تأثير بعض مضادات الأكسدة في صورة الدم وحالة مضادات الأكسدة في الديكة المعرضة للكرب ألتأكسدي

أشواق أحمد حسن و محمود سالم محمد شيت المعاضيدي

فرع الفسلجة، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الإستلام ٧ آذار ٢٠١١؛ القبول ٩ كانون الثاني ٢٠١٢)

الخلاصة

صممت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير فيتامين E بجرعة ٦٠٠ ملغم/كغم عليقه، فيتامين C بجرعة ٤٥٠ ملغم/كغم عليقه وسيلينات الصوديوم بجرعة ٠,٥ ملغم/كغم عليقه في ذكور أمهات دجاج البيض الليكهورن الأبيض البالغة (٣٠ أسبوع) المعرضة للكرب ألتأكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين بتركيز ٠,٥% مع ماء الشرب و لمدة ٦ أسابيع على صورة الدم، تم سحب عينات الدم خلال مدة الدراسة (٠، ٣، ٦) أسابيع. أوضحت الدراسة الحالية أن معاملة الديكة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده احدث ارتفاع معنوي في العد الكلي لخلايا الدم البيض، النسبة المئوية للخلايا المتغايرة ونسبة الخلايا المتغايرة / الخلايا اللمفاوية (مؤشر الكرب) ومستوى المالوندايالديهايد لنسيج الكبد مقارنة مع مجموعة السيطرة، فضلاً عن الانخفاض المعنوي في تركيز الهيموكلوبين، حجم خلايا الدم المرصوصة، النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية، الحمضة و مستوى كلوتاثايون نسيج الكبد في الأسبوع السادس من المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة، سببت المعاملة بمضادات الأكسدة مع بيروكسيد الهيدروجين انخفاضاً معنوياً في العد الكلي لخلايا الدم البيض، النسبة المئوية للخلايا المتغايرة، مؤشر الكرب و مستوى مالوندايالديهايد نسيج الكبد بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين لوحده ومجموعة السيطرة، رافق ذلك الارتفاع المعنوي في تركيز الهيموكلوبين، حجم الخلايا المرصوصة، النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية، الحمضة ومستوى كلوتاثايون نسيج الكبد عند مقارنته مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين لوحده والعودة إلى قيم السيطرة، وبشكل عام فأن المعاملة بفيتامين E و C وسيلينات الصوديوم قد عكست التأثيرات السلبية التي سببها الكرب ألتأكسدي المستحدث ببيرو كسيد الهيدروجين في بعض المعايير الفسلجية في الديكة البالغة.

Effect of some antioxidants on blood picture and antioxidants status in roosters exposed to oxidative stress

A. A. Hassan and M. S. M. S. Al-Ma'atheedi

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

Abstract

The present study was designed to investigate the effect of Vitamin E 600 mg/kg diet, Vitamin C 450 mg/kg diet and sodium selenite 0.5 mg/kg diet in adult white Leghorn male chickens (30 weeks), which were concomitantly exposed to oxidative stress induced by hydrogen peroxide (0.5%) supplemented with drinking water for 6 weeks on blood picture. Blood samples were collected at (0, 3, 6) weeks of treatment. Hydrogen peroxide caused a significant increase in the total leukocyte count, heterophils percentage and heterophils /lymphocytes ratio (stress index) accompanied with a significant increase in liver malondialdehyde level associated with significant decrease in hemoglobin concentration, packed cell volume, lymphocyte and esoinophil percentage. It also caused a significant decrease in liver glutathione on the 6th week of the treatment compared with control group. The antioxidants with hydrogen peroxide caused a significant decrease in the total leukocyte count, heterophils percentage and stress index accompanied with a significant decrease in malondialdehyde level in liver tissue compared with hydrogen peroxide alone and control group, beside that a significant increase in hemoglobin concentration, packed cell volume, lymphocyte, esoinophil percentage and liver glutathione level compared with hydrogen peroxide alone which returned to control group values. In general, treatments with Vitamin E, C and Sodium selenite reversed the adverse effects produced by hydrogen peroxide on certain physiological parameters in adult male chickens.

