المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد١٩، العدد١، ٢٠٠٥ (٤٣-٥٢)

قابلية الاجهاد التأكسدي على احداث افات التصلب العصيدي في الارانب

انتصار رحيم الكناني و ايناس شيت مصطفى العلاف

فرع علم الامراض، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، موصل، العراق

(الاستلام ١٢ كانون الاول ٢٠٠٤؛ القبول ٢٤ نيسان ٢٠٠٥)

الخلاصة

بينت هذه الدراسة قابلية بيروكسيد الهيدروجين ٠,٥%والمستهلك في ماء الشرب بصورة حرة ولمدة ٦٠ يوما على احداث الاجهاد التأكسدي ومن ثم نشوء وتطور افات التصلب العصيدي في الارانب , حيث اظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثايون(Glutathione , GSH) وارتفاع معنوي في زناخة الدهن المالوندايالديهايد (Malondialdehyde) أنسجة كل من الابهر والكبد والكلية فضلا عن وجود ارتفاع معنوي في مستوى الكوليسترول الكلي والكليسريدات الثلاثية والشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة Low density lipoprotein (LDL-C) والشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جدا" (VLDL-C) Very low density lipoprotein ودليل التعصد , في حين كان هنالك انخفاض معنوي في مستوى الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية (HLDL-C) (High dens ty lipoprotein) مقارنة في مستوياتها في حيوانات السيطرة , اما بالنسبة للتغيرات النسجية فقد تمثلت بوجود الافات الدهنية التكاثرية في جدار الابهر والتي تعتبر بداية لحدوث افات التعصد.

THE CAPABILITY OF OXDATIVE STRESS TO INDUCE ATHEROSCLEROTIC LESIONE IN RABBITS

E R AL-Kennany and E Sh. AL-Allaf

Department of Pathology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

ABSTRACT

This study was elucidate the capability of hydrogen peroxide (0.5%) in the drinking water to induce an oxidative stress and their after development of atheromataus lesion in rabbits. This result characterized by significant decrease ($P < 0.05$) in tissue level of GSH and significant increase of MDA level in aorta, liver and

kidney tissues . Further more , with exception of HDL-C level, lipid profile parameter had been increased as compared with control group. Aortic microscopical lesions revealed fatty and proliferative lesions .

المقدمـــــــــة

يعد التصلب العصيدي من الامراض الفسلجية المزمنة التي تصيب الشرايين الكبيرة والمتوسطة والصغيرة الحجم مثل الابهر وشرايين الدماغ والشرايين السباتية والشرايين القلبية (1) وهو من الامراض الخطيرة التي تحدث في الانسان حيث تصل نسبة الوفيات الى 50% وخاصة في المدن الصناعية (2) .

عرف دور الاجهاد التأكسدي في امراضية التصلب العصيدي من خلال علاقة الجذور الحرة وتفاعلاتها غيرالمسيطر عليها لاكسدة الدهون حيث ان الجذور الحرة هي التي تؤدي فيما بعد وبعمليات متداخلة الى زناخة الدهن , وان الدهون المتزنخة تعد ضارة لدورها المؤذي في عملية التعصد ومضاعفاتها فضلا عن انها تعطي مؤشرا" لقوة التصلب العصيدي (3, 4, 5) وقد تم عمل نماذج تجريبية بتأثير بيروكسيد الهيدروجين في نمو وتطور افات التصلب العصيدي في كل من الدجاج (5) والجرذان (6) . وفي هذه الدراسة تم اختيار الارانب واعتبارها نموذجا جديدا" لاحداث افات التصلب العصيدي بالاجهاد التأكسدي من خلال استخدام بيروكسيد الهيدروجين والذي هو واحد من الجذور الحرة .

المواد وطرائق العمـــل

استخدم في هذه الدراسة 13 أرنبا بعمر النضوج الجنسي من الارانب المحلية (ذكور واناث) وبوزن يتراوح بين 1-1,5 كغم ربيت في اقفاص حديدية ووضعت تحت المراقبة خلال فترة التكييف امدها خمسة عشر يوما" للتأكد من خلوها من الامراض وبالاخص الكوكسيديا ،وتم تغذيتها على العلف المركز والجت الاخضر وتم استخدام بيروكسيد الهيدروجين(Degussa H_2O_2 50% Degussa A6 merk, Rheinfelden-Belgium) .

