



جمهورية العراق  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة كربلاء- كلية التربية للعلوم الصرفة

# تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد على بعض المعايير الفسلجية والوراثية في إناث الأرانب البالغة

رسالة تقدمت بها الطالبة

ريم عبد الرحيم مردان السعدي

إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة

الماجستير

في علوم الحياة – علوم الحيوان

إشراف

الأستاذ المساعد  
حسين علي عبد اللطيف

2012 م

الأستاذ المساعد الدكتورة  
وفاق جبوري محمد البازي

1433 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"وَقُلْ رَبِّي زِدْنِي عِلْمًا"

صدق الله العلي العظيم

(سورة طه)

(الآية 114)

## إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة أدناه قد اطلعنا على الرسالة المسومة " تأثير إزالة المبييض وفرط الحديد على بعض المعايير الفسلجية والوراثية في إناث الأرناب البالغة " وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وكل ما يتعلق بها ووجدنا أنها جديرة بالقبول بتقدير ( ) لنيل درجة ماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

### رئيس اللجنة

التوقيع :-

الاسم :-

العنوان :-

التاريخ :- / / 2012

### عضو اللجنة

التوقيع :-

الاسم :-

العنوان :-

التاريخ :- / / 2012

### عضو اللجنة

التوقيع :-

الاسم :-

العنوان :-

التاريخ :- / / 2012

### عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :-

الاسم :- أ.م. حسين علي عبد اللطيف

العنوان :- كلية التربية للعلوم الصرفة

/ جامعة كربلاء

التاريخ :- / / 2012

### عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :-

الاسم :- أ.م.د. وفاق جبوري البازي

العنوان :- كلية التربية للعلوم الصرفة /

جامعة كربلاء

التاريخ :- / / 2012

التوقيع :-

الاسم :- م. د. قيس عباس السماك

العنوان :- عميد كلية التربية للعلوم الصرفة

/ جامعة كربلاء

التاريخ :- / / 2012

## أقرار المقوم اللغوي

أشهد أنّ هذه الرسالة الموسومة بـ (تأثير إزالة المبيض وفرط الحديد على بعض المعايير  
الفلسجية والوراثية في إناث الأرناب البالغة) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح  
ماورد فيها من اخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة  
الأسلوب والصحة في العبير.

التوقيع :-

الاسم :-

المرتبة العلمية:-

الكلية والجامعة :-

التاريخ :- / / 2012 .

## الإهداء

إلى من أملني رضاه وغايتي حبه ورحمته وغفرانه الله رب العالمين سبحانه.....

إلى سيدي ومولاي رسول الرحمة (محمد صلى الله عليه وعلى اله).....

إلى إمام الحق أمير العلم والمعرفة علي بن أبي طالب (عليه السلام).....

إلى أهل بيت الرحمة والتقوى سادة الأنام أهل بيت الرسول (ص).....

إلى من سهر الليالي من اجلي ومن أعانني في يفتضي ونومي إلى من حرسنتي وغذنتي ونور  
عيني أمي الحبيبة.....

## شكر وتقدير

الحمد والشكر لله العلي الأعلى، الوفي الأوفى، رب الآخرة والأولى، فائق السماوات العلى ومبدع الارضين السفلى له الآخرة والأولى، الذي خلق فسوى والذي قدر فهدى والذي اخرج المرعى فجعله غثاء أحوى .....

وأنا اطوي الصفحات الأخيرة من رسالتي يسرني ويفرحني أن أتقدم بالشكر والتقدير إلى رئاسة جامعة كربلاء لإتاحتها الفرصة لإكمال دراستي وأتقدم بالشكر الجزيل إلى عمادة كلية التربية /قسم علوم الحياة والى منتسبي القسم كافة كما أتقدم بالشكر والامتنان إلى الأستاذين الفاضلين الدكتورة الفاضلة وفاق جبوري، والى الأستاذ حسين علي عبد اللطيف لإشرافهما على متابعة العمل على أكمل وجه وأسأل الله العلي القدير أن يمن عليهما بكل الخير والصحة والعافية.

كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ الدكتور ثائر علوان عبد /رئيس فرع الجراحة والتوليد /كلية الطب البيطري /جامعة القادسية .

ويسرني أن أتقدم بالشكر الجزيل إلى قريبي الأستاذ تحسين لما قدمه لي من عون في تجاوز بعض الصعاب .

وأتقدم بالشكر الجزيل إلى كل من أعانني وقد غاب اسمه وحضر فضله وفقهم الله لما فيه خير وعافية .

ريم

## الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير إزالة المبايض في موجات القلب الكهربائية فضلاً عن التغيرات لبعض المعايير الفسلجية ( High density lipoprotine –cholesterol ) HDL-c ,Low density lipoprotine –cholesterol LDL-c ,Very low density lipoprotine –cholesterol VLDL-c ,Total cholesterol TC , Triacylglycerol TAG,Glutathion GSH ,Malondialdehyde MAD ,Lactate daehydrogenase LDH ,Estrogen hormone E2 ,Follicle stimulating hormone FSH ,Luteinizing hormone LH ,Free Iron Fe ,Red blood cell countes RBC ,Hemoglobin determination Hb ,Packet cell PCV ,White blood cell countes WBC ,Mean corpuscles volume MCV ,Mean corpuscle hemoglobin MCH ) وبعض التغيرات الحاصلة في المادة الوراثية الخاصة بقنوات الصوديوم – بوتاسيوم الأيونية في إناث الأرانب المحلية المعرضة و غير المعرضة لفرط الحديد باستخدام تقنية PCR.

قسمت عشوائياً 20 من إناث الأرانب المحلية البالغة وتبلغ من العمر بين (8-9) أشهر في شهر كانون الأول وبوزن (1500-2000) غرام على أربع مجاميع وبواقع (5/مجموعة) ولمدة ثلاثة شهور, حقنت المجموعة الأولى بـ 20 مل/كغم من المحلول الفسلجي واعتبرت كمجموعة سيطرة (G1) و المجموعة الثانية تم إزالة المبايض منها فقط (G2) , وتم إزالة المبايض في المجموعة الثالثة وحقنت بـ 20 مل/كغم من دكستران الحديد بشكل تصاعدي (G3) والمجموعة الرابعة حقنت بـ 20 مل/كغم من دكستران الحديد فقط بشكل تصاعدي (G4) . وتم جمع عينات الدم ونماذج المقاطع النسيجية وقياس أطوال موجات القلب الكهربائية خلال فترة المعاملات في حين أجريت الدراسة النسيجية في نهاية التجربة , جاءت نتائج الدراسة الحالية كما يلي :-

- حدوث حالة تسارع في ضربات القلب (Tachycardia) لمجموعة الأرانب المزالة المبايض G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 والمجموعة المعرضة لفرط فقط G4
- أما مجموعة الأرانب المزالة المبايض والمعرضة لفرط الحديد G3 فقد لوحظ حالة تسارع القلب (Tachycardia) مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة الأرانب المعرضة فقط لفرط الحديد G4.

