

دور الإجهاد التأكسدي المحدث تجريبياً بيروكسيد الهيدروجين على نشوء وتطور آفات التصلب العصيدي في إناث الجرذان البالغة\*

انتصار رحيم الكناني<sup>١\*</sup> و أسرار إسماعيل ياسين<sup>٢</sup>  
١ فرع علم الأمراض، كلية الطب البيطري،<sup>٢</sup> كلية التمريض،  
جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الاستلام ٢ تشرين الأول ٢٠٠٥؛ القبول ٥ شباط ٢٠٠٦)

### الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة معرفة إمكانية بيروكسيد الهيدروجين بتركيز ٠.٥% في ماء الشرب على إحداث الإجهاد التأكسدي ودوره في نشوء وتطور آفات التصلب العصيدي في إناث الجرذان البالغة. تم التأكد من حدوث الإجهاد التأكسدي من خلال قياس مستويات كل من الكلوتاثايون (GSH) و المألونداي الديهاييد (MDA) Malondialdehyde بوصفهما مؤشرا غير مباشر لزيادة الدهون (Lipid Peroxidation) في أنسجة الأبهري والقلب والكبد. كما تم التأكد من نشوء وتطور آفات التصلب العصيدي بالفحص العياني والمجهري بنوعيه الضوئي والإلكتروني لكل من الأنسجة المذكورة أعلاه.

أظهر بيروكسيد الهيدروجين زيادة معنوية عند مستوى احتمالية (P≤0.05) في مستويات صورة الدهن المتمثلة بالكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية والشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة Low density lipoprotein (LDL-C) والشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جداً very low-density-lipoprotein (VLDL-C) ودليل التعصد (Atherogenic index). بينما أظهرت انخفاضا معنوياً عند مستوى احتمالية (P≤0.05) في مستوى الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية High density lipoproteins في (HDL-C) مصل الدم. بينت الدراسة انخفاضا معنوياً في مستوى كلوتاثايون الأنسجة، رافقه ارتفاعاً معنوياً في مستوى المألوندايديهاييد عند الأنسجة المذكورة آنفاً عند الجرذان المستخدمة في هذه الدراسة.

أظهرت النتائج نشوء وتطور آفات التصلب العصيدي في إناث الجرذان البالغة بعد مرور ٦٠ يوماً من المعاملة بيروكسيد الهيدروجين ذي تركيز ٠.٥% في ماء الشرب من خلال ظهور الآفات الدهنية في نسيج الأبهري لإناث الجرذان البالغة والمفحوصة بالمجهري الضوئي والإلكتروني، والتي تمثلت بتموضع الفجوات الدهنية والخلايا الرغوية في البطانة (intima) والغلالة المتوسطة (media tunica) ممزوجة مع ارتشاح للخلايا اللمفية وتكاثر الخلايا العضلية الملساء الوعائية باتجاه البطانة. فضلاً عن تضخم المتقدرات واختفاء معالم البعض منها وخاصة الصهاريج (Cisterna) وتكاثر الشبكة الأندوبلازمية.

\* جانب من أطروحة الدكتوراه للباحثة 2.

\*\* الباحث المسؤول عن كافة المراسلات er\_alkennany@yahoo.com

## ROLE OF OXIDATIVE STRESSES INDUCED BY HYDROGEN PEROXID ON INTIATION AND DEVELOPMENT OF ATHEROSLEROSIS IN MATURE FEMAL RAT

E. R. AL- Kennany<sup>1</sup> and E. Y. Al-Khafaf<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of pathology, College of Veterinary Medicine,

<sup>2</sup> Nursing collage, University of Mosul, Mosul, Iraq

### ABSTRACT

This study was conducted to determine the possibility of 0.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on drinking water, for the induction of oxidative stress status in mature female rats. Moreover, this study deals with the role of this stress in initiation and development of atheromatus lesions in these animals. Oxidative stress has been investigated via tissue malondiadehyde (MDA) & glutathione (GSH) (aorta, heart and liver) as indirect lipid peroxidation index. For atherogenous follow up, light and electron microscopical techniques have been applied.

The result elucidate significant elevation in lipid profile parameters namely cholesterol, Triglycerides TG, Low density lipoprotein LDL-C, Very Low density lipoprotein VLDL-C, atherogenic index and a significant reduction in High density lipoprotein HDL-C, level in all experimental animals. Parallely, this study revealed significant rising in tissue MDA concentration, concomitant with significant depress in tissue GSH level in all studied animals.

### المقدمة

يعرف الإجهاد التاكسدي (Oxidative stress) بأنه اضطراب في التوازن بين دفاعات مضادات الأكسدة وجذور الأوكسجين الحرة في الأنسجة (١)، وهو أحد العوامل لإحداث التصلب العصيدي (الذي يعد واحدا من أمراض القلب الوعائية) (٢). يتصف التصلب العصيدي بصفتين أساسيتين تتمثل بالتكس الدهني (Fatty atherosclerosis) degeneration وصلابة الوعاء الدموي (vessel stiffening sclerosis)، لذا أطلق مصطلح atherosclerosis للتعبير عن الترابط بين هاتين الصفتين (٣).

