------مجلة علوم الرافدين، المجلد 25، العدد 3، ص48-64، 2014------

مستويات الأكسدة ومضاداتها لدى كبار السن من الذكور

لؤي عبد الهلالي **مريم عبد الخالق صالح**

قسم الكيمياء/ كلية العلوم/ جامعة الموصل

Email: smartchem@yahoo.com **Email:** luayhelaly@yahoo.com

(تاريخ الاستلام 27 / 5 / 2013 ؛ تاريخ القبول 16 / 7 / 2013)

الملخص

درس تأثير تقدم العمر والتدخين والرياضة والصيام خلال شهر رمضان على مستويات الأكسدة ومضاداتها في الاشخاص كبار السن من الذكور عن طريق قياس (14) متغيراً من متغيرات الأكسدة ومضادات الأكسدة والتي تضمنت: فيتامين E وفيتامين C وإنزيم سوبر اوكسايد ديسميوتيز (SOD) وإنزيم كلوتاثايون S- ترانسفيريز (GST) وإنزيم كلوكونولاكتونيز (بروتين علامة الشيخوخة-30) (SMP-30) والسيرولوبلازمين (Cp) والألبومين والكلوتاثايون (GSH) والكالسيوم والحديد وحامـض اليوريك والبليروبين الكلي والمالوندايالديهايد (MDA) والبيروكسي نيتريت ($ONOO^-$)، أجريت هذه الدراسة على (324) نموذجاً طبيعيا من الذكور تراوحت أعمارهم بين (18-95) سنة من سكنه محافظة نينوى.

أشارت النتائج إلى ان تقدم العمر يؤدي الى حدوث انخفاض معنوي للمتغيرات: فيتامين C وفيتامين E وSMP-30 وGSH والبليروبين الكلي والكالسيوم، وارتفاع معنوي للمتغيرات: السيرولوبلازمين وMDA والبيروكسي نيتريت. وعند دراسة تأثير تقدم العمر للمسنين (65 سنة فما فوق) التي قسمت الى ثلاث مجاميع فقد أوضحت النتائج ارتفاع حالة الكرب التأكسدي في المجموعة العمرية الأخيرة.

كما أوضحت النتائج أيضا وجود انخفاض معنوي لدى المدخنين من كبار السن مقارنة مع مجموعة غير المدخنين للمتغيرات: فيتامين C وفيتامين E وSMP-30 وGSH والبليروبين الكلي وارتفاع معـنوي للمتغيرات: إنزيم GST والألبومين والحديد وMDA و$ONOO^-$.

كذلك بينت النتائج ان للتمارين الرياضية زيادة في إنتاج مركبات الأكسدة وقلة مضادات الأكسدة مع تحسين في بنية جسم كبار السن بزيادة قيمة SMP-30، اذ لوحظ وجود انخفاض معنوي لدى كبار السن من الممارسين للتمارين الرياضية مقارنة مع غير الممارسين في: فيتامين E وGSH والحديد وزيادة معنوية للمتغيرات: إنزيم GST وSMP-30 وCp و$ONOO^-$.

فضلا عن ذلك أشارت النتائج إلى أن هناك انخفاضا معنويا لدى كبار السن بعد الصيام في شهر رمضان للمتغيرات: إنزيم GST والحديـد وMDA والبيروكسي نيتريت وارتفاع معنوي للمتغيرات: فيتامين C وفيتامين E وSOD وSMP-30 وCp وGSH والبليروبين الكلي والكالسيوم، دلالة واضحة على زيادة تحسن بنية جسم كبار السن مع صيام شهر رمضان.

الكلمات الدالة: كبار السن، شيخوخة، مضادات الأكسدة، الأكسدة، تدخين، رياضة، صيام.

Oxidants and Antioxidants Levels for Elderly Male People

Luay A. Al-Helaly **Maryam A. Saleh**
Department of Chemistry/ College of Science/ University of Mosul

ABSTRACT

The research included a study of oxidants and antioxidants levels with aging such as: smoking, physical exercise and fasting during Ramadan on elderly by measuring (14) oxidants and antioxidants parameters which included: superoxide dismutase (SOD), glutathione S-transferase (GST), gluconolactonase (senescence marker protein-30) (SMP-30), ceruloplasmin (Cp), albumin, glutathione (GSH), calcium, iron, uric acid, total bilirubin, malondialdehyde (MDA) and peroxynitrite ($ONOO^-$). The study was carried out on (324) male (age 18 – 95 year) living in Nineveh Governorate

The results showed a significant decrease with aging for vitamin C, vitamin E, SMP-30, glutathione(GSH), total bilirubin and calcium, while there was a significant increase of Cp, MDA and peroxynitrite. The effect of aging (65 year and over) was divided into three groups which showed that the level of oxidative stress was increased with aging, especially in the last group.

The results revealed a significant decrease in the level of: vitamin C, vitamin E, SMP-30, GSH and total bilirubin for smokers with aging compared to non-smokers, while a significant increase of GST, albumin, iron, MDA and peroxynitrite.

Results also showed an increase in oxidants with a decrease in antioxidant compounds with an improvement in the human body by increasing SMP-30, the results revealed a significant decrease for sport training elderly people when compared with non-sport training in vitamin E, GSH and iron, and a significant increase of : GST, SMP-30, Cp and $ONOO^-$.

Moreover, the results showed a significant decrease for aging after fasting in Ramadan for the parameters: GST, Iron, MDA and peroxynitrite and a significant increase for: vitamin C, vitamin E, SOD, SMP-30, Cp, GSH, total bilirubin and calcium, which indicated an improvement in human body for aging with fasting of Ramadan.

Keywords: Elderly people, aging, antioxidants, oxidants, smoking, sporting, fasting.

المقدمة

تعرف الشيخوخة Aging بأنها المرحلة التي تقل فيها مقدرة الفرد على تجديد خلاياه مما يؤدي إلى حدوث تغيرات عديدة لخلايا وأنسجة الجسم، مثل ظهور اللون الأبيض للشعر وانكماش خلايا الجلد، وبطء عملية التمثيل الغذائي للأطعمة وغيرها من التغيرات التي تحدث للجسم. ان التغيرات المصاحبة لتقدم العمر تحددها الوراثة جزئياً، لكنها تتأثر جوهرياً بالتغذية وأسلوب الحياة والبيئة كالتعرض للمواد الضارة (محمود، 1993). وكبر السن حالة بايولوجية طبيعية تتضمن تغيرات فسيولوجية تؤدي إلى ضعف وتدهور وظائف الأعضاء، وتتميز بانخفاض متدرج في الحواس والنشاط الفسيولوجي، وضعف في المقاومة الجسمية للمتغيرات الخارجية مترافقة مع تغيرات هورمونية وايضية وكيموحيوية وضعف قابلية الخلايا الجسمية مع تقدم العمر، ومن ثم يترافق التدهور الوظيفي الذي يحدث للجهاز العصبي المركزي هبوط في القدرات العقلية كالتذكر والتعلم وكذلك سهولة الاصابة بالأمراض العديدة (Troen, 2003).

إن زيادة الكرب ألتأكسدي Oxidative stress له علاقة واضحة بالأمراض المختلفة وبالعمر، فالكرب ألتأكسدي (الإجهاد ألتأكسدي) يعرف بأنه عدم التوازن بين المواد المؤكسدة (الجذور الحرة ونواتجها) ومضادات الأكسدة، إذ إن الخلايا

تحتوي على مواد مؤكسدة أكثر من مضادات الأكسدة، وهذا بدوره يؤدي إلى تدمير الجزيئات الحيوية في الجسم مثل البروتينات والدهون والأحماض النووية، إذ يحدث الكرب التأكسدي عندما يتجاوز مستوى مركبات الأكسدة قدرة مضادات الأكسدة على إزالتها (Sekhon *et al*., 2010).

وهناك عدة نظريات تفسر كيفية حدوث حالة الشيخوخة مع الأخذ بنظر الاعتبار التغييرات الفسلجية المعقدة للكائنات الحية. ولقد لوحظ العديد من التغيرات في الخلية التي تزداد مع تقدم العمر ومن تلك التغيرات: تغيرات في تركيب المايتوكوندريا أو تراكم البروتينات الضارة في السايتوسول Cytosol أو التحطم الكيميائي ألتأكسدي للجزيئات الكيموحيوية المختلفة وكذلك الزيادة أو النقصان في نسخ الجينات ذات الوظائف المختلفة، فضلا عن التغيرات الجسدية في الجسم (Barja, 2013). إن لتقدم العمر وحدوث الشيخوخة نظريات عدة منها تخص الحامض النووي والجينات الوراثية منها تخص غشاء الخلية ودورها في حدوث الشيخوخة، وهناك نظرية الجذور الحرة The free radical theory التي تعد من أشهر نظريات الشيخوخة وكبر السن حيث طرحت من قبل هارمان Harman سنة 1954 الذي اقترح فيها أن أصناف الأوكسجين الفعالة Reactive oxygen species (ROS) تسبب الشيخوخة (Harman, 1956)، ثم بعد ذلك اتجه الباحث هارمان سنة 1972 الى نظرية الكرب ألتأكسدي إذ قـدمت النظرية أفـضل توضيح ميكانيكي لعملية الشيخوخة والمظاهر المرافقة الأخرى المتعلقة بتقدم العمر مثل علاقة تقدم العمر بالأمراض المختلفة. ولهذا اتجهت دراستنا هذه نحو دراسة مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة لمعرفة حالة الأكسدة للأشخاص الطبيعيين من الذكور مع تقدم العمر وخاصة للفئات العمرية الكبيرة (الشيخوخة)، فضلا عن دراسة تأثير حالات التدخين والرياضة وصيام شهر رمضان على كبار السن.