- حصول حالة التباطئ في ضربات القلب ( Bradycardia ) من خلال زيادة طول المسافة في موجة (R-R) مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 و G2 و G3 .
- لم تلاحظ فروق معنوية ( $P>0.05$ ) في كلاً من (RBC و PCV و WBC و Hb ) في G2 بالمقارنة مع المجاميع الأخرى .
- حدوث انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في (RBC و PCV و Hb و MCH و MCV) و ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في (WBC) في مجموعة G3 و G4 مقارنة مع مجموعة G1 و G2 .
- حصول ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى تركيز الحديد الحر عند المجاميع G2, G3, G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1, وانخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في تركيز هرمون الاستروجين في المجاميع G2, G3, G4 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1. وارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى تركيز هرموني FSH و LH في مجموعة الأرانب المزالة المبايض فقط G2 مقارنة مع المجاميع G1, G3, G4, ووجود انخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى تركيز هرموني LH, FSH في مجموعة G4 وانخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى تركيز هرمون LH في مجموعة G3 وارتفاع غير معنوي في مستوى تركيز هرمون FSH في مجموعة G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 و G2, فضلاً عن وجود ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى قياس الـ TAG, TC, LDL-C, VLDL-C وانخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى تركيز الـ HDL-C في المجاميع G2, G3, G4 بالمقارنة مع السيطرة .
- وجود ارتفاع معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى تركيز MDA ومستوى فعالية أنزيم الاكتيت ديهييدروجينيز LDH وانخفاض معنوي ( $P<0.05$ ) في مستوى تركيز الـ GSH لكل المجاميع بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .
- أما بالنسبة لنتائج الفحص النسيجي للقلب والكبد فقد تميزت مجموعة إناث الأرانب مزالة المبايض بفقدان شكل الليف العضلي وانفصال في انويه بعض خلايا العضلة القلبية فضلاً عن ترسب قطرات دهنية وتنخر في خلايا الكبد, كما أظهرت المقاطع النسيجية للمجموعة الثالثة والرابعة وجود ترسب للحديد بشكل الهيموسدرين ونزف دموي في نسيج القلب والكبد .



وفيما يخص الدراسة الوراثية في الاكسونين I وII لجينات بروتين التليثونين باستخدام تقنية ال-PCR فقد أشارت الدراسة الحالية إلى عدم وجود تغيرات في بروتينات قنوات الصوديوم - بوتاسيوم في خلايا العضلة القلبية في المجاميع المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة

### قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
I	الخلاصة	
IV	المحتويات	
VI	قائمة الجداول	
VII	قائمة الأشكال والصور	
VIII	قائمة المختصرات	
<b>الفصل الأول</b> <b>المقدمة</b>		
1	المقدمة	
<b>الفصل الثاني</b> <b>استعراض المراجع</b>		

5	المبيض	1-2
5	سن اليأس	2-2
6	هرمون الاستروجين	3-2
8	الفعل الحيوي لهرمون الاستروجين	1-3-2
9	هرمونات القند	4-2
10	عمليات إزالة المبايض	5-2
11	العلاقة بين هرمون الاستروجين وبعض الأمراض	6-2
11	أمراض جهاز القلب الوعائي	1-6-2
13	هشاشة العظام	2-6-2
14	الحديد	7-2
15	نقص الحديد	1-7-2
15	فرط الحديد	2-7-2
17	فرط الحديد وعلاقته ببعض الأمراض	3-7-2
19	القلب	8-2
19	مخطط القلب الكهربائي	9-2
<b>الفصل الثالث</b>		
<b>المواد وطرائق العمل</b>		
27	الحيوانات المستخدمة في الدراسة	2-3
27	تصميم التجربة	3-3
29	سحب الدم	4-3
29	الفحوصات الدموية	5-3
29	تقدير أعداد كريات الدم الحمر	1-5-3
30	قياس مستوى تركيز الهيموكلوبين	2-5-3
30	تقدير معدل حجم مكس الدم	3-5-3
30	معايير الدم القياسية	4-5-3
30	حساب معدل حجم كرية الدم الحمراء	1-4-5-3
30	حساب معدل تركيز الهيموغلوبين في كرية الدم الحمراء	2-4-5-3
31	العد الكلي لخلايا الدم البيضاء	5-5-3
31	الفحوصات الكيموحيوية	6-3
31	تقدير تركيز المألونديالديهايد في مصل الدم	1-6-3
32	تقدير تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم	2-6-3
34	تقدير تركيز الكوليستيرول في مصل الدم	3-6-3
36	تقدير تركيز الكليسيريدات الثلاثية	4-6-3
37	تقدير تركيز الشحوم البروتينية العالية الكثافة	5-6-3
39	تقدير تركيز الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة	6-6-3
39	قياس تركيز الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة جداً	7-6-3
39	قياس تركيز الحديد الحر في المصل	8-6-3
41	قياس تركيز هرمون الاستروجين	9-6-3
42	قياس تركيز هرمون محفز الجريبات	10-6-3
44	قياس تركيز الهرمون اللوتيني	11-6-3
45	قياس تركيز إنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز	12-6-3
47	تسجيل مخطط القلب الكهربائي ECG في الملي ثانية	7-3

48	طريقة استخلاص الـDNA	8-3
49	جمع تفاعل إنزيم البلمرة لـDNA المتسلسل	1-8-3
50	تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل	2-8-3
52	الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز	3-8-3
52	التحضيرات النسيجية	9-3
53	التحليل الإحصائي	10-3
<b>الفصل الرابع</b> <b>النتائج والمناقشة</b>		
54	التغيرات في معدل تركيز هرمون الاستروجين	1-4
54	التغيرات في معدل تركيز هرمون محفز الجريبات	2-4
55	التغيرات في معدل تركيز الهرمون اللوتيني	3-4
56	التغيرات في معدل تركيز الكوليسترول الكلي	4-4
57	التغيرات في معدل الدهون الثلاثية	5-4
57	التغيرات في معدل تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة	6-4
58	التغيرات في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة	7-4
58	التغيرات في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جداً	8-4
61	التغيرات في أعداد كريات الدم الحمر	9-4
62	التغيرات في معدل تركيز الهيموغلوبين في كريات الدم	10-4
63	التغيرات في معدل حجم مكداس الدم	11-4
63	التغيرات في معدل حجم كريات الدم الحمر	12-4
63	التغيرات في معدل محتوى الهيموغلوبين في كريات الدم	13-4
64	التغيرات في أعداد كريات الدم البيض	14-4
64	تأثير التغيرات في معدل تركيز الحديد	15-4
66	التغيرات في معدل تركيز المألونديهايد	16-4
67	التغيرات في معدل تركيز الكلوتاثايون	17-4
69	التغيرات في معدل تركيز أنزيم اللاكتيك ديهيدروجينيز	18-4
70	تأثير إزالة المبايض في موجات القلب الكهربائية	19-4
72	تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد في موجات القلب الكهربائية	20-4
75	تأثير فرط الحديد في موجات القلب الكهربائية	21-4
78	التغيرات الجزيئية في القنوات الايونية في نسيج عضلة القلب (البطين).	22-4
81	تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد على نسيج القلب	23-4
84	تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد على نسيج الكبد	24-4

