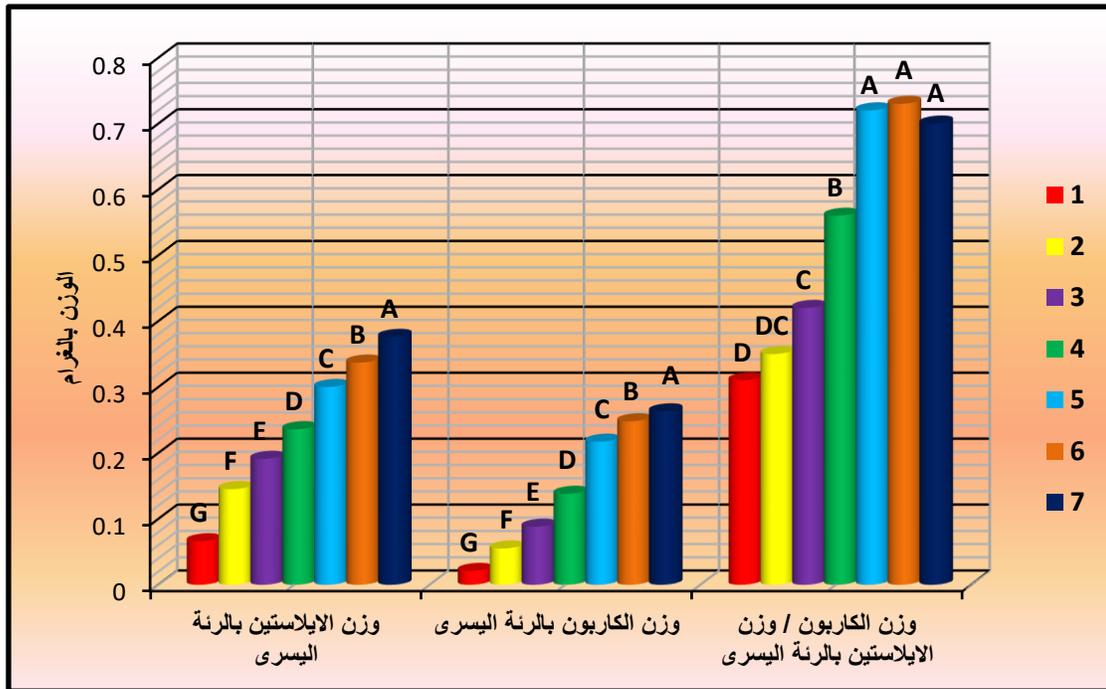
الشكل (3): تأصر الكاربوهيدرات مع الايلاستين بتقدم العمر  
(1) عمر شهر واحد ؛ (3) عمر سنة ونصف ؛ (7) عمر ثلاث سنوات ونصف

إن مستوى هذه النواتج النهائية للتأصر بنوعيتها تزداد في الأنسجة المختلفة من ضمنها نسيج الرئة بتقدم العمر والتي يعزى لها قلة مرونة الأنسجة المتقدمة في العمر (Bailey 2006)

#### تقدير كمية الكاربون في الايلاستين

أظهرت نتائج دراستنا الحالية زيادة وزن الكاربون في بروتين الايلاستين الذي تم استخلاصه وتنقيته من الرئة اليسرى للأرانب عند التقدم بالعمر كما جاءت نتيجة نسبة وزن الكاربون/ وزن الايلاستين في الرئة اليسرى مماثلة ، إذ لاحظنا زيادة هذه النسبة طرديا واتفقت هذه النتائج مع ما وجدته كل من (John & Thomas, 1972) في دراستهما على الأجر البشري إن بروتين الايلاستين المستخلص من الأجر يلاحظ فيه ترسب للكربون ، والذي تم قياس كميته بعد العقد الثالث

(العمر المتوسط للبشر) حيث لوحظ زيادة هذه الكمية إلى حوالي 4% من الوزن الجاف لبروتين الايلاستين. فضلاً عن كون الايلاستين المنقى من الأنسجة البرنكيميّة للرئة كان ابيض اللون في الأعمار الصغيرة ورمادياً في الأعمار المتوسطة واصبح اسوداً في الأعمار الكبيرة جداً وقد يعود هذا إلى زيادة نسبة عنصر الكاربون في الايلاستين واتفقت هذه النتائج مع ما تم الحصول عليه في الدراسة الحالية حيث زادت نسبة الكاربون / وزن الايلاستين (L) وخاصة في الأعمار الكبيرة ، ما يعزى إليه اللون الغامق للايلاستين المعزول من أنسجة الأرباب بعمر ثلاث سنوات ونصف مقارنة باللون الفاتح لايلاستين الأرباب بعمر الشهر وقد يعود انخفاض شدة المطيافية الفلورنسية الى هذه الأسباب السالفة الذكر. بتقدم العمر إلى حد سنتين ونصف ثم انخفضت في عمر ثلاث سنوات ونصف، الشكل(4)..