قسمت حيوانات التجربة الى مجموعتين رئيسيتين , شملت المجموعة الاولى خمسة ارانب استهلكت الماء والعلف العاديين وعدت مجموعة سيطرة بينما شملت المجموعة الثانية ثمانية ارانب استهلكت العلف العادي والماء المضاف اليه بيروكسيد الهيدروجين بتركيز ٠,٥ %تم تشريح ثلاثة ارانب بعد مرور ٣٠ يوما" من المعاملة لملاحظة التغيرات النسجية في كل من الابهر والقلب والكبد والكلية , اما الخمس المتبقية فقد شرحت بعد مرور ٣٠ يوما" من المعاملة.

وقد تم اعتماد المعايير التالية في تقييم الدراسة .

اولاً : التحري عن مستويات كلا مما يأتي في مصل الدم باستخدام عدة الاختبار الجاهز (Kit) والمصنع من شركة RANDOX .

١. الكوليسترول الكلي .
٢. الكليسريدات الثلاثية .
٣. الكوليسترول من نوع الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية HDL .
٤. الكوليسترول من نوع الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة LDL .
٥. الكوليسترول من نوع الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جدا"VLDL .

٦. دليل التعصد.

وقد تم قياس مستوى الكوليسترول الكليسريدات الثلاثية عند الاطوال الموجية ٤٣٦ و٥٤٦ نانوميتر وعلى التوالي .

ثانيا : اجراء الصفة التشريحية ودراسة الافات العيانية والنسجية ان وجدت على كل من الابهر والقلب والكبد والكلية وباستخدام تقنيات نسجية مختلفة وتضمنت ما ياتي : -

١. صبغة الهيماتوكسيلين – ايوسين .
٢. صبغة الاليشيان الزرقاء (PH-2.5) للكشف عن المواد المخاطية المتعددةالسكريدات
٣. صبغة الماسون ترايكروم للكشف عن الالياف (7) .

ثالثا : التحري عن مستوى كل من MDA و GSH لأنسجة أرانب بعض المجاميع وبخاصة أنسجة الابهر والكبد والكلية وتم تقدير مستوى GSH لأنسجة (الابهر والكبد والكلية) باستخدام الطريقة التي اتبعها الباحثون (8). كما واستخدمت الطريقة المعروفة بـــ (TBA) (Thiobarbituri Acid Reaction) لقياس مستوى بيروكسيدات الدهن في الأنسجة وحسب الطريقة التي اتبعها الباحثون(9).

التحليل الاحصائي

تم اجراء التحليل الأحصائي للبيانات الخاصة بهذه الدراسة بواسطة اختبار تحليل التباين One way analysis of variance واستخدام اختبار دنكن لتحديد الاختلافات الاحصائية بين المجاميع المختلفة للأرانب . وتم احتساب الفروقات المعنوية المذكورة في هذه الدراسة عند مستوى احتمالية $P < 0.05$ (10) .

النتائـــج

أولا : التاثير على مستوى صورة الدهن :

اظهرت نتائج الفحص المصلي لصورة الدهن في مجموعة السيطرة ان المستويات كانت ضمن الحدود الطبيعية في حين ان الارانب المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وبتركيز ٠,٥%بعد ٦٠ يوما" من المعاملة اظهرت ارتفاع في مستوى صورة الدهن فيما عدا مستوى HDL-C حيث اظهرت نتائجه انخفاض معنوي عند مقارنته مع حيوانات السيطرة (الجدول رقم واحد) .