الفصل الخامس		
الاستنتاجات والتوصيات		
88	الاستنتاجات	
89	التوصيات	
المصادر		
90	المصادر العربية	
92	المصادر الأجنبية	

### قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	التسلسل
24	الأجهزة والأدوات المستخدمة حسب المنشأ والشركة	1-3
26	المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة	2-3
51	تسلسل اكسونات البرايمر المستخدمة في انجاز البحث	3-3
54	تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد في معدل مستوى الهرمونات ( هرمون الاستروجين وهرمون محفز الجريبات والهرمون اللوتيني) ( $\mu\text{g/dl}$ ) في إناث الأرانب	1-4
57	تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد في معدل (تركيز TC , TAG, HDL-c, LDL-c, VLDL-c) في إناث الأرانب	2-4
62	تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد في (RBC, Hb, PCV, MCV, MCH, WBC, Fe) في إناث الأرانب	3-4
67	تأثير إزالة المبايض وفرط حقن الحديد في معدل تركيز (MDA, GSH) في إناث الأرانب	4-4
70	تأثير إزالة المبايض والحقن بالحديد في معدل تركيز إنزيم اللاكتيك ديهيدروجينيز LDH $\mu\text{m/l}$ في إناث الأرانب	5-4

### قائمة الصور والأشكال

الصفحة	العنوان	التسلسل
21	شكل الرسم البياني لمخطط القلب الكهربائي Electrocardiograph	1-2
28	شكل تبين إجراء عملية إزالة المبايض في الأرانب	1-3
34	شكل المنحني القياسي للكلوتاتايون	2-3
48	شكل كيفية ربط الأقطاب الكهربائية لمخطط القلب الكهربائي في الأرنب	3-3
71	شكل تبين المخطط البياني لقلب أنثى أرنب تمثل مجموعة السيطرة	1-4

71	شكل تبين المخطط البياني لقلب أنثى أرنب تمثل مجموعة G2	2-4
72	شكل تبين المخطط البياني لقلب أنثى أرنب تمثل مجموعة G3	3-4
76	شكل تبين المخطط البياني لقلب أنثى أرنب تمثل مجموعة G4	4-4
79	شكل تمثل الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لـ DNA لمجموعة السيطرة	5-4
79	شكل الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لـ DNA لمجموعة الأرانب المزلة المبايض فقط G2	6-4
79	شكل الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لـ DNA لمجموعة الأرانب المزلة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3	7-4
79	شكل الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لـ DNA لمجموعة الأرانب المعاملة فقط بفرط الحديد G4	8-4
82	شكل تبين مقطع نسيجي في عضلة قلب أنثى أرنب تمثل مجموعة السيطرة	9-4
82	شكل لمقطع نسيجي لقلب أنثى أرنب تمثل مجموعة الأرانب G2	10-4
83	شكل لمقطع نسيجي لعضلة قلب أنثى أرنب تمثل مجموعة G4	11-4
83	شكل لمقطع نسيجي لعضلة قلب أنثى أرنب تمثل مجموعة G3	12-4
84	شكل لمقطع نسيجي لكبد أنثى أرنب تمثل مجموعة السيطرة	13-4
85	شكل لمقطع نسيجي لكبد أنثى أرنب تمثل المجموعة G2	14-4
85	شكل لمقطع نسيجي لكبد أنثى أرنب تمثل مجموعة G3	15-4
86	شكل لمقطع نسيجي لكبد أنثى أرنب تمثل مجموعة G4	16-4

### قائمة المختصرات

المصطلح	المختصر
Action Potential Depolarization	APD
Atrioventricular Node	AV
Blood Pressure	BP
Base pair	bp
Cardiovascular Disease	CVD
Coronary Heart Disease	CHD
Deoxy Ribonucleic Acid	DNA
Electrocardiography	ECG
Estrone	E1
Estradiol	E2

Estriol	E3
Esterol	E4
Estrogen-Receptor	ER
Epidermal Growth Factor	EGF
Follicular Stimulating Hormone	FSH
Fast-Transient outward K <sup>+</sup> Current	I <sub>to,f</sub>
Hemoglobin	Hb
Hormone Replacement Therapy	HRT
High Density Lipoprotein	HDL
Lactated Dehydrogenase	LDH
Low Density Lipoprotein	LDL
Luteinizing Hormone	LH
Left Leg	LL
Left Arm	LA
Malondialdehyde	MAD
Mean Corpuscles Volume	MCV
Mean Corpuscles Hemoglobin	MCHC
Methemoglobin reductase	Methb
Polymerase Chain Reaction	PCR
Packed Cell Volume	PCV
Polyunsaturated Fatty Acids	PUFAs
Right Arm	RA
Right Leg	RL
Red Blood Cell Corpuscle	RBC
Reactive Oxygen Species	ROS
Sudden Cardiac Death	SCD
Sarcoplasmic Reticulum	SR
Super Oxide anion	SOD
Triglyceride	TAG
Total Cholesterol	TC
White Blood Cell	WBC
Very Low Density Lipoprotein	VLDL

الفصل الأول  
المقدمة  
Introduction

## المقدمة

## Introduction

إن سن اليأس هو تلك النقطة الحرجة من حياة المرأة عندما تتوقف الدورة الطمثية بشكل كامل منهيةً قدرة المرأة على الإنجاب , وتعتبر المرحلة النهائية لعملية حيوية تتجلى بنقص في إفراز الهرمونات الأنثوية من المبيض وفي حقيقة الأمر تبدأ هذه العملية الحيوية قبل 3-5 سنوات من توقف الدورة الطمثية وتدعى هذه الفترة بمرحلة ما قبل سن اليأس ويعتبر سن اليأس كاملاً عندما يمضي على انقطاع الدورة الطمثية أكثر من سنة ويحدث هذا بعمر الخمسين ويختلف عادةً بين امرأة وأخرى (Metcalfe et al., 2001).

أن إزالة المبايض تؤدي إلى حصول حالة تدعى بسن اليأس الجراحي نتيجة للاختلال في مستوى تركيز هرمون الاستروجين إذ أن أغلب السيدات يتعرضن لما يسمى باليأس الاصطناعي نتيجة لعدد من التدخلات الطبية إذ تؤدي إزالة المبايض جراحياً قبل بلوغ المرأة سن اليأس إلى إصابتها بأعراض اليأس المبكر ويحدث الأمر نفسه إذا تعرض المبايض للتلف نتيجة للتعرض للإشعاعات , أو المعالجة بالأدوية المضادة للسرطان , أو بعض العلاجات الكيميائية الأخرى (Ross et al., 2004).