Available online at http://www.vetmedmosul.org/ijvs

المقدمة

تتعرض الدواجن إلى عوامل الكرب المختلفة التي تعمل على توليد أصناف الأوكسجين الفعالة منها عوامل كيميائية مثل بعض الأدوية وعوامل فيزيائية مثل التغيرات المناخية والإضاءة والإشعاعات فضلاً عن عوامل الكرب العصبي مثل اختلاف الجنس والازدحام (1)، كما تسبب عوامل الكرب تغيرات فسلجية في صورة الدم للديكة (2)، ازداد اهتمام الدراسات الحديثة بدور مضادات الأكسدة في الوقاية من الكرب ألتأكسدي الذي يحدث في الحالات غير الطبيعية مؤدياً إلى أحداث العديد من الأمراض التي تصيب الكائن الحي نتيجة للاختلال في التوازن بين الجذور الحرة والأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة، إن أهم دور للسيلينيوم هو المشاركة كجزء من أنزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز GSH-pxالمعتمد على السيلينيوم الذي يعمل على إزالة سمية بيروكسيد الهيدروجين داخل الجسم، ويساعد على منع تكوين جذور الهيدروكسيل (3)، وان لفيتامين C والسيلينيوم دوراً تازرياً إذ يعملان على زيادة الفعل المضاد للأكسدة لفيتامين E وتقويته، فضلاً عن تنظيم مستوى فيتامين E في الجسم (4). ويعاق امتصاص فيتامين E في حالة نقص السيلينيوم الشديد حيث يعمل السيلينيوم على الحد من نقص فيتامين E من خلال امتصاص مستوى عالٍ من فيتامين E، إلا أن الحاجة إليه تكون حتى بوجود كميات كافية من فيتامين E في العليقة (5) ، ويعمل فيتامين C على إعادة اختزال جذر فيتامين E غير الفعال Tocoperoxyl radical المتولد نتيجة تثبيط عملية بيروكسيدة الدهن، وبذلك يعزز من دور فيتامين E في المحافظة على غشاء الخلية من التلف، كما يزيد من امتصاص السيلينيوم من الأمعاء، وبذلك يعمل على تقوية النشاط المضاد للأكسدة لفيتامينE والسيلينيوم (6)، وقد أشار (7) El-Demerdash *et al.*إلى دورفيتامين E في الحفاظ على تركيز الهيموكلوبين،عد خلايا الدم الحمر، حجم الخلايا المرصوصة،مستوى البروتينات الكلية والألبومين في بلازما دم الجرذان، ويؤثر فيتامينC في مناطق واسعة من الجسم لتواجده في الدم والسوائل الموجودة خارج الخلية، مما يجعل دوره المضاد للأكسدة فعالاً وحيوياً (8). ويعمل السيلينيوم على منع الأذى ألتأكسدي الحاصل في الهيموكلوبين، كما يوفر حماية كبيرة من تكوين المالونداياالديهايد في نسيج الكبد (9). هدفت الدراسة إلى معرفة دور بعض مضادات الأكسدة (فيتامين E، C وسيلينات الصوديوم) في صورة الدم ومستوى الكلوتاثايون والمالونداياالديهايد في كبد الديكة البالغة والمعرضة للكرب ألتأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين.

المواد وطرائق العمل

جرت الدراسة في بيت الحيوانات في كلية الطب البيطري جامعة الموصل. وللمدة من ٢٠٠٨/٩/٤ ولغاية ٢٠٠٩/٢/١ حيث تم استخدام (٥٠) ديك لآباء أمهات البياض الليكهورن الأبيض هولندية المنشأ من نوع بوڤانس Bovans بعمر٣٠ أسبوعاً. تضمنت التجربة (٥) مجاميع بواقع (١٠) ديكه/مجموعة؛ مجموعة السيطرة: تناولت الديكة العليقة القياسية، ماء اعتيادي طول مدة التجربة. مجموعة المعاملة ببيركسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز٠,٥% (Laboratory reagent India) مع ماء الشرب (10)، ولمدة ٦ أسابيع. مجموعة المعاملة بفيتامين E (Shang Hang, China) ٦٠٠ ملغم/كغم عليقه (11) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز ٠,٥% مع ماء الشرب لمدة ٦ أسابيع. مجموعة المعاملة بفيتامين C (Chemical supply , sourth Australia) ٤٥٠ ملغم/كغم عليقه (11،10) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز ٠,٥% مع ماء الشرب لمدة ٦ أسابيع. مجموعة المعاملة بسيلينات الصوديوم (Fluka chemical AG. Switzerland) ٠,٥ ملغم/ كغم عليقه (12) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز٠,٥% مع ماء الشرب لمدة ٦ أسابيع.

جمعت عينات الدم خلال مدة الدراسة (وقت الصفر، ثلاثة أسابيع وستة أسابيع) حيث سحب (٢,٥مل) من الدم مباشرة من منطقة الوريد الجناحي (wing vein) ووضع في أنابيب حاوية على مانع التخثر (EDTA) وأجريت الفحوصات التالية:

العد الكلي لخلايا الدم البيض: تم حسابها في المليمتر المكعب الواحد من الدم، باستعمال العدة الخاصة لعد خلايا الدم Haemocytometer بعد تخفيف الدم بمحلول Natt and Herrick's وفق ما أشار إليه (13)، تم تطبيق المعادلة للحصول على العدد الكلي لخلايا الدم البيض في المليمتر المكعب الواحد من الدم.

العد الكلي لخلايا الدم البيض/ ملم^3 = (عدد الخلايا في ٩ مربعات + ١٠% من مجموع الخلايا البيض) × ٢٠٠

العد التفريقي لخلايا الدم البيض: وذلك بعمل مسحات باستخدام صبغة رايت Wright's stain وباستخدام طريقة الشرفة المدرجة Battlement method واستخرجت النسبة المئوية لكل نوع من أنواع خلايا الدم البيض. وقياس مؤشر الكرب Stress Index يمثل نسبة الخلايا المتغايرة / الخلايا اللمفاوية لتحديد الكرب في الدواجن (14). وتقدير تركيز الهيموكلوبين أستخدمت طريقة درابكن Drabkin's method (15). وقياس حجم الخلايا المرصوصة (16). إضافة إلى تقدير مستوى بيروكسيدة الدهن (المالونداياالديهايد) حسب طريقة (17) ومستوى الكلوتاثايون في نسيج الكبد وفق طريقة (18).

تم تحليل البيانات إحصائيا باستخدام تحليل التباين الثنائي Two way analysis of variance، ولفحوصات الكلوتاثايون والمالونداياالديهايد تم استخدام تحليل التباين الأحادي One way analysis of variance، ولاختبار معنوية الفروقات بين المجاميع فقد استخدم اختبار دنكن متعددة الحدود Duncan's multiple range test عند مستوى احتمالية ($P < ٠,٠٥$) لتحليل البيانات (19) وباستخدام البرنامج الإحصائي Sigma Stat V3.1.