المواد وطرائق العمل

جمع العينات وطرائق القياس:

جمعت خلال هذه الدراسة (324) عينة دم شملت (242) عينة دم ذكور بأعمار مختلفة (18-95 سنة) طبيعيـين مـن غير المدخنين (نهائيا) وكبار السن مدخنين (بكمية تدخين 20-30 سكارة/ يوم) وبزمن تدخين (15-20 سـنة) الـذين كـانوا بأعداد (31) عينة وكبار السن من الذين يمارسون التمارين الرياضية بأعداد (27) عينة من كبار السن اجري سحب دم لهم قبل وبعد صيام 25 يوما من شهر رمضان للعام الهجري 1432 وبأعداد (24) عينة. جمعت العينات لكبار الـسن مـن متبرعـي مصرف الدم المركزي ومن الذين يترددون على مستشفى ابن سينا التعليمي وبعد تشخيصهم من قبل لأطباء المتواجدين هنـاك بأنهم غير مصابين بأي مرض ولا يتناولون أي أدوية.

حللت النتائج وقسمت الى خمس مجاميع اعتمادا على العمر وكانت كالأتي:

المجموعة الأولى (19-34) سنة والمجموعة الثانية (35-44) سنة والمجموعة الثالثة (45-54) سنة والمجموعة الرابعة (55-64) سنة والمجموعة الخامسة 65 سنة فما فوق.

فضلاً على ذلك، قسمت عينات المجموعة الخامسة (65 سنة فما فوق) الى ثلاث مجاميع اعتمادا على تقسيمات منظمـة الصحة العالمية التي كانت كالآتي: المجموعة الأولى (65-74) سنة والمجموعة الثانية (75-84) سنة المجموعة الثالثة (85 فما فوق) سنة وذلك لدراسة تأثير تقدم العمر على مستويات الأكسدة في مستويات مضادات الأكسدة لدى كبار الـسن بأعمـار مختلفة. كذلك تم اختيار عينات أخرى لكبار السن من أجل دراسة تأثير التدخين وممارسة التمارين الرياضية والـصيام خـلال شهر رمضان للعام الهجري 1432هـ على مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة.

سحبت عينات الدم من الوريد Venous blood بحجم (8-10 مل) للحصول على مصل الدم من خلال وضع عينة الدم في أنبوب بلاستيكي Plain tube جاف ونظيف وذي غطاء محكم ثم تحضينها في الحمام المائي عند درجة حـرارة (37°C) ولمدة عشر دقائق، ومن ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي Centrifuge وشغل الجهاز لمدة 15 دقيقة بـسرعة (900 xg)

بعدها سحب مصل الدم (الذي يجب أن يكون غير متحال) بأستخدام ماصة دقيقة Micropipette (Burtis *et al*., 2012) وتم تقسيمه على جزئيين في أنابيب بلاستيكية صغيرة جافة ونظيفة وحفظا في درجة حرارة 20°C- لحين استخدامه في قياس المتغيرات المحددة في البحث والمشار أليها في الجدول (1).

إن المواد الكيميائية المستخدمة مجهزة من شركات عالمية مختلفة كما استخدمت عدة قياسية جاهزة Standard kits من شركة BIOLABO الفرنسية لقياس المتغيرات الآتية: الألبومين، الكالسيوم، الحديد والبليروبين الكلي أما بقية المتغيرات الأخرى فقد استخدمت طرائق يدوية Manual methods لقياسها.

التحليل الإحصائي

استخدم البرنامج الإحصائي SPSS 10 لتحديد المعدل Mean والانحراف القياسي للمعدل Standard Deviation (SD)، وكما استخدم اختبار t (t-test) للمقارنة بين أي متغيرين وإيجاد الاختلاف بين القيم التي ظهرت من خلال قيمة الاحتمالية p (p-value) والتي عُدت عند ($p \leq 0.05$) اختلافاً معنوياً Significant وعند ($p > 0.05$) اختلافاً غير معنوي . من ناحية اخرى ، استخدم اختبار دنكن Duncan's test للمقارنة بين أكثر من متغيرين وإيجاد الاختلاف من خلال قيمة الاحتمالية (p) (Hinton, 2004).

الجدول 1: طرائق القياس المستخدمة لقياس المتغيرات المحددة في البحث

المتغيرات المقاسة	الطرائق المستخدمة	المصدر
فيتامين C	Oxidized method	Stanley *et al*., 1979
فيتامين E	Emmerie – Engle reaction	Emmerie and Engle,1938
إنزيم سوبراوكسيد ديسميوتيز(SOD)	Modified photochemical nitroblue tetrazolum (NBT)	Brown and Goldstein, 1983
إنزيم كلوتاثايون S-ترانسفيريز (GST)	1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) conjugation with glutathione	Habig *et al*., 1974
بروتين علامة الشيخوخة- 30 (SMP-30)	Gluconolactone lysis method	Hucho and Wallenfels, 1972
السليروبلازمين	Oxidized method	Sunderman and Nomato, 1970
الألبومين	Bromocresol green method	Doumas *et al*., 1971
الكلوتاثايون	Modified procedure utilizing Ellmans reagent	Sedlak and Lindsay, 1968
حامض اليوريك	Tungsten blue	Burtis *et al*., 2012
البليروبين الكلي	Diazo method	Walters and Gerarde, 1970
الحديد	Colorimetric method	Hennesy *et al*., 1984
الكالسيوم	o – Cresolphthalein method	Moorehead and Biggs, 1974
مالوندايالديهايد	Thiobarbituric acid Modified procedure	Guidet and Shah, 1989
بيروكسي نيتريت	Nitration of phenol method	Vanuffelen *et al*., 1998

النتائج و المنافشة

1. دراسة تأثير تقدم العمر في مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة: أشارت النتائج الموضحة في الجـدول (2) إلـى وجـود انخفاض معنوي مع تقدم العمر للمتغيرات: فيتامين C وفيتامين E وSMP-30 والكلوتاثايون والبليروبين الكلـي والكالـسيوم، وارتفاع معنوي للمتغيرات: السيرولوبلازمين، المالونداليديهايد والبيروكسي نيتريت والذي يطابق ما وجده الباحثون:
(Ates *et al*., 2009; Maurya and Rizvi, 2009; Maurya and Rizvi, 2010; D'Adamo *et al*., 2011)

إن الانخفاض المعنوي في تركيزي فيتامين E و C عند كبار السن يؤكد حدوث الكرب التأكسدي لديهم، إذ يعد فيتـامين E من مضادات الأكسدة في الوسط الدهني الذي يتواجد بشكل رئيس على جدار الخلية، وهو موقع مهم له حيث من خـلال الموقـع يحمي الخلية من عملية بيروكسيدة الدهن وهجوم الجذور الحرة إذ يعمل على حماية الأحماض الدهنية طويلة السلسلة غير المشبعة من التحطيم ألتأكسدي، وهذا يعود إلى طبيعته المحبة للدهون Lipophilic. أن النقصان في تركيز فيتامين E يشير إلى الإجهـاد المتزايد على كبار السن الذي يستدعى استهلاك كميـات مـن مـضادات الأكـسدة ومنهـا فيتـامين E فـي الطـور الـدهني (Schneider, 2005)، إذ إن هناك عدة عوامل تؤثر في التوافر الحيوي لفيتامين E من ضمنها العمر وكـذلك نوعيـة الأغذيـة المتناولة (Borel, 2003). أما فيتامين C فإنه يعد من مضادات الأكسدة المحبة للماء التي تعمل مع فيتامين E على إزالة الأكسدة الناتجة من خلال قابليته على إعادة فعالية فيتامين E المؤكسد، فضلا على انه يعمل على منع الجذور الحرة المتكونة مثل الـسوبر اوكسيد وجذر الهيدروكسيل من بدء عملية بيروكسدة الدهون أو التفاعلات التأكسدية المختلفة التي تسببها الجذور الحرة التي يمكـن أن تهاجم المركبات الحيوية داخل الجسم (Baydar *et al*., 2007). فانخفاض كل من الفيتامينات في أعلاه أشارة واضـحة إلـى استهلاكهما من قبل مركبات الأكسدة المختلفة داخل الجسم مع تقدم العمر.

كذلك أشارت النتائج إلى الانخفاض المعنوي في فعالية بروتين علامة الشيخوخة -30 (SMP-30) اذ يعد هذا البروتين من البروتينات المهمة داخل الجسم وله وظائف عديدة منها حماية الجسم من الكرب التأكسدي كونه مـن مـضادات الأكـسدة، فضلا عن دوره في إزالة سمية المركبـات الناتجـة مـن الـسموم المختلفـة التـي يمكـن أن تـزداد مـع تقـدم العمـر (Arun *et al*., 2011) ويعد SMP-30 مقياسا للشيخوخة ويسمى بعامل الشيخوخة Aging factor وإن انخفاضه يوضـح زيادة حالة الشيخوخة مع تقدم العمر إذ له دور في حماية الخلايا من الموت المبرمج للخلية Apoptosis فضلا عن وظـائف أخرى (Ishigami *et al*., 2002).