تؤدي عملية استئصال المبايض إلى انخفاض مستوى هرمون الاستروجين وفقدان الدورة الحيضية وبالتالي إلى زيادة مستويات هرمونات مغذيات المناسل في الدم نتيجة للتغذية الراجعة السالبة (Christian & Moenter, 2010) وأن انخفاض مستوى هرمون الاستروجين بعد سن اليأس الطبيعي أو الجراحي في الإنسان أو المستحدث في الحيوانات المختبرية يعتبر عامل خطورة لأمراض الجهاز القلبي الوعائي Cardiovascular system diseases وإمراض القلب التاجية Coronary heart diseases مثل ارتفاع الضغط الشرياني Arterial hypertension واحتشاء العضلة القلبية Myocardial infraction (Mendelsohn & Karas, 1999).

وأشارت العديد من البحوث إلى إن عملية إزالة المبايض في الحيوانات تؤدي إلى الاختلال في أيض المواد الغذائية في الجسم وحصول حالة زيادة الشهية ثم زيادة في وزن كتلة الجسم والأعضاء الحيوية مثل الكبد (Clegg et al., 2007; Maclean et al., 2010).

(Hamed et al., 2010); وخلل في أيض العظام وحصول حالة هشاشة العظام إذ إن في كل سنة تقريباً هناك 500 ألف امرأة تعاني من كسر عظمي في إحدى فقرات العمود الفقري و حوالي 300 ألف امرأة تتعرض للإصابة بكسر في الحوض وقد بلغت كلفة علاج الكسور العظمية في الولايات المتحدة الأمريكية إلى أكثر من 10 مليار دولار في النساء مابعد سن



اليأس (Turner et al., 2001; Cao et al., 2002) , وأمراض القلب الوعائية هي في المقام الأول و تعتبر القاتل الأكبر عند النساء والمسؤولة عن 50 % من الوفيات لدى النساء اللواتي تجاوزن سن الخمسين وأدرك الأطباء أن النساء تصاب بأمراض القلب الوعائية بنسب أعلى من الرجال الذين هم بنفس العمر (Hardman & Ashcroft, 2008) يقصد بأمراض القلب الوعائية تلك الاضطرابات التي تصيب القلب والجهاز الوعائي الدوراني وتتضمن تصلب الشرايين أو ما يعرف بالتصلب العصيدي Atherosclerosis , ارتفاع الضغط الشرياني والحناق الصدري (الذبحة الصدرية) أو السكتة Angina or stroke (Meli et al., 2004) . ولأسباب غير معروفة يساعد هرمون الاستروجين في حماية المرأة من الإصابة بأمراض القلب الوعائية خلال فترة نشاطها الجنسي , وبعد سن اليأس تزداد الإصابات بأمراض الجهاز القلبي الوعائي ومع تقدم العمر يزداد حدوث السكتات القلبية والماغية والاحتشاءات القلبية وفي النهاية الوفاة (Rivera et al., 2009) .

أن النساء اللواتي يستعملن هرمون الاستروجين كعلاج يقل لديهن خطر الإصابة بالاعتلالات القلبية الوعائية كما أظهرت دراسة أجريت سنة 1999 انخفاض خطر الوفاة بالحوادث الوعائية بمعدل 50 % وانخفاض نسبة الوفيات العامة بمعدل 40 % بعد 15 سنة من تطبيق المعالجة الهرمونية (Mendelsohn & Karas , 1999) تختلف حوادث الإصابة بأمراض الجهاز الوعائي بين الرجال والنساء بشكل كبير (Longnecker & Tseng, 1998) .

يستخدم حالياً هرمون الاستروجين وبشكل واسع في منع الحمل Contraception ولمنع هشاشة العظام Osteoporosis prevention كما وجد أيضاً بأن هرمون الاستروجين يزيد من أخذ الصوديوم بواسطة النبيبات القريبة والبعيدة الكلوية Proximal & Distal tubule luminal membranes وينظم من إعادة امتصاص الكالسيوم Ca<sup>+</sup> Reabsorption بواسطة القنوات الكثيرة جداً للكالسيوم في غشاء النبيب البعيد الكلوي Distal luminal membrane (Brunette & Leclerc, 2001) .

أشارت إحدى الدراسات الحديثة إلى أن هرمون الاستروجين له تأثير واضح جداً في عمليات إصلاح وصيانة الجروح والعلاقة ما بين التغيرات الخلوية المرتبطة بتقدم العمر في سياق شفاء الجروح Wound healing (Hardman & Ashcroft, 2008) و أشارت دراسة حديثة بأن إزالة المبايض جراحياً وانخفاض مستوى هرمون الاستروجين ما قبل سن اليأس وما بعد سن اليأس قد يكون سبباً في تطور أمراض سرطان الثدي Brest-cancer (Sharman , ) (2011) .

إن انخفاض مستوى تركيز هرمون الاستروجين ذو تأثير عكسي على مستوى تركيز الحديد في الجسم خلال مرحلة سن اليأس Menopausal Transition إذ يزداد مستوى تركيز الفرتين بالمصل Serum Ferritin بمعدل ضعفين إلى ثلاثة أضعاف في سن اليأس إلى ما بعد سن اليأس وأن ارتفاع الحديد عند النساء في سن اليأس يعتبر عامل خطورة على الجسم، كما إن انخفاض كتلة الدهون المركزية Centralized fat mass وتنظيم الشحوم البروتينية بالجسم وتوازن المضادات التأكسدية وانخفاض مستوى الحديد الحر وتوازنه بالدم ربما تكون مهمة جدا في حماية النساء بعد سن اليأس وخلال سن اليأس من تصلب الشرايين Atherosclerosis (Xu et al. , 2002 ; Crist et al. , 2009).

إن أضرار ومسببات فرط الحديد يمكن ملاحظتها على المستويين الخلوي والجزيئي من خلال أثارها النسيجية والعضوية وقد لوحظت أعراض أمراض تليف الكبد وإصابات عضلة القلب واضطرابات وظائف البنكرياس وأمراض النسيج الضام التنكسية وفرط التصبغ الجلدي Hyperpigmentation والتغيرات التنكسية في النظام العصبي المركزي (Fernandez et al. , 2002 ; Eseobar –Morreal et al. , 2005 ; Luque et al. , 2007 ; Tsay et al. , 2010 ; Seldrum et al. , 2011).

نظراً لأهمية مرحلة سن اليأس عند المرأة ولما لها من تأثير من الناحية الصحية والنفسية ولتسليط الضوء على دور الإجهاد التأكسدي الذي يستحدث من خلال نوعية الغذاء وبالإضافة إلى تسليط الضوء على التداخلات المختلفة المصاحبة لهذه المرحلة العمرية جاءت أهداف الدراسة الحالية كما يلي :-

1 – استحداث سن اليأس جراحياً من خلال إزالة المبايض في إناث الأرانب المحلية وأجراء قياس لبعض المعايير الوظيفية والهرمونية التالية :-

أ- قياس أطوال موجات القلب الكهربائية للإناث الأرانب المستحدث فيها سن اليأس وكذلك المعرضة لفرط الحديد .

