تأثير بيروكسيد الهيدروجين والدهون الحيوانية المشبعة في مستوى شحوم الدم لذكور الجرذان البالغة

خالد حمادي حميد شرف و معن سمير كلو

فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والادوية - كلية الطب البيطري - جامعة الموصل

تاريخ الاستلام 2005/11/28

تاريخ القبول 2006/1/23

ABSTRACT

Thirty two albino male adult healthy rats were used as a biological and experimental model for this study, their body weight ranged between 250-275g and aged 3-4 months. They were divided according to the body weight into four groups. The first group considered to be control group, feed ordinary diet and normal drinking water, the second group feed ordinary diet and giving 0.5% H_2O_2 in freshly prepared drinking water, which contains oxygen and hydroxyl free radicals. The third group feed atherogenic diet (normal diet containing 4.69% saturated animal fats and 0.26% cholesterol) and normal drinking water, and the fourth group feed atherogenic diet and 0.5% H_2O_2 in drinking water for 30days experimental period. Nutritional status (body mass, afford diet, eliminated feces, liver, heart, kidney weights and diet lipid absorption) were estimated. Serum total lipid, cholesterol, triglycerides, phospholipids and various lipoproteins were determined, atherogenic indices were calculated and the malondialdehyde levels of liver, heart, kidney tissues were estimated. Analysis of variance and Duncan multiple tests showed the highly effect of 0.5% H_2O_2 with/without saturated animal fats and cholesterol, was caused a decrease in body mass, ingesting diet weights and body absorbable lipid and increase values of serum total lipids, cholesterol, triglyceride, very low density and low density lipoproteins, In addition, it caused an increase values of atherogenic indices and a decrease in high density lipoprotein. Also the atherogenic diet alone was caused a similar affect of hydrogen peroxide on rat's nutritional status and serum lipid profile, therefore, the interaction affect of those two agents together was caused increase values of rat serum lipids, lipoproteins, malondialdehyde and a decrease in high density lipoprotein value.

الملخص

استخدم32 من ذكور الجرذان البالغة السليمة أنموذجا"بايولوجيا" وتجريبيا" لإجراء هذه الدراسة، تراوحت أوزانها بين 250-275 غم وأعمارها بين 3-4 اشهر، قسمت اعتمادا" على وزن الجسم على أربع مجموعات متساوية العدد ومتماثلة الأوزان. استعملت المجموعة الأولى عينة سيطرة، غذيت غذاء اعتياديا" وماء شرب اعتياديا"، اما المجموعة الثانية فغذيت غذاء اعتياديا" وماء شرب يحتوي على مصدر لعامل مؤكسد وجذر حر باستعمال0.5% من بيروكسيد الهيدروجين المحضر يوميا"، وغذيت المجموعة الثالثة غذاء التعصد وهو الغذاء الاعتيادي المضاف إليه4.69% من الشحوم الحيوانية المشبعة و0.26% من الكولسترول وماء شرب اعتيادي، اما المجموعة الرابعة فغذيت غذاء التعصد وماء شرب يحتوي على0.5% من بيروكسيد الهيدروجين. استمرت التجربة لمدة 30 يوما". قدرت في بداية التجربة ونهايتها الحالة التغذوية للجرذان من خلال تقدير الزيادة الوزنية المكتسبة للجسم، وزن الغذاء المتناول وكمية الدهن الممتصة من الغذاء. كما قيس مستوى الدهون الكلية والكولسترول الكلي وثلاثي الكليسريد والدهون الفوسفاتية والشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جدا" والواطئة والعالية في الدم وحسبت دلائل التعصد، كما قدرت محتويات الكبد والقلب والكلية من المالونداياالديهايد (عامل بيروكسدة الدهون بالأنسجة)، ومحتوى الكبد من الكولسترول.

بينت نتائج التحليل الإحصائي إن لبيروكسيد الهيدروجين ذي التركيز0.5% تأثيرا" أدى إلى انخفاض معنوي($p<0.05$) في الزيادة الوزنية لوزن الجسم والغذاء المستهلك والدهن الممتص من قبل الحيوان، كما أدى إلى ارتفاع مستوى الدهون الكلية والكولسترول الكلي وثلاثي الكليسريد والشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة والواطئة جدا"لمصل الدم كما أدى إلى ارتفاع دلائل التعصد وانخفاض الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية في الدم. اما غذاء التعصد فقد أدى إلى تأثيرات مشابهة لتأثير بيروكسيد الهيدروجين. وقد أدى بيروكسيد الهيدروجين والشحوم الحيوانية إلى ارتفاع قيم المالونداياالديهايد في الأنسجة المدروسة. وعليه فأن تأثيرهما معا" أدى إلى تأثير تأزري مضاعف للصفات المدروسة.

المقدمة

يعد ارتفاع شحوم الدم من مسببات التصلب العصيدي وإن أهم أنواعها والذي له علاقة مباشرة بتطورهذا المرض هو الكولسترول إذ يكون في غالبيته (70%) بشكل مؤستر مع الأحماض الشحمية (1). إن تثبيط تصنيع الكولسترول في الخلايا المتنية للكبد Hepatic parenchymal cells الذي يتم عن طريق تثبيط أنزيم 3-Hydroxy 3-methyl glutaryl Co enzyme –A reductase لا يعد كافياً لمنع تراكم الكولسترول داخل الخلية في حال استمرار ارتفاع مستواه في الدم ويرجع ذلك إلى ارتفاع نسبته في الغذاء، كما إن زيادة مستوى الكولسترول داخل الخلية وتراكمه فيها سوف يؤدي إلى اختزال في فعالية مستقبلات(LDL-c) ثم إلى نقص في أيضها(2). كما تزداد خطورة تطور مرض الشريان التاجي

Coronary artery disease (CAD) عند زيادة مستويات الكولسترول في الدم، وهنا تؤدي الوراثة دوراً ملحوظاً إذ تبين أن توزيع الكولسترول في الجسم تتحكم به عدة جينات تؤثر إما في مستوى LDL-c أو في تصنيع الكولسترول وهذا ما يدعى بارتفاع كولسترول الدم متعدد الجينات Polygenic hypercholesterolemia أو ارتفاع الكولسترول الأولي. أما ارتفاع الكليسيريدات الثلاثية في الدم Hypertriglyceridemia فيعد أقل شيوعاً وعادةً ما يصاحب ذلك زيادة مستويات VLDL-c و Chylomicrons لكن النوع المختلط يتميز بارتفاع كل من LDL-c و VLDL-c. إن 70% من كولسترول الدم موجود ضمن تركيب LDL-c في حين لا تحتوي HDL-c على أكثر من 20% لهذا فإن قياس كولسترول الدم يعكس على نحو رئيسي تركيزLDL-c (3,2). وفضلاً عن ما ذكرفي أعلاه تؤدي عوامل الخطورة الغذائية Dietary risk factors دوراً بارزاً في زيادة شدة الآفة التعصدية وتشمل الاستهلاك المرتفع للسعرات الحرارية بمعدل أكثر من 40% والشحوم المشبعة بأكثر من 10% وزيادة استهلاك الكولسترول بمعدل يتجاوز 300 ملغم/ يوم من مجموع الغذاء المتناول (4)، وقد لوحظ أن نسبة LDL-c/HDL-c وحدها لا توفر دلالة واضحة على التداخل الوظيفي المعقد بين هذين النوعين من الشحوم البروتينية وعلاقة هذا التداخل بحدوث تصلب الشرايين, بيد أن النسبة TC/HDL-c تعد من أفضل دلائل التعصد مقارنة بقياس قيم شحوم الدم المفردة (5). وهناك عدد من العوامل الأخرى التي يجب أخذها في الحسبان والتي تعمل على زيادة مستوى LDL-c وتشمل الاستهلاك العالي للكاربوهيدرات وتناول الكحول بكمية أكبر من 100 مل/يوم هذا علاوة على التركيز العالي للأنسولين والتركيز الواطئ للكلوكاكون (6). كما بين (7) حديثاً أن هناك علاقة عكسية بين درجة تثخن الطبقة الداخلية Intimae media thickness IMT للشريان السباتي وقطر LDL-c. كما تؤدي مجموعة من العوامل الأخرى دوراً بارزاً في ارتفاع شحوم الدم وهي: داء السكر Diabetes mellitus وإرتفاع ضغط الدم Hypertension (8) والتدخين (9) والسمنة (10) والشيخوخة والضعف العام(11) ونقص هورمونات الدرقية (12) وسن اليأس عند النساء (13)، فضلا" عن عدد من عوامل الخطورة التي تتداخل فيما بينها وإحدى النتائج الحتمية لهذه الأسباب والعوامل هي تطور التصلب العصيدي Atherosclerosis(14).