من ناحية أخرى أشارت النتائج إلى حصول انخفاض معنوي في تركيز البليروبين الكلي والكلوتاثايون مع تقـدم العمـر، ويعزى الانخفاض في البليروبين الكلي إلى استهلاكه داخل الجسم لإزالة الأكسدة كونه من مضادات الأكسدة الداخلية التي لهـا القابلية على تثبيط بيروكسدة الدهن والإزالة المباشرة للجذور الحرة المختلفـة الناتجـة مـن الأكـسدة والكـرب التأكـسدي (Rizzo *et al*., 2010). كذلك يرجح انخفاض تركيز البليروبين فـي الـدم إلـى انخفـاض عـدد كريـات الـدم الحمـر Hemodilution في الجسم ولاسيما أنها تتناقص في جسم كـ ـبير السن (Sykes and Epstein, 1990). أما الانخفـاض المعنوي للكلوتاثايون مع تقدم العمر فيعود إلى استهلاكه في الجسم كونه من المضاد الأكسدة التي تحمي جميع الخلايا من التلف المتسبب من أصناف الأوكسجين الفعالة الحاوية وغير الحاوية على الجذور الحرة، إذ يعد من أهم الحـواجز ضـمن الخليـة وبزيادة شدة الكرب التأكسدي تصبح الخلية معرضة لخطر التلف (Masella *et al*., 2005). ومن الممكن ايضا ان يـستخدم الكلوتاثايون مادة اساس في إنزيمات مضادات الأكسدة مثل إنزيمي GST و GPx ومشاركته في إزالة الأكسدة بشكل مباشـر عن طريق مجموعة الثايول التي تحتويه في تركيبها (Masella *et al*., 2005). وانخفاض مستوى الكلوتاثايون مع تقدم العمر دلالة واضحة أيضا على استهلاكه نتيجة لحصول زيادة في عملية الكرب التأكسدي خلال الـشيخوخة (Maurya and Rizvi, 2010).

الجدول 2 : مقارنة مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة للأشخاص الطبيعيين مع زيادة العمر حسب اختبار دنكن Duncan test

المتغيرات المقاسة	مجموعة الاعمار (19-34 سنة) (العدد = 42)		مجموعة الاعمار (35-44 سنة) (العدد = 39)		مجموعة الاعمار (45-54 سنة) (العدد = 35)		مجموعة الاعمار (55-64 سنة) (العدد = 28)		مجموعة الاعمار (65 سنة فما فوق) (العدد = 98)	
	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القي
العمر(سنة)	29.22 **a**	2.85	39.47**b**	2.61	50.12**c**	2.25	59.39**d**	2.45	69.56**e**	3
تامين C (ملغم/100مل)	0.383**e**	0.02	0.320**d**	0.03	0.280**c**	0.04	0.262**b**	0.05	0.205 **a**	2
تامين E (ملغم/100مل)	1.512**d**	0.16	1.410**d**	0.12	1.260**c**	0.17	1.03**b**	0.10	1.01**a**	1
م سوبر اوكسيد ديسميوتيز	0.012**a**	0.001	0.009**a**	0.001	0.010**a**	0.002	0.013**a**	0.002	0.017**a**	12
كلوتاثايون - انسفيريز(وحدةعالمية/لتر)	17.04**a**	2.28	16.11**a**	2.17	17.37**a**	3.75	17.74**a**	2.57	14.88**a**	4
روتين علامة الشيخوخة-30(وحدةعالمية/لتر)	0.266**e**	0.011	0.212**d**	0.03	0.196**c**	0.02	0.168**b**	0.01	0.135**a**	22
يرولوبلازمين (غرام/لتر)	0.0542**a**	0.008	0.054**a**	0.006	0.051**a**	0.007	0.053**a**	0.008	0.075**b**	1
ألبومين (غم/100مل)	4.82**a**	0.57	4.84**a**	0.60	4.88**a**	0.52	4.93**a**	0.39	4.75**a**	9
وتاثايون(مايكروموول/لتر)	8.52**d**	1.03	7.13**c**	1.05	6.77**c**	1.06	6.19**b**	0.99	4.85**a**	3
ض اليوريك (ملغم/100مل)	5.57**a**	0.92	5.27**a**	0.81	5.26**a**	0.89	6.29**b**	0.75	6.81**b**	9
روبين الكلي (ملغم/100مل)	1.09**c**	0.15	1.094**c**	0.14	1.004**c**	0.05	0.95**b**	0.08	0.37 **a**	4
ديد (مايكروغرام/100مل)	110.39**a**	13.27	103.8**a**	15.85	111.3**a**	13.43	112.8**a**	10.20	112.29 **a**	7
كالسيوم (ملغم/100مل)	9.57**d**	0.91	9.55**d**	0.87	9.08**c**	1.05	8.92**b**	0.79	8.59 **a**	8
ندايالديهايد (مايكروموول/لتر)	2.18**a**	0.22	2.42**a**	0.13	2.91**a**	0.22	3.38**b**	0.35	3.42 **b**	2
كسي نيتريت(مايكروموول/لتر)	57.27**a**	8.22	64.33**b**	12.39	73.51**c**	12.58	78.41**d**	13.19	81.43 **e**	72

- إن اختلاف الأحرف أفقياً (e, d, c, b, a) دلالة على ان هناك اختلاف معنوي عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$.

كذلك لوحظ انخفاض معنوي لعنصر الكالسيوم لدى كبار السن إذ قلة الامتصاص له تسبب قلة تركيزه في الجسم، وان ذلك قد يعزى ذلك لأسباب منها قلة كفاءة الأمعاء الدقيقة على امتصاص مضادات الأكسدة المختلفة عن طريق الزغابات Villi (من فيتامينات وعناصر معدنية مثل الكالسيوم وغيرها) مع تقدم العمر (Agarwal *et al*., 2005)، فضلا عن ذلك فان تركيزه في العظم يقل أيضا مما يؤدي الى نخر العظم. ان الكالسيوم ضروري لتكوين العظم إذ يعد المكون الرئيس له والبنية الأساسية لحمايته من التحطم (Sheweita and Khoshhal, 2007). كما يعتقد أيضا أن الانخفاض في مستوى الكالسيوم بتقدم العمر قد يعود كنتيجة زيادة مستوى الرصاص في الفئات العمرية الكبيرة كما أشار ذلك كل من الباحث Nash وجماعته عام 2004 نتيجة تعرضهم لمصادر الرصاص المتعددة، إذ يعد الرصاص من ابرز الملوثات البيئية ويزداد تراكمه في أعضاء وأنسجة الجسم المختلفة وان 90% منه يتراكم في العظام مع تقدم العمر (Korrick *et al*., 2002) ويحل محل الكالسيوم وبالتالي يمكن أن ينخفض الكالسيوم داخل الجسم خصوصا بين الفئات العمرية الكبيرة، كما يلاحظ ذلك في الجدول (3).

يلاحظ من الجدول (2) وجود ارتفاع معنوي في تركيز السيرولوبلازمين (Cp) لدى كبار السن وقد يعزى ذلك الى ان السيرولوبلازمين من البروتينات التي تعمل على الارتباط بالنحاس وجعله بشكل غير حر وعندها لا يمكن أن يشارك في عملية الأكسدة إذ تزداد كمية النحاس مع تقدم العمر فتزداد فعالية السيرولوبلازمين لمشاركته في عملية اقتناص النحاس الحر الذي يمكن أن يشارك في عملية الأكسدة عند كبير السن ولاسيما وان هذه الحالة تتزايد عند الشيخوخة الطبيعة (Sirajwala *et al*., 2007) فضلا عن ذلك، لوحظ ارتفاع معنوي في تركيز المالونداليالديهايد MDA الناتج من زيادة عملية بيروكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة للخلايا المختلفة ولاسيما عند أكسدة دهون غشاء الخلية (Ohira *et al*., 2008) والمالونداليالديهايد مركب غير مستقر ويمكنه التفاعل مع مركبات أخرى داخل الجسم ويعد أيضا مؤشر للكرب التأكسدي في الخلايا والأنسجة وزيادة مستوى المالونداليالديهايد في مصل كبار السن دلالة على زيادة عمليات بيروكسيدة الدهن نتيجة زيادة تعرضها إلى عوامل مؤكسدة مختلفة بسبب تزايد حالة الكرب التأكسدي عند الشيخوخة (Ates *et al*., 2009).