لقد اهتمت العديد من الدراسات بقابلية الإجهاد التاكسدي على إحداث آفات التصلب العصيدي من خلال استخدام إحدى جذور الأوكسجين الحرة المتمثلة بيروكسيد الهيدروجين تجريبياً (٤-٧)، بعد استخدامه بتركيز ٠,٥%، إلا انه لم تتوفر دراسات سابقة حول قابلية بيروكسيد الهيدروجين في إحداث آفات التصلب العصيدي في إناث الجرذان. وعليه ارتأت هذه الدراسة معرفة إمكانية بيروكسيد الهيدروجين بتركيز ٠,٥% في إحداث الإجهاد التأكسدي ونشوء آفات التصلب العصيدي في إناث الجرذان من خلال دراسة قابلية بيروكسيد الهيدروجين في إحداث الإجهاد التاكسدي وآفات التصلب العصيدي في إناث الجرذان البالغة واعتمدت المعايير الآتية في هذه دراسة:

- تحديد مستويات الكوليسترول والكليسيرات الثلاثية و HDL-C و LDL-C و

VLDL-C ودليل التعصد في مصل الدم.

- تحديد مستوى الكلوتاتايون والمالونداي الدهياد في كل من الابهر والقلب والكبد.

- دراسة التغيرات المرضية العيانية و النسجية وكيمياء النسيج للابهر والقلب والكبد بالمجهر الضوئي.
- دراسة التغيرات النسجية للابهر والكبد بالمجهر الإلكتروني.

### المواد وطرائق العمل

استخدمت في هذه الدراسة ١٠ إناث من الجرذان البالغة قسمت عشوائياً إلى مجموعتين :

- المجموعة الأولى: عدت مجموعة سيطرة وضمت خمس إناث ناضجة استهلكت العلف والماء العاديين بصورة حرة.
- المجموعة الثانية: ضمت خمس إناث ناضجة استهلكت العلف العادي والماء المضاف إليه بيروكسيد الهيدروجين بتركيز ٠.٥% بصورة حرة لمدة ٦٠ يوماً.

بعد انتهاء التجربة تم قتل إناث الجرذان واخذ نماذج من الدم بمقدار ٢ مللتر في أنابيب بلاستيكية سعة 5 مل. فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي وبمعدل ٢٠٠٠ دورة/دقيقة ولمدة ١٥ دقيقة ووضع في أنابيب زجاجية سعة ٢ مل ذات غطاء محكم لإجراء التحليلات الخاصة بالدهون باستخدام العدة الجاهزة ( Kit ) لتحديد كل من مستويات الكوليسترول، الكليسيريدات الثلاثية، الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية - الكوليسترول، الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة - الكوليسترول - الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جدا - الكوليسترول ودليل التعصد كما تم استخدام الطريقة التي اتبعها الباحثون (٩،٨) في تقدير مستوى كل من الكلوتاثايون والمالونداي الديهايد على التوالي ثم تحليل جميع البيانات باستخدام نظام One way analysis of variance واستخدام اختبار دنكن لتحديد الاختلافات الإحصائية.

بعد القتل تم تشريح الجرذان وملاحظة التغيرات المرضية إن وجدت ثم أخذت الأعضاء الابهر، والقلب والكبد وحضرت منها قوالب شمعية حسب طريقة (١٠) ثم صبغت المقاطع النسجية. كما حضرت من الأعضاء أعلاه مقاطع بلاستيكية بسمك واحد مايكرون بعد طمرها بمادة الدركوبان وفقاً لطريقة (١١) بعد تحويرها لغرض دراسة التغيرات النسجية بالمجهر الإلكتروني.

### النتائج

#### التأثير على مستوى صورة الدهن في مصل الدم:

أظهر الجدول ١ ارتفاعاً معنوياً في مستويات الكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية و LDL-C و VLDL-C ودليل التعصد وانخفاض معنوي في مستوى HDL-C في مصل دم إناث الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز ٠.٥% في ماء الشرب لمدة ٦٠ يوماً مقارنة مع مجموعة السيطرة.

#### التأثير على مستوى MDA , GSH في بعض الأنسجة:

أبدت إناث الجرذان البالغة والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ٠.٥% لمدة ٦٠ يوماً انخفاضاً معنوياً في مستوى GSH لأنسجة الابهر والقلب والكبد عند مقارنتها مع مجموعة جرذان السيطرة. في حين لوحظ ارتفاع معنوي في مستوى MDA في ابهر وقلب وكبد إناث الجرذان البالغة المستهلكة لبيروكسيد الهيدروجين عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة (الجدول ٢).

