

The protective role of grape seeds oil on damage induced by iron overload on Liver in male rabbit

الدور الوقائي لزيت بذور العنب على التلف الناتج من فرط الحديد على الكبد في ذكور الارانب

هبة علوان عبد السلام سعد حمد عبد اللطيف وفاق جبوري البازي
جامعة كربلاء

*مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

الخلاصة

تهدف هذه الدراسة معرفة الدور الوقائي لزيت بذور العنب الاسود *Vitisvinifera* والديسيفروكسامين ضد التلف الحاصل في الكبد والمستحث بفرط الحديد في ذكور الارانب . تم استخدام (25) من ذكور الارانب البالغة والتي قسمت عشوائيا الى خمسة مجاميع متساوية (خمسة حيوانات / مجموعة) ، حقنت المجموعة الاولى (G1) 20 مل/ كغم من المحلول الفسيولوجي وعدت كمجموعة سيطرة ، وحقنت المجموعة الثانية (G2) 20 ملغم /كغم من مادة دكستران الحديد بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرعات في الاسبوع الثالث واربعه جرعات في الاسبوع الرابع ، اما المجموعة الثالثة (G3) حقنت 20 ملغم /كغم من دكستران الحديد و جرعت فمويا ويوميا بالجرعة المؤثرة ED50 لزيت بذور العنب وبالغلة 0.5 مل/كغم ، في حين حقنت حيوانات المجموعة الرابعة (G4) 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع حقن تحت الجلد (SC) 10 ملغم / كغم من مادة الديسيفروكسامين بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرعات في الاسبوع الثالث واربعه جرعات في الاسبوع الرابع لكل مادة . اما المجموعة الخامسة (G5) فقد حقنت 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع حقن تحت الجلد 10 ملغم / كغم من مادة الديسيفروكسامينو جرعت يوميا بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب(0.5 مل / كغم) .

جمعت عينات الدم بعد تجويع الحيوانات في فترة ما قبل المعاملة وبعد مرور اسبوعين وحتى نهاية التجربة لدراسة المعايير التالي : قياس تركيز الكولسترول الكلي TC ، الدهون الثلاثية TAG ، الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL ، الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL و الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL .

اظهرت نتائج هذه التجربة ان الحقن العضلي لدكستران الحديد أدى الى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL وحدث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز الكولسترول الكلي TC و الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL وعدم وجود فروق معنوية في تركيز الدهون الثلاثية TAG و الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL مقارنة مع مجموعة السيطرة ، فيما اظهرت المجموعة المعاملة بزيت بذور العنب والمعرضة

لفرط الحديد باستخدام مادة دكستران الحديد عدم وجود فروق معنوية في تركيز TC ، TAG ، HDL ، LDL و VLDL ، اما المجموعة التي تعرضت للحقن بمادة الديسيفروكسامين فقد سجلت انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL وحدث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL و عدم وجود فروق معنوية في تركيز الكولسترول الكلي TC و الدهون الثلاثية TAG و الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL مقارنة مع مجموعة السيطرة .

اظهرت نتائج التقطيع النسيجي ترسب الحديد بشكل هيموسدرين Hemosiderin في الكبد مع حدوث تغيرات تنكسية في الخلايا الكبدية بعد الحقن العضلي لدكستران الحديد Iron dextran ، اما بالنسبة للمجموعة التي حقنت بدكستران الحديد وجرعت فمويا بزيت بذور العنب فقد لوحظ انعدام ترسب الهيموسدرين والمظهر الطبيعي للخلايا الكبدية مقارنة مع مجموعة السيطرة ، اما المجموعة التي تعرضت للحقن بمادة الديسيفروكسامين فقد اظهرت ترسب كميات قليلة من مادة الهيموسدرين مع تغيرات تنكسية للخلايا الكبدية .

يستنتج من الدراسة الحالية الدور الوقائي لزيت بذور العنب الاسود *Vitisvinifera* ضد التأثير الضار لفرط الحديد في الكبد وتؤكد افضليته على مادة الديسيفروكسامين .

Summary

This study was carried out to investigate the protective role of black grape seeds oil *Vitisvinifera* on Liver damage induced by iron overload in male rabbits . Twenty five adult male rabbits were divided into five groups (5/group) , the first group was injected with 20 ml/kg normal saline and served as control group (G1) . Rabbits in the second group were injected with 20

ml/kg iron dextran with one dose in the first week , two in the second week , three in the third week and four dose in the fourth week (G2). Rabbits in the third group (G3) were inject with 20 mg/kg iron dextran and intubated orally and daily with ED50 of black grape seeds oil which equal to 0.5 ml/kg, while the rabbits in the fourth group (G4) were injected 20 mg/kg iron dextran with SC injection 10 mg/kg desferrioxamine at one dose in the first week , two in the second week , three in the third week and four dose in the fourth week for each one . Rabbits of the last group were injected 20 mg/kg iron dextran, 10 mg/kg desferrioxamine and 0.5 ml/kg black seeds oil. Fasting blood samples were collected at pretreated , after two weeks and at the end of experiment to study the following parameters : the concentration of Total Cholesterol (TC) , Triacylglycerol (TAG) , High Density Lipoprotein (HDL) , Low Density Lipoprotein (LDL) and Very Low Density Lipoprotein (VLDL) .

The results revealed intramuscular injection of iron dextran caused significant decrease ($p<0.05$) in concentration of High Density Lipoprotein (HDL) ,and significant increase ($p<0.05$) in concentration of Total Cholesterol (TC) and Low Density Lipoprotein (LDL) While no significant differences was observed in concentration of Triacylglycerol (TAG) and Very Low Density Lipoprotein (VLDL) Comparative with control group .

The group that treated with black grape seeds oil and exposure to iron overload by iron dextran revealed no significant difference in the concentration of TC , TAG , HDL , LDL and VLDL .

The group that was exposed to injection with desferrioxamine revealed significant decrease ($p<0.05$) in the concentration of HDL and significant increase ($p<0.05$) in concentrations of LDL , While no significant differences was observed in the concentration of TC ,TAG and VLDL Comparative with control group .