ثانيا : التغيرات المرضية :

لم يلاحظ وجود افات مرضية في أبهر الحيوانات المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين بتركيز ٠,٥%عند اليوم ٣٠ من المعاملة ولكن عند اليوم ٦٠ من المعاملة تم جمع الشرائح الطازجة بصبغة سودان حيث تمثلت الافات العيانية بوجود ارتفاعات بطانية مسطحة وفي بعض الاحيان كانت بهيئة عقد مصبوغة باللون البرتقالي المحمر , في حين تمثلت الافات النسجية بوجود الفجوات الدهنية فوق الخلايا البطانية عند الطبقة الداخلية وفوق

الصفيحة المطاطية الداخلية مع تكسر الالياف المطاطية والتي اتضحت باستخدام صبغة الماسون ترايكروم والتي تظهر الافات الدهنية كما لوحظ وجود تكاثر طفيف للنجوات الدهنية والتي تمثل الافات التكاثرية وفي مقاطع اخرى تم ملاحظة الافات الدهنية الليفية والتي تعرف بالافات الدهنية التكاثرية والتي تتميز بوجود الخلايا المحملة بالدهون حيث تجمعت بشكل طبقات في جدار الابهر امتدت من الطبقة الداخلية الى الطبقة المتوسطة وفي بعض الاحيان كانت بشكل اعشاش او عناقيد خلوية , وقد اظهر الشريان الابهر كميات من المواد المخاطية المتعددة السكريدات والتي تم الكشف عنها باستخدام صبغة الاليشيان الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني ٢,٥ (الشكل ١-٣) .

وقد تميزت الافات العيانية للقلب بعد مرور ٦٠ يوما" من المعاملة بوجود تضخم في الالياف العضلية مع ترسبات دهنية كثيفة , في حين تمثلت الافات النسجية بوجود التغير الدهني في الخلايا وتنكس زجاجي مع احتقان شديد لبعض الاوعية الدموية التاجية والتي كان قسم منها يعاني من الخثار (الشكل ٤) وظهر **الكبد** بكونه ذو ملمس دهني ومسطح مع وجود الاحتقان الشديد في حين اظهرت المقاطع النسجية وجود تغير دهني شديد في الخلايا الكبدية فضلا عن توسع الاوردة المركزية وارتشاح كثيف للخلايا وحيدة النواة عند الباحة البابية مع تضخم خلايا كوفر وتنكس فجوي في البعض من خلايا الكبد ونخر تجلطي عند البعض الاخر (الشكل ٥) .

اما **الكلية** فقد أتصفت بلونها الباهت مع تجمع للنسيج الدهني بكميات كبيرة حول محفظتها ,في حين تمثلت التغيرات النسجية بوجود افات التنكس او التورم الخلوي مع النخر التجلطي , حيث ظهر عند البعض من النبيبات الكلوية وجود تورم الخلية والنخر التجلطي للخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية عند البعض الاخر , فضلا عن الاحتقان الشديد في الاوعية الدموية مع تنكس زجاجي في اللمة الكبيبية عند الخلايا البطانية (الشكل ٦) .

ثالثا : التاثير على مستوى MDA, GSH في بعض الأنسجة :

لوحظ ان الارانب المستهلكة لبيروكسيد الهيدروجين بتركيز ٠,٥%اظهرت انخفاضا" معنويا" في مستوى GSH في أنسجة الابهر والكبد والكلية عند مقارنتها مع مجموعة حيوانات السيطرة في حين لوحظ ارتفاع معنوي في مستوى MDA في الارانب المستهلكة لبيروكسيد الهيدروجين في أنسجة الابهر والكبد والكلية عند مقارنتها مع حيوانات مجموعة السيطرة (الجدول رقم أثنان) .

جدول رقم ١ : يوضح تاثير بيروكسيد الهيدروجين على صورة الدهن في الارانب

المجاميع	المعاملات	الكوليسترول	كليسريدات ثلاثية	HDL Mg/dl	LDL Mg/dl	VLDL Mg/dl	حليل التعصد
الاولى	السيطرة	110.8 أ ± 1.5	45.80 أ ± 0.86	36.8 أ ± 0.43	64.9 أ ± 1.72	9.2 أ ± 0.17	1.24 أ ± 0.2
الثانية	(1) H2O2	530.6 ب ± 18.43	151.6 ب ± 0.43	29.9 ب ± 0.43	188.4 ب ± 1.49	30.3 ب ± 0.02	17.7 ب ± 0.71

* . القيم يعبر عنها بالمعدل الحسابي ± الخط القياسي .
* . الحروف المختلفة عموديا" في كل صف تعني وجود معنوي عند مستوى احتمالية $P < 0.0001$ حسب اختبار T .
* . عدد الحيوانات 5 لكل مجموعة .
(١) بيروكسيد الهيدروجين ٠,٥ %في ماء الشرب يوميا" ولمدة ٦٠ يوما" .