ب- قياس مستوى الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-c (High density lipoprotine) والواطنة LDL-c (Low density lipoprotine) والواطنة جداً VLDL-c (Very low density lipoprotine) وكذلك قياس مستوى الكوليسترول (Total cholesterol)TC وثلاثي كليسيريدات الدهنية TAG (Triacylglycerol) .

ج - قياس مستوى الكلوتاثيون (Glutathion) GSH ومستوى المانولديهايد MAD (Malondialdehyde) ومستوى إنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز (Lactate Dehydrogenase) LDH.

د- قياس مستوى هرمونات Estrogen hormone وهرمون محفز الجريبات FSH (Follicle stimulating hormone) و الهرمون اللوتيني LH (Luteinizing hormone).

هـ - قياس مستوى الحديد الحر في البلازما .

و - قياس أعداد خلايا الدم الحمر الكلية (RBC (Red blood cell countes) ومستوى الهيموغلوبين Hb (Hemoglobin determination) وإعداد خلايا الدم البيض الكلية WBC (White blood cell countes) وقياس مستوى مكذاس الدم PCV(Packet cell volume) وقياس معدل حجم كرية الدم الحمراء (MCV(Mean corpuscles volume) وقياس معدل تركيز هيموغلوبين في كريات الدم الحمر (MCH(Mean corpuscle hemoglobin).

2 - دراسة وراثية باستخدام تقنية الـ PCR (Polymerase chain reaction) لمعرفة التغيرات في الأنماط البروتينية المسؤولة عن عمليات نقل المواد المختلفة لخلايا عضلة القلب الضرورية لانجاز الوظائف الخلوية تحت ظروف انخفاض مستوى تركيز هرمون الاستروجين وازدياد الإجهاد التأكسدي .

3- دراسة التغيرات النسيجية المحتملة لنسيج عضلة القلب ونسيج الكبد تحت ظروف الدراسة .

الفصل الثاني  
استعراض المراجع  
**Literature Review**

## استعراض المراجع

### Literature review

#### 1-2 المبيض Ovary

المبيض هو عضو التناسل عند المرأة , يشبه حبة الفاصوليا , يتراوح حجمه ما بين 3.5 - 5 سم طولاً , 2.5 سم عرضاً , 1 - 1.5 سم سمكاً ووزنه من 5 - 10 غم. يكون سطح المبيض قبل البلوغ أملساً ناعماً ولكن بعد البلوغ وتكرار عملية الإباضة يصبح سطح المبيض مجعداً بسبب الندب التي تخلفها حويصلات كراف Crave vesicles بعد انفجارها , وبعد سن اليأس ينكمش ويضمحل حجمه .

يتكون المبيض من عدد كبير من الخلايا البيضة الأولية المتوضعة وسط مادة أساسية مؤلفة من نسيج ضام , والسطح الخارجي مغطى بطبقة واحدة من الخلايا الطلائية المكعبة تعرف بالطلائية الجرثومية Germinal epithelium , وغالبا ما تزول هذه الطبقة عند المرأة بعد البلوغ , وأسفل القشرة توجد محفظة ليفية تتكون من ألياف من النسيج الضام تدعى الغلالة المبيضية البيضاء Albuginea theca أي إن المبيض يتكون من منطقتين هما اللب Medulla وهو عبارة عن نواة مركزية غنية بالأوعية الدموية وهو الجزء الأكبر من المبيض ويحاط بالغلالة البيضاء ( Virant-Klun et al. , 2007 ; 1989 , العلوجي ) والقشرة Cortex وهو منطقة رقيقة سطحية مولدة للبيوض والتي تحتوي على آلاف الحويصلات الأولية Primordial follicles حجمها 0.25 - 1 ملم تتألف الواحدة منها من بيضة تتكون من طبقة واحدة من الخلايا المحببة وبينها خلايا متطورة تفرز الهرمونات.

يقوم المبيض بوظيفتين أساسيتين هما :تكون البويضات وإفراز الهرمونات الجنسية وهي الاستروجين (الاستراديول) Estrogen والبروجيستيرون Progesterone (العلوجي, 1989) .

#### 2-2 سن اليأس Menopause

يعرف مصطلح سن اليأس Menopause بأنه مرحلة انقطاع الطمث عند النساء , وتعني بفترة الحيض النهائية للمرأة , والانحسار الكبير للهرمونات الستيرويدية الإنجابية Stroid reproductive hormones وهي علامة لنهاية الخصوبة عند المرأة , وان سن اليأس أو انقطاع الطمث الطبيعي هو نتيجة لقلة إنتاج هرمون الاستروجين والبروجيستيرون من

قبل المبيض Ovaries produce less estrogen & progesterone , حيث أن هذه الهرمونات تنظم الدورة الحوضية لدى المرأة Menstruation .  
 أن صحة المرأة تتأثر بالتطورات الفسلجية والنفسية خلال تقدم العمر وكذلك فإن حياة المرأة متصلة مع الحياة داخل الرحم Intrauterine life أن مرحلة الطفولة Childhood , المراهقة Adolescence , فترة الحيض Menarche , الفترة الانجابية Reproductive life , فترة سن اليأس Menopause transition وما بعد سن اليأس Postmenopause و الشيخوخة Elderly . هذه المراحل هي العمر الافتراضي للمرأة Life span . حيث أن فترة سن اليأس أو انقطاع الطمث هي المرحلة الأكثر ضعفاً وتأثيراً على الصحة (Hickey et al., 2005) .

أن سن اليأس هي التغيرات الطبيعية لدى المرأة والتي تكون من الفترة ما بين حوالي من 45 – 55 سنة . (Ginsburg et al . ,1996) , لذا فإن سن اليأس هي شيخوخة طبيعية وهي مرحلة عبور المرأة من مرحلة الإنجاب إلى سنوات عدم الإنجاب , وهذه المرحلة أيضاً لها أعراضها مثل هبات الحرارة Hot flashes التي تعترى المرأة خلال هذه المرحلة والتي يعتقد بأنها حالة (صرع حركي وعائي) Vasomotor episodes والتعرق البارد Cold Sweating ( Nelson , 2008 ) بالإضافة إلى حالات الأمراض الفسلجية Pathophysiologic conditions مثل فقدان كثافة المعادن في العظم وضعف وجفاف الجلد والتعجيل في فقدان الكولاجين في الجلد وظهور التجاعيد Wrinkling وقلة أو انعدام الرغبة الجنسية Libido وضعف اوفقدان الذاكرة وازدياد معدل أمراض الجهاز الوعائي Cardiovascular وتراجع الفكر المعرفي وارتفاع معدلات الكآبة النفسية Depression وحدثت تغيرات في المزاج Mood مثل القلق والمعاناة الكثيرة وضمور الجهاز البولي التناسلي (Shuster et al . , 2008) Urogenital atrophy