Histological section revealed that iron overload caused deposits of iron as Hemosiderin liver and damage of Liver cells , while the results showed absent deposits of Hemosiderin in the liver as well as normal feature of Liver cells comparative with control group.

In conclusion , results of this study confirm the protective role of black grape seeds oil against deleterious effect of iron overload in Liver , and documented the prevalence of black grape seeds oil up on desferrioxamine

المقدمة :

يعتبر الحديد احد العناصر الغذائية الأساسية لكل الكائنات الحية ، ويلعب دورا رئيسيا في عدد من الوظائف الحيوية ، اذ يشكل جزءا اساسيا للعديد من الانزيمات والبروتينات التي تشترك في عملية تنظيم الأيض [1] كما انه يشترك في العديد من العمليات الخلوية مثل تحرير الطاقة ودوره كمرافق انزيمي في نقل الاوكسجين في بروتين الهيموكلوبين Hemoglobin والمايوكلوبين Myoglobin وكذلك في انزيمات السلسلة التنفسية وفي بناء الحامض النووي منقوص الاوكسجين (DNA) [2]. Deoxy ribonucleic acid

إن وجود الحديد بصورته الحرة في الجسم يعتبر مادة سامة ويكون عادة بكميات ضئيلة او غير محسوسة اذ يكون في اغلب حالاته مرتبط مع ناقله البروتيني الذي يعرف بالترانسفيرين Transferrin او مخزون في الخلايا بشكل فرتين Ferritin او هيموسدرين [3][4] Hemosiderin يتواجد الحديد بشكلين اساسيين هما الحديد العضوي Heam iron الذي يوجد بشكل اساسي في الأغذية الحيوانية التي تحتوي في تركيبها على الهيموكلوبين والحديد غير العضوي Non heam iron وهذا النوع من الحديد يتواجد في الاغذية النباتية [5].

يعتبر نقص الحديد من المشاكل الصحية التي تؤثر سلبا على الجسم اذ انه يقلل قابلية الدم على نقل الكمية الكافية من الاوكسجين الذي تحتاجه الخلايا لنموها وادامة فعاليتها المختلفة[6] ، كما ان زيادة كمية الحديد في الجسم تعتبر سامة وفي بعض الحالات ممكن أن يؤدي الى الموت نتيجة لتوليد الـ مجموعة من الجذور الحرة اهمها جذر البيروكسيل والهيدروكسيل عن طريق تفاعلات الفنتون . [7][2] Fenton reaction

تعتبر مادة الديسفيروكسامين (Desferoxamin (DFO) من أكثر الأدوية استخداما لعلاج حالات فرط الحديد والثلاسيميا والتي بإمكانها ان تمنع العديد من التأثيرات السلبية لحالات فرط الحديد حيث يتم اعطائها عضليا او تحت الجلد ونتيجة لعمر النصف القصير لهذه المادة لذا فهي تعطى عادة لجرعات ممتدة 8-12 ساعة بعد كل عملية نقل دم للاشخاص المصابين بالثلاسيميا[8]، نتيجة لامتلاك هذه المادة العديد من التأثيرات السلبية منها طول فترة استخدامها اضافة الى الالام والأورام المتسببة عند مواقع الحقن وكونها مادة باهضة الثمن الامر الذي دفع الباحثين للبحث عن مواد بديلة تكون فعالة في علاج حالات فرط الحديد . نظرا للدور الوقائي للعديد من مضادات الأكسدة في علاج الكثير من حالات الإجهاد التأكسدي مثل فيتامين E وC لذا هدفت الدراسة الحالية الى استخدام زيت بذور العنب لعلاج حالات فرط الحديد نتيجة لاحتوائها على نسبة عالية من مضادات الاكسدة التي

تحمي الجسم من العديد من المشاكل الصحية المتسببة بفعل الجذور الحرة ومن اهمها مادة *Oligomeric Proanthocyanidin* و *Complexes (OPCs)* اضافة الى انه غني بالعديد من الفيتامينات منها فيتامين E و C و β -carotin وكذلك احتوائه على العديد من الأحماض الدهنية غير المشبعة اهمها Omega-3 ، Omega-6 ، Omega-9 ، *Stearic acid* و *Palmatic acid* ، المواد وطرائق العمل:

استخدمت في هذه التجربة 25 أرنب من ذكور الأرانب المحلية *Oryctataguscuniculus* وتراوحت اعمارها بين 8-9 أشهر واوزانها ما بين 1500-2000 غرام تم شرائها من الأسواق المحلية ووضعت في اقفاص معدة لهذا الغرض في البيت الحيواني التابع الى كلية التربية - جامعة كربلاء ، اخضعت هذه الحيوانات لظروف مختبرية خاصة بدرجة حرارة 25 م ، وتم تغذيتها بعليقة من البلت المركز *concentrate pullet* المتكون من 10% بروتين خام ، 20 % فول الصويا ، 35% طحين الحنطة ، 35% ذرة اضافة الى فيتامينات ومعادن 1 ملغم / كغم و اعتمدت الإضاءة الطبيعية طول مدة الدراسة وبواقع 10 ساعات ضوء و 14 ساعة ظلام . تركت الحيوانات مدة اسبوعين للتأقلم مع الظروف المشار إليها اعلاه قبل اجراء التجربة . قسمت الارنب عشوائيا الى خمسة مجاميع بواقع 5 ارانب لكل مجموعة اذ تم حقن المجموعة الاولى (G1) 20mg/kg بالماء المقطر لمدة 30يوم يوميا واعتبرت كمجموعة سيطرة

تم حقن المجموعة الثانية (G2) 20mg/kg من مادة *iron dextran* لمدة 30يوم بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرعات في الاسبوع الثالث واربع جرعات في الاسبوع الرابع.

تم حقن المجموعة الثالثة (G3) 20mg/kg من مادة *iron dextran* لمدة 30يوم بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرعات في الاسبوع الثالث واربع جرعات في الاسبوع الرابع اضافة الى انها جرعت فمويا ب 0.5 مل/ كغم من زيت بذور العنب ولمدة 30يوم يوميا .

حقنت المجموعة الرابعة (G4) 20mg/kg من مادة *iron dextran* لمدة 30يوم مع حقن تحت الجلد 20mg/kg من مادة *desfrrioxamine* لمدة 30يوم بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرعات في الاسبوع الثالث واربع جرعات في الاسبوع الرابع لكل مادة .