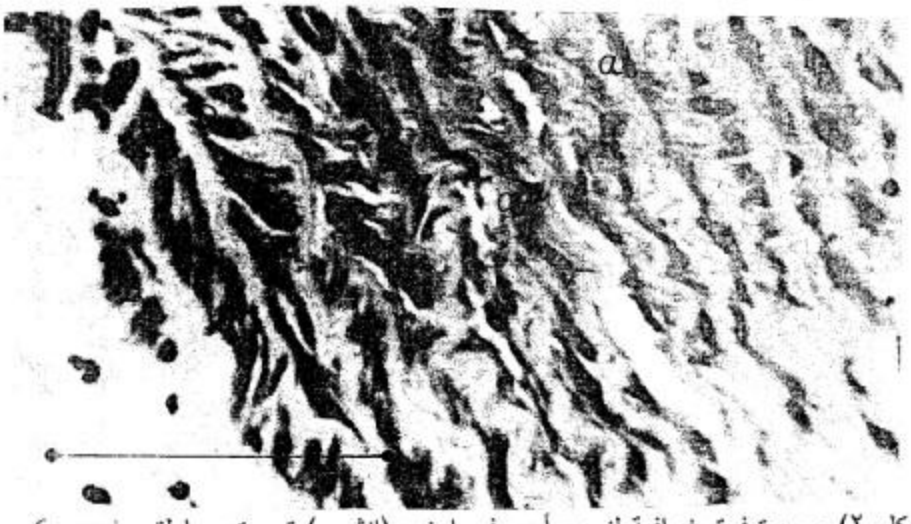
جدول رقم٢: يوضح تاثير المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين على مستوى GSH , MDA في بعض أنسجة الارانب .

المجاميع	المعاملات	GSH (ماكرو مول/غم نسج رطب)			MDA (نانو مول/غم نسج رطب)		
		الابهر	الكبد	الكلية	الابهر	الكبد	الكلية
الاولى	السيطرة	0.462 أ ± 23	2.52 أ ± 0.22	2.22 أ ± 0.95	220 أ ± 8	266.2 أ ± 50.2	205.6 أ ± 65.3
الثانية	(1) H2O2	0.162 ب ± 36	0.423 ب ± 21	0.523 ب ± 68	523 ب ± 55	510.3 ب ± 90.4	402.2 ب ± 102.4

* . القيم يعبر عنها بالمعدل الحسابي ± الخط القياسي .
* . الحروف المختلفة عموديا" في كل صف تعني وجود معنوي عند مستوى احتمالية $P < 0.0001$ حسب اختبار T .
* . عدد الحيوانات 5 لكل مجموعة .
(١) بيروكسيد الهيدروجين ٠,٥ %في ماء الشرب يوميا" ولمدة 60 يوما" .

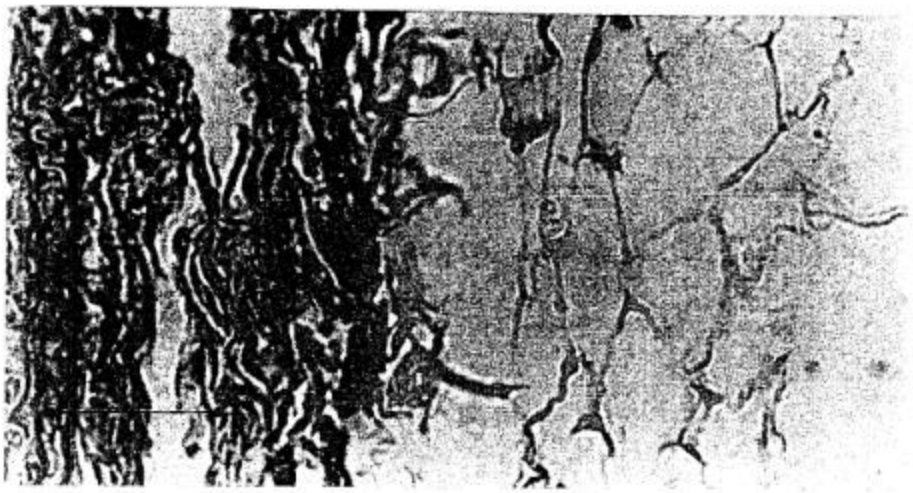
(الشكل ١) صورة فوتوغرافية لنسيج أبهر في ارنب (انثـى) تمـت معاملتهـا ببيروكسـيد الهيدروجين لمدة ٦٠ يوماً يوضح وجود الافات الدهنية المتمثلة بتواجد الفجوات الدهنية في طبقة البطانة (a) فضلا عن الخلايا الرغوية (b)