أشارت النتائج كذلك إلى الارتفاع المعنوي لتركيز بيروكسي نيتريت وقد يعود السبب إلى ارتفاع نسبة وجود جذر أول اوكسيد النيتريك $NO^{\cdot}$ في أجسام كبار السن الذي بدوره يتفاعل مع جذر سوبر اوكسايد السالب وزيادة تكون بيروكسي نيتريت وبذلك تزداد حالة الكرب التأكسدي لدى كبار السن (Maurya and Rizvi, 2009). إذ إن بيروكسي نيتريت يمكن أن يعمل على مهاجمة أغشية الخلايا الحاوية على الدهون والبروتينات والأحماض النووية مما يؤدي إلى أضرار في الخلايا المختلفة وتزايد حالة الكرب التأكسدي بزيادة العمر (Denicola and Radi, 2005).

أما الجدول (3) فيلاحظ فيه تقسيمات المسنين ذوي الفئات العمرية (65 سنة فما فوق) قد قسمت إلى ثلاثة مجاميع (بحسب تقسيمات منظمة الصحة العالمية)، كما يلاحظ حدوث انخفاض معنوي مع تقدم العمر للمتغيرات: فيتامين C وSMP-30 والكلوتاثايون والكالسيوم من جهة وارتفاع معنوي للمتغيرات:إنزيم SOD وإنزيم GST وحامض اليوريك والحديد و MDA من جهة اخرى، وهذا مطابق لما وجده الباحثون:
(Ates *et al*., 2009; Maurya and Rizvi, 2010; D'Adomo *et al*., 2011; Honma *et al*., 2013).

الجدول 3 : مقارنة مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة بحسب اختبار أنوفـا ANOVA test لكبار الـسن مـن الفئـات العمرية 65 سنة فما فوق

المتغيرات المقاسة	مجموعة كبار السن (65-74) سنة (العدد =41)		مجموعة كبار السن (75-84) سنة (العدد =31)		مجموعة كبار السن (85 فما فوق) سنة (العدد =26)		قيمة الاحتمالية (p)
	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	
العمر (سنة)	69.88	2.58	79.69	2.35	87.20	1.44	0.0001**
فيتامين C (ملغم/100مل)	0.324	0.03	0.212	0.021	0.186	0.01	0.031*
فيتامين E (ملغم/100مل)	0.990	0.10	1.06	0.13	1.01	0.16	0.777
إنزيم السوبر اوكسيد ديسميوتيز	0.016	0.002	0.02	0.003	0.030	0.001	0.033*
كلوتاثايون S- ترانسفيريز(وحدة عالمية/لتر)	13.99	1.68	16.30	2.90	18.77	2.61	0.04*
بروتين علامة الشيخوخة-30(وحدة عالمية/لتر)	0.143	0.02	0.112	0.015	0.073	0.009	0.027*
السيرولوبلازمين (غرام/لتر)	0.073	0.001	0.082	0.003	0.081	0.001	0.420
الألبومين (غم/100مل)	4.82	0.58	4.68	0.48	4.56	0.60	0.428
الكلوتاثايون(مايكروومول/لتر)	6.83	0.26	5.14	0.33	3.55	0.18	0.026*
حامض اليوريك (ملغم/100مل)	5.85	0.98	6.1	1.03	6.94	1.06	0.031*
البليروبين الكلي (ملغم/100مل)	0.357	0.04	0.398	0.01	0.38	0.03	0.885
الحديد (مايكروغرام/100مل)	109.3	13.5	115.4	12.9	139.5	20.1	0.02*
الكالسيوم (ملغم/100مل)	8.74	1.32	8.1	1.30	7.38	1.71	0.019*
المالونديالديهايد (مايكروومول/لتر)	3.46	0.18	6.67	0.25	8.69	0.23	0.035*
البيروكسي نيتريت (مايكروومول/لتر)	75.19	9.81	73.58	9.23	74.56	8.78	0.074

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p\leq0.05$.

** فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p<0.001$.

إن الانخفاض المعنوي في تراكيز كل من فيتامين C والكلوتاثايون وSMP-30 يؤكد زيادة حدوث حالة الكرب التأكسدي لدى المسنين كلما تقدموا بالعمر وان انخفاضها نتيجة مشاركتها بوصفها مضادات أكسدة تحمي الخلايا من التلف الحاصل مـن مهاجمة الجذور الحرة لها حيث هذه المركبات يتم استهلاكها بكثرة بسبب زيادة شدة الكرب ألتأكسدي خلال الـشيخوخة لـذلك يحصل نقص في تراكيزها في أجسام كبار السن ولاسيما مع تقدم العمر (Rajindar and William, 2012).

يلاحظ من الجدول (3) أيضا ارتفاع معنوي لإنزيم سوبر اوكساید ديسميوتيز وهو من الإنزيمات الكاسـحة لأصـناف الأوكسجين الفعالة إذ يحفز انتقال إلكترون من سوبر اوكساید السالب وتحوله إلى بيروكسيد الهيدروجين الذي يعد من المركبات المؤكسدة غير الحاوية على الجذور الحرة الذي يزال فيما بعد بفعل إنزيم الكتاليز (Yan *et al*., 2008)، وتزيد فعالية الإنزيم عند كبار السن دلالة واضحة على زيادة جذر السوبر اوكساید نتيجة زيادة حصول تلف في المايتوكوندريا مـع تقـدم العمـر ولاسيما لدى كبار السن وبالتالي ارتفاع مستوى الكرب التأكسدي خلال الشيخوخة، وبذلك تزداد فعالية الإنزيم لإزالة الجـذور الحرة المتكونة من عمليات الأكسدة (Maurya and Rizvi, 2010). وأشارت النتائج أيضا إلى الارتفاع المعنوي في فعاليـة إنزيم GST الذي قد يعزى ذلك إلى زيادة الأكسدة بكميات كبيرة داخل الجسم مؤدياً إلى زيادة إنتاج المركبات الضارة الناتجـة من أكسدة الدهون أو البروتينات، ومن ثم زيادة فعالية الإنزيم لإزالـة هذه المركبات، وما يؤكد ذلك ملاحظة انخفاض معنـوي

في تركيز الكلوتاثايون المختزل (الجدول 3) الناتج عن استخدامه في إنزيم GST فضلا عن استخدامه بوصفه مضاد أكسدة في اتجاهات أخرى داخل الجسم وكذلك لوظائفه فسيولوجية العديدة (Stella *et al*., 2007).

لوحظ أيضا زيادة معنوية لحامض اليوريك لدى كبار السن وقد يعود السبب إلى زيادة فعالية إنزيم زانثين اوكسديز Xanthine oxidase مع تقدم العمر (Singh *et al*., 2009) الذي يعمل على زيادة كمية حامض اليوريك في مصل كبار السن عند زيادة هدم القواعد البيورينية (الادنين والكوانين) ومن ثم تقويضها، إذ ان مسار الزانثين اوكسديز هو احد المسارات المهمة الذي تحفز فيه زيادة إنتاج مركبات الأكسدة مثل بيروكسيد الهيدروجين وجذر السوبر اوكسايد السالب عند عملية تحول الهايبوزانثين Hypoxanthine الى زانثين Xanthine الذي يتحول فيما بعد إلى حامض اليوريك، كما أشاروا الباحثين (Glantzounis *et al*., 2005) أن الإجهاد التأكسدي يزيد من تحطم الـ ATP ويحولها إلى ادينوسين وزانثين اللاذان يتحولان بدورهما إلى حامض اليوريك فتزداد كميته مع تقدم العمر، فضلا عن ذلك فأن نتيجة ضعف الوظائف الفسلجية كلما زادت حالة الشيخوخة والتقدم بالعمر يمكن أن يعد احد الأسباب أيضا لزيادته داخل الجسم (Punthumapol and Kittichotpanich, 2008).

كما أشارت النتائج إلى الارتفاع المعنوي في عنصر الحديد مع تقدم العمر لدى كبار السن فعند الشيخوخة تضطرب ايض الحديد وخزنه وكذلك تضطرب العمليات الحيوية والتغيرات الفسلجية التي تحدث خلال الشيخوخة والأمراض المتعلقة بها وهذه الحالات تؤثر في ارتباط الحديد وإزالته (Xu *et al*., 2012). والدراسات الأخيرة في كل من أنظمة الخميرة والثدييات توضح أن حديد المايتوكوندريا يزداد مع العمر تحت الظروف الاجهادية للخلية كتعرضها للأكسدة وقد تكون العامل المسبب للتدهور الوظيفي للمايتوكوندريا مع التقدم بالعمر (Veatch *et al*., 2009). فضلا عن ذلك، لوحظ زيادة معنوية في تركيز MDA لدى كبار السن مع تقدم العمر الذي يعطي دلالة واضحة على زيادة عملية الأكسدة داخل أجسامهم مع زيادة العمر ومن ثم زيادة حالة الكرب ألتأكسدي لديهم وهذا يزيد من تكوين مركبات الأكسدة بأنواعها المختلفة والأخيرة تسهم في زيادة عملية بيروكسدة الدهن للأحماض الدهنية غير المشبعة بما في ذلك أغشية الخلايا ومكونات الخلايا من مايتوكوندريا والنواة وغيرها، ومن ثم زيادة تركيز المالونداليديهايد الناتج من عملية أكسدة الدهون في المواقع المختلفة من الخلايا (Yildirim *et al*., 2007). ينتج جسم الإنسان كميات من هورمون الاستروجين (Guyton and Hall, 2006) الذي له أهمية في وظائف فسيولوجية مختلفة داخل الجسم فضلا عن كونه من مضادات الأكسدة المهمة الذي له القابلية على إزالة مركبات الأكسدة بمختلف أنواعها ولكن انخفاض كميته مع تقدم العمر (Foster *et al*., 2003) يعمل على زيادة مركبات الأكسدة وبالتالي زيادة حدة حدوث حالة الكرب التأكسدي مع تقدم العمر. إذ يشارك هورمون الاستروجين بإزالة مركبات الأكسدة المختلفة بعملية تداخله مع الحديد (Ruiz-Larrea *et al*., 1995) ومنعه من عملية بيروكسيدة الدهن وكذلك من خلال احتوائه حلقة الفينول التي يمكن استغلالها بأقتناص مركبات الأكسدة المختلفة الحاوية على الجذور الحرة (Behl *et al*., 1997) وعند انخفاض كميته مع تقدم العمر تزداد نواتج الأكسدة مثل MDA (Varu *et al*., 2012).