تم حقن المجموعة الخامسة (G5) 20mg/kg من مادة *iron dextran* لمدة 30يوم مع حقن تحت الجلد 20mg/kg من مادة *desfrrioxamine* لمدة 30يوم بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرعات في الاسبوع الثالث واربع جرعات في الاسبوع الرابع لكل مادة اضافة الى انها جرعت فمويا ب 0.5 مل/ كغم من زيت بذور العنب ولمدة 30يوم يوميا .

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات *overnight* وذلك قبل اجراء التجربة *pretreated* وبعد نهاية كل اسبوعين حيث تم سحب 5 مل من الدم من القلب مباشرة عن طريق التحكم بالحيوان مستلقي على ظهره ، وضع الدم بعد ذلك في انابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي *centerfuge* بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة .

تقدير تركيز الكوليستيرول في مصل الدم (Total Cholesterol (TC) و تركيز الكليسيريدات الثلاثية *triacylglycerol* (TAG) و تركيز الشحوم البروتينية العالية الكثافة *HDL cholesterol*

تم تقدير تركيز الكوليستيرول و تركيز الكليسيريدات الثلاثية والشحوم البروتينية عالية الكثافة بالطريقة الانزيمية حسب طريقة [9].

تقدير تركيز الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة *Low density lipoprotine (LDL)* تم تقدير تركيز الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة *LDL-Cholestrol* حسابيا باستخدام معادلة *Friedewald* equation [10] [9]

قياس تركيز الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة جدا *Very low density lipoprotein (VLDL)* يمكن حساب تركيز *VLDL* من خلال تقسيم قيمة TAG على 5 [9]

التقطيع النسيجي *Histological sectioning* تم تحضير المقاطع النسيجية حسب طريقة [11].

التحليل الاحصائي

تم تحليل النتائج عن طريق الاستعانة بالبرنامج الجاهز *SPSS* وفق التصميم العشوائي الكامل *Complet randomized design (CRD)* لتجربة عاملية 5X3 باستخدام جدول تحليل التباين *Anova table* ، وإستخدام إختبار أقل فرق معنوي *Least Significant difference (L.S.D)* لأظهار معنوية النتائج [12] .

النتائج والمناقشة:

يلاحظ من الجدول (1) والجدول (4) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز الكوليستيرول TC والشحوم البروتينية واطئة الكثافة *LDL-C*، كما يبين الجدول (3) انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدل تركيز *HDL-C* بعد الحقن العضلي بدكستران الحديد *Iron dextran* وهذا يتفق مع [13][14].

ان التجمع المفرط للحديد في الخلايا الكبدية قد يؤدي الى حدوث خلل في عملية توازن الدهون Lipid homeostasis مما يؤدي الى تغيير فعالية انزيم HMG-Co A reductase (HMG-Co A) Hydroxyle 3- methylglutary- Co enzyme الذي يؤدي الى حدوث اضطرابات لاسترات الكوليستيرول Cholesterol esters وهبوط فعالية انزيم Lipoprotein lipase وبالتالي زيادة نسبة الاحماض الدهنية الحرة Free fatty acids في الدم [15][16] ، كما ان زيادة نسبة الحديد في الكبد قد يؤدي الى زيادة نسبة الساييتوكاينينات الكبدية مثل tumor necrosis factors (TNF- α) و interleukin (IL-1 β) التي تعمل على زيادة مستويات Cholesterogenic enzyme مثل HMG-Co A reductase وانخفاض تركيز انزيم α Cholesterol 7-Hydroxylase المسؤول عن عملية تقويض الكوليستيرول في الكبد [17] ، فضلا عن اهمية ما ذكره [18] حول تحسس مستقبلات LDL-receptors المتواجدة في جدران الاوعية الدموية لتجمع البروتينات الدهنية في البلازما مما يؤدي الى ارتفاع نسبة LDL-C في المصل ، ان تجمع LDL في المصل يكون له القابلية على اكسدة جزيئات LDL الى ox-LDL وهذا بدوره ينتج العديد من الاوكسيستيرول Oxysterol التي لها القابلية على تثبيط فعالية مستقبلات LDL وتحفيز فعالية انزيم Cholesterol acyl transferase مؤديا الى زيادة تكوين استرات الكوليستيرول [19] .

ان مستويات تركيز HDL-C في المصل ترتبط بعلاقة عكسية مع مستويات تركيز LDL-C اذ يكون للـ LDL دور في النقل العكسي للكوليستيرول اذ ينقله من الانسجة المحيطية الى الكبد لذلك فان زيادة LDL-C تسبب نقصان HDL-C [20][21]. كما يلاحظ من الجدول (2) والجدول (5) عدم وجود فروق معنوية في مستويات الدهون الثلاثية TAG و VLDL-C التي جاءت متفقة مع [22] الذي بين ان الحقن العضلي لدكستران الحديد لا يؤثر على مستويات TAG و VLDL.