### التغيرات المرضية العيانية :

بعد إجراء الصفة التشريحية لإنات الجرذان البالغة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز ٠.٥% لمدة ٦٠ يوماً، لم تلاحظ آفات عيانية للابهر إلا بعد صبغها بصبغة Sudan IV حيث ظهرت تلك الآفات بهيئة ارتفاعات وبقع برتقالية - حمراء اللون على سطح البطانة الداخلية للابهر الصدري وعند القوس الابهري (Aortic arch).

أما في القلب فقد تميزت الآفات بتضخم القلب وهشاشة الملمس. وفي الكبد لوحظ الاحتقان الشديد متناوبة مع ظهور العديد من الخطوط الشاحبة فضلاً عن ملمسه الدهني وعند قطعه بالسكين ترسبت بعض القطرات الدهنية على حافة السكين.

### التغيرات المرضية النسجية بالمجهر الضوئي:

تمثلت التغيرات المرضية النسجية في ابهر إنات الجرذان البالغة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز ٠.٥% في ماء الشرب لمدة ٦٠ يوماً بما يأتي:

#### - الآفات الدهنية Fatty lesions:

تمثلت بتثخن بطانة الابهر وتجمع الفجوات الدهنية داخل وخارج هيولي خلايا البطانة مع تكسر الألياف المطاطة للطبقة البطانة فضلاً عن تضخم الخلايا العضلية الملساء الوعائية ونخر البعض منها مع تضخم خلايا البطانة (الشكلين ١ و ٢).

#### - الآفات التكاثرية Proliferative lesions:

تمثلت بتكاثر الخلايا العضلية الملساء الوعائية في الطبقة المتوسطة باتجاه البطانة فضلاً عن تنكس ونخر البعض من الخلايا العضلية وارتشاح طفيف للخلايا الانتهايبية المتمثلة بالخلايا اللمفية مع تضخم خلايا البطانة، وتموضع للفجوات الدهنية في البطانة والطبقة المتوسطة. فضلاً عن زيادة المواد المخاطية المتعددة السكريات glycosaminoglycan في البطانة والطبقة المتوسطة من خلال التفاعل الموجب مع تقنية PAS وتقنية الاليشيان الزرقاء عند الدالة الحامضية ٢,٥ (الشكل ٣).

#### - الآفات الدهنية التكاثرية Fatty – proliferative Lesions:

أظهرت المقاطع النسجية وجود تكاثر للخلايا العضلية الملساء الوعائية مع تواجد للخلايا الرغوية Foam Cells في البطانة والطبقة المتوسطة، فضلاً عن تكاثر للألياف الغراوية لتحل محل الألياف المطاطة المتكسرة التي أظهرتها صبغة ماسون ترايكروم وصبغة اورسين Orecin ، مع زيادة المواد المخاطية المتعددة السكريات من خلال التفاعل الموجب مع تقنية PAS والاليشيان الزرقاء عند الدالة الحامضية ٢,٥ PH (الشكل ٤).

أما في الكبد فقد أظهرت المقاطع النسجية وجود آفات من التغير الدهني الشديد جداً على شكل أعشاش خلوية دهنية حلت محل الخلايا الكبدية من خلال التفاعل الموجب مع الأوزميوم Osmium فضلاً عن التنكس الفجوي في هيولي الخلايا الكبدية وتوسع للجيبانيات وامتلائها بكريات الدم الحمر (الشكلين ٥ و ٦).

### التغيرات المرضية النسجية بالمجهر الإلكتروني:

أظهرت المقاطع النسجية لآبهر إناث الجرذان البالغة الغير معاملة (السيطرة) باستخدام المجهر الإلكتروني وجود ثلاث طبقات للجدار تتمثل بالبطانة و الغلالة المتوسطة والغلالة البرانية (الشكل ٧).

أما في الكبد فقد أظهرت المقاطع النسجية انتظام الخلايا الكبدية على هيئة صفائح شعاعية حول نهاية الوريد المركزي وتتفصل عن بعضها بواسطة الجيبانيات الوعائية (Vascular sinusoids). كل خلية كبدية تحوي على هيولي يتموضع فيه المتقدرات Mitochondria والأجسام الحالة Lysosomes والشبكة الهيولية الكثيفة Abundant endoplasmic reticulum بنوعيتها الخشنة والناعمة. فضلا عن الخصوصية التي تمتلكها بوجود القنويات الصفراوية (الشكل ٨).

أوضحت المقاطع النسجية للآبهر في إناث الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين 0.5% في ماء الشرب تغيرات مرضية نسجية تمثلت بتموضع لفجوات الدهن المختلفة الأحجام في البطانة وتحت البطانة والطبقة المتوسطة في داخل وخارج هيولي الخلايا العضلية الملساء الوعائية مع تكسر للألياف الداخلية المطاطة Internal elastic lamella عند البطانة، فضلا عن تموضع للخلايا الرغوية Foam cells المملوءة بالدهن في الطبقة المتوسطة (الشكلين ٩ و ١٠).