النتائج

العد الكلي لخلايا الدم البيض

يلاحظ من الجدول (1) ارتفاعاً معنوياً (P <٠,٠٥) في العد الكلي لخلايا الدم البيض طيلة مدة التجربة (الأسبوع الثالث والسادس) للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده عند المقارنة مع مجموعة السيطرة ووقت الصفر، وتشير النتائج إلى حدوث انخفاض معنوي(P <٠,٠٥) في العد الكلي لخلايا الدم البيض للمجاميع المعاملة بكلٍ من(فيتامينE وفيتامينC وسيلينات الصوديوم) مع بيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين لوحده والرجوع إلى قيم السيطرة، ولم تختلف معنويا (P > 0,05) عن وقت الصفر.

تركيز الهيموكلوبين و حجم الخلايا المرصوصة

تشير النتائج في الجدول (١) إلى حدوث انخفاض معنوي (P<٠,٠٥) في تركيز الهيموكلوبين وحجم الخلايا المرصوصة طيلة مدة التجربة للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده عند المقارنة مع مجموعة السيطرة ووقت الصفر. سببت المعاملة بكلٍ من فيتامين C،E وسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين الى حدوث ارتفاع معنوي (P<٠,٠٥) في تركيز الهيموكلوبين وحجم الخلايا المرصوصة طيلة مدة التجربة بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين والرجوع الى قيم السيطرة ووقت الصفر، فيما عدا حدث الارتفاع المعنوي (P<٠,٠٥) في الأسبوع الثالث من المعاملة بفيتامينC مع بيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ووقت الصفر.

الجدول (١) تأثير فيتامين E وC و سيلينات الصوديوم في العد الكلي لخلايا الدم البيض ألف خلية/ملم^3 وتركيز الهيموكلوبين غم / ١٠٠ مل من الدم وحجم الخلايا المرصوصة % للديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين.

المعاملات	مدة المعاملة								
	العدد الكلي لخلايا الدم البيض الف خلية / ملم^3			تركيز الهيموكلوبين غم / ١٠٠ مل من الدم			حجم الخلايا المرصوصة %		
	وقت الصفر	٣ أسابيع	٦ أسابيع	وقت الصفر	٣ أسابيع	٦ أسابيع	وقت الصفر	٣ أسابيع	٦ أسابيع
مجموعة السيطرة	22.168 ±0.59 a A	23.733 ±0.86 b A	24.156 ±1.42 b A	11.17 ±0.46 Aa	11.41 ±0.13 b A	11.71 ±0.24 ab A	38.5 ±0.42 a A	38.5 ±0.65 Aa	38.5 ±0.63 Aa
بيروكسيد الهيدروجين	24.665 ±1.14 B a	28.841 ±1.29 a A	29.831 ±2.24 a A	11.49 ±0.22 a A	9.45 ±0.20 c B	9.20 ±0.21 c B	38.6 ±0.45 Aa	35.7 ±0.63 Bb	34.6 ±0.63 B b
فيتامينE + بيروكسيد الهيدروجين	24.853 ±1.10 a A	22.986 ±0.93 b A	21.998 ±1.53 b A	11.62 ±0.20 a AB	11.10 ±0.20 b B	12.35 ±0.27 A a	38.7 ±0.53 Aa	39.0 ±0.59 A a	38.7 ±0.51 a A
فيتامينC + بيروكسيد الهيدروجين	24.409 ±1.34 a A	24.426 ±0.71 b A	24.441 ±1.44 b A	11.61 ±0.24 a B	12.35 ±0.28 a A	12.32 ±0.20 a AB	38.4 ±0.60 a A	41.4 ±0.63 a A	39.0 ±0.63 a A
سيلينات الصوديوم + بيروكسيد الهيدروجين	25.227 ±1.90 a A	22.512 ±0.74 b A	25.546 ±2.18 b A	11.00 ±0.38 a A	11.75 ±0.34 ab A	11.20 ±0.43 b A	39.0 ±0.55 a A	39.1 ±0.69 a A	38.1 ±0.62 a A

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي (n=10).
الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المجاميع (P < ٠,٠٥).
الحروف الانكليزية الكبيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية ضمن المجموعة الواحدة (P < ٠,٠٥).

العد التفريقي لخلايا الدم البيض

يبين الجدول (٢) حدوث ارتفاع معنوي (P<٠,٠٥) في النسبة المئوية للخلايا المتغايرة للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده في الأسبوع الثالث والسادس بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، وكان الارتفاع معنوياً من المعاملة عند المقارنة مع الأسبوع وعن وقت الصفر. تشير النتائج إلى حدوث الانخفاض المعنوي (P<٠,٠٥) في النسبة المئوية للخلايا المتغايرة في الأسبوع الثالث من المعاملة بكل من (فيتامينE وC) مع بيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده وعدم الرجوع إلى قيم السيطرة ولم