كما اظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في تركيز الكوليستيرول والشحوم البروتينية (TC , LDL , VLDL , HDL) بعد التجريب الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع [23] الذي بين دور زيت بذور العنب في تقليل مستويات الكوليستيرول في دم الفئران بعد معاملتها ببراعي كلوريد الكاربون CCL4 ، ان مضادات الاكسدة التي يحتويها زيت بذور العنب تعمل على تقليل ROS [24] وبالتالي تقلل من كمية الحديد المترسب في الكبد التي تؤثر على الانزيمات الكبدية وبالتالي خفض نسبة الاحماض الدهنية الحرة ، قد يعود السبب الى ان زيت بذور العنب يعمل على زيادة انزيم Cholesterol 7 α -hydroxylase الذي يزيد من تقويض الكوليستيرول في الكبد ويعزز فعالية مستقبلات LDL وبالتالي خفض نسبة LDL-C في المصل [23][25] ، اضافة الى دور الاحماض الدهنية غير المشبعة التي يحتويها زيت بذور العنب مثل Omega -3 و Omega -6 في خفض مستويات الكوليستيرول اذ تعمل هذه الاحماض الدهنية على خفض مستويات الكوليستيرول الكلي TC و LDL ، TAG وزيادة مستويات HDL عن طريق دورها في تقليل انزيمات Cholesterogenic enzyme وزيادة فعالية انزيم Lipoprotein lipase وبالتالي خفض نسبة الاحماض الدهنية الحرة فضلا عن دورها في تغيير طبيعة مستقبلات LDL في اغشية الخلايا الجريبية للكبد ، كما تعمل Omega -3 على خفض نسبة الساييتوكاينينات الكبدية (TNF- α) و (IL-1 β) وبالتالي زيادة مستوى انزيم α -Cholesterol 7 Hydroxylase [26] او من خلال دورها في اكسدة الكوليستيرول الى احماض الصفراء Bile acids وبالتالي خفض نسبة الكوليستيرول في الدم [27][28] .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية في معدل تركيز الكوليستيرول TC و TAG و VLDL-C بعد الحقن بمادة الديسفروكسامين مع وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز LDL-C وانخفاض معنوي (P<0.05) في معدل تركيز HDL-C ان هذه النتيجة تتفق مع [29][30] الذي قد يعود السبب الى دور مادة الديسفروكسامين في تقليل مستويات الكوليستيرول في الدم .

ان زيادة مستويات LDL-C وانخفاض HDL-C الذي حدث بعد الاسبوع الرابع قد يكون نتيجة لترسب الحديد في الكبد بسبب زيادة جرعات الحديد التي تجاوزت قدرة الديسفروكسامين على التقاطها اذ تبقى كمية من الحديد مترسبة في الكبد بشكل هيموسدرين والتي تؤثر بدورها على الانزيمات الكبدية مثل Lipoprotein Lipase مؤديا الى حدوث اضطرابات في العمليات الايضية لاسترات الكوليستيرول Cholesterol esters وزيادة نسبة الاحماض الدهنية الحرة [31] .

جدول (1) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفر وكسامين على معدل تركيز الكوليستيرول الكلي TC (mg/dl) في مصّل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المدة		المجاميع				
		20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفر وكسامين 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم / كغم ديسفر وكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	السيطرة (G1)
قبل المعاملة	a	131.70 0.61 ± A	a 133.24 0.77 ± A	a 133.20 0.88 ± A	a 134.20 4.83 ± A	a 134.66 5.40 ± A
بعد اسبوعين	ab	130.48 0.67 ± B	134.90 0.74 ± BA	a 134.32 1.09 ± BA	b 143.46 5.22 ± A	a 134.80 5.45 ± BA
بعد اربعة اسابيع	b	128.52 0.73 ± A	b 135.88 0.99 ± A	a 134.54 0.91 ± A	b 150.76 4.88 ± B	a 134.46 5.23 ± A

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 5/ مجموعة

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.05
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.05

جدول (2) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفر وكسامين على معدل تركيز الدهون الثلاثية TG (mg/dl) في مصّل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المدة		المجاميع				
		20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفر وكسامين 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم / كغم ديسفر وكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	السيطرة (G1)
قبل المعاملة	a	133.90 0.74 ± A	a 133.28 0.83 ± A	a 132.60 0.88 ± A	a 135.18 4.98 ± A	a ± 135.58 5.42 A
بعد اسبوعين	b	131.24 0.66 ± A	a 134.00 0.88 ± A	a 133.74 0.98 ± A	a 137.30 5.08 ± A	a 135.46 5.29 ± A
بعد اربعة اسابيع	c	128.60 0.75 ± B	a 135.36 0.93 ± BA	a 134.02 0.96 ± BA	a 139.78 5.06 ± A	a 135.22 4.98 ± AB

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 5/ مجموعة

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.05
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.05

جدول (3) تأثير التجريب الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفر وكسامين على معدل تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL (mg/dl) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المدة		المجاميع		السيطرة (G1)		20 ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)		20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)		20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفر وكسامين (G4)		20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفر وكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)				
قبل المعاملة	a	±36.46	1.48	A	a	36.48	±1.41	A	a	36.44	±0.26	A	a	35.84	±0.19	A
بعد اسبوعين	bc	36.68	±1.61	CA	b	32.34	±1.19	B	ab	35.54	±0.35	A	b	34.52	±0.52	BA
بعد اربعة اسابيع	c	±36.52	1.63	DA	a	27.76	±0.86	B	b	35.20	±0.38	A	c	31.98	±0.34	C

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 5/ مجموعة .

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال $P < 0.05$
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P < 0.05$

جدول (4) تأثير التجريب الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفر وكسامين على معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL (mg/dl) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المدة		المجاميع		السيطرة (G1)		20 ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)		20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)		20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفر وكسامين (G4)		20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفر وكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)				
قبل المعاملة	a	±65.08	6.79	A	a	70.70	±2.41	A	a	70.24	±0.59	A	a	69.08	±0.67	A
بعد اسبوعين	b	70.88	±2.64	CA	b	83.68	±3.01	B	ab	72.04	±0.73	A	b	73.66	±0.50	CA
بعد اربعة اسابيع	c	70.90	±2.60	A	a	95.02	±3.41	B	b	72.66	±0.53	CA	c	76.82	±0.72	C

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 5/ مجموعة .

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال $P < 0.05$
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P < 0.05$

جدول (5) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفر وكسامين على معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا (mg/dl)VLDL في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المدة	المجاميع	السيطرة (G1)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)
قبل المعاملة	a	27.12 ± 1.08 A	27.02 ± 0.99 A	26.52 ± 0.18 A	26.66 ± 0.16 A	26.78 ± 0.15 A
بعد اسبوعين	a	27.10 ± 1.06 A	27.46 ± 1.02 A	26.74 ± 0.19 A	26.78 ± 0.17 A	26.22 ± 0.14 A
بعد اربعة اسابيع	a	27.04 ± 0.99 BA	27.98 ± 1.02 A	26.78 ± 0.18 BA	27.08 ± 0.18 BA	25.86 ± 0.07 B