كما أظهرت المقاطع النسجية في كبد إناث الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ٠.٥% في ماء الشرب تحت المجهر الإلكتروني تغيرات مرضية على مستوى الخلية تمثلت ب: تجمع لفجوات الماء بشكل منتشر في الشبكة الهيولية تتمثل بالنتكس الفجوي (Vacuolar degeneration)، اختفاء لهيولي العضيات (Organelles) مع البروتين وتجمع لقطرات الدهن في الهيولي حول النواة، وتضخم المتقدرات Megamitochondria مع زيادة عددها مع تفجي هيولي المتقدرات فضلا عن اختفاء الصهاريج في البعض الآخر منها، تموضع للحبيبات غير المنتظمة (irregular granules High density)، زيادة عدد الشبكة الهيولية خاصة الناعمة منها Smooth endoplasmic reticulum فضلا عن تجزؤ البعض الآخر منها، و زيادة الفراغ بين الغشاء النووي والمواد النووية فضلا عن تحلل الغشاء النووي والنوية غير واضحة أي بداية لاختفاء النوية (الشكل ١١).

### المناقشة

يعد التصلب العصيدي أحد أمراض الجهاز القلبي الوعائي الواسعة الانتشار في العالم، الذي يمتاز بتآكل جدار الشرايين الكبيرة والمتوسطة والصغيرة الحجم. إن آلية ظهور آفات التصلب العصيدي تتمثل بأكسدة البروتينات الدهنية LDL-C، والتهايم جزيئات ox-LDL-C من قبل الخلايا البلعمية وتكوين الخلايا الرغوية مع التصاق واختراق الخلايا أحادية النواة لجدار الوعاء الدموي وتكوين السائتوكينات وعوامل النمو وهجرة وتكاثر الخلايا العضلية الملساء الوعائية فضلا عن تكوين الآفات الوعائية المصحوبة بسدادة ليفية وخثرة (١٢). من خلال عوامل الخطورة التي يرتبط جزء منها بالإجهاد التاكسدي (١٣)، واستمراراً للدراسات السابقة التي اعتمدت على استخدام بيروكسيد الهيدروجين في إحداث الإجهاد التاكسدي في كل من أفراخ الدجاج (٤،٥)، والأرانب (٧) لقابليته في نشوء آفات التصلب العصيدي.

وأظهرت هذه الدراسة حدوث الإجهاد التاكسدي ونشوء آفات التصلب العصيدي في إناث الجرذان البالغة بعد مرور ٦٠ يوماً من المعاملة من خلال فحص مصل الدم الذي

أظهر ارتفاعاً معنوياً في مستويات الكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية و LDL-C و VLDL-C ودليل التعصد، فضلاً عن انخفاض معنوي في مستوى HDL-C عند مقارنته مع مجموعة السيطرة. وهي تتفق مع العديد من الدراسات السابقة (٦ و ٧ و ١٥) الذي استخدم بيروكسيد الهيدروجين بتركيز ١%، وهذا قد يعود إلى الاضطرابات التي تحدث في العمليات الأيضية لاسترات الكوليسترول Cholesterol esters وهبوط فعالية أنزيم Lipoprotien lipase الذي يعمل على زيادة نسبة الاحماض الدهنية الحرة (١٦) فضلاً عن أهمية ما ذكره الباحثان (١٧) حول تحسس المستقبلات الخاصة  $\alpha$ - $\beta$  LDL receptors المتواجدة في جدار الوعاء الدموي لتجمع البروتينات الدهنية للبلازما وظهرت أهمية هذه المستقبلات في عملية أيض البروتينات الدهنية والسيطرة عليها من خلال المرضى الذين يعانون من حالات فرط الكوليسترول الوراثي الناجمة عن فقدان هذه المستقبلات مما يؤدي إلى ارتفاع مستوى LDL-C في البلازما، مما ينتج عنه نشوء آفات التصلب العصيدي (١٨). إن تجمع LDL-C تحت البطانة الداخلية بفعل ROS بضمنها بيروكسيد الهيدروجين لها القابلية على أكسدة جزيئات LDL-C إلى ox-LDL. وهذه بدورها تنتج العديد من الأوكسيستيرون Oxysterol (١٩) التي لها القابلية على تثبيط فعالية مستقبلات LDL-C وتحفيز فعالية الأنزيم acyl-coA Cholesterol acyltransferase مؤدياً إلى زيادة تكون استرات الكوليسترول.

أكدت الدراسة الحالية وجود زيادة معنوية في مستوى الكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية نتيجة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين بدون وجود الكوليسترول، وهو متفق مع ما توصلت إليه الكنانى (٤) و (٦) عند معاملة أفراخ الدجاج والجرذان ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% مع أو بدون الكوليسترول، أدى إلى ارتفاع معنوي في مستوى الدهون الكلية والكليسيريدات الثلاثية في الدم. وكذلك يتفق مع ما وجدته العلاف (٧) عند معاملة إناث الأرانب ببيروكسيد الهيدروجين وبتتركيز ٠.٥% ولمدة ٦٠ يوماً، فضلاً عن ارتفاع مستويات LDL-C و VLD-C.