إن الإجهاد التأكسدي Oxidative stress والذي ينتج عن نقصان في الأنظمة المضادة للأكسدة بالجسم التي تكبح جماح أصناف الأوكسجين الفعالة Reactive oxygen species (ROS) ذات الفعالية المؤكسدة للخلايا (15). ولذا يعد الإجهاد التأكسدي المسؤول عن كثير من الأمراض المزمنة والمتلازمات المعقدة والتي تسبب أكسدة LDL-c فضلاً عن تأثيرها في(NO) Nitric oxide والخلايا البطانية للشرايين والخلايا العضلية الملساء بالإضافة لتأثيرها السلبي في تمثيل البروتين داخل الخلية (16). ولقد لوحظت زيادة في حالات الإجهاد التاكسدي عند مرضى داء السكر(17)، كما أن الإجهاد التأكسدي يمكن أن يعمل على زيادة خطورة التعرض لأمراض القلب عند النساء وقد وضعت عدة فرضيات تعلل دور

المؤكسدات في زيادة الأكسدة الخلوية من خلال إطلاق جذر الهيدروكسي اثيل Hydroxyethylradical (HE) (18), إن الجذر الحر هوايون أو ذرة أو جزيئة اواية مادة عالية السمية تمتلك واحداً أو أكثر من الالكترونات المنفردة في مدارها الخارجي، وعلى هذا تعد الجذور الحرة دقائق قلقة سريعة التفاعل إذ تؤدي إلى تغيرات كيميائية كبيرة خلال فترة زمنية قصيرة جداً ويرجع ذلك إلى قابليتها العالية على اكتساب الكترون واحد مثل الأوكسجين المفرد Singlet oxygen بيروكسي نتريت Peroxynirate، وبيروكسيد الهيدروجين والنتروكسيد Nitroxide (19,1) تنتج الجذور الحرة عند اختزال الأوكسجين إلى الماء بمساعدة إنزيمات Cytochrome oxidase إذ يمثل إنزيم NADH oxidase مصدراً مهماً لأنواع الأوكسجين الفعالة من خلال عمليات السلسلة التنفسية ونقل الالكترونات مباشرة إلى الأوكسجين ليتكون جذر السوبر اوكسيد (O_2) Superoxide radical الذي يتحول تلقائياً إلى بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بمساعدة إنزيم السوبر اوكساید دسميوتيز المعتمد على المنغنيز Mn-Superoxide dismutase (Mn-SOD) أو أنزيم (Zn/Cu -SOD)، يتحول H_2O_2 إلى الماء بمساعدة إنزيمات Peroxidase أو الكتاليز Catalase أو يتحول بوجود المعادن إلى جذر الهيدروكسيل (OH) radical Hydroxyl. ويزداد تكوين أنواع الأوكسجين الفعالة وتحريرها في عدة حالات منها انخفاض قابلية الجسم المضادة للأكسدة، والشيخوخة وعدد من الامراض المعدية، والتلوث البيئي، والتدخين، والاشعاع، والمبيدات الحشرية والفطرية وبعض الأدوية مثل Cyclophosphamide (15) تشمل أنواع الاوكسجين الفعالة الحاوية جذور (16) جذر السوبر اوكساید O_2، وجذر الهيدروكسيل OH، وجذور الالوكسيل RO، وجذر البيروكسيل ROO. أما أنواع الأوكسجين الفعالة غير الحاوية جذورفتشمل الأوكسجين المفرد $1/2O_2$ ، وبيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 ، وبيروكسيد الدهون ROOH ، وبيروكسي نتريت ONOO ، وهايبوكلوريد OCl، واوكسيد النتريك NO (16). ويعد اوكسيد النتريك Nitric oxide (NO) الذي ينشأ من الحامض الامينيL-argenine مساهماً أساسياً في تنظيم ضغط الدم إذ يعمل على توسيع الأوعية الدموية كما يمنع التصاق الخلايا وحيدة النواة ببطانة الشريان علاوة على تنظيم مضادات الأكسدة والمساهمة في السيطرة على أكسدة الشحوم في جدران الشرايين(20,1) لكن ارتباط جذر NO بجذر O_2^- يكون البيروكسي نتريت Peroxynitrate(ONOO) ذا السمية العالية(22,21,20). أما النوع الأخر من أصناف الآوكسجين الفعالة والشبيه بـNO هو النيتروكسيد Nitroxide الذي تعادل قوته 100 ضعف أكثر من قوة NO، وعند تفاعل الـ Nitroxide مع O_2 يتكون مركب يمتلك صفات مماثلة لإنزيم SOD إذ يعمل على الحد من عدد من اثار المواد المسرطنة من خلال تأثيره الكاسح للجذور الحرة (20). إن هدف هذه الدراسة هو معرفة تأثير كل من 0.5%من بيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب وإضافة الدهون الحيوانية المشبعة والكولسترول إلى العلف أو تأثيرهما معا"في مستوى شحوم دم ذكور الجرذان البالغة.

المواد وطرائق العمل

الأعلاف المستخدمة: تم الحصول على مكونات الخلطة العلفية الأساس من الأسواق المحلية إذ عدلت بإضافة طحين الحنطة لأجل تجانس توزيع مسحوق الكولسترول الذي أضيف الى العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية، استعملت في هذه الدراسة نوعين من الأعلاف والتي تشمل العلف الخاص بمجموعة السيطرة، والعلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية.

الجدول: المكونات الغذائية ونسبها المئوية المستخدمة في تغذية الجرذان وفقاً للمتطلبات الغذائية الفسلجية لـ (23) والتحليل الكيميائي لها على أساس الوزن الجاف

الخلطة العلفية			التحليل الكيميائي		
المكونات العلفية	السيطرة %	العلف+الشحوم الحيوانية%	المكونات الغذائية	السيطرة%	العلف+الشحوم الحيوانية%
مجروش الذرة الصفراء	47.93	47.89	الدهن الخام	7.06	7.14
طحين الحنطة	19.07	19.06	الكاربوهيدرات	66.51	67.14
مجروش الشعير	15.73	15.72	البروتين	12.46	12.04
نخالة الحنطة	7.39	7.38	الألياف الخام	6.77	6.73
ملح الطعام	1.43	1.42	الرماد	7.20	6.95
كربونات الكالسيوم	0.95	0.95	الطاقةالمتأيضة البديلة	379.42Kcal	380.98Kcal
فوسفات أحادية الصوديوم	1.46	1.42			
عناصر معدنية نادرة لاعضوية	1.43	1.47			
دهون مضافة	*4.61	**4.69			

* زيت فول الصويا الخالي من الكولسترول.** شحوم حيوانية + مسحوق الكولسترول (بلغت نسبة الكولسترول الكلي في العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية 0.67%) وحسبت الطاقة المتايضة البديلة على أساس 9 كيلوسعرة/غم دهن و 4 كيلوسعرة/غم كاربوهيدرات أو بروتين إذ قدركيميائياً.

تم التحري عن وجود السموم الفطرية في العلف المحضر وفقاً لما جاء به (24) وذلك بمعاملة العلف بالكلوروفورم وفحص التألق الضوئي تحت مصباح الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet light وكانت النتيجة سالبة ولقد حضر العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية عن طريق إضافة مسحوق الكولسترول بنسبة 0.26% وعدلت نسبة الدهن في العلف بإضافة الدهون الحيوانية المشبعة المستخلصة من الأنسجة الشحمية للأغنام عن طريق تسخين هذه الأنسجة في فرن كهربائي بدرجة 250°م مدة 5-6

ساعات ثم عزلت المواد الدهنية ، إذ بردت واذيبت في الكحول الأثيلي بتركيز 70% ثم أضيف طحين الحنطة المضاف إليه الكولسترول مع التقليب المستمر حتى تمام التجانس (25). رطب العلف المحضر بكميات مناسبة من الماء من اجل سهولة تشكيله وتقطيعه على هيئة أصابع Pellets بطول 1 - 2 سم وبقطر 1 سم وذلك باستخدام ماكنة فرم اللحم اليدوية ذات مصفاة خاصة مع إزالة سكين القطع ثم جفف العلف بدرجة حرارة الغرفة بعيداً عن الأتربة والحشرات مع التقليب المستمر وأكمل التجفيف باستعمال فرن الهواء الحار بدرجة حرارة 55م° وحفظ في أكياس من البولي أثيلين النظيف والجاف وفي مكان جاف وبارد. أما علف السيطرة فقد حضر بالطريقة نفسها والنسب في أعلاه باستثناء إضافة الكولسترول والدهن الحيواني إذ استبدلت بزيت فول الصويا الخالي من الكولسترول وخلط وتشكل كما ذكرفي أعلاه.
أجري التحليل الكيميائي للأغذية المحضرة إذ قدرت الرطوبة باستخدام الفرن الكهربائي بدرجةحرارة 106°م مدة ساعتين وقدرت نسبة الرماد باستخدام فرن الاحتراق Muffle furnace وبدرجة 660°م مدة 6 ساعات وفقاً لـ(26) أما البروتين فقد قدر بطريقة Micro-Kjeldahl اما فيما يخص الدهن الخام (مستخلص الإيثر) فقد قدر وفقاً لـ(27) باستخدام السوكسليت وإما الكاربوهيدرات فقد قدرت وفقاً لـ(26) هذا وقد حسبت نسبة الألياف الخام من طرح نسب المكونات في أعلاه من 100% كما مبين في الجدول (1).