## 3-2 هرمون الاستروجين Estrogen hormone

إن كلمة Oestrogen جاءت في الأصل من الكلمة اليونانية ( oistros ) Greek والتي تعني حرفياً (gadfly) أي النعرة أو العاطفة والرغبة . وكلمة Gen تعني حرفياً منتج (Producer of) (Ryan , 1982) أي أن كلمة استروجين Estrogen معناها المسبب للشياخ أو الهياج الجنسي يكون التركيب البنائي لهرمون الاستروجين بثلاث صور : الشكل الاول (E1) Estrone ويشكل 10-20 % , الشكل الثاني (E2) Estradiol ويشكل 30-

10 % , الشكل الثالث (E3) Estriol ويشكل 60-80 % , ويعتبر الشكل الثاني E2 (Estradiol) هو الاستروجين النشط الرئيسي , ويكون المبيض المسؤول عن إفراز كلاً من E1, E2 بينما ينتج E3 من هدم كلاً من E1, E2 في النساء غير الحوامل ويوجد بتركيز عالي في الإدرار أثناء فترة الحمل (Britt & Findlay, 2002)

يصنع هرمون الاستروجين في كل الفقريات (Vertebrates), وفي بعض الحشرات (Insects) (Mechoulam et al., 2005) وهذا دليل على إن لهذا الهرمون تاريخ تطوري قديم , مثل كل الهرمونات الستيرويدية (Steroid hormones) . ينتشر هرمون الاستروجين بسهولة عبر غشاء الخلية إلى داخلها الخلية حيث يرتبط ويتفاعل مع مستقبل هرمون الاستروجين الذي بدوره يعدل التعبير الجيني للعديد من الجينات (Whitehead & Nussey, 2001) , ورغم كون الاسترايول (E3) هو الأكثر وفرة من هرمون الاستروجين ولكنه الأضعف , في حين أن الاسترايول (E2) هو الأنشط بحوالي 80 x من الاسترايول (E3) وبالتالي هو هرمون الاستروجين (الاسترايول) والأكثر أهمية في الإناث غير الحوامل من مراحل بدء الحيض Menarche حتى مرحلة انقطاع الطمث (سن اليأس) خلال الحياة .

في سن اليأس Postmenopausal يصبح ايسترون Estrone هو الشكل الأساسي لهرمون الاستروجين في الجسم , ويتم إنتاج نوع آخر من هرمون الاستروجين يدعى استيترون Estetrol (E4) والذي ينتج خلال فترة الحمل فقط ويصنع جميع أشكال هرمون الاستروجين المختلفة من الأندروجينات Androgens الأندروستيرويديون Androstenedione بوجود إنزيم الأروماتيز Enzyme aromatase (Fang et al., 2001)

تنتج الاستروجينات في غلاف الخلايا الداخلية Theca interan لجريبات كراف الناضجة في المبيض , وتصنع من تمثيل الأندروجينات في بعض الغدد الصم مثل الغدة الكظرية والمشيمة أثناء الحمل وأماكن أخرى في الجسم , كما يحتوي سائل الجريبات المبيضية (Ovarian follicular fluid) على كميات من الاستروجين الحوامل (غايون وهال, 2004) ويعد المبيض الموقع الرئيس لإنتاج الاستروجين في الأنثى غير الحامل , كما يلاحظ أن المصدر الرئيس لتصنيع الهرمونات الجنسية الثانوية يتمثل في تحويل الخلايا إلى كوليستيرول ثم إلى أندروستيرويديون ليتحول إلى تيستوستيرون وبالتالي يتحول إلى استيرون واستيرادول , كما توجد الاستروجينات في بلازما الدم بصورة حرة أو مرتبطة مع بروتينات البلازما (Meyer et al., 2006; العلوجي, 1989).

ويعد الكبد الموقع الرئيسي لايض الاستروجينات حيث ينتج عن ذلك مركبات خاملة للنشاط الاستروجيني تطرح مع البول , لقد تم تحديد مجموعة من المواد الصناعية والطبيعية التي تمتلك نشاطاً للاستروجين وتشمل: مواد مصنعة من مواد كيميائية صناعية والتي تكون معروفة باسم Xenoestrogens , والنوع الآخر يشمل النباتات التي تحتوي على نشاط الاستروجين وتدعى Phytoestrogens والتي تشمل النباتات البقولية مثل البزاليا والبقلاء وغيرها (غايون وهال , 2004 ) وأما النوع الثالث والذي تنتجه نوع من الفطريات يدعى Mycoestrogens ( Fang et al ., 2001 ) .

### 2-3-1 Biological action of estrogen لهرمون الاستروجين

يرتبط هرمون الاستروجين بواسطة المستقبل الاستروجيني Estrogen- receptor (ER) , وهو بروتين نووي ثنائي Dimeric nuclear protein ثم يرتبط مع الحامض النووي منقوص الاوكسجين (DNA) ويسيطر على عملية التعبير الجيني Gene expression , إن معقد ( بروتين هرمون الاستروجين ومستقبل بروتين هرمون الاستروجين ) يرتبطان على تسلسلات خاصة على شريط الـ DNA ويدعى (عنصر هرمون الاستجابة) Hormone response element وذلك لتفعيل عملية التعبير الجيني , يتم التعبير الجيني للهرمون بأنسجة خاصة تشمل المبيض Ovary والرحم Uterus والثدي Breast .

يوجد الاستروجين في الإناث وبنسب قليلة في الذكور , إذ يكون عند الإناث بمستويات عالية خلال عمر الإنجاب , والذي يكون المحفز لتطوير الصفات الجنسية الثانوية عند الإناث مثل بروز الثدي وسماكة بطانة الرحم (Thickening of the endometrium) و تنظيم الدورة الحيضية (Menstrual cycle) , أما في الذكور فان هرمون الاستروجين ينظم وظائف معينة في الجهاز التناسلي مثل نضوج الحيامن Sperm . (Hess et al. ,1997) وهو عامل ضروري لصحة الذكور من ناحية الرغبة الجنسية ( Libido ) , ( Hill et al. ,2004 ; Ian , 2004 ) ومن الوظائف الأخرى للاستروجين هي الوظائف الهيكلية والتركيبية Structural والتي تشمل التحفيز على تشكيل الصفات الجنسية الثانوية الأنثوية والعمل على زيادة سرعة الايض والذي يسبب زيادة في كميات الدهون التي تترسب بالأنسجة تحت الجلد ويحفز على نمو وتطور بطانة الرحم ويساعد على تزييت المهبل (Vaginal lubrication) ويعمل على صيانة الأوعية الدموية والجلد ويقلل من ارتشاف العظم ( Bone resorption )



و يعمل على زيادة إنتاج الخلايا الكبدية ويزيد من عملية التصاق الصفائح الدموية ويعمل على توازن السوائل بالجسم (Massaro & Massaro , 2004 ;Warnock et al. ,2005) إن هرمون الاستروجين يسبب زيادة في كميات الدهون التي تترسب في الأنسجة تحت الجلد لذلك يصبح الثقل النوعي الكلي في الأنثى أقل من الثقل النوعي لجسم الذكر الذي يحتوي على بروتينات أكثر ودهناً أقل (Mycek et al. , 2000) وكذلك فإن هرمون الاستروجين يسبب زيادة حساسية الخلايا الحبيبية Granulosa cells في المبيض لهرمون المحفز للجريبات (FSH) ويزيد من انقسام الخلايا في الغشاء الطلائي الجرثومي (Germinal epithelium) , وكما يسبب الهرمون في زيادة حركة قناة المبيض (Motility of the oviduct) (Bustamant et al . , 2012) .