الصبغة H&E (——) يمثل مقياس الرسم = ١٠٠ مايكرون



(الشكل ٢) صورة فوتوغرافية لنسيج أبهر في ارنب (انثـى) تمـت معاملتهـا ببيروكسـيد الهيدروجين لمدة ٦٠ يوماً يوضح وجود تكسر الالياف المطاطية (a) مع تكـاثر الخلايـا العضلية الملساء (b)

الصبغة : ماسون ترايكروم (——) يمثل مقياس الرسم ١٠٠ مايكرون



(الشكل ٣) صورة فوتوغرافية لنسيج أبهر في ارنب (انثـى) تمـت معاملتهـا بيبروكـسيد الهيدروجين لمدة ٦٠ يوما" يوضح زيادة المواد المخاطية المتعددة السكريدات ( )

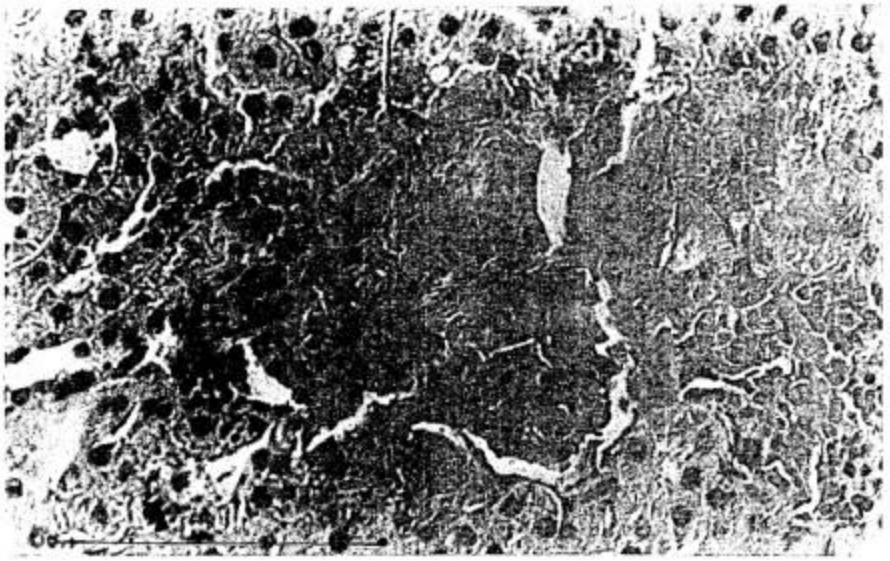
الصبغة : الاليشيان الزرقاء PH= 2-5 (ـــــ) يمثل مقياس الرسم ١٠٠٠ مايكرون

(الشكل ٤) صورة فوتوعرافية لنسيج قلب في ارنـب (انثـى) تمـت معاملتهـا بيبروكـسيد الهيدروجين لمدة ٦٠ يوما" يوضح موضع الختار في تجويف وعلى جدار الوعاء التاجي (a) مع وجود تكاثر للألياف المطاطية (b) .