ماء الشرب المضاف إليه بيروكسيد الهيدروجين: استخدم ماء الشرب المضاف إليه بيروكسيد الهيدروجين بتركيز0.5 % (28)، إذ قدم للحيوانات بصورة حرة *Ad libitum* إذ كان التحضير يتم يومياً.

الحيوانات المختبرية: استخدمت ذكور الجرذان البيض البالغة Adult albino male rats ربيت وكثرت في حقل كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل وتراوحت أعمارها بين 3 - 4 أشهر وأوزانها بين 250 - 275 غم وضمن حدود درجة حرارة الغرفة 23 - 24 م° ومدة إضاءة طبيعية بلغت حوالي 12-13 ساعة/ يوم، تم وضع كل حيوان على حدة في قفص أيضي Metabolic cage خاص بالتغذية لضمان دقة إعطاء الجرعة فضلاً عن دقة حساب كميتي العلف المستهلك والبراز.

حساب كمية العلف المستهلك: من احتساب وزن العلف المقدم لكل حيوان طيلة مدة التجربة مطروحاً منه وزن العلف المتبقي غير المتناول أمكن الحصول على وزن العلف المتناول والمستهلك لكل حيوان.

حساب كمية الدهن المستهلك مع العلف: من احتساب وزن العلف المستهلك ونسبة الدهن الخام فيه تم احتساب وزن الدهن المستهلك لكل حيوان وكما مبين:

وزن الدهن المستهلك = وزن العلف المستهلك × نسبة الدهن فيه

تقدير كمية الدهن المطروح مع البراز: وزنت عينات البراز الجافة واستخلص محتواها من الدهن الخام (مستخلص الإيثر) باستخدام جهاز السوكسليت (27) ومنها حسبت كمية الدهن المطروح بالغرام خلال مدة كل تجربة وكما مبين في أدناه:

وزن الدهن المطروح = وزن البراز الجاف × نسبة الدهن فيه

حساب كمية الدهن الممتص: من معرفة وزن العلف المستهلك ونسبة الدهن فيه ووزن الدهن المطروح مع البراز تم حسب وزن الدهن الممتص لكل حيوان وكما مبين في أدناه:

وزن الدهن الممتص = وزن الدهن المستهلك مع العلف – وزن الدهن المطروح مع البراز

جمع العينات الدموية وفصل مصل الدم: سحب الدم من وريد منظمة العين وفقاً لـ(29) باستخدام أنابيب شعرية محتوية على الهيبارين إذ جمع 2-3 مل من كل حيوان في أنابيب زجاجية جافة ونظيفة وتركت 20-30 دقيقة الى حين حصول التجلط ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة (بجاذبية 12000 × g) مدة15 دقيقة. فصل مصل الدم باستخدام ماصات باستور وحفظ في أنابيب بولي أثيلين نظيفة ومعلمة في التجميد الى حين إجراء الاختبارات.

تقدير مستوى الشحوم الكلية في مصل الدم: تم تقديرها وفقاً (30). قرأ الامتصاص الضوئي على طول موجي 540 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي. وحسب مستوى الشحوم الكلية في المصل من المعادلة التالية:

$$\text{تركيز الشحوم الكلية (ملغم/100مل دم)} = \frac{\text{الامتصاص الضوئي لعينة المصل}}{\text{الامتصاص الضوئي لمحلول الدهن القياسي}} \times \frac{\text{تركيز المحلول القياسي}}{500 \text{ ملغم/100مل}}$$

تقدير مستوى الكولسترول الكلي في مصل الدم: استخدمت عدة التقدير الجاهزة والمجهزة من شركة Syrbio السورية والمعتمدة على الطريقة الإنزيمية. و قيست شدة اللون الأحمر القرمزي للمعقد Quinoneimineالناتج عن التفاعل على طول موجي 500 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي ثم حسب تركيز الكولسترول من المعادلة التالية:

$$\text{تركيز الكولسترول الكلي (ملغم/100مل دم)} = \frac{\text{الامتصاص الضوئي لعينة المصل}}{\text{الامتصاص الضوئي لمحلول الكولسترول القياسي}} \times \frac{\text{تركيز المحلول القياسي}}{200 \text{ ملغم/100مل}}$$

تقدير مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الـدم: استخدمت عدة التقدير الجاهزة والمجهزة من شركة CAM-tech الإنكليزية والمعتمدة علـى الطريقـة الإنزيميـة. وتمـت قـراءة شـدة اللـون للمعقـد Quinoneimine الناتج عن التفاعل على طول موجي 550 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي ثم حسب تركيز الكليسيريدات الثلاثية من المعادلة التالية:

$$\text{تركيز الكليسيريدات الثلاثية ملغم/100مل دم} = \frac{\text{الامتصاص الضوئي لعينة المصل}}{\text{الامتصاص الضوئي لمحلول الكليسيرول القياسي}} \times \frac{\text{تركيز المحلول القياسي}}{200 \text{ ملغم/100مل}}$$

تقدير مستوى الشحوم البروتينية واطئة الكثافة: استخدمت عدة التقدير الجاهزة والمجهزة مـن شـركة Syrbio السورية والمعتمدة على ترسيب LDL-c بواسطة الهيبارين عنـد نقطـة تعادلهـا الكهربـائي isoelectric point وعلى الحالة الحامضية (pH =5.04) إذ تبقى HDL-c وVLDL في المحلـول الراشح. استخدمت عدة تقدير الكولسترول لقياس مستوى LDL-c في الراسب إذ حـسبت كميتـه وفـق المعادلة التالية:

$$\text{تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-c ملغم/100 مل دم} = \frac{\text{الامتصاص الضوئي لعينة المصل}}{\text{الامتصاص الضوئي للمحلول القياسي}} \times 11 \times 50$$

إذ إن 50 = تركيز المحلول القياسي لـLDL-c، 11= معامل التخفيف.

تقدير مستوى الشحوم البروتينية عالية الكثافة: استخدمت عدة التقدير الجاهزة والمعتمدة على ترسـيب كـل مـن LDL-c, VLDL-c و Chylomicron بواسـطة Phosphotungestic acid وأيونـات المغنسيوم Mg^{+2} وبقاءHDL-c في الراشح العلوي والذي أمكن تقديره باستخدام عدة تقدير الكولسترول ومن ثم حسب تركيز HDL-c من المعادلة التالية:

$$\text{تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-c ملغم/100 مل دم} = \frac{\text{الامتصاص الضوئي لعينات المصل}}{\text{الامتصاص الضوئي لمحلول الكولسترول القياسي}} \times 50 \times 11$$

إذ إن 50 = تركيز المحلول القياسي لـ HDL-c،11 = معامل التخفيف.