تختلف عن وقت الصفر، أدى إعطاء سيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين إلى حدوث إنخفاض معنوي($P<٠,٠٥$) للنسبة المئوية لخلايا المتغايرة في الأسبوع الثالث والسادس بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين والرجوع الى قيم السيطرة ووقت الصفر. يظهر الجدول (2) حدوث الانخفاض المعنوي ($P <٠,٠٥$) في النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ووقت الصفر لتلك المعاملة، توضح نتائج الدراسة الارتفاع المعنوي ($P <٠,٠٥$) بالنسبة المئوية للخلايا اللمفاوية في الأسبوع السادس من المعاملة بفيتامينE مع بيروكسيد الهيدروجين والأسبوع الثالث من المعاملة بسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع بيروكسيد الهيدروجين لوحده وعدم الرجوع إلى قيم السيطرة ولم تختلف عن وقت الصفر لتلك المعاملة. تظهر النتائج ارتفاع معنوي ($P <٠,٠٥$) في النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية المعاملة بفيتامينC مع بيروكسيد الهيدروجين طيلة مدة المعاملة بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين وعدم رجوعها إلى المستوى الطبيعي لقيم السيطرة ووقت الصفر.

يوضح الجدول (٢) الارتفاع المعنوي($P <٠,٠٥$) لمؤشر الكرب للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ووقت الصفر، وكان الارتفاع معنوياً في الأسبوع السادس من المعاملة بالمقارنة مع الأسبوع الثالث ووقت الصفر لتلك المعاملة، في حين أدى أعطاء فيتامينE وفيتامينC وسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين إلى حدوث الانخفاض المعنوي ($P <٠,٠٥$) لمؤشر الكرب في الأسبوع الثالث من المعاملة بالمقارنة مع مجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده ولم تختلف معنويا عن وقت الصفر، أما الأسبوع السادس من المعاملة بفيتامينE مع بيروكسيد الهيدروجين فلوحظ الانخفاض المعنوي ($P <٠,٠٥$) بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين وعدم رجوعها إلى قيم مجموعة السيطرة، وظهر الانخفاض المعنوي ($P <٠,٠٥$) لمؤشر الكرب في الأسبوع السادس من للمجموعة المعاملة بفيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين وسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين ورجوع قيمها إلى قيم السيطرة.

الجدول (٢) تأثير فيتامين E وC و سيلينات الصوديوم في النسبة المئوية للخلايا المتغايرة والخلايا اللمفاوية و نسبة الخلايا المتغايرة/الخلايا اللمفاوية (مؤشر الكرب Stress Index) والخلايا الحمضة للديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين.

المعاملات	مدة المعاملة											
	الخلايا المتغايرة %			الخلايا اللمفاوية %			نسبة الخلايا المتغايرة/الخلايا اللمفاوية			الخلايا الحمضة %		
	وقت الصفر	٣ أسابيع	٦ أسابيع	وقت الصفر	٣ أسابيع	٦ أسابيع	وقت الصفر	٣ أسابيع	٦ أسابيع	وقت الصفر	٣ أسابيع	٦ أسابيع
مجموعة السيطرة	19.3 ±0.70 a A	19.8 ±0.59 c A	19.7 ±0.73 b A	58.7 ±1.66 a A	57.0 ±1.53 a A	57.1 ±1.34 a A	0.32 ±0.01 a A	0.34 ±0.01 c A	0.34 ±0.01 c A	10.1 ±0.48 a A	10.4 ±0.49 a A	10.1 ±0.40 a A
بيروكسيد الهيدروجين	19.8 ±0.51 a B	26.5 ±0.60 a A	28.3 ±0.94 a A	55.6 ±1.69 a A	46.3 ±1.56 c B	40.7 ±1.43 c C	0.35 ±0.01 a C	0.58 ±0.01 a B	0.70 ±0.03 a A	10.1 ±0.40 a A	7.5 ±0.30 b B	7.8 ±0.29 b B
فيتامينE + بيروكسيد الهيدروجين	21.2 ±0.78 a A	22.4 ±0.74 b A	21.3 ±0.68 b A	55.6 ±1.42 a A	54.0 ±0.65 ab A	52.5 ±1.07 b A	0.36 ±0.01 a A	0.41 ±0.01 b A	0.40 ±0.01 b A	9.9 ±0.45 a A	10.1 ±0.40 a A	9.0 ±0.47 ab A
فيتامينC + بيروكسيد الهيدروجين	21.0 ±0.71 a A	22.2 ±1.07 b A	20.7 ±0.59 b A	58.2 ±1.07 a A	52.2 ±1.29 b B	52.2 ±1.47 b B	0.35 ±0.01 a B	0.42 ±0.02 b A	0.39 ±0.01 bcAB	9.4 ±0.56 a A	9.5 ±0.47 a A	10.1 ±0.40 a A
سيلينات الصوديوم + بيروكسيد الهيدروجين	21.5 ±0.60 a A	20.6 ±0.67 bc A	20.2 ±0.62 b A	54.9 ±1.50 a A	52.5 ±2.00 b A	53.8 ±1.65 ab A	0.37 ±0.00 a A	0.39 ±0.02 bc A	0.37 ±0.02 bc A	10.0 ±0.55 a A	9.9 ±0.45 a A	9.7 ±0.44 a A

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي (n=10).
الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المجاميع ($P < ٠,٠٥$).
الحروف الانكليزية الكبيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية ضمن المجموعة الواحدة ($P <٠,٠٥$).

تظهر النتائج في الجدول (٢) حدوث انخفاض معنوي (٠,٠٥ > P) في النسبة المئوية للخلايا الحمضة في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وعن وقت الصفر وأدت المعاملة بكل من (فيتامين E وفيتامين C وسيلينات الصوديوم) مع بيروكسيد الهيدروجين إلى حدوث الارتفاع المعنوي (٠,٠٥ > P) في النسبة المئوية للخلايا الحمضة طيلة مدة التجربة بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين والرجوع الى قيم مجموعة السيطرة ووقت الصفر.