أوضحت نتائج هذه الدراسة وجود انخفاض معنوي في مستوى الكلوتاتايون في أنسجة الأبههر والقلب والكبد لإناث الجرذان البالغة بعد معاملة ببيروكسيد الهيدروجين ٠.٥% ولمدة ٦٠ يوماً، يرافقه زيادة معنوية في مستوى زناخة الدهن (المالونداي الديهايد) في تلك الأنسجة عند مقارنتها في مجموعة السيطرة. وهو يتفق مع حالة الإجهاد التاكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين في الدجاج والجرذان والأرانب (٤ و ٦ و ٧). وانخفاض مستوى الكلوتاتايون في الخلية يعد مؤشراً على زيادة الإجهاد التاكسدي (٢٠). وعليه فإن انخفاض مستوى الكلوتاتايون في الأنسجة قد يعود إلى زيادة هدمه أو انخفاض تصنيعه (٢١) أو قد يكون الانخفاض في أنسجة الأبههر والقلب والكبد نتيجة لحدوث الإجهاد التاكسدي الناتج من تجريع أحد جذور الأوكسجين الحرة التي تتمثل ببيروكسيد الهيدروجين، مما أدى إلى استنزاف الكلوتاتايون من تلك الأنسجة وهذا ما أكدته الكنانى (٤)، وهو مشابه لما يحدث في حالات السكري (١٥).

إن التوافق بين انخفاض مستوى الكلوتاتايون وارتفاع مستوى المالونداي الديهايد في أنسجة الجرذان البالغة والمستهلكة لبيروكسيد الهيدروجين ناتج من عملية تحفيز الأنزيم Fatty acyl-coA oxidase وبدء أكسدة الاحماض الدهنية الذي يؤدي إلى زيادة إنتاج

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> داخلي المنشأ، الذي يسهم في إنتاج بيروكسيدات الدهون إذ تعمل على تغيير نفاذية الأغشية الخلوية مسببة الضرر البطاني من خلال مشاركتها في التحورات التأكسدية البروتينات الدهنية ذات الكثافة الواطئة وبالتالي نشوء التصلب العصيدي (٢٢).

أما فيما يتعلق بالتغيرات المرضية النسجية في ابهر إناث الجرذان البالغة أظهرت النتائج وجود الآفات الدهنية المتمثلة بتثخن بطانة الابهر وتجمع القطيرات الدهنية داخل وخارج هيولي خلايا البطانة مع تكسر الألياف المطاطة تحت البطانة، فضلاً عن تضخم في الخلايا العضلية الملساء الوعائية وتضخم خلايا البطانة، والذي يعد مؤشراً لحدوث الأذى في بطانة الوعاء الدموي بفعل الإجهاد التأكسدي الناتج من خلل في نفاذية الطبقة البطانية مما يزيد من نفاذيتها لبروتينات البلازما كالالبومين و LDL-C والفايبرينوجين. مما يسهل تجمع LDL-C في جدار الوعاء الدموي بعد ارتباطه ببروتينات المادة البينية خارج خلوية للفسح تحت البطانة مثل الكولاجين و glycosaminoglycans من خلال التفاعل الموجب مع تقنية الاليشيان الزرقاء (٢٣).

إن ظهور العديد من الخثار في تجويف الابهر والأوعية الدموية التاجية يؤكد على حدوث الأذى في خلايا البطانة مصاحبا بحدوث تغيرات غير طبيعية في الحركة الوعائية للأوعية التاجية الذي يسهل من التصاق الخلايا وحيدة النواة والصفائح الدموية في جدار الوعاء الدموي مما يحفز تكاثر وهجرة الخلايا العضلية الملساء باتجاه البطانة بفعل الشد الوعائي للبطانة من خلال تحريرها مواد وعائية فعالة متمثلة بـ (NO) الذي يحتاج تصنيعه وجود أنزيم Nitric oxid synthase بوجود 4-hydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) بوصفه عاملاً مساعداً (٢٤). حيث أكد الباحثون على إن الأشخاص المصابين بأمراض الشريان التاجي يكون عندهم مستوى BH<sub>4</sub> داخل خلوي أقل مقارنة بالأشخاص الطبيعيين. وهذا يسبب اضطراب في التوازن بين NO وجذور الأوكسجين الحرة في خلايا البطانة وبالتالي فقدان فاعلية NO (٢٥).