حساب مستوى الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جداً في مصل الدم: حسب مستوى VLDL-c باستخدام
المعادلة التي وضعها (31) وكما موضح في أدناه:

$$\text{مستوى الشحوم البروتينية ذات كثافة الواطئة جداً} = \frac{\text{مستوى الكليسيريدات الثلاثية}}{5}$$

ملغم / 100 مل دم

حساب مستوى الشحوم الفوسفاتية في مصل الدم: حسب مستوى الشحوم الفوسفاتية باستخدام المعادلة التي وضعها(31) التي تمثل خط انحدار Regression لهذه الشحوم وعلاقتها الطردية بمستوىالكولسترول الكلي إذ أن:

مستوى الشحوم الفوسفاتية في مصل الدم ملغم/100 مل دم $P.L = 68 + (TC \times 0.89)$

حساب دلائل التعصد Atherogenic indices:

$$\text{دليل التعصد الأول:وفقاً (5)} = \frac{\text{مستوى الكولسترول الكلي}}{\text{مستوى الشحوم البروتينية عالية الكثافة}} = \frac{TC}{HDL\text{-}c}$$

دليل التعصد الثاني: وفقاً لـ(5) .

$$= \frac{\text{مستوى الشحوم البروتينية واطئة الكثافة + الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جداً}}{\text{مستوى الشحوم البروتينية عالية الكثافة}}$$

$$= \frac{VLDL\text{-}c + LDL\text{-}c}{HDL\text{-}c} \quad .$$

$$\text{دليل التعصد الثالث: وفقاً لـ(5)} = \frac{\text{مستوى الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-c}}{\text{مستوى الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-c}}$$

جمع العينات النسيجية: تم الحصول على العينات النسيجية (الكبد، والقلب، والكلية) لغرض إجراء الفحوصات الكيميائية الحياتية النسيجية إذ قتلت الحيوانات بتخديرها مدة كافية بمادة الداي اثيل أيثر ثم شرحت مباشرة وعزلت الأعضاء المذكورة في أعلاه إذ غسلت بالمحلول الملحي الفسلجي المبرد (0.9%NaCl) ثم نشفت على ورقة ترشيح ووزنت ثم حفظت في المحلول نفسه وبالتجميد الىحين إجراء الاختبارات التي تشمل تقدير مستوى بيروكسدة الدهن ومستوى الكولسترول الكلي في الكبد.

تقدير مستوى بيروكسدةالدهن في الأنسجة: قدرمستوى بيروكسدة الدهن في أنسجة الكبد, والقلب والكلية (نانومول/غم نسيج رطب) إعتماداً على طريقة (32) والمعتمدة على أساس تفاعل المالونداياالديهايد مع حامض الثايو باربيجوريك Thiobarbituric acid (TBA) بالاعتماد على حالة الأس الهيدروجيني للمحلول. ومن ثم قرأ الامتصاص الضوئي على طول موجي 532 نانوميتر ثم 453 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي. وحسب تركيز MDA من المعادلة آلاتية:

MDA(نانومول/غم نسيج رطب) =

(O.D532nm sample -OD532nmblank) - 20%(O.D453nm sample – O.D453nm blank)

تقدير الكولسترول الكلي في نسيج الكبد: قدرمستوى الكولسترول الكلي في الكبد ملغم/غم نسيج رطب بعدة التقدير نفسها المستخدمة لتقدير مستوى الكولسترول الكلي في مصل الدم. تستخلص دهون الكبد وفقاً لـ(33) بوزن 0.5غم نسيج وتضاف إليه كمية من مزيج الكلوروفورم: ميثانول (1:2)على التوالي ويوضع في أنبوبة المجناس على سرعة 400 دورة/دقيقة ويحرك المقبض مرتين صعوداً ونزولاً مدة 30 – 60 ثانية. وقيس الكولسترول الكلي بطريقة قياسه بمصل الدم نفسها.

التحليل الإحصائي: استخدم في هذه الدراسة تحليل التباين Analysis of variance واختبار دنكن المتعدد Duncan multiple test لتحليل البيانات وتحديد الاختلافات المعنوية بين المتوسطات للصفات المدروسة عند مستوى احتمال ($p<0.05$) وفقاً لما أورده (34) .

تصميم الدراسة: استخدم 32 من ذكور الجرذان البيض بعمر 3-4 أشهر وبأوزان تراوحت بين250-275غم، إذ قسمت عشوائياً علىأربع مجموعات (بواقع 8 جرذان/مجموعة). أخذت عينات الدم في بداية التجربة ونهايتها (بعد 30 يوماً). كما قتل 4 حيوانات من كل مجموعة وأخذت الأعضاء منها في اليوم الأول، أما الحيوانات المتبقية فقد قتلت في نهاية التجربة، قيست مجموعة من المعايير التغذوية، ومستويات شحوم الدم، وبيروكسدة الدهون ومستوى الكولسترول الكلي في نسيج الكبد، وتشمل المجموعات ما يأتي:

المجموعة الأولى: عدت مجموعة سيطرة وغذيت علفا" اعتياديا"(خاليا" من الشحوم الحيوانية والكولسترول) وماء شرب اعتياديا" (خالي من0.5 % بيروكسيد الهيدروجين).

المجموعة الثانية: غذيت علفا" اعتياديا"(خاليا" من الشحوم الحيوانية والكولسترول) وماء شرب مضافا" إليه 0.5% بيروكسيد الهيدروجين.

المجموعة الثالثة: غذيت العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية والكولسترول وماء شرب اعتياديا".

المجموعة الرابعة: غذيت العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية والكولسترول وماء شرب مضافا" إليه 0.5% بيروكسيد الهيدروجين. إن تحديد تركيز 0.5%من بيروكسيد الهيدروجين قد تم وفقا (28).

النتائج

يبين الجدول (2) وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ($p<0.05$) في الزيادة الوزنية بين المجموعات الأربع، إذ كانت الزيادة أكثر معنوية في مجموعة بيروكسيد الهيدروجين، تليها مجموعة العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية وبيروكسيد الهيدروجين مع الماء، ثم العلف المضافة إليه الشحوم باختلاف معنوي بين المجموعات وعن مجموعة السيطرة، أما كمية العلف المستهلك فقد انخفضت في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ومجموعة العلف المضافة إليه الشحوم وبيروكسيد الهيدروجين مع الماء عن مجموعة السيطرة ومجموعة العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية، إذ لم يلاحظ اختلاف معنوي ($p>0.05$) بين المجموعتين الأخيرتين. أما كمية الدهن المستهلكة مع العلف فقد كانت ضمن نسبة ثابتة في العلف ولذا فإن زيادة تناول العلف يعني زيادة استهلاك الدهن بذات مستويات القيم لزيادة استهلاك العلف وكذلك وزن البراز فإنه يتناسب طردياً مع كميةالعلف المستهلكة.

الجدول (2): تأثير تداخل نوع الغذاء والماء في الحالة التغذوية لذكور الجرذان البالغة السليمة

مجموعات الجرذان	وزن الجسم(غم)		الغذاء (غم)		البراز (غم)		الدهن الممتص (غم)
	الوزن الابتدائي	الزيادة المكتسبة	الغذاء المستهلك	الدهن المستهلك مع الغذاء	البراز المطروح	الدهن المفقود مع البراز	
السيطرة ماء شرب اعتيادي+علف اعتيادي	A 228.30 ±5.58	A 111.40 ±5.42	A 222.94 ±12.50	A 15.72 ±0.87	A 75.05 ±3.69	C 2.76 ±0.41	A 12.96 ±0.65
H_2O_2 0.5% مع ماء الشرب + علف اعتيادي	A 232.86 ±6.85	D 18.16 ±1.20	B 175.96 ±6.35	B 12.41 ±0.44	B 58.80 ±2.37	BC 3.51 ±0.22	B 8.90 ±0.47
ماء شرب اعتيادي +العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية	A 228.00 ±5.90	B 91.08 ±1.91	A 225.98 ±8.06	A 16.13 ±0.57	B 64.24 ±2.82	A 8.53 ±1.56	B 7.59 ±1.87
H_2O_2 0.5% مع ماء الشرب + العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية	A 224.50 ±7.02	C 32.06 ±0.98	B 164.04 ±3.10	B 11.63 ±0.22	C 49.27 ±2.41	AB 6.43 ±1.40	B 5.19 ±1.38

(المعدل ± الخطأ القياسي). مدة التجربة 30 يوماً. الحروف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية ($p< 0.05$).

أما وزن الدهن المفقود مع البراز فقد وجد أن أعلى دهن مفقود كان لمجموعة الجرذان المغذاة على العلف المضافة إليه الشحوم تليه مجموعة الجرذان المغذاة على العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية وماء شرب محتوي على0.5% بيروكسيد الهيدروجين ثم مجموعة الجرذان المغذاة علىعلف اعتيادي وماء شرب محتو على0.5% من بيروكسيد الهيدروجين. أما الدهن الممتص فهناك فرق معنوي ($p<0.05$) في كمية الدهن الممتص بين مجموعة السيطرة ومجموعات الجرذان الثلاث الأخرى. وكانت إن أعلى كمية دهن ممتصة هي لمجموعة جرذان السيطرة أما مجموعات الجرذان الثلاث الأخرى فهي اقل من مجموعة السيطرة ولا يوجد فرو ق معنوية فيما بينها.