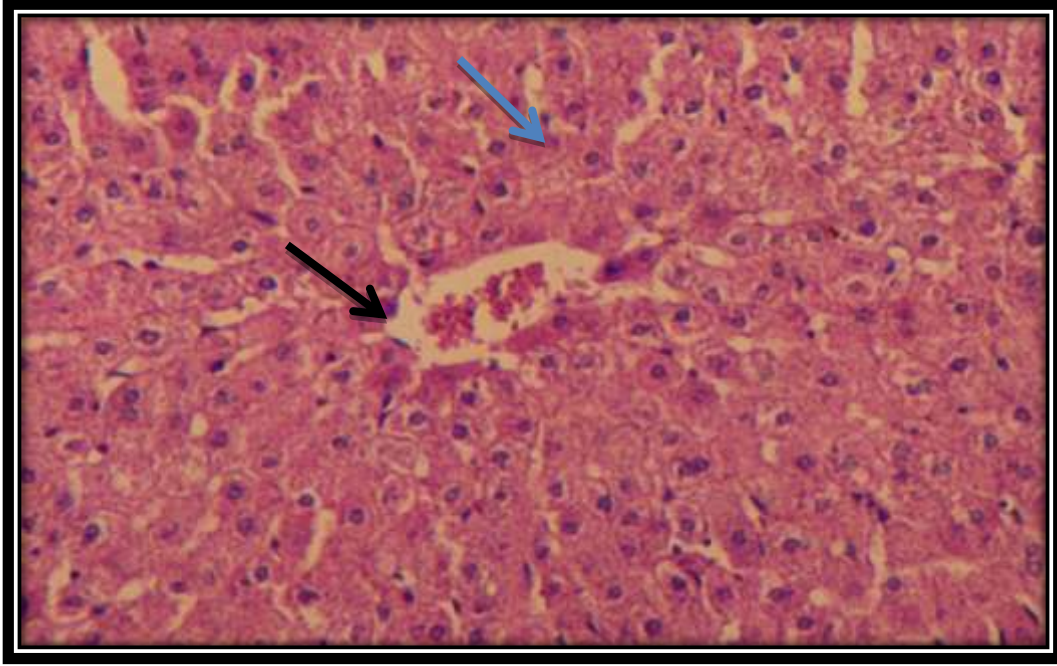
المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 5/ مجموعة .



الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.05
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.05

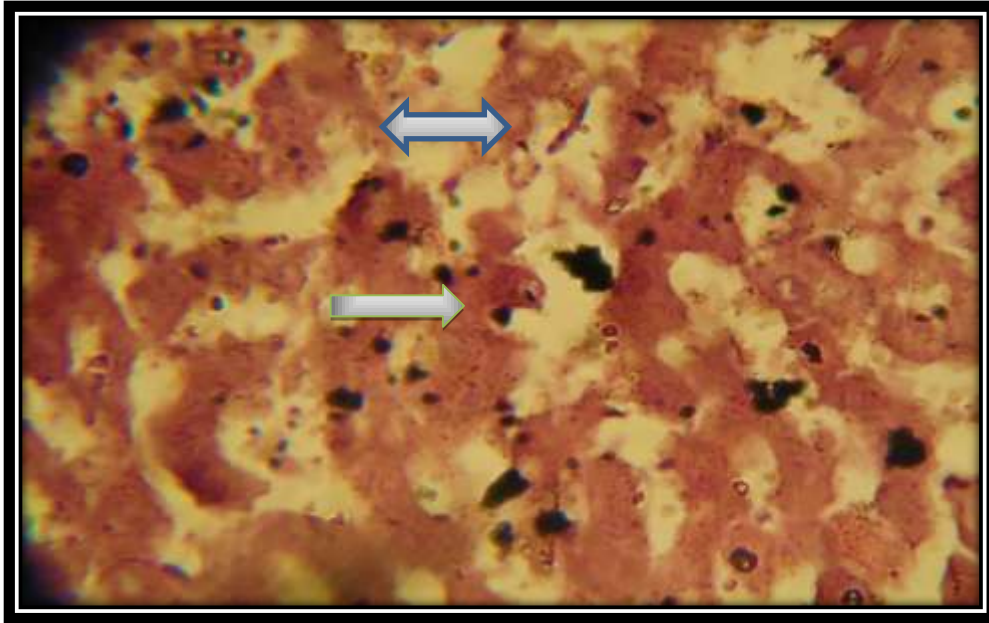
كما بينت نتائج التقطيع النسيجي ترسب الحديد بشكل هيموسدرين Hemosiderin مع حدوث تغيرات تنكسية في الخلايا الكبدية في انسجة الحيوانات المعاملة ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد Iron dextran (صورة رقم 2) مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة رقم 1) وهي نتائج متفقة مع [32][33]، ان سبب زيادة ترسب الهيموسدرين Hemosiderin في انسجة الكبد قد يكون نتيجة لفرط الحديد الذي ادى الى تحفيز الخلايا الكبدية على تكوين الفرتين والهيموسدرين وتراكمها في الكبد [22][34] كما ان تلف الخلايا الكبدية قد يكون نتيجة لتأثير الجذور الاوكسجينية الفعالة في زيادة عملية اكسدة الدهون Lipid peroxidation لاغشية الخلايا الكبدية وقدرتها على التفاعل مع الدهون غير المشبعة poly unsaturated fatty acids التي تؤدي الى تضرر الانسجة والاعضاء [35][36].



اظهرت نتائج التقطيع النسيجي لانسجة الحيوانات المعاملة ب 20 ملغم من دكستران الحديد والمجرعة يوميا ب 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب (صورة رقم 3) انعدام ترسب الهيموسدرين في نسيج الكبد والمظهر الطبيعي للخلايا الكبدية مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة رقم 1) ويرجع السبب في ذلك الى النسبة العالية من مضادات الاكسدة التي يحتويها زيت بذور العنب التي تمكنت من التقاط نسبة عالية من جذور الحديد الحرة مما ادى الى تقليل تأثيرها على نسيج الكبد [37][38] ، اضافة الى ذلك فان زيت بذور العنب غني بفيتامين E الذي يعد من احسن مضادات الاكسدة الذائبة في الدهون الذي له دور رئيسي في المحافظة على سلامة اغشية الخلايا والتقليل من حدة الالتهابات من خلال تقليل انتاج البروستوكلاندين [39] كما انه يعمل على تقليل تأثير الجذور الحرة والعوامل المؤكسدة ويوقف عملية بيروكسدة الدهون Lipid peroxidation ، اضافة الى دور المركبات الفينولية بضمنها Proanthocyanidins وanthocyanin في المحافظة على اغشية الخلايا وتأثيرها في كسح الجذور الحرة وتقليل تأثيرها على الانسجة [40][41].