كما أظهرت النتائج وجود تثخن في جدار الوعاء الدموي ناتجاً عن تكاثر الخلايا العضلية الملساء الوعائية المتمثلة بالمرحلة التكاثرية. ومن ثم ظهور الآفات الدهنية التكاثرية وهي ناتجة عن الضرر البطاني لسلسلة من التغيرات التي ذكرت آنفاً، يتبعه ارتشاح للخلايا أحادية النواة المتمثلة بالبلعمات إلى الفسح تحت البطانة لتلتهم جزيئات ox- LDL بواسطة مستقبلات صيادة مكونة الخلايا الرغوية التي تمثل الخيوط الدهنية لتتطور بعدها إلى الآفات التكاثرية التي تمثل السدادة الليفية وهذه قد تكون ناتجة عن تكاثر الخلايا العضلية الملساء الوعائية المتحورة إلى خلايا بلعمية تلتهم الفجوات الدهنية مكونة الخلايا الرغوية مع ارتشاح الخلايا اللمفية T-cell وهي تتفق مع ما ذكره الباحثون (٢ و ٤). حيث تكون البلعمات مسؤولة عن إعادة تنظيم الأنسجة كما وأنها تفرز العديد من السايوكينات مثل الانترلوكين ( 1L-1B )، وعامل النخر الورمي وعوامل النمو المشتقة من الصفائح الدموية الذي يعد عامل نمو وهجرة وتخصص للخلايا العضلية الملساء الوعائية (٢٦).

لقد ذكر الباحث (٢٧) إن ارتشاح البلعمات للطبقة تحت البطانية يحفز هجرة الخلايا العضلية الملساء الوعائية فضلاً عن كون ROS تحفز بناء الحامض النووي الرايبوزي

اللاواكسجيني DNA الخلايا العضلية مما يسرع من تكاثرها. إن الخلايا العضلية الملساء لها دور كبير في عملية تنظيم الشد الحركي الوعائي الذي يتم بواسطة تحرير كمية من أيونات الكالسيوم من بوابات متحسسة تدعى قنوات الريانودين الحساسة الموجودة في الشبكة الهيولية، ولكن عند الافات التكاثرية بوصفها مرحلة من التصلب العصيدي فان كمية أيونات الكالسيوم تنخفض نتيجة للتأثير على هذه القنوات مما يسبب نقص البروتين، وحدث ترنخ للدهون من خلال أكسدة LDL-C وهذا ما أكده الباحثون (٢٨).

لقد أظهرت التغيرات المرضية لكيمياء النسيج في الابهر من خلال استخدام تقنية الالسيان الزرقاء PH ٢.٥ وجود زيادة في المواد المخاطية المتعددة السكريات Glycosaminoglycans وهو يشير إلى وجود تكاثر للخلايا العضلية الملساء الوعائية أو في خلايا النسيج الضام، فضلاً عن تنكس في الألياف المطاطة واحلالها بالألياف الغراوية، من خلال التفاعل مع صبغة الاوريسين وهي تتفق مع ما ذكره الباحثون (٤ و ٢٩) الذين أكدوا على زيادة المواد المخاطية المتعددة السكريات التي لها القابلية على ربط وتثبيت الشحوم البروتينية عند مناطق تجمع الدهون.

أما في الكبد فقد أوضحت المقاطع النسيجية وجود افات من التغير الدهني الشديد جداً ظهرت بشكل أعشاش خلوية دهنية حلت محل الخلايا الكبدية، فضلاً عن التنكس الفجوي في هيولي الخلايا الكبدية. وهذه التغيرات تكون ناتجة عن الإجهاد التاكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين، مما أدى إلى زيادة مستوى المالونداي الديهايد في الكبد وكذلك ارتفاع الكوليسترول في الكبد. وهو يعد مؤشراً لحدوث ترنخ الدهون، وأكسدة الدهون الفوسفاتية في غشاء الخلية مما يسبب تحطم هذه الخلايا لعدم امكانيتها مقاومة فعالية الجذور الحرة وهذا يؤدي إلى اختلال في نفاذية الغشاء الخلوي حيث تتجمع الجزيئات الدهنية داخل الخلية. وبما إن الكبد مسؤول عن ٧٠% من فعالية مستقبلات البر وتينات الدهنية فان الخلل الذي يصيب الخلايا الكبدية يؤدي إلى عدم فاعلية هذه المستقبلات وبذلك يؤدي إلى عدم السيطرة على مستوى الكوليسترول في الدم (١٩)، فضلاً عن ذلك فان تجمع فجوات الدهن في هيولي الخلايا الكبدية قد يكون ناتجاً عن تحطم أعشية الخلايا نتيجة لحدوث الإجهاد التاكسدي بفعل الجذور الحرة. أن ظهور افات التنكس الفجوي ناتجة عن حدوث خلل في مضخات الصوديوم للمتقدرات مما ينتج عنه انخفاض في إنتاج الطاقة ATP اللازمة لتصنيع البر وتينات مما أدى إلى نقص في البروتين اللازم لسلامة الأعشية الخلوية.

إن نتائج التغيرات المرضية النسيجية للابهر والكبد باستخدام المجهر الضوئي يؤكد نشوء آفات التصلب العصيدي. أما فيما يتعلق بنتائج التغيرات النسيجية لابهر وكبد الجرذان تحت المجهر الإلكتروني الذي اثبت وجود تغيرات على مستوى المتقدرات والنواة والغشاء الخلوي فضلاً عن الشبكة الهيولية في خلايا الكبد وهذا يعني تعرض تلك العضيات إلى الأذى خاصة المتقدرات مما ساعد في حدوث خلل في إنتاج الطاقة اللازمة لتصنيع البر وتينات من قبل الشبكة الهيولية فضلاً عن كون هذه النتائج جاءت متفقة مع ما ذكره الباحث (٣٠) حول إن قلة الأوكسجين يعمل على حدوث خلل في إنتاج الطاقة من قبل المتقدرات.