2. تأثير التدخين (بكمية 20-30 سيكاره/يوم) وبزمن تدخين (15-20 سنة) في مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة لدى المسنين:

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (4) إلى وجود انخفاض معنوي للمتغيرات: فيتامين C وفيتامين E وSMP-30 وGSH والبليروبين الكلي وارتفاع معنوي للمتغيرات: إنزيم GST والألبومين والحديد وMDA وبيروكسي نيتريت لدى المدخنين من كبار السن مقارنة مع غير المدخنين وهذا يطابق لما وجده سابقاً:
(Ueta *et al*., 2003; Nicita-Mauro *et al*., 2008; Tang *et al*., 2013).

إذ أن الانخفاض المعنوي في مستوى تراكيز مضادات الأكسدة لكل من فيتـامين C وفيتـامين E وفعاليـة SMP-30 والكلوتاثايون والبليروبين الكلي لدى كبار السن المدخنين عند مقارنتها مع مستوياتها عند الكبار غير المـدخنين يؤكـد زيـادة حدوث الكرب التأكسدي لدى كبار السن المدخنين بشكل اكبر من كبار السن غير المدخنين، إذ كما هـو معلـوم أن مـضادات الأكسدة المذكورة في أعلاه تعمل على إزالة أصناف الأكسدة المختلفة داخل الجسم وأن ارتفاعها في كبار السن غير المـدخنين إشارة واضحة إلى كون الأكسدة لديهم أقل مما في كبار السن المدخنين، ويعزى ذلك إلى أن التدخين عامل مـسرع لعمليـات الشيخوخة فضلا عن تأثيره المباشر على الميكانيكيات المعقدة وزيادة تكون مركبات الأكسدة بمختلف أنواعهـا مـن أصـناف الأوكسجين والنيتروجين الفعالة الحاوية وغير الحاوية على الجذور الحرة التـي تهـاجم الخلايـا (Gillham *et al*., 2000) وتسبب لها تلف للأنسجة المختلفة من ضمنها أنسجة الكبد، وبالتالي تزداد حالة الكرب التأكسدي لدى المدخنين ولاسـيما عنـد كبار السن لأن حالة الكرب التأكسدي تزداد بالشيخوخة ومع التدخين فانه تزداد شدة الكرب التأكسدي بشكل اكبـر، ومـن ثـم أمكانية ظهور حالات مرضية يكون التدخين العامل الرئيس والمسبب في زيادتها (Polidori *et al*., 2003).

فضلا عن ذلك لوحظ ارتفاع معنوي في فعالية إنزيم GST لكبار السن المدخنين مقارنة مع كبار السن غير المـدخنين، نتيجة لحدوث زيادة في عمليات الأكسدة بكميات كبيرة داخل أجسام كبار السن المدخنين مما تؤدي إلى زيادة إنتاج المركبـات الضارة الناتجة من أكسدة الدهون أو البروتينات في أغلفة الخلايا ومكوناتها ومن ثم زيادة فعالية الإنـزيم GST فـي إزالـة المركبات السامة داخل الجسم، فضلا عن كون الإنزيم يشارك بوصفه مضاداً للأكسدة في إزالة اصناف المؤكسدات المتكونـة لديهم (Stella *et al*., 2007).

كذلك أشارت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي في تركيز الألبومين عند كبار السن المدخنين مقارنة بغير المدخنين ويعود السبب إلى استخدامه بوصفه مضاداً للأكسدة في اقتناص العديد من العناصر المعدنية التي تدخل في عملية تكوين المؤكـسدات داخل الجسم مثل الحديد الحر المتواجد بكميات عالية لدى المدخنين، وقد لوحظ ذلك من الارتفاع المعنوي للحديد لدى المدخنين (الجدول أدناه) وبالتالي التقليل من مشاركة الحديد في زيادة تكون مركبات الأكسدة (Kazanis *et al*., 2011).

الجدول 4 : مقارنة مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة لكبار السن بين المدخنين وغير المدخنين

المتغيرات المقاسة	مجموعة كبار السن غير المدخنين (العدد = 98)		مجموعة كبار السن المدخنين (العدد = 31)		قيمة الاحتمالية (p)
	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	
العمر(سنة)	69.56	7.13	67.03	7.10	0.12
فيتامين C (ملغم/100مل)	0.205	0.02	0.188	0.01	0.018*
فيتامين E (ملغم/100مل)	1.01	0.11	0.854	0.091	0.021*
إنزيم سوبر أوكسيد ديسميوتيز	0.0168	0.0012	0.0171	0.001	0.792
كلوتاثايون S- ترانسفيريز (وحدة عالمية/لتر)	14.88	3.24	18.28	2.64	0.015*
بروتين علامة الشيخوخة- 30 (وحدة عالمية/لتر)	0.135	0.022	0.094	0.013	0.038*
السيرولوبلازمين (غرام/لتر)	0.075	0.01	0.0739	0.008	0.826
ألبومين (غم/100مل)	4.75	0.59	4.96	0.42	0.03*
الكلوتاثايون(مايكرومول/لتر)	4.85	0.73	2.61	0.45	0.012*
حامض اليوريك (ملغم/100مل)	6.81	0.59	6.53	0.44	0.436
البليروبين الكلي (ملغم/100مل)	0.37	0.04	0.266	0.03	0.019*
الحديد (مايكروغرام/100مل)	112.29	10.7	126.50	14.87	0.038*
الكالسيوم (ملغم/100مل)	8.59	1.28	8.84	1.15	0.682
المالونداياليديهايد (مايكرومول/لتر)	3.42	0.62	7.33	0.54	0.028*
البيروكسي نيتريت (مايكرومول/لتر)	81.43	14.72	92.91	13.13	0.019*

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.05$.

فضلا عن ذلك، لوحظ ارتفاع معنوي في مستوى لـ MDA لدى كبار السن المدخنين مقارنة مع كبـار الـسن غيـر المدخنين بسبب انخفاض مستوى مضادات الأكسدة المختلفة نتيجة لزيادة عملية بيروكسدة الدهون في مواقع مختلفة من الخلايا والذي يعطي دلالة واضحة على زيادة الكرب التأكسدي في أجسام كبار السن المدخنين (Liu *et al*., 2011) . كـذلك لـوحظ ارتفاع معنوي لبيروكسي النيتريت لدى كبار السن المدخنين، وهذا يشير إلى زيادة أصناف النيتروجين الفعالة بكميـات عاليـة والمتواجدة في السجائر لدى المدخنين (Gillham *et al*., 2000) وارتباط جذر سوبر اوكسايد مع جذر اوكسيد النيتريك بشكل كبير، مع أمكانية مهاجمة بيروكسي نيتريت لمكونات الكيمياء الحيوية داخل الجسم.

3. تأثير ممارسة رياضة الركض (لمدة 90-120 دقيقة/ يوم) في مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة لدى كبار السن:

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (5) الى وجود انخفاض معنوي لدى كبار السن من الممارسين للتمارين الرياضـية مقارنة مع غير الممارسين للمتغيرات: فيتامين E والحديد وGSH وزيـادة معنويـة للمتغيـرات: إنـزيم GST وSMP-30 والسيرولوبلازمين والبيروكسي نيتريت وهذا يطابق مـا وجـده البـاحثون: (Maurya and Rizvi., 2010; Arun *et al*., 2011).

إن التعب والإجهاد لدى الممارسين للتمارين الرياضية من كبار السن يؤدي إلى زيادة اسـتهلاك الأوكـسجين لإجـراء العمليات الأيضية المختلفة وإنتاج الطاقة التي يحتاجونها بكميات ليست بالقليلة، وأن زيادة الأوكسجين في الجسم يـؤدي إلـى حدوث اضطراب في الخط الدفاعي لمضادات الأكسدة والمؤكسدات الأولية الخلوية، وبالتالي ظهور انخفاض معنوي في تركيز فيتامين E وGSH لدى كبار السن الذين يمارسون الرياضة مقارنة مع الذين لا يمارسون الرياضة، وفي هذا دلالـة واضـحة على استخدامها بوصفهما كمضادات أكسدة تعمل على للإزالة المباشرة أو غير المباشرة للمركبات الأكسدة، وبالتالي تقليل حالة الكرب التأكسدي لديهم (Masella *et al*., 2005). إذ إن الجهد يعمل على زيادة الجذور الحرة بكميات عاليـة فـي جـسم الرياضي ولاسيما الخلايا العضلية، وبالتالي فمشاركة مضادات الأكسدة تلك تعمل على التقليل من ظهور التعب والجروح فـي الخلايا العضلية (Birch *et al*., 2005) .