- القيم معبر عنها بالمتوسط الحسابي  $\pm$  الانحراف القياسي هو 3 مكررات.
- الاشكال المتبوعة بحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال ( $P \leq 0.05$ ) والعكس صحيح حسب اختبار دنكن.

الشكل (4): تأثير تقدم العمر على وزن الكاربون بالرئة اليسرى ونسبة وزن الكاربون / وزن الايلاستين في الرئة اليسرى للأرباب بأعمار مختلفة تتراوح بين (شهر - ثلاث سنوات ونصف)



## المراجع : References

- Abdelhalim, M.A.K.; Alhadlaq, H. A. and Moussa, S. A. (2010). Elucidation of the effects of a high fat diet on trace elements in rabbit tissues using atomic absorption spectroscopy. *Lipids Health Dis.*, 9(2):1-7
- Vrhovski, B. and Weiss, A.S. (1998). Biochemistry of tropoelastin. *Eur. J. Biochem.*, 258(1):1-18
- Reiser, K.; McCormick, R.J. and Rucker, R.B. (1992). Enzymatic and nonenzymatic cross linking of collagen and elastin. *FASEB J.*, 6:2439-2449
- Milewicz, D.M. (1998). Molecular genetics of Marfan syndrome and Ehlers-Danlos type IV. *Curr. Opin. Cardiol.*, 13(3):198-204
- Kielty, C.M.; Sherratt, M.J. and Shuttleworth, C.A. (2002). Elastic fibers. *J. Cell. Sci.*, 115(14): 2817-2828.
- Daamen, W.F.; Hafmans, T.; Veerkamp, J.H. and Van Kuppevelt, T.H. (2011). Comparison of five procedures for the purification of insoluble elastin. *Biomaterials*, 22(14).
- Jone, R. & Thomas, J.(1972). Chemical composition of elastins isolated from aorta and pulmonary tissues of humans of different ages. *Biochem. J.*, 127(1):261-269.
- Harris, E.D. (1986). Biochemical defect in chick lung resulting from copper deficiency. *J. N.*, 116(2):252-258.
- Plummer, T.D. (1978). An introduction to practical biochemistry, 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, U.K., p:362.
- Cattel, M.A.; Anderson, J.C. and Hasleton, P.S. (1996). Age-related changes in amounts and concentrations of collagen and elastin in normotensive human thoracic aorta. *Clin. Chim. Acta.* 245(1):73-84.
- Cantini, C.; Kieffer P.; Ceorman, I. (2001). Aminoguanidine and aortic wall mechanics, structure, and composition in aged rats. *Hypertention*, 38(4):943-948.
- Nardell, E.A. and Brody, J.S. (1982). Determinants of mechanical properties of rat lung during postnatal development. *J. Appl. Physiol.*, 53(1):140-148.
- Osakabe, T.; Hayashi, M.; Hasegawa, K.; Okuaki, T.; Ritty, T.M.; Mecham, R.P.; Wachi, H. and Seyama, Y. (2001). Age- and gender- related changes in ligament components. *Ann. Clin. Biochem.*, 38(5):527-532.



- Mikulikova, K.; Eckhardt, A.; Kunes, J.; Zicha, J. and Miksik, I. (2008). Advanced glycation end-product pentosidine accumulates in various tissues of rats with high fructose intake. *Physiol. Res.* 57(1): 89-94.
- Shifren, A.; Durmowicz, A. G.; Knutsen, R. H.; Hirano, E. and Mecham, R. P. (2007). Elastin protein levels are a vital modifier affecting normal lung development and susceptibility to emphysema. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 292(3):778-787.
- Fujii, N. (2005). D-amino acid in elderly tissues. *Biol. Pharm. Bull.*, 28(9):1585-1589.
- Hipkiss, A.R. (2006). Accumulation of altered proteins and aging: causes and effects. *Exp. Gerontol*, 41(5):464-473
- Sakai-Kato, K.; Naito, M. and Utsunomiya-Tate, N. (2007). Racemization of the amyloid beta ASP1 residue blocks the acceleration of fibril formation caused by racemization of the ASP23 residue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 364(3):464-
- Yamamoto, Y.; Sakata, N.; Meng, J.; Sakamoto, M.; Noma, A.; Maeda, I.; Okamoto, K. and Takebayashi, S. (2002). Possible involvement of increased glycooxidation and lipid peroxidation of elastin in atherogenesis in haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 17(4): 630-636.
- Chen, J.R., Takahashi, M. and kushida, K. (2000) Direct detection of crosslinks of collagen and elastin in the hydrolysates of human yellow ligament using single – column high performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, 278(2): 99-105.
- Monici, M. (2005). Cell and tissue autofluorescence research and diagnostic applications. *Biotechnol. Annu. Rev.*, 11: 227-256.