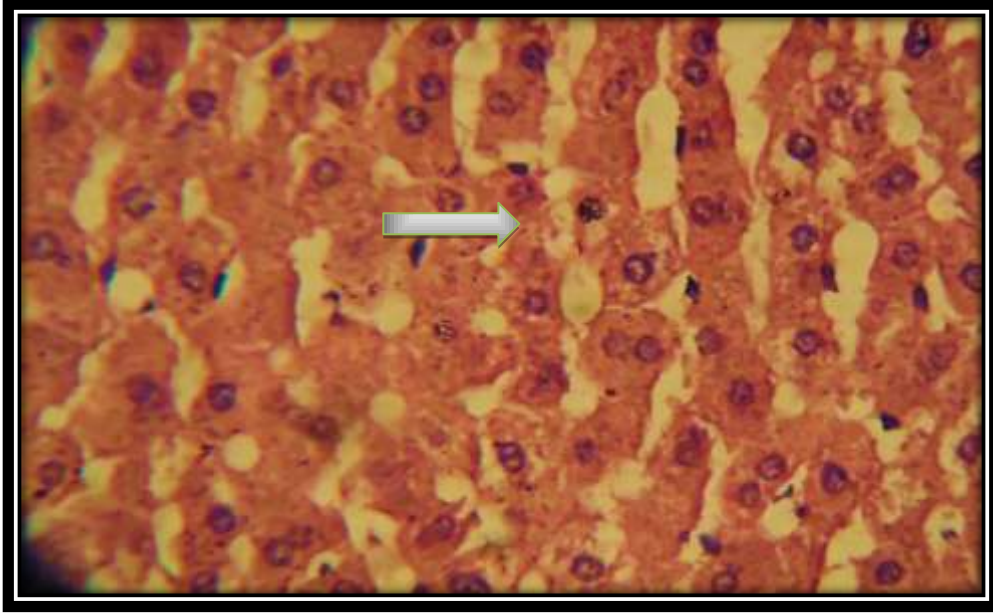
اظهرت نتائج الدراسة النسيجية ترسب كميات قليلة من الحديد بشكل هيموسدرين في نسيج الكبد بعد الحقن بمادة الديسفر وكسامين مع حدوث تغيرات تنكسية في الخلايا الكبدية (صورة رقم 4) وهي نتائج متفقة مع [42] الذين وجدوا حدوث حالات ترسب الهيموسدرين في الكبد على الرغم من استخدام الديسفر وكسامين كواقط لايونات الحديد وان سبب ذلك هو ان هذه المادة تعمل على التقاط نسبة محدودة من ايونات الحديد الحرة ومع زيادة جرعات الحديد سوف تترسب كميات من الحديد في مختلف اعضاء الجسم بما في ذلك الكبد .



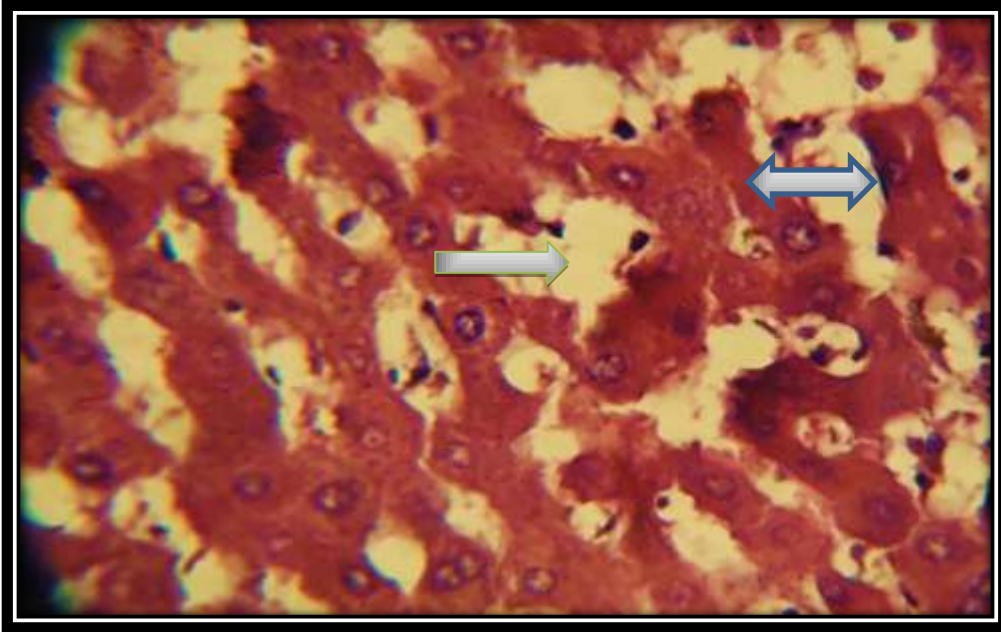
صورة (1) تبين مقطع نسيجي لكبد حيوان (مجموعة السيطرة) يلاحظ فيها تراكيب الكبد الطبيعية ،  الوريد المركزي ،  الخلايا الكبدية ، (H&E 400X)