أما فيما يخص الابهر فتؤكد النتائج على إن التغيرات النسيجية تعكس نشوء آفة التصلب العصيدي من خلال ظهور الخلايا الرغوية وتكسر الألياف المطاطة فضلاً عن



ظهور فجوات الدهن في البطانة والطبقة المتوسطة وهي تتفق ما ذكره الباحثون (٣٠ و ٣١).

إن نتائج هذه الدراسة تؤكد قابلية  $H_2O_2$  على أحداث الإجهاد التأكسدي مع نشوء آفات التصلب العصيدي في إناث الجرذان البالغة بعد ٦٠ يوماً من المعاملة، بالرغم من وجود الاستروجين الذي اعتبره العديد من الباحثين عامل حماية ضد التصلب العصيدي بوجود فرط كوليسترول الدم إلا إن هذه الدراسة أكدت ظهور آفات التصلب العصيدي بوجود بيروكسيد الهيدروجين في مرحلة النضوج مما يعني عدم قابلية الاستروجين في الحد من فعلا أُل  $H_2O_2$  (كونه واحد من أنواع الجذور الحرة) في نشوء آفات التصلب العصيدي.

الجدول ١: يوضح تأثير المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين في ماء الشرب على مستويات الكوليسترول الكلي، الكليسيريدات الثلاثية HDL-C , LDL-C , VLDL-C ودليل التعصد في إناث الجرذان البالغة.

المجاميع	المعاملات	الكوليسترول الكلي (mg/dl)	الكليسيريدات الثلاثية (mg/dl)	الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية (mg/dl) HDL-C	الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة LDL-C (mg/dl)	شحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جداً VLDL-C (mg/dl)	دليل التعصد
الاولى	السيطرة	90.41 ± 1.65 a	62.69 ± 1.91 a	61.49 ± 0.39 a	16.38 ± 1.74 a	12.54 ± 0.38 a	1.42 ± 0.02 a
الثانية	معاملة $\Delta$ بيروكسيد الهيدروجين (0.5%)	155.6 0 ± 11.55 b	71.97 ± 1.04 b	55.75 ± 0.85 b	85.46 ± 10.81 b	14.39 ± 0.22 b	2.78 ± 0.06 b

الحروف المختلفة عمودياً تعني فرقاً معنوياً عند مستوى احتمالية ( $p \leq 0.05$ ).

القيم معبر عنها بالمعدل  $\pm$  الخطأ القياسي.

$\Delta$  بيروكسيد الهيدروجين  $H_2O_2$  ( بتركيز ٠.٥ % ) في ماء الشرب يوميا لمدة ٦٠ يوما بصورة حرة. عدد الجرذان = خمسة لكل مجموعة.

الجدول ٢: يبين تأثير المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين في ماء الشرب على مستوى الكلوتاتايون والمالوندايلديهايد الأنسجة في إناث الجرذان البالغة.

المالوندايلديهايد ( نانومول / غم نسيج رطب )			الكلوتاتايون ( مايكروغرام / غم نسيج رطب )			المعاملات	المجاميع
الكبد	القلب	الابهر	الكبد	القلب	الابهر		
241.39	559.53	551.99	3.67	1.52	2.63	السيطرة	الاولى
±	±	±	±	±	±		
11.51	9.78	11.23	0.2	0.04	0.19		
a	a	a	a	a	a	معاملة Δ بيروكسيد الهيدروجين ( ٠.٥ % )	الثانية
516.86	706.88	726.80	3.0	1.08	1.42		
±	±	±	±	±	±		
4.45	2.72	13.7	0.04	0.07	1.12		
b	b	b	b	b	b		

الحروف المختلفة عمودياً تعني فرقاً معنوياً عند مستوى احتمالية (p≤0.05). القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي.

Δ بيروكسيد الهيدروجين H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ( بتركيز ٠,٥ % ) في ماء الشرب يومياً لمدة ٦٠ يوماً بصورة حرة. عدد الجرذان = خمسة لكل مجموعة.