يشير الجدولين (4,3) إلى ارتفاع مستوى الشحوم الكلية في نهاية التجربة عند مستوى احتمال ($p<0.05$) في المجموعات الثلاث المعاملة عن مجموعة السيطرة ، كذلك كان مستوى الكولسترول الكلي مرتفعاً بمستوى أكبر في المجموعة المعاملة بالعلف المضافة إليه الشحوم وبيروكسيد الهيدروجين مع الماء عن مجموعة السيطرة ، ولكن لم يلاحظ ارتفاع معنوي في المجموعتين الأخريتين عن مجموعة السيطرة وكذلك كانت مستويات الشحوم الفوسفاتية . أما مستوى الكليسيريدات الثلاثية فقد ارتفع بمستويات متقاربة في المجموعات الثلاث المعاملة معنوياً عن مجموعة السيطرة وارتفعت مستويات الشحوم البروتينية واطئة الكثافة معنوياً عند مستوى احتمال ($p<0.05$) في المجموعة الرابعة عن مجموعة السيطرة. أما مستوى الشحوم البروتينية عالية الكثافة فقد انخفض معنوياً في المجموعة آنفة الذكر عن مجموعة السيطرة، ولكن لم تظهر مجموعتا المعاملة الأخريتان اختلافاً عن مجموعة السيطرة. بينت قيم دليل التعصد الأول اختلافاً معنوياً ($p<0.05$) للمجموعات الثلاث الأولى عن مجموعة العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية وH_2O_2 والتي أظهرت ارتفاعاً معنوياً في دليلي التعصد الثاني والثالث عن باقي مجموعات المعاملات.

الجدول (3): تداخل نوع الغذاء وبيروكسيد الهيدروجين بالماء على مستويات الدهون في الدم لذكور الجرذان البالغة السليمة

مجموعات الجرذان	TL ملغم / 100 مل		TC ملغم / 100 مل		TG ملغم / 100 مل		PL ملغم / 100 مل	
	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة
السيطرة ماء شرب اعتيادي+ علف اعتيادي	B 342.50 ±19.08	B 366.99 ±20.34	A 76.66 ±8.86	B 90.87 ±7.23	A 62.33 ±4.84	B 62.02 ±1.47	A 131.22 ±7.89	B 143.8 ± 6.44
$0.5\%H_2O_2$ مع ماء الشرب+علف اعتيادي	A 441.97 ±27.39	A 598.06 ±20.19	A 93.63 ±7.94	AB 129.16 ±16.76	A 56.20 ±4.41	A 124.28 ±6.42	A 151.44 ±7.04	AB 181.75 ±14.85
ماء شرب اعتيادي + العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية	AB 368.94 ±31.23	A 578.04 ±24.38	A 81.41 ±4.09	AB 118.11 ±8.83	A 66.39 ±9.03	A 127.36 ±4.83	A 144.01 ± 13.28	AB 170.11 ± 7.86
$0.5\%H_2O_2$ مع ماء الشرب +العلف لمضافة إليه الشحوم الحيوانية	B 324.25 ±21.60	A 589.09 ±52.31	A 71.94 ±4.80	A 138.66 ±19.25	A 58.37 ±3.71	A 131.33 ±11.61	A 132.02 ±3.26	A 191.40 ± 3.76

(المعدل ±الخطأ القياسي). مدة التجربة 30 يوما. الحروف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية ($p < 0.05$).
TL= محتوى الدهن الكلي في الدم، TC=محتوى الكولسترول الكلي في الدم، TG= محتوى الكليسيريدات في الدم،
PL= محتوى الدهون المفسفرة في الدم

الجدول (4): تأثيرتداخل نوع الغذاء والماء في مستويات شحوم الدم ودلائل التعصد لذكور الجرذان البالغة السليمة

مجموعات الجرذان	VLDL-c ملغم/ 100 مل		LDL-c ملغم/ 100 مل		HDL-c ملغم/ 100 مل		VLDL+ LDL /HDL		LDL/HDL		TC/HDL	
	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة
السيطرة ماء شرب اعتيادي +علف اعتيادي	A 12.46 ±0.97	B 12.38 ±0.79	A 18.34 ±1.32	B 20.83 ±1.00	A 46.01 ±10.6	A 49.40 ±9.02	A 0.68 ±0.17	C 0.64 ±0.11	A 0.40 ±0.08	C 0.46 ±0.07	A 1.67 ±0.27	B 1.85 ±0.18
$0.5\%H_2O_2$ مع ماء الشرب+علف اعتيادي	A 11.18 ±0.89	A 23.90 ±0.50	A 23.94 ±5.11	AB 43.04 ±10.4	A 53.59 ±8.97	A 48.56 ±7.15	A 0.75 ±0.18	BC 1.50 ±0.28	A 0.51 ±0.14	BC 0.92 ±0.33	A 1.86 ±0.18	B 2.63 ±0.41
ماء شرب اعتيادي +العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية	A 13.27 ±1.80	A 25.47 ±0.96	A 21.99 ±1.55	AB 46.18 ±3.38	A 48.58 ±4.39	AB 34.94 ±3.85	A 0.75 ±0.14	B 2.15 ±0.22	A 0.45 ±0.03	B 1.37 ±0.14	A 1.75 ±0.24	B 3.43 ±0.19
$0.5\%H_2O_2$ مع ماء شرب+العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية	A 11.67 ±00.7	A 26.26 ±2.32	A 19.94 ±0.81	A 59.41 ±76.7	A 44.00 ±24.3	B 18.93 ±1.65	A 0.75 ±0.07	A 4.72 ±0.65	A 0.46 ±0.04	A 3.64 ±0.44	A 1.70 ±0.18	A 7.43 ±1.07

(المعدل ± الخطأ القياسي). مدة التجربة 30 يوما. الحروف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية ($p< 0.05$).

VLDL-c = الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة جدا", LDL-c = الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة, HDL-c = الشحوم البروتينية عالية الكثافة,TC= محتوىالكولسترول الكلي في الدم.

إن الجدول (5) يبين أن أعلى زيادة معنوية في مستوى المالونداياالديهايد للكبد والكلية كانت في مجموعة العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية و H_2O_2 عن مجموعتي المعاملة بالعلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية ومجموعةH_2O_2 على التوالي واللتين أظهرتا اختلافاً معنوياً ($p<0.05$) عن مجموعة السيطرة. أما في القلب فقد أظهرت المجموعة المعاملة بالعلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية مستوى واطئا" وبذلك لا تختلف معنوياً عن مجموعة السيطرة.أما قيم الكولسترول الكلي في نسيج الكبد فقد أظهرت المجموعات الثلاث اختلافاًمعنوياً($p<0.05$) فيما بينها وكذلك مقارنة بمجموعة السيطرة.

الجدول (5): تأثير تداخل نوع الغذاء والماء في مستويات المالونداياالديهايد والكولسترول الكلي في أنسجة ذكور الجرذان البالغة السليمة

مجموعات الجرذان	المالونداياالديهايد (نانومول/غم نسيج رطب)						الكولسترول الكلى في الكبد (ملغم/غم نسيج رطب)	
	الكبد		القلب		الكلية			
	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة	بداية التجربة	نهاية التجربة
السيطرة ماء شرب اعتيادي+علف اعتيادي	A 375.35 ±31.12	C 388.35 ±29.11	A 221.27 ±3.16	C 245.22 ±20.44	AB 221.09 ±24.52	C 234.54 ±22.44	A 4.77 ±0.14	D 4.91 ±0.07
$0.5\%H_2O_2$ مع ماءالشرب +علف اعتيادي	A 408.79 ±34.25	B 539.39 ±20.37	A 268.30 ±22.30	B 625.91 ±19.47	B 202.40 ±13.54	B 491.73 ±17.06	A 4.81 ±0.137	B 8.92 ±0.140
ماء شرب اعتيادي +العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية	A 316.87 ±28.26	B 553.77 ±30.03	A 248.21 ±18.91	C 319.13 ±12.13	AB 249.52 ±18.03	B 548.34 ±24.72	A 4.94 ±0.24	C 7.43 ±0.28
$0.5\%H_2O_2$ مع ماء الشرب +العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية	A 384.41 ±30.96	A 762.15 ±25.96	A 274.50 ±27.68	A 828.29 ±12.64	A 260.17 ±12.54	A 668.21 ±24.03 1	A 4.91 ±0.19	A 10.26 ±0.49

(المعدل ± الخطأ القياسي). مدة التجربة 30 يوماً. الحروف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية ($p< 0.05$).