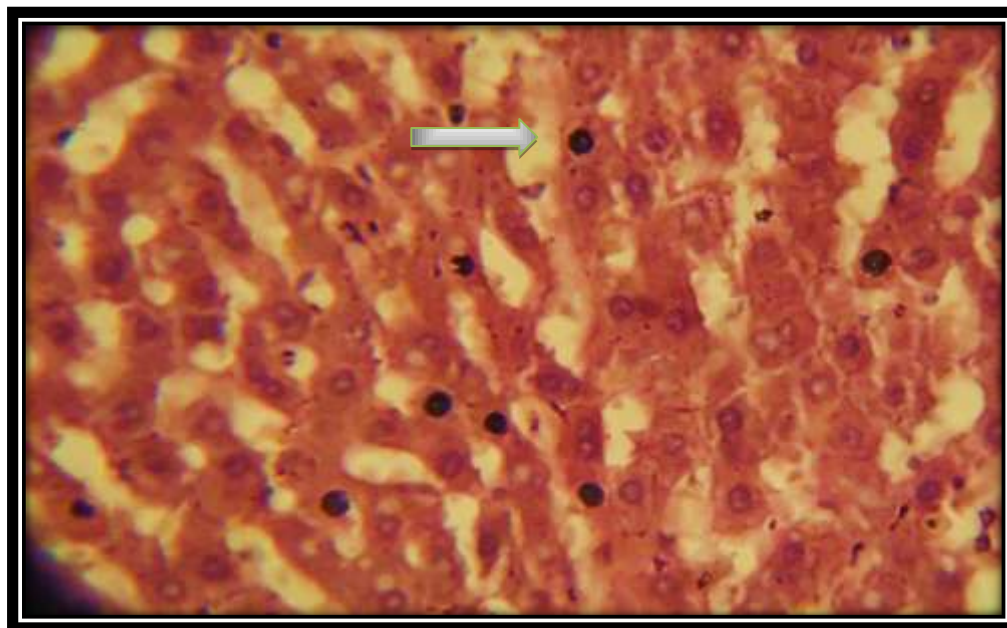
صورة (2) تبين مقطع نسيجي لكبد حيوان في مجموعة ذكور الارانب التي حقنت عضليا بـ 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد يلاحظ ترسب مادة الهيموسدريين  مع تغيرات تنكسية للخلايا الكبدية (H&E 400X) 



صورة(3) تبين مقطع نسيجي لكبد حيوان في مجموعة ذكور الارانب التي حقنت عضليا ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد والمجرعة فمويا بالجرعة المؤثرة (0.5 مل / كغم) من زيت بذور العنب يلاحظ فيها تكثف انوية الخلايا الكبدية (H&E 400X)



صورة(4) تبين مقطع نسيجي لكبد حيوان في مجموعة ذكور الارانب التي حقنت عضليا ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد والتي حقنت تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفر وكسامين يلاحظ فيها ترسب قليل الهموسدرين وتغيرات تنكسية للخلايا الكبدية (H&E 400X)



صورة (5) تبين مقطع نسيجي لكبد حيوان في مجموعة ذكور الارانب التي حقنت عضليا بـ 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد وجرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (0.5 مل / كغم) من زيت بذور العنب مع حقن تحت الجلد بـ 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين يلاحظ فيها تكثف النواة للخلايا الكبدية (H&E 400X) →

المصادر

- 1-Bodnar ,L. M. ; Cogswell, M.E. & Scanlon ,K.S. (2002). Low income postpartum women and at risk of iron deficiency . J .Nutr. ,132:2298-2302.
- 2-Hentze ,M. W. ; Muckenthaler , M. U. & Andrews ,N. C. (2004). Balancingacts :Molecularcontrol of mammalian iron metabolism .Cell ,117:285-297.
- 3-Franchini, M.; Targher, G.; Montagnana, M.; Lippi, (2008).Iron and Thrombosis. Ann. Hematol., 87:167-173.
- 4-Kohgo, Y. ;Ikuta, K.; Ohtake, T.; Torimoto, Y. &koto, J. (2008). Body iron metabolism and pathology of iron overload, int. J. Hematol., 88(1) : 7-15.
- 5-Conrad, M. E.; Umbriet, J. N. & Moore, E. G. (1999). Iron absorption and transport. AM. J. Med. Sci., 18 : 213-229.
- 6-Guyton, A.C. & Hall, J.E., (2000). Text book of medical physiology. 6th, ed., Saunders Comp., London, U.K., 307-320.
- 7-Britton, R. S.; Tavill, A. S. & Bacon, B. R. (2004).Mechanism of iron toxicity.In : Iron Mechanism in Health and disease by Brock JH, Halliday, J.W.; Pippard, M.J.& Powell, L.M. (Eds). Inc. London : 311-351.
- 8-Hershko , C. ; Abrahamov , A. ; Konijn , A. M. ; Breuer , W. ; Cabantchik , I. Z. ; Pootrakul , P. &Link , G. (2003) . Opjectives and methods of iron chelation Theraby .Bioinory .Chem .Appl ., 1:151-168 .
- 9-Friedewald, W. T. ; Levy, R. I. ; Fredrickson, D. S. (1972). Clin . Chem. , 18:199.
- 10-Chotkowska, E.; Kurjata, P. ; Kupsc, W. (2001). Evaluation of the precision of the friedewalds formula for the calculation of LDL-c concentration in serum . Pol-Merkuriusz- Lek. , 11(64): 348-51.
- 11-Presnell, J.K. &Schreibman, M.P. (1997).Humason's animal tissue techniques, 5thedn., John Hopkins Univ. Press, Balfimore, 546.
- 12- Spss . (1999).Statistical packages social sciences , verion 10. USA