الصبغة : H&E (ـــــ) يمثل مقياس الرسم = ١٠٠ مايكرون

(الشكل ٥) صورة فوتوغرافية لنسيج كبد في ارنب (انثى) تمت معاملتها ببيروكسيد الهيدروجين لمدة ٦٠ يوما" يوضح التنكس الفجوي الشديد (a) فضلا عن التغير الدهني (b) مع توسع الوريد المركزي (c)

الصبغة : H&E (ـــــ) يمثل مقياس الرسم = ١٠٠ مايكرون



(الشكل ٦) صورة فوتوغرافية لنسيج كلية في ارنب (انثى) تمت معاملتها ببيروكسيد الهيدروجين لمدة 60 يوما" يوضح التورم الخلوي الحاد (a) فضلا عن وجود التنكس الزجاجي في اللمة الكبيبة(b)

الصبغة : H&E (ـــــ) يمثل مقياس الرسم = ١٠٠ مايكرون .

المناقشـــــــة

إن أفات التصلب العصيدي تعد حالة مرضية مهمة تحدث نتيجة التغير في وظيفة وتركيب جدران الشرايين , من خلال تموضع واكسدة الشحوم البروتينية من نوع LDL-C بفعل جذور الاوكسجين الحرة وهو ما تناولته هذه الدراسة في احداث التصلب العصيدي في اناث الارانب وباستخدام بيروكسيد الهيدروجين ٠,٥ %حيث اكدت نتائج هذه الدراسة ان احداث الاجهاد التأكسدي في ذكور واناث الارانب لم يتم الا بعد مرور ٦٠ يوما من المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ٠,٥%واظهرت نتائج الفحص المصلي بعد مرور ٣٠ يوما" من المعاملة ارتفاع طفيف في مستوى الكوليسترول الكلي والكليسريدات الثلاثية عند مقارنتها مع حيوانات السيطرة ولم تظهر اى تغيرات عيانية او نسجية في جدار الابهر الا بعد مرور ٦٠ يوما" من المعاملة وهذا قد يعود الى ان بيروكسيد الهيدروجين يمتلك قابلية قوية للاكسدة باعتباره احد الجذور الحرة للاوكسجين والتي تؤدي الى اتلاف خلايا البطانة للجسم مسببة انخفاضا" مفاجئا وسريعا" بمستوى GSH , فضلا عن ذلك يكون للأثر الهرموني القابلية على المؤازرة في التاثير , حيث يعمل على تحفيز افراز اوكسيد النتريت الذي يعتبره احد مضادات الاكسدة مما يساعد في قابلية مقاومته للاكسدة وهذا ما لوحظ عند النساء في سن النضوج حيث يمتلكن مقاومة للتعصد وذلك لان هرمون الاستروجين يكون لديهن مرتفع والذي بدوره يعتبر احد عوامل الحماية (11).

لقد اظهرت نتائج الفحص المصلي لإناث الأرانب المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وبتركيز ٠,٥%بعد مرور ٦٠ يوما" من المعاملة ان هنالك زيادة معنوية في مستوى الكوليسترول الكلي والكليسريدات الثلاثية وVLDL-C, LDL-C وانخفاض معنوي في مستوى HLDL-C مقارنة بمستوياتها مع حيوانات السيطرة , حيث ان فرط كوليسترول الدم المتولد بالاجهاد التاكسدي والناتج عن إعطاء بيروكسيد الهيدروجين قد يكون ناتج عن حصول تغيرات في عملية امتصاص وطرح السيتروبد او قلة في كمية احماض الصفراء في الامعاء (12) وهذا يتفق مع النتائج التي حصل عليها الباحث (6) عند معاملة الجرذان ببيروكسيد الهيدروجين لوحده او مع الكوليسترول حيث ادى ذلك الى حدوث ارتفاع معنوي في مستوى الدهون الكلية والكوليسترول الكلي VLDL-C , LDL-C وانخفاض معنوي في مستوى HLDL-C , كما أوضحت نتائج هذه الدراسة الى ان هناك انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثايونGSH في أنسجة كل من الابهر والكبد والكلية والذي ترافق مع حدوث ارتفاع معنوي في مستوى زناخة الدهن MDA في تلك الأنسجة عند مقارنته مع مستوياتها في حيوانات السيطرة ، وهي بذلك تشابه حالة الاجهاد التاكسدي ببيروكسيد الهيدروجين في حيوانات أخرى مثل الدجاج والجرذان (1,3,5) ان الانخفاض في مستوى GSH الأنسجة في إناث الأرانب المعرضة للإجهاد التأكسدي يمكن ان يعزى إلى زيادة هدم GSH او انخفاض تصنيعه , وحيث ان GSH الأنسجة يقوم بدور مهم في عملية التاكسد والاختزال كما انه يقوم بكبح جزيئات الأوكسجين الفعالة في تحطيم الاذى التاكسدي (15,4) . يمكن ان يعزى ارتفاع مستوى MDA في الأنسجة الى زيادة زناخة الدهن الناتجة عن المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين حيث ان MDA يعتبر الناتج النهائي لعملية زناخة الدهن (16) .