المناقشة

إن إعطاء بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5% في ماء الشرب مع أو بدون العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية قد أدى الى انخفاض معنوي ($p<0.05$) في الزيادة الوزنية المكتسبة طيلة مدة التجربة البالغة 30 يوما مقارنة بمجموعة السيطرة وهذا يتفق ونتائج (35) على الجرذان أيضا", وقد أشار(36) الى إن إعطاء بيروكسيد الهيدروجين بتركيز1% مدة 15 يوماً يؤدي الى انخفاض وزن ذكور الجرذان, وكذلك وجدت النتائج أنفسها في الفئران (36). ولقد أوضح Okwusidi (37) وجماعته إن تغذية الدجاج على علائق ذات نسبة عالية من الدهون البيروكسدة تؤدي الى إعاقة في النمو وخلل في عملية التحويل الغذائي. إن اقل زيادة وزنية مكتسبة كانت في مجموعة جرذان بيروكسيد الهيدروجين 0.5%, وقد ارتفعت الزيادة الوزنية المكتسبة عند التغذية على العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية مما يدل على إن الدهون المضافة الى العلف قد تحوي مواداً مختزلة أدت الى التقليل من اثر بيروكسيد الهيدروجين. إن إعطاء بيروكسيد الهيدروجين في ماء الشرب مع أو بدون تناول الأغذية عالية المحتوى من الشحوم المشبعة يؤدي الى بيروكسدة هذه الشحوم داخل جسم الحيوان وتحرر جذور الأوكسجين الحرة التي تنتج عنها إعاقة للنمو بسبب التداخل مع عمليات الايض ومعدل التحويل الغذائي Food conversion rat (38). ولم يلاحظ فارق معنوي في كمية العلف المستهلك بين مجموعة السيطرة ومجموعة الجرذان المتناولة للعلف المضاف إليه الشحوم الحيوانية، وهذا لا يتفق والنتائج التي توصلت إليها علي(35), وقد يرجع السبب في ذلك الى شهية القوارض للشحوم الحيوانية المشبعة الممزوجة مع العلف إذ سبب ذلك ارتفاعاً في كمية العلف المستهلك في مجموعات الجرذان كافة، كما وجد في الدراسة الحالية انخفاض معنوي في كمية الدهن الذي تتناوله الحيوانات في مجموعتي الجرذان المعطاة بيروكسيد الهيدروجين 0.5% وحده أو مع العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية, ويعزى السبب في ذلك الى اختلاف كمية العلف المستهلكه إذ إن نسبة الدهن ثابتة في العلف لهذه المجموعات وان الاستهلاك الغذائي العالي يؤدي الى استهلاك عال للدهون الغذائية.

يتضح من الجدول (2) إن هناك فروق معنوية($p<0.05$) في كميات البراز المطروح وان هذه الكميات تناسبت طردياً مع كمية العلف المستهلك وخاصة في مجموعتي السيطرة وبيروكسيد الهيدروجين 0.5%على التوالي لكنها انخفضت نسبياً في مجموعتي الجرذان المغذاة على العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية مع أو بدون بيروكسيد الهيدروجين وقد يرجع السبب في ذلك الى كون الشحوم المضافة للعلف قد تحوي مجموعة المواد التي قد تزيد من معدل الامتصاص من الأمعاء فتقلل بذلك من كمية البراز المطروح. اما كمية الدهن المطروح مع البراز فكانت عند حدودها العليا في مجموعتي الجرذان المتناولة للعلف المضاف إليه الشحوم الحيوانية مع أو بدون بيروكسيد الهيدروجين 0.5%, وربما قد يرجع السبب في ذلك الى النسبة العالية من الشحوم المشبعة وتأثيرها الملين وهذا ينعكس على كمية الدهن الممتص إذ

إن أعلى امتصاص للدهن الغذائي كان في مجموعة جرذان السيطرة الذي يختلف معنوياً عن المجموعات الثلاث الأخرى التي لا يوجد اختلاف معنوي فيما بينها وهذا يتفق مع النتائج التي حصلت عليها علي (35).

أدت معاملة الجرذان بالعلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية مع أو بدون بيروكسيد الهيدروجين0.5% الى اختلاف في مستويات شحوم الدم إذ سبب ذلك ارتفاع شحوم الدم الكلية فضلاً عن ارتفاع مستويات VLDL-c , LDL-c, TG, TC, PL ودلائل التعصد الثلاثة فقد أظهرت هذه القيم اختلافاً معنوياً عن مجموعة جرذان السيطرة في نهاية التجربة وان هذه النتائج تتفق مع ما حصل عليه Khudiar (39) وعلي(35), وعبد الرحمن (45), أما شريف (40) فقد وجدت إن معاملة الأرانب ببيروكسيد الهيدروجين 1 % أدت الى زيادة معنوية في قيم VLDL-c , TG دون التأثير علىTC. ولقد وجد (41) إن إعطاء علف عالي المحتوى من الشحوم للفئران يؤدي الى ارتفاع مستوى TG وهو ما يتفق مع الدراسة الحالية مما سوف يؤدي الى ارتفاع مستوى VLDL-c, إما Robins (42) وجماعته فقد أكدوا على حصول زيادة متوازنة في كل من TC , TG بنسبة 40 – 50% عند التغذية على أعلاف عالية المحتوى من الدهون للفئران. ولقد عزى Takeuchi(43) وجماعته السبب في ارتفاع الكولسترول عند التغذية على أعلاف عالية الشحوم الى حدوث خلل في نقل الكولسترول من الكبد واليه مما يؤدي الى اضطراب في عمليات الايض كما إن ارتفاع مستويات الشحوم الفوسفاتية يكون مرتبطاً بارتفاع مستوى كولسترول الدم الكلي، الجدول(3). إن إعطاء بيروكسيد الهيدروجين 0.5% في الماء مع أو بدون العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية كفيل بخلق حالة من الإجهاد التأكسدي وزيادة مستويات الجذور الحرة مما يرفع معدلات أكسدة LDL-c و VLDL-c فضلاً عن تحطيم اوكسيد النتريك NO ذي الخواص المضادة للتعصد هذا فضلا"عن أذى الخلايا المبطنة للشرايين مما يؤدي الى اختلال وظائف التقلص والانبساط (43). إن لبيرو كسد الهيدروجين القدرة على توليد جذر الهيدروكسيل OH ذي القابلية العالية على تحطيم الأنسجة اما عن طريق سحب الهيدروجين أو إضافة أصرة مزدوجة أو نقل الكترونات وتكوين جذور حرة فعالة وتعد عملية تكوينOH نفسها من الآليات المحطمة للخلايا بسبب فرط جهد الحديد داخل الخلية والمتحرر من الفيرتين (45) كما ينتج عن أنواع جذورالاوكسجين الحرة تلف في القنوات و المضخات الأيونية في غشاء البلازما مما يعزز عملية التعصد (46)، إن النتائج المعروضة في الجدول (4) تؤكد صحة الآليات و الفرضيات في أعلاه، كما يتضح من الجدول أيضا ارتفاع في قيم دلائل التعصد الثلاثة في نهاية التجربة البالغة 30 يوما إذ كانت أعلى قيم للدلائل الثلاثة متمثلة في مجموعة الجرذان المتناولة للعلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية مع بيروكسيد الهيدروجين0.5% و تتفق هذه النتائج مع ما حصلت عليه علي (35), إذ إن ارتفاع مستويات VLDL-c, LDL-c, TC أو انخفاض مستوى HDL-c كفيل برفع قيمة دلائل التعصد مما يعكس تقدما و تطورا في خطورة الآفة التعصدية و الناتج عن تغيرات في ايض الدهون داخل الجسم (39) وهذا يطابق ما توصل إليه Temelkovaوجماعته (5)، وقد أكد(47)إن ارتفاع دلائل التعصد يكون نتيجة حتمية لارتفاع شحوم الدم

و انخفاض HDL-c وذلك إن جريان الدم في الشرايين وسعتها الاستيعابية للدم يكون استجابة لأحد العوامل والمسمى Methacholine الذي ينخفض في حالات ارتفاع شحوم الدم(47) كما لوحظ مؤخرا إن لبيروكسيد الهيدروجين المعطى عن طريق الفم القدرة على رفع ضغط الدم البطيني وتقليل مستوى ATP في خلايا الأنسجة مما يتداخل مع وظيفة التوسع للخلايا المبطنة للشرايين (48).