- 13- Michael, S. T. (2007). Iron overload cardiomyopathy Associated with Iron overload conditions. Health Journal, 11(3):1-6.
- 14- Burea, I.; Lewis, C. S. & Fields, M. (1998). Effect of hepatic Iron on hypercholesterolemia and Hypertriglyceridemia in copper-deficient fructose fed rats. Nutrition, 14:366-371.
- 15- Choie, J. W. ; Kim, S. K. &Pai, S. H. (2001). Changes in serum lipid concentration during Iron depleting and after iron supplementation Annals of clinical & laboratory science, 31(2) : 151-157.
- 16- Mateo-Gallego, R. ; Solanas-Barca, M. ; Burillo, E. ; Cenarro, A. & Civeira, M. (2010). Iron deposits and dietary patterns in familial combined hyperlipidemia and familial hyper triglyceridemia. J. Physiol. Biochem . , 3:36-45.
- 17- Kojima, M.; Masui, T.; Nemoto, K. & Degawa, M. (2004) Lead nitrate induced development of hypercholesterolemia in rats: sterol independent gene regulation of hepatic enzymes responsible for cholesterol homeostasis. Toxicol Lett., 154:35-44.
- 18- Dabbagh , A. J. ; Shwaery , G. T. ; Keaney , J. F. & Frei , B. (1997). Effect of iron overload and deficiency on atherosclerosis in the hyper cholesterolemic rabbit . Arterioscler . Thromb . Vasc . Biol ., 17:2638-2645.
- 19- Turbino_Ribeiro, S. M. L.; Silva, M. E. ; Chianca, D. A. ; De Paula, H.; Cardoso, L. M. & Colombari, E. (2003). Iron overload in Hyper cholesterolemic Rats Affects iron Homeostasis and Serum Lipid but not Blood pressure. J. Nutr., 133:15-20.
- 20- Pischon , T. ; Girman, C.; Saks, F.; Rifai, N. & Rimm, E. (2005) . Non-high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the prediction of coronary heart disease in men . Circulation, 112:3375-3383.
- 21- Denke, M. (2005). Weighing in before the fight: Low density lipoprotein cholesterol and non – high – density lipoprotein cholesterol versus apolipoprotein B as the best predictor for coronary heart disease and the best measure of therapy . Atheroscler. Thro. Vas. Biol., 112:3368-3377.
- 22- الكريطي ، حيدر بخيت عباس. (2011). بعض التغيرات الوظيفية والنسجية المتسببة عن فرط الحديد . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة كربلاء .
- 23- Nash , D. T. (1993) . Grape seed oil natural agent which raises serum HDL levels , J. AM. Col . Cardiol . , 21:318- 320 .
- 24- Maheswari, M. U. ; Rao, P. G. M. (2005). Antihepatotoxic effect of grape seed oil in rat . Indian J. Pharmacol , 37(3):179-182.
- 25- Natella, F.; Belleli, F.; Gentili, V.; Ursini, F. & Scaccini, C. (2002). Grape sea proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in Humans. J. Agric food chem., 26:7720-7725.
- 26- Artemis ,P. (2008) . The omega-6 / omega-3 fatty acid ratio , genetic variation , and cardiovascular disease . Asia Pac Clin Nutr. , 17(1):131-134 .
- 27- Bhathena , J. ; Ali , A. ; Christian , H. ; Patricia , L. ; Tedine , R.; Ali , I.; Mohamed , C ; Hansen , T. & Velasquez , T. (2003) . Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hyper triglyceridemia and steatosis of liver in an animal model of obesity . Journal of American college of Nutrition , 22 (2) : 157-164 .
- 28- Morgado , N. ; Attitio , R. & Valenzuela , A. (2005) . Comparative effect of fish oil feeding and other Dietary fatty acids on plasma lipoproteins , Biliary lipids and hepatic expression of proteins . Involved in Reverse cholesterol transport in the rat . Nutrition and metabolism , 49:397-406.
- 29- Piga, A.; Gaglioti, C. ; Forgliacco, E. & Tricta, F. (2003). Comparative effects of deferiprone and desferoxamine on survival and cardiac disease in patients with B-Thalassemia major. Hemodyca, 88:489-496.
- 30- جاسم ، اميرة محمد علي. (2008). تأثير عقار الديسفيرال ونبات الشاي الاخضر على بعض المتغيرات البايوكيميائية في الارانب المستحث فيها داء السكري وفرط الحديد . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة بابل .

- 31- Borgna-Pignatti, C. ;Rugolotto, S. ; De Stefano, P. ; Zhao,H. ; Cappellini, M. D. ;Del Vecchio G. C. ; Romeo, M. A. ;Forni, G. L. ; Gambirini, M. R. ;Ghilardi, R. ; Piga, A.; Cnaan, A. (2004). Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica* , 89:1187-1193.
- 32- Khan, M. F. ; Wu, X.&Alcock, N. W. (1999). Iron exacerbates aniline-associated splenic toxicity. *J. Toxicol., Environ. Health* , 57:173-184.
- 33-Ozguner ,M. &Sayin , N. (2002) . Histological changes in rat liver after chronic iron – sorbitol overload . *Journal of Ankara medical school* , 24(2):49-54.
- 34-Ramm , G. A. &Ruddell , R. G. (2005). Hepatotoxicity of iron overload , mechanisms of iron induced hepatic fibrogenesis . *Semin .Liver .Dis .* , 25:433-449.
- 35- Richardson , D. R. (2003) . Friedreich's ataxia : iron chelators . That target The mitochondrion as a Therapeutic strategy .*Expert .OpinInvestig .Drugs .*, 12:235-245 .
- 36- Lieu, P. T.; Heiskala, M.; Peterson, P. A. & Yang, Y. (2001).The roles of iron in Health and disease.*Mol Aspect Med.*, 22 : 1-87.
- 37- Kim , S. ; Jeong , S. ; Park , W. ; Nam , K. C. ; Ahn , D. & Lee, S. (2006) . Effect of heating conditions of corape seeds on The oxidant activity of grape seed extract . *Food Chemistry* .97 : 472-479 .
- 38- Choi, Y.&Lee,J.(2008) .Antioxidant vitamins reduce acute meal-induced memory deficits in adults with type 2 diabetes. *Nutrition Research* , 28(7):423-429.
- 39- Wen ,Y. ; Killales, S. ; Norris,L. A. ; Cooke, T.& Feely ,J. (1999). Vitamin E supplementaetion in hyperlipidaemic patients : effect of increasing doses on vitro and low –density lipoprotein oxidation . *Eur. J. Clin . Invest.*, 29:1027-1034.
- 40- Bagchi , D.; Sen ,C. K. & Ray ,S. D. (2003) . Molecular mechanisms of cardioprotection by anovel grape seed proan the cyaniding extract. *Mutat.Res.* ,523:87-97.
- 41- Bozan, B. ;Tosun , G. &Ozcam , D. (2008) . Stady of polyphenoliccompounds from red grape marce for use as food lipid an tioxidants . *Food Chemistry* , 66(2) : 209-215 .
- 42- Rigol. M.; Solanes,N. ; Roque, M. ; Farre, J. ;Batlle, M. ;Roura, S. ; Bellera, N. ;Prat-Vidal, C. ; Sionis, A. ;Ramirez, J. ;Sitges, M. ; Sanz, G. ; Bayes-Genis, A. &Heras, M.(2008).Hemosiderin deposits confounds tracking of iron-oxide-labeled stem cells : an experimental study. *Transplantation Proceeding* , 40:3619-3622.