مستوى المالوندايالديهايد و الكلوتاثايون في نسيج الكبد

يبين الجدول (٣) أن المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده أدت إلى حدوث الارتفاع المعنوي (٠,٠٥ > P) لمستوى المالوندايالديهايد والانخفاض المعنوي (٠,٠٥ > P) لمستوى الكلوتاثايون في الكبد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، وسبب إعطاء كلٍ من مضادات الأكسدة (فيتامين C،E وسيلينات الصوديوم) مع بيروكسيد الهيدروجين انخفاضاً معنوياً (٠,٠٥ > P) في مستوى المالوندايالديهايد وارتفاعاً معنوياً (٠,٠٥ > P) في مستوى الكلوتاثايون عند المقارنة مع المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده ومجموعة السيطرة.

الجدول (٣) تأثير فيتامين E وC وسيلينات الصوديوم في مستوى المالوندايالديهايد MDA نانومول/غم نسيج رطب ومستوى الكلوتاثايونGSH مايكرومول /غم نسيج رطب للديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين.

المعاملات	المالوندايالديهايد نانومول/غم نسيج رطب	الكلوتاثايون مايكرومول /غم نسيج رطب
	الكبد	الكبد
مجموعة السيطرة	27.1±1073 d	0.62±5.161 c
بيروكسيد الهيدروجين	58.1±3152 a	0.25±3.735 d
فيتامين E + بيروكسيد الهيدروجين	38.4±1198 c	0.22±7.882 a
فيتامين C + بيروكسيد الهيدروجين	46.7±1268 bc	0.32±6.705 b
سيلينات الصوديوم + بيروكسيد الهيدروجين	17.7±1332 b	0.26±6.147 b

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي (n= 5)، الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المجاميع ٠,٠٥ > P.

المناقشة

أظهرت الدراسة الحالية أن معاملة الديكة ببيروكسيد الهيدروجين أدت إلى حدوث الارتفاع المعنوي في العد الكلي لخلايا الدم البيض والنسبة المئوية للخلايا المتغايرة ونسبة الخلايا المتغايرة/الخلايا اللمفاوية H/L ratio (مؤشر الكرب) والانخفاض المعنوي في تركيز الهيموكلوبين وحجم خلايا الدم المرصوصة في النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية والحمضة طيلة مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة وعن وقت الصفر. هذه النتيجة تتفق مع صلاح (2) في ذكور أمهات فروج اللحم، وبين سعيد (20) أن تعريض الديكة المحلية للكرب الحراري أدى إلى الارتفاع المعنوي في العد الكلي لخلايا الدم البيض والانخفاض المعنوي في العد الكلي لخلايا الدم الحمر وحجم الخلايا المرصوصة، ولم تتفق مع حسن (21) أن معاملة الأرانب ببيروكسيد الهيدورجين (٠,٥%) أظهرت الانخفاض المعنوي في العد الكلي لخلايا الدم البيض والنسبة المئوية للخلايا العدلة والارتفاع المعنوي في النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية والحمضة. يسبب التعرض لبيروكسيد الهيدروجين تأثيرات حيوية مختلفة في العد الكلي لخلايا الدم البيض وبالتالي التغيير في الاستجابة المناعية للحيوان من خلال تعزيز المناعة أوالتأثيرات المثبطة في الاستجابة المناعية (22)، إذ تسهم خلايا الدم البيض في الدفاع ضد العديد من الإصابات الخمجية والمواد السامة التي يتعرض لها جسم الإنسان والحيوان من خلال تحطيم الأجسام الغريبة بعملية البلعمة Phagocytosis أو من خلال تحسس الخلايا اللمفية لتكوين الاجسام المضادة، ومن ثم تحطم الجسم الغريب (23). وان حالات الكرب التي تتعرض لها الطيور تؤدي الى زيادة إفراز الهرمون المحرض لقشرة الكظر من الغدة النخامية وهرمون الكورتيكوستيرون من قشرة الغدة الكظرية، وهذا يؤدي إلى زيادة العد الكلي لخلايا الدم البيض (24). أن الخلايا المتغايرة واللمفاوية هي أكثر أنواع خلايا الدم البيض تأثراً بالظروف غير الطبيعية التي تتعرض لها الطيور وتتغير أعدادها نتيجة لعوامل الكرب (25،26). أن سبب الانخفاض المعنوي في تركيز الهيموكلوبين في الحيوانات المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين يعود الى أن الأكسدة تؤدي إلى فقدان الإلكترون من ايون الحديدوز Fe^{+2} في جزيئة الهيموكلوبين إلى الأوكسجين وتكوين ايون السوبر اوكسايد السالب والميتهيموكلوبين الذي تأكسد فيه أيون الحديدوز Fe^{+2} إلى أيون الحديديك Fe^{+3} (27) وقد تزامن هذا الانخفاض مع الانخفاض الحاصل في حجم خلايا الدم المرصوصة، إذ تزداد حساسية خلايا الدم الحمر للتحلل عند نقص بعض الأنزيمات أو المواد الضرورية اللازمة للمحافظة على ثبات أغشية خلايا الدم الحمر، وإن أصناف الأوكسجين الفعالة قد تؤدي إلى تلف الهيموكلوبين وتكوين ترسبات داخل الخلية تدعى جسم هينزHeinz body وتؤدي هذه الأجسام الى تحلل كريات الدم الحمر(16). إذ يتناسب حجم خلايا الدم المرصوصة في الحيوانات الطبيعية طرديا مع عدد خلايا الدم