إن النتائج المعروضة في الجدول (5) تشير الى ارتفاع مستوى المالونداياليديهايد عند نهاية التجربة في مجموعات الجرذان الثلاث معنويا ($p< 0.05$) عن مجموعة جرذان السيطرة ولكن مستويات MDA كانت في حدودها العليا في مجموعة الجرذان المغذاة على العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية وماء الشرب المضاف إليه بيروكسيد الهيدروجين0.5% وذلك ضمن أنسجة الكبد والقلب والكلية وهذا يتفق والنتائج التي حصل عليها Wohaieb (38) وجماعته في الأرانب المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين 1% كما تتفق مع ما توصل إليه كل من عزيز (36) وKhudiar (39) وعبد الرحمن (45) إذ وجدوا إن معاملة الجرذان ببيروكسيد الهيدروجين تؤدي الى رفع مستوى MDA في أنسجة الكبد والقلب كما وجد إن هنالك تأثيراً تآزرتا بين بيروكسيد الهيدروجين والدهون الغذائية وخاصة الكولسترول. إن ارتفاع مستوى الـMDA في نسيج القلب يكون اكبر مما هو عليه في أنسجة الكبد والكلية في مجموعات الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع أو بدون تناول العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية وتتطابق هذه النتائج مع ما توصلت إليه علي (35) وHara وجماعته (48) إذ أوضحتا إن ذلك قد يرجع الى القابلية الايضية العالية لأنسجة الكبد خاصة مقارنة بنسيج القلب ومن الجدير بالذكر إن تناول الجرذان السليمة للعلف المضاف إليه الشحوم الحيوانية من دون إعطاء بيروكسيد الهيدروجين لم يؤد الى رفع مستوى MDA الى الدرجة العالية التي ظهرت مع مجموعات الجرذان التي عوملت ببيروكسيد الهيدروجين مما يؤكد دور هذه المادة المؤكسدة في كونها المسبب الأساس لعملية بيروكسدة الدهون داخل الجسم ضمن سلسلة عمليات معقدة تشارك فيها الجذور الحرة (49). إن نتائج البحث الحالي تتفق وما توصل إليه كل من Khudiar (39) وعبد الرحمن (45) من حيث إن هناك حالة من عدم التوازن تغلبت فيها أصناف الأوكسجين الفعالة ذات الأثر المؤكسد على قابلية الأنظمة الكاسحة لهذه المؤكسدات ولكن الآليات الدقيقة تبقى غير واضحة على نحو كامل. ولقد وجد مؤخراً إن إعطاء بيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب عن طريق الفم بصورة حرة يؤدي الى رفع مستويات MDA في الدم فضلاً عن الأنسجة الأخرى ويكون هذا الارتفاع مترافقا مع انخفاض فعالية إنزيمات Ascorbate peroxidase, GSH-rd, GSH-Px و Dehydroascorbate reductase ذات التأثير المضاد للأكسدة ولوحظ في الوقت نفسه ارتفاع في نشاط إنزيم الكاتاليز وهذا قد يفسر المستويات الواطئة نسبياً من MDA في الكبد (49) كما لوحظ إن إعطاء بيروكسيد الهيدروجين عن طريق الفم يقود الى زيادة حتمية في مستوى جذر السوبر اوكسايد السالب $O2^{-}$ الذي تنتج عنه أنواع أخرى من الجذور الحرة الخطرة.ذات القدرة على تحطيم الشحوم الفوسفاتية ومنها جذر الهيدروكسيل OH^{-} والبيروكسي نتريت peroxynitrate كما إن لجذر

O_2^- عند زيادة مستوياته القابلية على الارتباط ببروتون ليكون HO2 الذي يعد أكثر فعالية وخاصة في أكسدة الأحماض الشحمية متعددة الأواصر المزدوجة (15). إن للمالونداياالديهايد المتكون نتيجة بيروكسدة دهون الجسم تأثيراً سلبياً في الآفة التعصدية فضلاً عن تفاعله مع عدد من المجموعات المهمة حيوياً مثل مجموعة السلفهايدريل والاميدازول والأمين في الحامض الاميني السستايين والهستدين واللايسين على التوالي (50).

إن الجدول (5) يشير كذلك الى ارتفاع مستويات الكولسترول الكلي في نسيج الكبد في نهاية التجربة البالغة 30 يوماً إذ إن أعلى قيمة كانت في مجموعة الجرذان المتناولة للعلف المضاف إليه الشحوم الحيوانية وبيروكسيد الهيدروجين معا" وبفروق معنوية عن كل من المجموعة المتناولة للعلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية ومجموعة جرذان بيروكسيد الهيدروجين والسيطرة على التوالي وهذه النتائج تتفق مع ما ذكرته كل من (35) و(39) في الجرذان، كما أكد (45) النتائج أنفسها إذ ظهر إن إعطاء العلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية المحتوية على الكولسترول مع أو بدون بيروكسيد الهيدروجين كان له الأثر الأكبر في رفع مستوى TC في نسيج الكبد. إن مستوى TC العالي نسبيا في مجموعتي الجرذان المتناولتين للعلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية وحده أو مع بيروكسيد الهيدروجين 0.5% في ماء الشرب يتناسب طرديا" مع مستوى LDL-c وعكسيا" مع مستوى HDL-c. تتمثل وظيفة LDL-c في نقل الكولسترول من الكبد الى الأنسجة لغرض خزنه اما HDL-c فتكمن وظيفتها في نقل الكولسترول من مناطق الخزن الى الكبد لغرض تحطيمه وتصريفه في عصارة الصفراء ولذا فان قيمها تكون في مستوى أوطأ (1). اما مستوى TC في مصل الدم فكان الأعلى كذلك وخاصة في مجموعة الجرذان المغذاة كلياً بالعلف المضافة إليه الشحوم الحيوانية مع بيروكسيد الهيدروجين 0.5% وهو بذلك يتطابق ومستواه في نسيج الكبد. هذا وقد وجدت مستويات الكولسترول الكلي في الكبد مرتفعة في مجموعات الجرذان الثلاث بمعدل يبلغ حوالي 90 - 100% عنها في بداية التجربة أو عن مجموعة السيطرة، وهذا يتفق مع النتائج التي عرضها (42) وقد بين إن ارتفاع مستويات الجذور الحرة في حالات الاجهاد التاكسدي قد تكون السبب الأساس في التأثير السلبي في فعالية الإنزيمات المسؤولة عن ايض الكولسترول في نسيج الكبد.

المصادر

1.Murray, R. K., Granner, D. K, Mages, P. A. and Rodwell, V.W., Harper's Biochemestry, 25th Lang Medical Pub., Canada.P 155-855 (2000).

2.Mayne, P.D., Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment, 6th ed,oxford Univresity Press, Inc., New York. PP 225-241 (1999).

3.Grover, A., Dorais, M.and Coupal, L., Improving the prediction of Cardiovascular Risk: Interaction Between LDL and HDL Cholesterol. Epidemiology, 14(3): 315-320 (2003).

4.Phillips, C., Mullan, K., Owens, D. and Tomkin, G. H., Microsomal triglyceride transfer protein polymorphisms and lipoprotein levels in type 2 diabetes. OJM, 97(4): 2115-2127 (2004).

5.Temelkova- Kurkischev, Gess, R.B. and Hanefeld, M., The lipid triad in type 2 diabetes- Prevalence and releavance of hypertriglyceridaemia/low-high density lipoprotein syndrome is type 2 diabetes. Exp. Clin. Endocrinal Diabetes, 12(2):75-79 (2004).

6.Robert, C. K., Vitamin E reduces CAD. Nutr., 76(4): 212-234 (2004).

7.Watanabe, T., Koba, S., Kawamura, M., Itokawa, M., Nakagawa,Y., Iguchi, T. and Katagiri, T., Small dense low- density lipoprotein and carotid atherosclerosis in relation to vascular dementia. Metabolism, 53(4): 476-482 (2004).

8.Tsuzura, S., Ikeda, Y., Suehiro, T., Ota, K., Osaki, F., Arii, K., Kumon, Y. and Hashimota, K., Correlation of plasma oxidized low-density lipoprotein levels to vascular compilications and human serum paraoxonase in patients with type 2 diabetes. Metabolism, 53(3): 297-302 (2004).

9.Valentine, R. J., Guerra, R., Stephan, P., Scogyins, F., Clagett,G.P.and Cohen, J., Family history is a major determination of subclinical peripheral arterial disease in young adults Vasc. Surg., 39(2): 351-356 (2004).

10.Zoltowska, M., Impact of vivo glycation of LDL on Platelet aggregation and monocyte chemotaxis in diabetic Psammomys obesus. Lipids, 39(1): 51-85 (2004).