كذلك يلاحظ انخفاض معنوي في عنصر الحديد في مصل الدم لكبار السن الممارسـين للرياضـة، لكـون أن الحديـد المخزون في الأنسجة يقل تركيزه بسبب الإجهاد على العضلة عند ممارسة الرياضة، لاستخدامه في الخلايا العضلية المختلفـة في الجسم (White *et al*., 2012) .

إن الارتفاع المعنوي في فعالية إنزيم GST عند الرياضيين كما يلاحظ ذلك في الجدول (5) نتيجة زيادة أصناف الجذور الحرة بـ 10-15 مرة أكثر في العضلة خلال ممارسة التمارين الرياضية وعندها زيادة مركبات الأكسدة ونواتجها التأكـسدية داخل الخلية ليشارك إنزيم GST في إزالة المركبات الضارة (Watson *et al*., 2005).

كذلك لوحظ وجود ارتفاع معنوي في تركيز السيرولوبلازمين (Cp) لدى كبار السن الذين يمارسون الرياضة، وقد يعزى سبب زيادته داخل الجسم إلى دورهِ في عملية اقتناص النحاس الحر الذي يمكن أن يشارك في عملية الأكسدة وكذلك مـشاركته داخل الخلية في عملية تحويل ايون الحديدوز Fe^{+2} المرتبط بالترانسفيرين Transferrin الى أيون الحديـديك Fe^{+3} المـرتبط بالفيريتين Ferritin أثناء استخدامه في العمليات الفسلجية عند ممارسة التمارين الرياضية (Sirajwala *et al*., 2007).

تعد سلسلة نقل الالكترونات في المايتوكوندريا المصدر الرئيس للجذور الحرة أثناء الإجهاد العضلي العـالي مـن قبـل الرياضيين وعندها زيادة الأصناف الفعالة للأوكسجين ولاسيما جذر السوبر اوكسايد الذي يمكنه أن يزيد من البيروكسي نيتريت (الجدول 5) لدى كبير السن الممارس للرياضة، وهذا يشكل تهديداً خطيراً للنظام الدفاعي لمضادات الأكسدة في الجسم وبالتالي

حدوث الكرب التأكسدي والذي يسبب الضرر في أنسجة الجسم (Beal *et al*., 1997) من خلال زيادة عملية بيروكسيدة الدهن Lipid peroxidation والطفرات الوراثية Mutation وكربنة البروتين Protein carbonylation.

الجدول 5 : مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة لكبار السن الرياضيين وغير الرياضيين

المتغيرات المقاسة	مجموعة كبار السن غير الرياضيين (العدد = 98)		مجموعة كبار السن الرياضيين (العدد = 27)		قيمة الاحتمالية (p)
	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	
العمر(سنة)	69.56	7.13	64.44	5.05	0.039*
فيتامين C (ملغم/100مل)	0.205	0.02	0.224	0.04	0.986
فيتامين E (ملغم/100مل)	1.01	0.11	0.938	0.16	0.031*
إنزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز	0.017	0.0012	0.0173	0.003	0.714
كلوتاثايون S- ترانسفيريز (وحدة عالمية/لتر)	14.88	3.24	21.39	4.21	0.029*
بروتين علامة الشيخوخة-30 (وحدة عالمية/لتر)	0.135	0.022	0.167	0.03	0.04*
السيروبلازمين (غرام/لتر)	0.075	0.01	0.077	0.012	0.037*
ألبومين (غم/100مل)	4.75	0.59	4.82	0.51	0.846
الكلوتاثايون(مايكرومول/لتر)	4.85	0.73	2.89	0.37	0.01*
حامض اليوريك (ملغم/100مل)	6.81	0.51	6.87	0.62	0.97
البليروبين الكلي (ملغم/100مل)	0.37	0.04	0.45	0.02	0.202
الحديد (مايكروغرام/100مل)	112.29	10.7	88.6	12.15	0.045*
الكالسيوم (ملغم/100مل)	8.59	1.28	8.61	1.89	0.996
المالوندايالديهايد (مايكرومول/لتر)	3.42	0.62	3.58	0.45	0.549
البيروكسي نيتريت (مايكرومول/لتر)	81.43	14.72	98.78	16.06	0.025*

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.05$.

أشارت النتائج كذلك إلى وجود ارتفاع معنوي في بروتين علامة الشيخوخة - 30 لدى كبار السن الممارسين للرياضة إذ يعد SMP-30 مقياسا للشيخوخة وسمي بعامل الشيخوخة (Ishigami *et al*., 2002). ان زيادته دليل واضح على كون أن ممارسة التمارين الرياضة تقلل من ظهور علامات الشيخوخة. إذ أوضحت دراسات عدة أن ممارسة التمارين الرياضية تعمل على التقليل من الحالات المتعلقة بالعمر من القلة في القوة العضلية والقدرة التنفسية فضلا عن قلة في المرونة والوظائف الفسلجية(Keysor and Jette, 2001) ولكن من الممكن ان تزيد مركبات الأكسدة، وبالتالي أخذ الاحتياطات اللازمة للتعويض عن النقص الحاصل في مضادات الأكسدة المهمة داخل الجسم.

4. تأثير الصيام خلال شهر رمضان في مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة لدى كبار السن:

إن فريضة الصيام لها فوائد جمة لا تعد ولا تحصى. فبالرجوع إلى الأبحاث والدراسات نرى أن هناك العديد من الباحثين يشيرون إلى أن التقييد بالسعرات الحرارية Dietary restriction مع الالتزام بتناول كل ما يحتاجه الجسم دون زيادة يمكن ان يطيل فترة نشاط الخلية وعدم تلفها وبالتالي زيادة حيوية الانسجة الجسمية التي هي مجموعة من الخلايا، وقد يكون هذا النسيج عصبي او عضلي ومن ثم زيادة حيوية جميع الأعضاء الموجودة داخل الجسم (Yu, 1994). وقد رغب الله سبحانه وتعالى في الصيام عندما قال سبحانه في القران الكريم:

وَأَن تَصُومُواْ خَيْرٌ لَّكُمْ إِن كُنتُمْ تَعْلَمُونَ ﴿١٨٤﴾

(سورة البقرة)

أن ملايين المسلمين سنويا يصومون عن الطعام والشراب مدة تتراوح بين 29-30 يوماً من قبل شروق الشمس (السحور) إلى ما بعد غروب الشمس (الإفطار) خلال شهر رمضان من كل عام هجري. أن للصوم تأثيرات مختلفة داخل الجسم وبإمكانه تقليل من مضاعفات أمراض مختلفة مثل أمراض القلب الوعائية وأمراض الكلى والسرطانات ومرض السكري (Varady and Hellerstein, 2007)، فقد أشارت النتائج الموضحة في الجدول (6) إلى وجود انخفاض معنوي للمتغيرات: إنزيم GST والحديد وMDA والبيروكسي نيتريت وارتفاع معنوي لمتغيرات: فيتامين C وفيتامين E وSOD وSMP-30 والسيرولوبلازمين وGSH والبليروبين الكلي والكالسيوم لدى كبار السن بعد صيام لمدة 25 يوما في شهر رمضان مقارنة مع قبل الصيام لنفس المجموعة. وهذا مطابق ما وجده الباحثون:
(Bunker, 1992; Ramadan *et al*., 1999; Tarin *et al*., 2000).

الجدول 6 : مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة لدى كبار السن قبل وبعد صيام خمسة وعشرون يوماً من شهر رمضان

المتغيرات المقاسة	قبل الصيام (العدد = 24)		بعد الصيام (العدد = 24)		قيمة الاحتمالية (p)
	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	
فيتامين C (ملغم/100مل)	0.278	0.03	0.426	0.04	0.002*
فيتامين E (ملغم/100مل)	0.791	0.10	0.941	0.13	0.01*
إنزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز	0.01	0.007	0.029	0.005	0.035*
كلوتاثايون S- ترانسفيريز(وحدة عالمية/لتر)	20.48	2.29	15.30	1.97	0.001*
بروتين علامة الشيخوخة-30(وحدة عالمية/لتر)	0.173	0.03	0.227	0.02	0.013*
السيرولوبلازمين (غرام/لتر)	0.045	0.01	0.073	0.013	0.002*
ألبومين (غم/100مل)	4.83	0.26	4.86	0.28	0.773
الكلوتاثايون(مايكرومول/لتر)	5.52	0.33	6.57	0.12	0.0001**
حامض اليوريك (ملغم/100مل)	5.81	0.41	5.97	0.81	0.511
البليروبين الكلي (ملغم/100مل)	0.90	0.10	1.10	0.12	0.038*
الحديد (مايكروغرام/100مل)	122.03	11.28	108.22	10.56	0.048*
الكالسيوم (ملغم/100مل)	10.14	0.29	10.66	0.57	0.015*
المالوندايالديهايد (مايكرومول/لتر)	3.68	0.38	2.98	0.19	0.021*
البيروكسي نيتريت (مايكرومول/لتر)	91.51	21.07	77.43	19.81	0.037*

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.05$.

** فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p < 0.001$.

إن الانخفاض المعنوي لكل من إنزيم GST وMDA وبيروكسي النيتريت لدى كبار السن بعد الصيام دلالة واضحة على انخفاض مستوى الأكسدة لديهم وقلة حالة الكرب التأكسدي إذ عند الصوم تزيد حيوية وعمل الخلايا لطرح المواد المتراكمة فيها والتخلص منها خارج الجسم إذ قد تكون هذه المواد تسبب ضرر للخلايا وبالتالي قلة استخدام إنزيم GST لإزالة المركبات الضارة وكذلك قلة مركبات الأكسدة التي يمكن أن تسبب أضرارا داخل مكونات الخلية وعندها انخفاض أيضا في MDA وبيروكسي النيتريت (Ramadan *et al*., 1999). كما أن الارتفاع المعنوي في مستوى تراكيز مضادات الأكسدة لكل من: فيتامين C وفيتامين E والكلوتاثايون والبليروبين الكلي وSOD وSMP-30 والكالسيوم عند كبار السن بعد الصيام يؤكد تحسن أجسامهم وقلة مركبات الأكسدة لديهم، فكما هو معلوم أن تلك المضادات الأكسدة المذكورة في أعلاه تعمل على إزالة

أصناف الأكسدة المختلفة داخل الجسم وان ارتفاعها بعد الصيام إشارة واضحة إلى كون الأكسدة لديهم أقل مما كانت قبل الصيام (Arun *et al*., 2011).

كما ان زيادة قيمة SMP-30 بعد الصيام مؤشر جيد على تحسين صحة الجسم وزيادة وحيويته كونه يؤدي وظائف فسيولوجية عدة داخل الجسم، منها تنظيم ضخ الكالسيوم بين الغشاء البلازمي والمايتوكوندريا لمختلف أنواع الخلايا. كما يعتقد أن SMP-30 ينظم فعالية إنزيمات بروتين كاينيز Protein kinase والبروتين فوسفاتيز Protein phosphatase وبناء الـ DNA وألـ RNA في النواة (Yamaguchi, 2005) فضلا عن كونه من مضادات الأكسدة كما ذكر سابقا (Arun *et al*., 2011).

إذ إن احد علاجات التقليل من ظهور علامات الشيخوخة هي تناول مضادات أكسدة وكذلك التقييد بالسعرات المتناولة Caloric restriction من قبل كبار السن (Panno, 2005) وان الصيام ليس فقط يقلل السعرات المتناولة اليومية أنما أيضا ساعد على زيادة مضادات الأكسدة كما يلاحظ ذلك من النتائج (جدول 6) وبالتالي المحافظة على صحة أجسام المسنين وتأخير ظهور علامات الشيخوخة.

المصادر العربية

محمود، سامي (1993)." لا للشيخوخة المبكرة". دار المصرية للطباعة والنشر. ص17-19، 37، 121،127.

المصادر الأجنبية

Agarwal, A.; Gupta, S.; Sharma, R. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod. Biol. Endocrin*. **3**(28),1477-7827.

Arun, P.; Aleti, V.; Parikh, K.; Manne, V.; Chilukuri, N. (2011). Senescence marker protein 30 (SMP30) expression in eukaryotic cells: existence of multiple species and membrane localization. *PLOS ONE*. **6**(2),16545.

Ates, O.; Sedat, A.; Hakan, H.A.; Kiziltunc, A.; Beydemir, S. (2009). Decreased serum paraoxonase1 activity and increased serum homocysteine and malondialdehyde levels in age-related macular degeneration. *Tohoku J. Exp. Med*. **217**,17-22.

Barja, G. (2013). Updating the mitochondrial free radical theory of aging; An integrated view, key. *Antioxid Redox Signal*. 2013 May 5. [Epub ahead of print].

Baydar, N.G.; Ozkan, G.; Yasar, S. (2007). Evaluation of antiradical potential of grape extracts. *Food Control*. **18**,1131-1136.

Beal, M.F.; Howell, N.; Bodis-Wollner, I. (1997). "Mitochondria and Free Radicals in Neurodegenerative Diseases. Wiley- Liss, Inc., USA. pp. 32,498.

Behl, C.; Skutella, T.; Lezoualc'h, F.; Post, A.; Widmann, M.; Newton, C.J.; Holsboer, F. (1997). Neuroprotection against oxidative stress by estrogens: structure-activity relationship. *Mol. Pharmacol*. **51**, 535-41.

Birch, K.; MacLaren, D.; George, K. (2005). "Instant Notes in Sport and Exercise Physiology". 1st ed. Garland Science/BIOS Scientific Publishers. 127p.

Borel, P. (2003). Factors affecting intestinal absorption of highly lipophilic food microconstituents (fat-soluble vitamins, carotenoids and phytosterols). *Clin. Chem. Lab. Med*. **41**(8), 979-994.

Brown, M.S.; Goldstein. (1983). Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Ann. Rev. Biochem.* **25**, 223.

Bunker, V.W. (1992). Free radicals, antioxidants and ageing. *Med. Lab. Sci.* **49**(4),299.

Burtis, C.A.; Ashwood, E.R.; Bruns, D.E. (2012). "Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics". By Saunders, an imprint of Elsevier Inc. USA. pp. 356, 368.

D'Adamo, C.R.; Shardell, M.D.; Hicks, G.E.; Orwig, D.L.(2011). Serum vitamin E concentrations among highly functioning hipfracture patients are higher than in non fracture controls . *Nutr. Res.*, **31**, 205–214.

Denicola, A.; Radi, R. (2005). Peroxynitrite and drug-dependent toxicity. *Toxicology*. **208**(2), 273–288.

Doumas, B.T.; Watson, W.A.; Biggs, H.G. (1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin. Chem. Acta*. **31**, 87.

Emmerie, A.; Engel, C. (1938). Estamintion of alpha tocopherol in blood serum. *Rec. Trav. chim. Pays-Bas*. **57**, 1351.

Foster, T.C.; Sharrow, K.M.; Kumar, A.; Masse, J. (2003). Interaction of age and chronic estradiol replacement on memory and markers of brain aging. *Neurobiol Aging*. **24**, 839-52.

Gillham, B.; Papachristodoulou, D.K.; Thomas, J.H. (2000). "Wills` Biochemical Basis of Medicine". 3rd ed. Butterworth-Heinmann.UK.

Glantzounis, G.K.; Tsimoyiannis, E.C.; Kappas, A.M.; Galaris, D.A. (2005). Uric acid and oxidative stress. *Curr. Pharm. Des*. **11**,45-51.

Guidet, B.; Shah, S.V. (1989). Am. J. Physiol. 257 (26). F440 cited by Muslih, R.K., Al-Nimer, M.S., Al-Zamely, O.Y. (2002). The level of malondialdehyde after activation with H_2O_2 and $CuSO_4$ and inhibition by deferoxamine and Molsidomine in the serum of patient with acute myocardial infraction. *Nat. J. Chem.* **5**,139-148.

Guyton, A.C.; Hall, J.E. (2006). "Textbook of Medical Physiology". Elsevier Inc. Printed in China. 1004 p.

Habig, W.H.; Pabst, M.J.; Jakoby, W.B. (1974). Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biochem*. **249**(22), 7130-7139.

Harman, D. (1956). Ageing: a theory based on free radical and radiation chemistry . *J. Gerontol*., **11**,298-300.

Harman, D. (1972). The biological clock : the mitochondria? *J. Am. Geriartr. Soc*., **20**, 7-15.

Hennesy, D.J.; Gary, R.R.; Smith, F.E.; Thompson, S.L. (1984). Ferene: a new spectrophotometric reagent for iron. *Can. J. Chem.* **62**, 721-724.

Hinton, P.R. (2004). "Statistics Explained". 2nd ed. by Routledge. printed in the USA and Canada. pp. 85,125.

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

Hucho, F.; Wallenfels, K. (1972). Glucono-d-lactonase from *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys/ Acta*., **276**,176–179.

Ishigami, A.; Fujita, T.; Handa, S.; Shirasawa, T.; Koseki, H.; Kitamura, T. (2002). Senescence marker protein-30 knockout mouse liver is highly susceptible to tumor necrosis factor-alpha- and fas-mediated apoptosis. *Am. J. Pathol.* **161**,1273–1281.

Kazanis, K.; Dalamaga, M.; Kassi, E.; Nounopoulos, C.; Manolis, AS.; Merantzi, G.; Jullien, G.; Dionyssiou-Asteriou, A. (2011). Serum levels of ischemia modified albumin in overweight/obese postmenopausal women: A potential biomarker of atherosclerotic burden associated with oxidative stress. *Maturitas,* **70**(2),182-7.

Keysor, J.J.; Jette, A.M. (2001). Have we oversold the benefit of late-life exercise?. *J. Gerontol. A . Biol. Sci. Med. Sci.* **56**, 23-412.

Korrick, S.; Schwartz, J.; Tsaih, S.; Hunter, D.; Aro, A.; Rosner, B.; Speizer, F. (2002). Correlates of bone and blood lead levels among middle – aged and elderly women. *A. J. Epidemiology*. **156**(2), 335-343.