الحمر وكمية الهيموكلوبين، إذ تزداد قيمه عند زيادة عدد خلايا الدم الحمر وانخفاض حجم البلازما، وتقل عند نقصان عدد خلايا الدم الحمر (28). أظهرت الدراسة الحالية أن إعطاء مضادات الأكسدة (فيتامين Eو C وسيلينات الصوديوم) مع بيروكسيد الهيدروجين سبب تحسناً في العد الكلي لخلايا الدم البيض والنسبة المئوية للخلايا المتغايرة واللمفاوية ومؤشر الكرب والحمضة الارتفاع المعنوي لتركيز الهيموكلوبين وحجم خلايا الدم المرصوصة والرجوع الى قيم السيطرة. واتفقت هذة النتيجة مع صلاح (2) أشار أن معاملة ذكور أمهات فروج اللحم بفيتامين C (٤٥٠ ملغم/ كغم عليقة) أدت إلى تحسن معنوي في العد الكلي لخلايا الدم البيض والنسبة المئوية للخلايا المتغايرة واللمفاوية ومؤشر الكرب والحمضة و خلايا الدم الحمر وتركيز الهيموكلوبين وحجم خلايا الدم المرصوصة، ولم تتفق مع حسن (21) إذ ادت معاملة الأرانب بفيتامين E مع بيروكسيد الهيدروجين إلى زيادة معنوية للعد الكلي لخلايا الدم البيض والنسبة المئوية للخلايا العدلة، والانخفاض المعنوي في النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية والحمضة. وقد لاحظوا Kassab *et al.*(29) ارتفاعاً معنويًا في تركيز الهيموكلوبين نتيجة إضافة فيتامين C لعلائق فروج اللحم المربى تحت تأثير درجات حرارة مرتفعة، وأشار الدراجي (30) أنه عند إضافة فيتامين C (٤٥٠ ملغم/كغم عليقه) لأمهات فروج اللحم قابرو المربى تحت تأثير كرب حراري خلال أشهر الصيف أدى إلى الارتفاع المعنوي في تركيز الهيموكلوبين وحجم خلايا الدم المرصوصة والارتفاع المعنوي في العد الكلي لخلايا الدم البيض. ولاسيما أن لأنظمة مضادات الأكسدة القدرة على الحماية من الأذى والتدمير التي تسببه الجذور الحرة، يعود سبب التحسن إلى أن فيتامينE يمتلك دوراً حيوياً لحماية الأحماض الدهنية غير المشبعة وبقية مكونات أغشية الخلايا (31) إذ يتواجد في الأماكن التي تحتاج الى ضغط جزيئي عالي من الأوكسجين مثل أغشية خلايا الدم الحمر (32) كما إن إضافة فيتامينC الذي يعمل على تنشيط إفراز العامل المسئول على تكوين خلايا الدم الحمر Erythropoietin من الكلية وهذا يحفز نخاع العظم على إنتاج خلايا الدم الحمراء (29). وقد لوحظ أن تناول فيتامين C مع العليقة يمنع من التحطيم التأكسدي للحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA في خلايا الدم البيض ويحفز الجهاز المناعي على إنتاج خلايا الدم البيض ويقلل من مخاطر التحطيم بوساطة الجذور الحرة (33)، كما أشارت بعض الدراسات إلى دور السيلنيوم في حماية البروتينات الهيمية Haemoprotein (الهيموكلوبين والسايتوكروم) ضد الاذى التأكسدي (34)، اذ يتواجد العنصر في الأنزيمات السيلينية Selenoenzymes المهمة للوظائف الطبيعية للكائن الحي مثل الكلوتاثايون بيروكسيديز التي لها علاقة بالنظام المضاد للأكسدة والتي تقي الخلية من التأثيرات الضارة للجذور الحرة ويمنع بذلك بيروكسدة الدهن وتثبيت أغشيتها (35). سببت المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لمدة ٦ أسابيع الارتفاع المعنوي بمستوى المالونداليديهايد MDA والانخفاض المعنوي بمستوى الكلوتاثايون GSH في نسيج الكبد وتتفق هذه النتيجة مع الكناني(36) في أفراخ الدجاج و أمين آغا (37) في فروج اللحم والقطان (11) للدجاج البياض. إن إنخفاض تركيز GSH في حالات الكرب التأكسدي يحدث بسب إنخفاض فعالية تحويلة السكر الخماسي Pentose shunt، إذ ينخفض نشاط أنزيم كلوكوز–٦-فوسفيت ديهايدروجينيز G-6-PDH الضروري لنشاط تحويلة السكر الخماسي وبالتالي الخلل في تكوين العامل المختزل NADPH وبذلك لا يتمكن أنزيم الكلوتاثايون ريدكتيز GSH-rd من إعادة إختزال الشكل المؤكسد للكلوتاثايون GSSG وبالتالي يحدث انخفاضاً في تركيز الكلوتاثايون المختزل GSH، أي أن نسبة الشكل المؤكسد للكلوتاثايون GSSG الى الشكل المختزل له GSH تكون عالية (38)، وأن الكرب التأكسدي التجريبي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين عن طريق الفم لمدة طويلة يؤدي الى تأثيرات هدامة ترفع من بيروكسدة الدهن في مختلف الأنسجة وبالتالي إستنزاف كلوتاثايون الأنسجة، في حين أدت المعاملة بفيتامين E وC وسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين إلى الارتفاع المعنوي لمستوى الكلوتاثايون والانخفاض المعنوي لمستوى المالونداليديهايد في نسيج الكبد. أشارت أمين آغا (37) ان أعطاء فيتامين E (٥٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم) وفيتامين C (٥٠٠ ملغم/كغم وزن الجسم) عمل على تحسين حالة مضادات الأكسدة في أنسجة الكبد والكلية والبنكرياس والقلب لفروج اللحم المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين. وبينت الباحثة القطان (11) أن المعاملة بفيتامين E للدجاج بتركيز(٢٠ ملغم/كغم وزن الجسم) وفيتامين C (٢٥ ملغم/كغم وزن الجسم) بالتزامن مع بيروكسيد الهيدروجين لمدة ٢٨ يوما أدت إلى الإرتفاع المعنوي في مستوى GSH والانخفاض المعنوي في مستوى MDA، إذ يعد فيتامين E من مضادات الأكسدة ذات الألفة العالية للدهون (Lipophilic) موجود في البلازما والأنسجة ويعمل على كسر الروابط الكيمياوية وكذلك اصطياد الجذور الحرة وبذلك يمنع حصول التأكسد عن طريق استقطاب جذر البيروكسيل الحر ومن ثم يعمل على توفير الخط الدفاعي الاول للحماية ضد التلف ببيروكسدة الدهون (39)، كما يعد فيتامينC أقوى مضادات الأكسدة الطبيعية غير الانزيمية الذائبة في الماء ويعمل على كسح أصناف الأوكسجين الفعالة وله تأثير وقائي ضد تثبيط الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل الكاتليز CAT، الكلوتاثايون بيروكسيديز والكلوتاثايون ريدكتيز GSH-rd (40)، لقد درس Surai (41) أن إضافة السيلنيوم في عليقة أمهات الدجاج وانتقاله عبر صفار البيض إلى أنسجة الأفراخ الفاقسة حديثاً بعمر١-٥ يوم ومساهمته في تطوير النظام المضاد للأكسدة في كبد الأفراخ الفاقسة من خلال زيادة فعالية أنزيم الكلوتاثايون بيروكسيديزGSH-px وحدوث إنخفاض في حساسيتها لبيروكسدة الدهون.