### المصادر

- Halliwell B. Antioxidants and human disease a general introduction. Nutr Rew 1999; 55: 544-599.
- Cheville NF. Cell Pathology. 2<sup>nd</sup> ed. Ames Iowa: The Iowa State University Press, 1983: 635-644.
- Ross R. Atherosclerosis-inflammatory disease. N Engl J med 1999; 340: 115-126.
- الكناي، انتصار رحيم عبيد. دراسة قابلية الأذى التأكسدي لبيروكسيد الهيدروجين في احداث أفات التصلب العصيدي تجريبياً" في افراخ الدجاج. رسالة دكتوراه في علم الامراض البيطرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، 1998.
- Hassan SM, Al-Kennany ER, Al-Hafez HAK. Hydrogen peroxide-induced atherosclerosis in chickens: Effects of vitamin C. Iraqi J Vet 2000; 13: 249-270.
- Khudiar KK. The role of aqueous extracts of olive (Olea europaca) leaves and garlic (Allium sativum) in ameliorating the effects of experimentally induced atherosclerosis in rats. PhD theses. College of Veterinary Medicine, University of Baghdad, 2000.

٧. العلاف، ايناس شيت مصطفى. تأثير الثوم وفيتامين هـ في امراضية التصلب العصيدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين في الارانب، رسالة ماجستير في الامراض البيطرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، 2004.
8. Gilbert Stum DD, Roth EFJr. A method to correct for errors Caused by generation of interfering Compound during erythrocyte lipid Peroxidation. Anal Biochem 1984; 137: 282-286.
9. Moron MS, Depierre HW, Mennecrvik B. Levels of glutathione glutathione reductase and glutathione S tranferase activities in rats leery and liver. Bioch Biophys Acta 1979; 582: 67-78.
10. Drury RAB, Willington EA. Carleton's Histological Technique. 5<sup>th</sup> ed. Oxford University Press, 1980: 129-212.
11. Lewis PR, Knight DP. Practical methods of electron microscopy. New York: North llok and Publish Company, 1977: 25-68.
12. Rice-Evans C, Burden R. Free radical-lipid interaction and their pathological consequences. Prog Lipid Res 1993; 32: 71-110-26.
13. Berliner JA, Navab M, Fogeiman AM. Atherosclerosis: Basic mechanisms: oxidation, inflammation, and genetics. Circulation 1995; 91: 2488 - 96.
14. Harrison DG. Endothelial function and oxidant stress. Clin Cardoil 1997; 20: 11-17.
١٥. عبد الرحمن، صائب يونس. تأثير الجوع وداء السكري التجريبي على مستويات الكلوتاتايون وزناخة الدهن في أنسجة الجرذان رسالة دكتوراه في الفلسفة البيطرية كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، 1995.
16. De-Man FH, Cabezas MC, Van-Barlingen HH, Erkelens DW, DeBruin TW. Triglycerides rich lipoprotein sin non insuline dependant diabetes mcllitus Post-prandial metabolism and relation to premature atherosclerosis. Eur J Clin Invest 1996; 26: 89-108.
17. Ross P, Frainc E, Hunt LP, Acheson DWK, BraganzaJ M. Dietary antioxidants and chronic Pancreatitis. Hum Nutr Clin Nutr 1986; 40c: 151-164.
18. Hobbs HH, Brown MD, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in families hypercholesterolemia. Hum Mutal 1992; 1: 445-446.
19. Jialal I, Freeman DA, Grundy SM. Varying susceptibility of different low density lipoprotein to oxidative modification. Arteriosel Thrombi 1991; 11: 482-488.
20. Mclennan SV, Hafeman S, Wright L, Rae C. Changes In hepatic glutathione metabolism in diabetes. Diabetes 1991; 40: 344-348.
21. Loven O, Schedl H, Wilson H, Daabees TT, Stegink LD, Diekus M, Oberley L. Effect of insulin and oral glutathione levels and superoxide dismutasen activity in organs of rats with streptozotocin-induced diabetes. Diabetes 1986; 35: 503-507.
22. Basha BJ, Sovers JR. Atherosclerosis: an update. Am Heart J 1996; 131: 1192- 1202.
23. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990 Nature. (Lond) 1993; 362: 801- 809.
24. Wever RMTE, Cosention D, Rabelink TJ. Atherosclerosis and the two faces of endothelial nitrite oxide synthase. Circulation 1998; 97: 108- 112.

25. Maier W, Cosentino F, Lutolf RB, Flissch M, Seiler C, Hess OM, Meier B, Luscher TF. Tetrahydrobiopterin improves endothelial function in patients with coronary artery disease. J Cardiovas Pharma 2000; 35: 173-178.
26. Vu TH, Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. Genes Dev 2000; 14: 1223-2133.
27. Steinberg D. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. Circulation 1997a; 95: 1062-1071.
28. Danial EE, Van Breenman C, Sehillig WP. Corss-talk between bsarcoplasmic reticulum and plasmalema. Can J Physiol Pharmacol 1995; 73: 557.
29. Minick CR, Stemerman MB, Insull WJ. Role of endothelium and hypercholesterolemia in intimal thicken in and lipid accumulation. Am J Pathol 1979; 95: 131-158.
30. Sima A. Experimental atheroma formation in the coronary artery of the hyperlipidemic hamster. Cell Mol Med 2002; 6: 276-277.
31. McGavin MD, Carlton WW, Zachary JF. Thomson Special Veterinary Pathology. USA: Mosby Inc, 2001: 221-225.