Liu. X. ; Wang, F.; Li, Y.; Sun, C. (2011). Oxidative stress and the susceptibility to obesity in rats. *Wei. Sheng. Yan. Jiu*. **40**(4),420-2.

Masella, R.; Di Benedetto, R.; Vari Filesi, C.; Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J. Nutr. Biochem*. **16**,577-586.

Maurya, P.K.; Rizvi, S.I. (2010). Age-dependent changes in glutathione-S-transferase: correlation with total plasma antioxidant potential and red cell intracellular glutathione. *Ind. J. Clin. Bio. chem.*, **25**(4), 398–400.

Maurya, P.K.; Rizvi, S.I. (2009). Alterations in plasma nitric oxide during aging in humans. *Indian. J. Biochem. Biophys*. **46**(1),130-2.

Moorehead, W.R.; Biggs, H.G. (1974). 2-Amino-2-methyl-1-propanol as the alkalizing agent in an improved continuous-flow cresophthalein complexone procedure for calcium in serum. *Clin. Chem*., **20**,1458–60.

Nash, D.; Magder, L.S.; Sherwin, R.; Rubin, R.J.; Silbergeld, E.K. (2004). Bone density related predictors of blood lead level among peri- and post menopause women in the united state : the third national health and nutrition examination survey, 1988-1994. *Am. J. Epidemol.* **160**, 901-911.

Nicita-Mauro, V.; Basile, G.; Maltese, G.; Nicita-Mauro, C.; Gangemi, S.; Caruso, C. (2008). Smoking, health and ageing. *Immunity and Ageing* **5**,10.

Ohira, A.; Ueda, T.; Ohishi, K.; Hiramitsu, T.; Akeo, K.; Obara, Y. (2008). Oxidative stress in ocular disease. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*. **112**, 22-29.

Panno, J. (2005). "Aging: Theories and Potential Therapies". Facts On File, Inc. Printed in the United States of America. 36 p.

Polidori, M.C.; Mecocci, P.; Stahl, W.; Sies, H. (2003). Cigarette smoking cessation increases plasma levels of several antioxidant micro-nutrients and improves resistance towards oxidative challenge. *Br. J. Nutr*., **90**,147-150.

Punthumapol, C.; Kittichotpanich, B. (2008). Serum calcium, magnesium and uric acid in preeclampsia and normal pregnancy. *J. Med. Asso. Thai*. **91**(7), 968-73.

Rajindar, S.S. ; William, C.O. (2012). The redox stress hypothesis of aging. *Free Rad. Biol. and Med.* **52**, 539-555.

Ramadan, J.; Telahoun, G.; Al-Zaid, N.S.; Barac-Nieto, M. (1999). Responses to exercise, fluid, and energy balances during ramadan in sedentary and active males. *Nutr.* **15**, 735–739.

Rizzo, A.M.; Berselli, P.; Zava, S.; Montorfano, G.; Negroni, M.; Corsetto, P.; Berra, B. (2010). Endogenous antioxidants and radical scavengers. *Adv. Exp. Med. Biol.* **698**, 52.

Ruiz-Larrea, B.; Leal, A.; Martin, C.; Martinez, R.; Lacort, M. (1995). Effects of estrogens on the redox chemistry of iron: a possible mechanism of the antioxidant action of estrogens. *Steroids*. **60**, 780-3.

Schneider, C. (2005). Chemistry and biology of vitamin E. *Mol. Nutr. and Food Res.* **49**(1), 7-30.

Sedlak, J.; Lindsay, R.H. (1968). Estimation of total, protein bond and non protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem*. **25**, 192-205.

Sekhon, L.H.; Gupta, S.; Kim. Y.; Agarwa, A. (2010). Female infertility and antioxidants current women's health. *Reviews*. **6**,2.

Sheweita, S.A.; Khoshhal, K.I. (2007). Calcium metabolism and oxidative stress in bone fractures: role of antioxidants. *Curr. Drug Metab*. **8**(5),519-525.

Singh, K.; Kaur, S.; Kumari, K.; Singh, G.; Kaur, A. (2009). Alterations in lipid peroxidation and certain antioxidant enzymes in different age groups under physiological conditions. *J. Hum. Ecol*. **27**(2),143-147.

Sirajwala, H.B.; Malukar, A.S.N.R.; Bhalgami, R.B.; Pandya, T.P.(2007). Serum ceruloplasmin level as an extracellular antioxidant in acute myocardial infarction. *J. Indian Acad. Clin. Med.* **8**(2), 135.

Stanley, T.; David, T.; Howerds, S. (1979). Selected method for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids. "Method in Enzymology", Vol. 62. vitamins and coenzymes part D.

Stella, L.; Pallottini, V.; Moreno, S.; Leoni, S.; DeMaria, F.; Turella, P.; Federici, G.; Fabrini, R.; Dawood, K.F.; Bello, M.L.; Pedersen, J.Z. (2007). Electrostatic association of glutathione transferase to the nuclear membrane .evidence of an enzyme defense barrier at the nuclear envelope. *J. Biol. Chem.* **282**, 6372–6379.

Sunderman, F.W.; Nomato, S. (1970). Measurement of human serum ceruloplasmin by its para phenylendiamine oxidase activity. *Clin. Chem*. **16**(11), 903-910.

Sykes, E.; Epstein, E. (1990). Laboratory measurement of bilirubin. *Clin Perinatol*. **17**, 397.

Tang, W.; Bentley, A.R.; Kritchevsky, S.B.; Harris, T.B.; Newman, A.B.; Bauer, D.C.(2013). Genetic Variation in Antioxidant Enzymes, Cigarette Smoking and Longitudinal Change in Lung Function. *Free Radic. Biol. Med.*, S0891-5849(13), 00226-8.

Tarin, J.J.; Perez-Albala, S.; Cano, A. (2000). Consequences on offspring of abnormal function in ageing gametes. *Hum. Reprod. Update*. **6**(6), 532-549.

Troen, R. (2003). The biology of ageing. *Mt. Sinai. J. Med*., **70**(1), 3-22.

Ueta, E.; Tadokoro, Y.; Yamamoto, T.; Yamane, C.; Suzuki, E.; Nanba, E.; Otsuka, Y.; Kurata, T. (2003). The effect of cigarette smoke exposure and ascorbic acid intake on gene expression of antioxidant enzymes and other related enzymes in the livers and lungs of shionogi rats with osteogenic disorders. *Toxicol Sci*., **73**, 339-347.

Vanuffelen, B.E.; Van Derzec, J.; Dekoster, B.M. (1998). Intracellular but not extracellular conversion of nitroxyl anion into nitric oxide leads to stimulation of human neutrophil migration. *Biochem. J*., **330**, 719-722.

Varady, K.A.; Hellerstein, M.K. (2007). Alternate-day fasting and chronic disease prevention: a review of human and animal trials. *Am. J. Clin. Nutr*. **86**, 7-13.

Varu, M.S.; Vagad, A.M.; Jani, H.A.; Savalia, C.V.; Jashi, V.S. (2012). A comparative study of serum lipid profile between premenopausal women. *N. J. Int. Res. Med.*, **3**(1), 43-45.

Veatch, J.R.; McMurray, M.A.; Nelson, Z.W.; Gottschling, D.E. (2009). Mitochondrial dysfunction leads to nuclear genome instability via an iron-sulfur cluster defect. *Cell.* **137**, 1247-1258.

Walters, M.; Gerarde, H. (1970). An ultramicromethod for the determination of conjugated and total bilirubin in serum or plasma. *Microchem. J*., **15**, 231 243.

Watson, F.L.; Püttmann-Holgado, R.; Thomas, F.; Lamar, D.L.; Hughes, M.; Kondo, M.; Rebel, V.I.; Schmucker, D. (2005). Extensive diversity of ig-super family proteins in the immune system of insects. *Imun*. **309** (5742), 1874-1878.

White, K.N.; Conesa, C.; Sanchez , L.; Amini, M.; Farnaud, S.; Lorvoralak, C.; Evans, R.W. (2012). The transfer of iron between ceruloplasmin and transferrins. *Biochimica. Biophysica. Acta.* **1820**, 411–416.

Xu, J.; Jia, Z.; Knutson, M.D.; Leeuwenburgh, C. (2012). Impaired iron status in aging research. *Internat. J. Mol. Sci.*, **13**(2), 2368-2386.

Yamaguchi, M. (2005). Role of regucalcin in maintaining cell homeostasis and function (review). *Int. J. Mol. Med.***15**, 371-389.

Yan, F.; Yang, W.; Li, X.; Lin, T.; Lun, Y. (2008). A trifunctional enzyme with glutathione S-transferase , glutathione peroxidase and Super oxide dismutase activity. *Biochemica. et Biophysica. Acta*. **1780**, 869–872.

Yildirim, B.; Demir, S.; Temur, I.; Erdemir, R. (2007). Lipid peroxidation in follicular fluid of women with polycystic ovary syndrome. *J. Reprod. Med.* **52** (8), 722 -726.

Yu, B.P. (1994). "Modulation of Aging Processes by Dietary Restriction" . CRC Press.