اتصفت الأفات النسجية لأبهر الحيوانات التي استهلكت ببيروكسيد الهيدروجين ٠,٥% يوميا" ولمدة ٦٠ يوما" بوجود الآفة التعصدية والمتمثلة بوجود الخيوط الدهنية والخلايا الرغوية والألياف المطاطة المتكسرة مع تكاثر الخلايا العضلية الملساء في طبقة البطانة الوسطى لجدار الشريان . ويعتقد إن سبب تكاثر الخلايا العضلية هو الفعالية السمية

لبيروكسيد الهيدروجين حيث انه يحفز موت الخلايا المبرمج apoptosis وبالتالي فان تكاثرها يكون كعملية تعويض (17). ومن المحتمل إن عملية انقسام الخلايا العضلية الملساء الوعائية تخضع لسيطرة عامل النمو الذي يتحدد بزيادة او نقصان في هرمون الاسيتروجين . هذا وقد اظهرت التغيرات النسجية نتائج موجبة عندما صبغت الشرائح بصبغة الماسون ترايكروم والاليشيان الزرقاء فضلا عن الانقسام الكثيف للخلايا العضلية الملساء الوعائية حيث تؤكد بان الكلايكوجين والمواد المخاطية المتعددة السكريدات تنتج من انقسام تلك الخلايا والتي لها دور مهم في ربط البروتينات الدهنية في بلازما الأنسجة (18) . ان عملية تكوين القوالب الدهنية التي تحدث من خلال التحور لLDL-C يرافقها ارتشاحات خلايا التهابية ممثلة بالخلايا اللمفية نوع T cell helper وخلايا وحيدة النواة لان لها القابليةعلى اكسدة LDL من خلال وجود مستقبلات صيادة على سطحها وبالتالي تكون الخلايا الرغوية , مع تحفيز الخلية العضلية الملساء الوعائية على تحرير البروتينات خارج الخلية البيئية والتي تشمل Proteoglycans والالياف الغراوية والمطاطة والتي تشترك في تكوين القوالب الدهنية (19) .

تمثلت الافات النسجية في القلب بوجود الضخامة ويعتقد انها ناجمة عن حدوث تزنخ للدهون والذي يؤدي الى نقص الاوكسجين وعليه فان الالياف العضلية تعاني من الضخامة كعملية تعويضية فضلا عن ان نقص الاوكسجين يؤدي الى تحرير أنزيمات التحلل الذاتي والتي تكون مسؤولة عن احداث التنكس الزجاجي .

تميزت الافات النسجية في الكبد بوجود تغير دهني شديد في هيولي الخلايا الكبدية والتي تكون ناتجة عن تأثير الاجهاد التاكسدي ببيروكسيد الهيدروجين حيث ان ارتفاع مستوى MDA في الكبد يعد مؤشرا قويا" على حدوث زناخة الدهن والذي ترافق مع ارتفاع نسبة الكوليسترول في المصل وتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه الباحثون (15) حيث وجدوا ان هنالك زيادة في زناخة الدهن في أنسجة ذكور الارانب المعرضة للاجهاد التاكسدي .

وقد اتصفت الافات النسجية في الكلية بوجود التنكس او التورم الخلوي مع وجود تنكس زجاجي في اللمة الكبيبية ويعتقد ان حصول هذا التغير هو بفعل الاجهاد التاكسدي الذي يؤثر على مضخة الصوديوم في متقدرات الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية وبالتالي تاثيره على ايض البروتينات من خلال النقص في الطاقة المنتجة , فضلا عن ارتفاع مستوى MDA في نسيج الكلية الذي يعد مؤشرا" لعملية تزنخ الدهون .