11.Minamino, T., Miganuchi, H. and Yoshida, T., Vascular cell senescence and vascular aging. J. Mol. Cell Cardiol, 36(2): 175-183 (2004).

12.Higashi, Y., yan, C. K. and Yoshizumi, M., Exercise and endothelial function: Role of endothelium derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. Phormacol. Ther., 102(1): 87-96 (2004).

13.Gourdy, P., Mallat, Z., castano, C., Mac- Gregor, J. L., The atheroprotective effect of 17-beta- estadiol is not altered in P-selectin-or ICAM-1-deficient hypercholesterolemic mice. Atherosclerosis, 166 (1): 41-48 (2003).

14.LeGoff, W., Guerin, M. and Chappan, M. J., Pharmacological Modulation of cholesteryl ester transfer protein, a new therapeutic target in atherogenic dyslipidemia. Pharmacol. Ther., 101(1): 17-38 (2004).

15.Dukic, N.M., Antioxidants in health and diseases. Atherosclerosis, 15(2): 423-611 (2003).

16.Thum, T., Borlak, J and Rous, S.P., Mechanistic role of cytochrome P450 monooxygenases in oxidized low density lipoprotins- induced vascular injury. Cir. Res., (94): 312-319 (2004).

17.Cooke, C. L., Brokelsloy, J. C., Baker, P. N., and Davidge, S. T.,The receptors for advanced glycation and products (RAGE) is elevated in women with preclampsia. Atheroscierosis, (62): 721-742 (2002).

18.Kotch, L., Chen, S. Y. and Salik, K. K., Ethanoi induced teratogenesis: free radical damage as a possibil mechanism. Teratology, 52(3): 128-136 (1995).

19.Azumi, H., Inoue, N., Ohashi, y., Mori, T. and Hayashi, I., coronary atherto-ctomy Specimens of patients with angina pectoris: important role of NAD (P) H oxidase. Arterioscler. Thromb. Vosc. Biol, 22(11): 1838 – 1844 (2002).

20.Raikov, Z., Sharma, C. and Atana Sov, A., Nitric oxide and nitroxide inhibition of platelet aggregation in Vitro. Bio. Med., 22(1): 112-165 (2004).

21.Li, J., Li, W., Su, J. and Altura, B.T., Peroxynitrate induces. Apoptosis. In rat aortic smooth muscle possible relation to vascular diseases. Exp. Biol. Med., 229(3): 264-269 (2004).

22.Yamaguchi, Y., Matsuno, S., Kagota, S., Haginaka, J. And kuni tomo, M., Peroxynitrate mediated oxidative modification of low- density lipoprotein aqueous extracts of cigarette smoke and the preventive ef fluvostatine. Atherosclerosis, 172 (2): 259-265 (2004).

23.American Nutrient Research Council, National Requirements of laboratory Animals. National Academy of Sciences No. 10, Qashington D.C. pp. 7–27 (1978).

24.Mohammad, F. K., Laboratory guide in toxicology. University of Mosul Publishing (2000).

25. Ameli, S., Hultg, A. and Nilsson, T., Effect of Immunization with Homo-logous LDL and Oxidized LDL on Early Atheroscle rosis in Hypercholestrolemia. Athero. Thromb. Vasc. Biol., 16: 1074 – 1088 (1996).

26.Association of Official Analytical Chemistry(AOAC), Offical Methods of Analysis. 13th ed., Washington, D.C. (1980).

27.Pearson, D., The chemical analysis of foods.7th ed. Churchill livingstone. Edinburgh. Low on and New York, pp. 227 (1976).

28. شرف، خالد حمادي وعلي، جيان سلام حسن، قابلية بيروكسيد الهيدروجين والكولسترول على إحداث التصلب العصيدي في ذكور الجرذان البالغة. المجلة العراقية للعلوم الزراعية، 4(1):87-95 (2003).

29.Timm, K., Orbital venous anatomy of the rat. Lab. Animals Sci., 2: 663-670 (1979).

30.Toro, G. and Ackermann, P.G., Practical chinical chemistry. Boston: ittle Brown and Company (1975).

31.Tietz, N.W., Fundamentals of clinical chemistry. W.B. Saunders Company (1982).

32.Gilbert, H. S., Stump, D. D., and Roth, F. F. A method to correct for errors caused by generation of interfering compounds during erythrocytes lipid peroxidation. Analy Biochem., 137: 282 – 286 (1984).

33.Folck, J., Less, M. and Sloanestanley, G. H.(1957).A simple methode for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Bio. Chem., 266: 497 – 509.

34.Steel, R. G. D. and Torrie, J. H., Principle and procedures of statistics. 2nd ed., New York. Mc- Graw- Hill book Company, Inc (1980).

35.علي، جيان سلام حسن، تأثير نقيع اوراق الجوز على مستوى شحوم الدم في الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والكولسترول. رسالة ماجستير في الكيمياء الحياتية البيطرية (2001).

36.عزيز، بسام نجيب، بعض التغيرات الكيمياوية الحياتية في حالات الجوع والكرب التاكسدي وداء السكر التجريبي في الجرذان: تأثير بعض النباتات الطبية والهرمونات الجنسية الانثوية. أطروحة دكتوراة في علم الفسلجة البيطرية. كلية الطب البيطري، جامعة الموصل (1999).

37.Okwusidi, J. I., Wong, H. Y. and Cheng, K. S., Effects of diazipam, Psycho-social stress and dietary cholesterol in experimental atherosclerosis. Artery, 18(2):71-85 (1991).

38.Wohaieb, S. A: Tohala, S. H. and Al- Dewachi, O.S., Effect of vitamin E on hydrogen peroxide – induced oxidative stress in rabbits. Iraqi J.Vet.SCI., 7(2): 81-84 (1994).

39.Khudiar, K. K., The role of aqueous extracts of olive (Olea europaca) leaves and garlic (Allium sativum) in ameliovating the effects of experrimentally infused atherosclerosis. PhD. Thesis, College of Veterinary Medicen. University of Baghad (2000).

40. شريف، رفاه سامي ايوب، تأثير خل التفاح وعقار السمفاستاتين على شحوم الدم في إناث الارانب البالغة. أطروحة دكتوراه في علم الفسلجة البيطرية. كلية الطب البيطري، جامعة الموصل (2003).

41.Goudrian D., Patruiz, V. and Vinson, K., Ischemic heart syndrome and Causative agents. Mect. Biol., 207(2): 76-83 (2001).

42. Robins, S.J., Fasulo, J.M.and Ordovas, J.M., Diurnal changes and adaptation by the liver of hamsters to an atherogenic diet. J. Androl 24(2): 17–37 (2004).

43.Takeuchi, N., Ito, M.and Yamamura, Y., Cholesterol metabolism of rats sensitive to high cholesterol diet. Am. J. Physiol. Cell, 285(5):1322-1329 (2004).

44.Lawrence, A., Jones, C .M. and Brkitt, M. J., Evidance for the role of peroxidase compound type-1 intermediate in the oxidation of glutathione, NADH. Ascorbate for and dichloroflurscin by cytochrome / H_2O_2 . Implications for oxidative stress during apoptosis. J. Biol. Chem., 278 (32): 29410 – 29419 (2003).

45. عبد الرحمن، صائب يونس، تأثير الجوع وداء السكر التجريبي على مستويات الكلوتاثيون وزناخة الدهن في انسجة الجرذان. أطروحة دكتوراه في الفسلجة البيطرية. كلية الطب البيطري، جامعة الموصل (1995).

46.Walia, M., Kwan, C. Y. and Grover, A.K., Effects of free radicals on coronary artery.Med. Prin. Pract., 12(1): 1-9 (2003).

47.Williams, S., Wheatcroft ,S. B. and Shah, A. M., Obesity, atherosclerosis and the vascular endothelium : mechanisms of reduced nitric oxide bioavailability in obese humans. Inter. J. of Obes., (26): 754 – 764 (2002).

48.Hara, A., Matsumura, H. and Abiko, Y., Lidocaine attenuates both mechanical and metallolic changes induced by hydrogen peroxide in rat heart. J. Biochem., 270 (23): 4655 – 4661 (2004).

49.EI-Shora, H. M., Activities of antioxidative enzymes and senescence in detached curcurbita pepo under Cu- and oxidative stress by H2O2. Chemistry Bulletin, 44(1): 66 (2003).

50.Mooradian, A. B: Reincher, D. and Pinnas, J. L., Malondialdehyde modification of proteins in vitro is enhanced in the presence of a cetaldehyde. Nutrition, 17(7-8): 619 – 622 (2001).