## 2- 4هرمونات القند Gonadotropic hormones

إن الدورة التكاثرية للأنثى تخضع في المقام الأول لمجموعتين من الهرمونات والتي تشمل : هرمونات الكوندوتروبين أو ماتسمى ( بموجه الغدد التناسلية ) ومجموعة الهرمونات الستيرويدية وتشمل الهرمونات الموجه للغدد التناسلية على هرمون محفز الجريبات Luteinizing hormones Follicle –stimulating (FSH) وهرمون اللوتيني LH hormone , والذين ينتجان من قبل الغدة النخامية (Pituitary gland) ويطلق أو يفرز في مجرى الدم , إما الهرمونات الستيرويدية التكاثرية تنتج وبشكل كبير في المبيض خلال الدورة الحيضية التي تتكرر كل 28 يوم , حيث يفرز كلاً من الهرمون اللوتيني وهرمون المحفز للجريبات من الفص الأمامي من الغدة النخامية وبنفس النمط , يحفز هرمون محفز الجريبات على إفراز الهرمون المثبط Inhibin والذي بدوره يتحكم بإفراز الهرمون المحفز للجريبات عن طريق آلية التغذية الاسترجاعية Feed back mechanism و يحفز الهرمون اللوتيني على إنتاج الهرمونات الستيرويدية (هرمون الاستراديول Estradiol ) وكما إن الهرمون اللوتيني يكون مسؤول عن إرسال الإيعاز إلى المبايض لإفراز هرمونات أخرى مثل هرمون البروجيستيرون الذي يجهز بطانة الرحم لاستقبال وتغذية الجنين (الجميل, 2002) , ويكون الهرمون اللوتيني في منتصف الدورة الحيضية مسؤولاً عن الإباضة وكما إن إفرازه بشكل مستمر يحفز الجسم الأصفر Corpus luteum لإنتاج البروجيستيرون , كما إن نمو وتطور الجريبات المبيضية يقع تحت تأثير الهرمون المحفز للجريبات بصورة كبيرة , أما إنتاج الاستروجين من هذه الجريبات فيعتمد على كلاً من الهرمون المحفز للجريبات والهرمون

اللوتيني ( العلوجي , 2005 ) , وان معدلات الإفراز لهرموني FSH و LH يكونان عاليان خلال المرحلة الجريبية من خلال مرحلة الجسم الأصفر في دورة التبويض , (Humaidan , 2004)

## 5-2 عمليات إزالة المبايض Ovarectomized

تجري عمليات الإزالة الثنائية للمبايض Bilateral oophorectomy حالياً بمعدل 55 % من جميع النساء في الولايات المتحدة الأمريكية جنباً إلى جنب مع عمليات استئصال الرحم Hysterectomy بحوالي 300.000 عملية إزالة مبايض وقائية سنوياً (Parker , 2010). أن 90 % هي استئصال الأورام الحميدة Benign tumer حيث كان هناك اتجاه متزايد في استئصال التهاب البوق الرحمي والمبييض Salpingo –oophorectomy (SO) من 25 % في عام 1965 إلى 55 % في عام 1999 , 38 % تتم قبل عمر 45 عام , ونسبة 78 % ما بين 45-65 عام (Parker et al ., 2009) إن المبايض لاتموت حتى تموت المرأة بل هو الجهاز الرئيسي للأنبوبة التناسلية Reproductive tract , الذي ينظم ويحمي جسم المرأة من خلال إنتاج الهرمونات الجنسية , وقد وجد بان حوالي 50 % من Androstenedione التي يفرزها المبيض في وقت متأخر يتم تحويلها إلى هرمون الاستروجين في الأنسجة الطرفية , وعوامل كثيرة غير معروفة (Flores et al ., 2008) . أن المضاعفات الملاحظة بعد إجراء عملية إزالة المبايض هي ازدياد في إمراض الجهاز الوعائي Cardiovascular disease والتأثير المعاكس للدهون البروتينية و علامات التجلط Clotting parameters وازدياد علامات هشاشة العظام Increase in osteoporosis وكثرة حدوث حوادث كسور الورك Hip fracture وتراجع في الذاكرة , وتجري عمليات إزالة المبايض لأسباب متعددة قد تكون بسبب أمراض سرطانات المبيض Ovarian cancer (Schwatz , 1992) أو أمراض سرطان الثدي (Parker et al. Breast cancer , 2009) , أو بسبب وجود كيس على المبيض Ovarian cyst أو بسبب أمراض متلازمة المبيض Ovarian remnant syndrome (Parker et al ., 2009) . إن حوالي 20 % من النساء اللواتي تعرضن لانقطاع الطمث الجراحي تظهر عليهن أعراض ارتفاع ضغط الدم Hypertension وتصلب الشرايين Atherosclerosis , ولوحظ بان اللواتي تعرضن لأجراء عملية إزالة المبايض الثنائية قبل سن 45 عام مرتبط مع ارتفاع معدلات الوفيات بسبب أمراض القلب الوعائية (Rivera et al ., 2009) .

وتؤدي عملية استئصال المبايض إلى نقص مستوى تركيز هرمون الاستروجين Hypoestrogen وفقدان الدورة الحوضية وتزداد مستويات هرمونات مغذيات المناسل Pituitary gonadotropins في الدم نتيجة لفقدان آلية التغذية الاسترجاعية السالبة Negative feed back mechanism (Guyton , 2006) . كما إن استئصال المبايض يؤدي إلى فرط نمو النسيج الدهني وزيادة في عامل نمو البشرة Epidermal growth factor (EGF) وتؤدي هذه العوامل دوراً مهماً في حدوث السمنة في الجرذان مستأصلة المبايض (Kurachi et al ., 1993) , لذا فإن عملية استئصال المبايض تكون مشابهة لسن اليأس عند النساء وتمثل الفترة التي تتوقف فيها الدورات الحوضية والتغيرات الرحمية بعمر ما يقارب 55-45 سنة وعند هذه الفترة لاتستجيب المبايض لهرمونات الكونادوتروبينات المفرزة من الغدة النخامية ويقل إفراز هرموني الاستروجين والبروجيسترون , وتزداد نسبة الإصابة بأمراض الشريان التاجي والأوعية الدموية نتيجة لانخفاض مستوى هرمون الاستروجين بشكل خاص (Bray et al , 1999) وبما إن هرمون الاستروجين المعروف بخصائصه المضادة للأكسدة لذا فإن عملية استئصال المبايض تؤدي إلى زيادة الكرب التاكسدي (Sreelathakumari et al ., 1993) .