المصـــــــادر

1. Sayer J and Timmis A. Atherosclerosis and coronary artery disease circulation , 1996 ; 94 : 1-8 .
2. Chan AG. Vitamin E and atherosclerosis .J Nutr . 1998 ; 128 : 1593-1596 .
3. Stringer Md, Gorog PG, Freeman A and Kakkar VV. Lipid peroxides and atherosclerosis . Br Med J . 1989 ; 298 : 281 .
4. Wolff SP. Diabetes meltius and free radicals. British Medical Bulletin , 1993 ; 49: 642-652 .
5. الكناني , انتصار رحيم . دراسة قابلية الاذى التأكسدي لبيروكسيد الهيدروجين في احداث افات التصلب العصيدي تجريبيا في افراخ الدجاج . رسالة دكتوراه فلسفة في علم الامراض البيطرية , كلية الطب البيطري , جامعة الموصل (1998).
6. Khudiar KK . The role of aqueous extracts of Olive (olea europea) leaves and garlic (*Allium sativum*) in ameliorating the effect of tally induced atherosclerosis in rats . Ph D Thesis College of Veterinary Medicine , University of Baghdad , 2000 .

7. Drury RA I and wallington EA. Carleton's histological technique. 1980 ; 5th ed – Oxford University Press .

8. Moron MS , Depierre jw and Mennerrik B levels of glutathione, glutathione reductase and glutathions S. Transferase activities in rats lung and liver. Biochem Biophys Acta. 1979 ; 582 : 67-78 .

9. Gilbert Stump DD and Roth EF . A method to correct for errors caused by generation of interfering compounds during erythrocyte lipid peroxidation , annual Biochem . 1984 ; 137 : 282 – 286 .

١٠. الراوي , خاشع محمود . المدخل الى الاحصاء , 1984 , مطبعة جامعة الموصل , العراق .

11. Holm P , Korsgaard N , Shaimi M, Anderson L, Iiougaard P, Skouby S and Stender S. Siguificand redution of antiatherogenic effect of estrogen by long-term inhibition of nitric oxide Synthesis in cholesterol –clamped rabbits . J C in Invest . 1997 ; 100 : 821 – 828 .

12. Hassan SM , AL- Kennany ER, and Hafez HAK. Hydrogen peroxide –induced atherosclerosis in chickens : Effect of Vitamin C. Iraqi J Vet Sci 2000 ;31: 249-270 .

13 . عبد الرحمن , صائب يونس . تاثير الجوع وداء السكري التجريبي على مستويات الكوتاثايون وزناخة الدهن في أنسجة الجرذان . رسالة دكتوراه في الفسلجة البيطرية كلية الطب البيطري , جامعة الموصل (1995) .

14. Mclennan SV, Heffernan S, Wright L. And Rae C. Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes . Diabetes, 1991 ; 40 : 344 – 348 .

15. Wohaieb SA., Tohala SH and AL-Dewachis DS. Effect of vit E on hydrogen peroxide induced oxidative stress in rabbits. Iraqi J Vet Sci .1994 ; 7: 81 84 .

16. Losada M and Alio J. Malondialdehyde serum concentration in type I diabetic with and without retinopathy. Doc Ophthalmol. 1997 ; 93 : 223 – 229 .

17. Fioroni M, Cantoni O, Tasinato A, Bascobinik D and Azzi A. Hydrogen Peroxide and fetal bovine serum induced DNA syrthesis in vascular smooth muscle cell :positive & negative regulation by proteinkinase C isoforms . Biochim Biophys Acta . 1269 : 98-104 .

18. Gero S. Rol of intimal mucoid snbstances in the pathogensis of atherosclerosis . complex form action in vitro between mucopolysaccharid from atherosclerotic intimas and plasma B lipoprotein and fibrinogen. J Ather Res. I: 67 .

19. Salisbury , B. G., Falcone , D. J. and Minick , C. R.. Insoluble low – density lipoprotein – proteoglycan complexes enhance cholesterol extra accumulation in macrophage . Am J Pathol . 20 : 6-11 .