الشكر والتقدير

نتقدم بالشكر والتقدير إلى عمادة كلية الطب البيطري / جامعة الموصل لما أبدته من مساعدات وتسهيلات من أجل انجاز البحث.

المصادر

1. Sodhi S, Sharma A, Brar APS, Brar RS. Effect of α tocopherol and selenium on antioxidant status, Lipid peroxidation and hepatopathy induced by malathion in chicks. Pesticide Bioch and physio. 2007; 90(2):82-86.
٢. صلاح، سنان عصام الدين. تأثير استخدام فيتاميني A و C وبذورالحلبة في بعض الصفات الفسلجية والنسيجية لذكور أمهات فروج اللحم. (رسالة ماجستير): العراق، جامعة الموصل. ٢٠٠٨.
3. Halliwell B,Gutteridge JMC. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. Lancet. 1984;11(1):1396-1397.
4. Carmen D. Nutrition. Atomic Doc. Publishing USA. 2002;8:118-119.
5. Surai PF, Kostjuk IA, Wishart G, Macpherson A, Speake B, Noble RC, Ionov IA, Kutz E. Effect of vitamin E and Selenium of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes and liver. Bio Trace Element Research. 1998;64:119-132.
6. Pauling L. Vitamin C as Antioxidant. J Ann Collection Nutr. 2003; 14(4):387-392.
7. El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS , Baghdadi HH. Cadimum- induced change in lipid peroxidation blood hematology. Biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and beta carotene. Food Chemical Toxicol. 2004;42(10):1563-1571.
8. Bishop ML, Fody EP, Schoeff L. Clinical chemistry. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Awolters Kluwer company. 2005. p.205-626.
9. Siemianowicz K, Gminski J, Telega A, Wojcik A, Posielezna B, Bochenek R, Francuz T. Blood antioxidant parameters in patients with diabetic retinopathy. Intern J Mol Med. 2004; 14(3): 433 - 437.
١٠. طه، احمد طايس. دور فيتاميني A و C وبذور الحلبة في التقليل من أثر الإجهاد التأكسدي في الأداء الفسلجي والتناسلي لإباء فروج اللحم (أطروحة دكتوراه): العراق، جامعة الموصل. ٢٠٠٨.
١١. القطان، منتهى محمود داؤد. تأثير إستخدام بعض مضادات الأكسدة في الأداء الإنتاجي وبعض الصفات الفسلجية للدجاج البياض. (أطروحة دكتوراه): العراق. جامعة الموصل. ٢٠٠٦.
12. Paton ND, Cantor AH, Pescatone AJ, Ford MJ, Smith CA. The effect of dietary selenium source and level on the uptake of selenium by developing chick embryo. Poultry Sci. 2002;81:1548-1554.
13. Campbell TW. Avian Hematology and Cytology. 2nd ed., Iowa State Press. A Blackwell Publishing Company.1995.
14. Gross WB, Siegel HS. Evaluation of heterophil /lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. Avian Dis. 1983;27(4):972-979.
15. Drabkin DL, Austin JH. Spectrophotometric studies. II preparations from washed blood cells. Nitric oxide hemoglobin and sulfhemoglobin. J Bio Chem. 1935;112:51-56.
16. Jain SK. The neonatal erythrocyte and its oxidative susceptibility. Seminars in Hematology. 1989;26:286-300.
17. Gilbert HS, Stamp DD, Roth EF. Amethod to correct for errors caused by generation of interfering compounds during erythrocytes lipid peroxidation. Analytic Bio chem. 1984;137:282-286.
18. Moron MS, Depierre JW, Mennervik B.Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. Bio chem Bio physical Acta. 1979;582(1):67-78.
١٩. جوده، احمد محفوظ. التحليل الإحصائي المتقدم باستخدام SPSS. عمان، الأردن: الطبعة الأولى، دار وائل للنشر، ٢٠٠٨.
٢٠. سعيد، جميل محمد. أثر الإجهاد الحراري على إنتاج السائل المنوي وبعض خواص الدم في ديكه الدجاج المحلي. المجلة العراقية للعلوم البيطرية.١٩٩٨، ١(٢): ١٠٥-١١٣.
٢١. حسن، اشواق احمد. تأثير الاجهاد التأكسدي على بعض مكونات الدم في الأرانب البالغة. (رسالة ماجستير): العراق، جامعة الموصل. ١٩٩٧.
22. Khudair KK. Hydrogen peroxide effects on immune responses (cellular and humeral) immunity of adult male rabbits. Iraqi J of Biotech. 2008;7(2):226-238.
23. Guyton AC, Hall JE. Text book of medical Physiology. 11th ed., Elsevier science; Philadelphia. 2006.
24. Siegal HS. Physiological stress in birds. Bio Sci. 1980;30:529-534.
٢٥. الحسني، ضياء حسن. فسلجة الطيور الداجنة. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة بغداد، كلية الزراعة، ٢٠٠٠.
26. Stryer L. Biochemistry. 4th ed. W.H. Freeman and Co. Newyork. USA. 2000.
27. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 3rd ed., Oxford, Oxford University Press. 1999.
٢٨. محي الدين، خير الدين ويوسف، وليد حميد. علم الفسلجة البيطرية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، ١٩٨٧.
29. Kassab A, Al-Senied AA , Injida MH. Effect of dietary ascorbic acid on the physiology and performance of heat stressed broilers. Proceeding of 2nd Symposium, Ascorbic acid in domestic animals. Ittingen, Switzerland. 1992;270-285.
٣٠. الدراجي، حازم جبار. تأثير إضافة حامض الاسكوربيك إلى العليقة في الصفات الفسلجية والإنتاجية لقطعان أمهات فروج اللحم فاوبرو المرباة خلال اشهر الصيف. (أطروحة دكتوراه): العراق، جامعة بغداد، ١٩٩٨.
31. Lanari MC, Hewavitharana AK, Becu C, Jong SDe. Effect of dietary tocopherols and tocotrienols on the antioxidants status and lipid stability of chickens. Meat Science. 2004;68:155-162.
32. Lach J, Karezewiski JK. Assessement of content of antioxidant vitamins in respective seasons of the year in diet. junior of high school Przgl Lek. 2003;60(5):57-69.
33. Peter M, Steffen L. Oxidative DNA damage in human white blood cells in dietary antioxidant intervention Studies. American J Clin Nutri. 2002;76(2):303-310.
34. Chen H, Tapple AL. Protection of haemproteins by vitamin E, Selenium and beta carotene against oxidative damage in rat heart, Kidney, Lung and Spleen. Free Radica Research Commun. 1993;19(3):183-190.
35. Mysliwiec Z, Machony-Mokrzynska A, Juzyszyn Z, Czerny B, Put A. Effects of selenium on serum lipids and enzyme activities in fluoride intoxicated rats. Fluoride. 2002;35(3):168-175.
٣٦. الكناني، انتصار رحيم عبيد. دراسة قابلية الأذى التأكسدي لبيروكسيد الهيدروجين في إحداث أفات التصلب العصيدي تجريبياً في أفراخ الدجاج. (أطروحة دكتوراه): العراق، جامعة الموصل. ١٩٩٨.
٣٧. أمين آغا، فدوى خالد توفيق. تأثير الكزبرة والزعتر وكبريتات الفناديل وتنكستات الصوديوم وتداخلاتها على بعض الجوانب الفسلجية والكيموحيوية لفروج اللحم. (أطروحة دكتوراه): العراق، جامعة الموصل. ٢٠٠٢.
38. Martins RN, Stokes GB, Masters CL. Regulation of multimolecular forms of rat liver glucose-6-phosphate dehydrogenease by insulin and dietary restriction. Bio chemical Bio physical Research Coummun. 1985;127:136 - 142.
39. Duell PB. Prevention of atherosclerosis with dietary antioxidants: fact or fiction? J of Nutrition. 1996;126:1067S-1071S.
40. Prakash S, Joshi YK. Assessment of micronutrient antioxidants, total antioxidant capacity and lipid peroxidation level in liver cirrhosis. Asia Pacific J Clin Nutri. 2004;13:S110.
41. Surai PF. Organic selenium: benfits to animals and humans, a biochemit's view in: Biotechnology in feed industry. Proc of the 16th annual Symposium (Ed. T.P. Lyons and K.A. Jacques). Nottingham university Press, Nottingham, UK. 2000. p.205-260.