## 6-2 العلاقة بين هرمون الاستروجين وبعض الأمراض Relationship between estrogen hormone & some diseases

### 1-6-2 أمراض جهاز القلب الوعائي Cardiovascular diseases

أثبتت الدراسات الوبائية Epidemiological studies إلى قلة حالات أمراض القلب الوعائية Cardiovascular diseases وتصلب الشرايين Artherosclerosis وارتفاع ضغط الدم Hypertension وغيرها من أمراض الجهاز الوعائي Cardiovascular system في النساء ما قبل سن اليأس Pre-menopausal women مقارنة مع الرجال الذين هم بنفس العمر (Emslie, 2005) , وبعد بداية مرحلة سن اليأس فإن الاضطرابات القلبية الوعائية Cardiovascular disorders تصبح سبباً بارزاً للموت (Currie & Williams, 2008) , وان ازدياد حوادث مخاطر الجهاز القلبي الوعائي في ما بعد سن اليأس , ربما يتضمن تغيرات في ضغط الدم الشرياني Arterial blood pressure (BP) وتنظيمه الذي يكون مرتبط مع فقدان هرمون الاستروجين على سبيل المثال فإن ارتفاع ضغط الدم الشرياني يرتفع بشكل ملحوظ وتبعاً لمرحلة سن اليأس (Gierach et al ., 2006) .

أن انخفاض مستويات هرمون الاستروجين بعد سن اليأس يؤدي إلى اضطرابات واضحة جداً في القلب والأوعية الدموية , وان القليل المعروف حول تأثير المباشر لهرمون الاستروجين عند نقصه أو انخفاضه على ارتفاع الضغط الشرياني Arterial hypertension , إن التأثيرات المباشرة للمستويات المنخفضة لهرمون لاستروجين على الضغط الشرياني والتنظيم المستقل واضحة Autonomic regulation, قد تم التحقق من تأثير الاستراديول على نظام القلب والأوعية الدموية في عدد من الدراسات السريرية والتجريبية ولوحظ إن هنالك نتائج متضاربة ( Coulter , 2011 ) .

وأكدت إحدى الدراسات بان أمراض الجهاز الوعائي (CVD) هي سبب يؤدي بالنساء بعد سن اليأس إلى الموت وبالأخص في الدول المتقدمة ( Desai et al. ,1999 ) . وهذا دليل على إن حوادث أمراض القلب والأوعية الدموية ذو علاقة وبشكل مباشر مع فقدان تصنيع الاستروجين والذي يوفر الحماية للنظام الوعائي في النساء عند مرحلة سن اليأس أو انقطاع الطمث الجراحي ( Barrett-Connor & Stuenkel ,1999 ) حيث وجد بان العلاجات البديلة التعويضية للاستروجين Oestrogen replacement therapy أو الهرمونات البديلة (HRT) Hormone replacement therapy تكون ذات تأثير جيد على شحوم الدم Blood lipids وتركيزها والحماية كمضادة للأكسدة . ( Joswig et al . ,1999 )

أشارت الدراسات الحديثة بالزيادة الكبيرة في وزن الجسم للجرذان المزالة المبايض مقارنة مع الجرذان التي لم تتعرض لعملية الإزالة وذلك بسبب زيادة صناعة الدهون لديها Lipogenesis أو انخفاض تحلل الدهون Lipolysis أو الاثنان معاً . (Turbino et al . ,2003 ) وكشفت دراسة أخرى بان إزالة المبايض للقوارض Rodents تحفز على فرط الأكل Hyperphagia في القوارض مما يؤدي إلى ارتفاع نسبة الدهون وبالتالي زيادة أوزانها ( Liang et al . ,2002 ) .

إن النقص الحاصل في الهرمونات الجنسية تؤدي إلى التغيرات في عمليات التمثيل الغذائي وثم إلى زيادة في صناعة الدهون و تخزينها في الخلايا الشحمية Adipocytes , وعندما تصل الخلايا الشحمية إلى مرحلة خزن الدهون فان الدهون تصبح متنقلة إلى الخزن في الأحشاء Viscera مثل العضلات الهيكلية Skeletal muscles والقلب Heart والكبد Liver (Freedland , 2004 )

إن الفران مزالة المبايض لوحظ فيها زيادة واضحة في مجموع مستويات الكوليستيرول الكلي وبالأخص ( LDL ) Low density lipoprotine الشحوم البروتينية واطنة الكثافة

وهذا يدل على زيادة وزن الكبد وذلك لزيادة صناعة الكوليستيرول أو تقليل إفراز الدهون LDL من قبل الكبد وهذا يتوافق مع الاكتشافات السابقة حول الزيادة الملحوظة بوزن الكبد بعد إجراء عملية إزالة المبايض (Wang *et al.*, 2004 ; Paquette *et al.* ,2007) , وفي بعض الدراسات لوحظ ازدياد في تصلب الشريان التاجي Coronary artery atherosclerosis وزيادة في فقر القلب Ischemic heart للنساء اللواتي وصلت إلى مرحلة سن اليأس طبيعياً أو جراحياً (Williams , 2007) إذ إن أمراض القلب التاجية هي أمراض غير شائعة عند النساء قبل سن اليأس , وفي معظم الأحيان يعزى إلى الهرمونات الجنسية ذاتية المنشأ Endogenous sex hormones وعلى الرغم من أن تأثيرات العمر وسن اليأس التي من الصعب فصلها فإن هرمون الاستروجين ذو علاقة ايجابية مع الدهون في المصل وقد أظهرت الأبحاث بان الدهون الواطئة الكثافة تكون عالية بالمصل والسبب هو نقص الاستروجين وبالإضافة إلى الكوليستيرول و الدهون الثلاثية أيضا تراكيزها تكون عالية عند النساء بعد سن اليأس (Jensen *et al.* ,1990) وهي العوامل المتعلقة بزيادة خطر أمراض القلب التاجية (CHD) (Ganong , 2001; Pinelli *et al.* , 2004) وقد أشارت عدة دراسات إلى دور الاستروجين في تثبيط تقدم إصابة الأوعية الدموية بالتكلس وذلك عن طريق تحفيز التغيرات الايجابية لايض البروتين الدهني لالتصاق الجزيئات التي تساهم في المضادات للالتهابات Anti inflammatory في الأوعية الدموية (Caulin-Glaser *et al.* ,1996) (Bourassa *et al.* ,1996 ; Walsh *et al.* , 1998) حيث وجدت دراسة حديثة أن استخدام هرمون الاستروجين كعلاج وعلى المدى الطويل Treated with long-term estrogen therapy يؤدي إلى انخفاض في مستويات التكلس الشرياني التاجي Coronary artery calcification (Manson *et al.* , 2007) .

## 2-6-2 هشاشة العظام Osteoporosis

إن هرمون الاستروجين ينظم ايض العظم من خلال حث الخلايا الناقضة للعظم على الاستماتة (حث الموت المبرمج للخلايا الناقضة للعظم) (Nakagawa Apoptosis) (et al . ,2006) , ويعمل على تنظيم التعبير الجيني للخلايا السلفية للعظم Osteoprogenitor cells (Hofbauer *et al.* , 1999) .

إن إزالة المبايض يحفز على تعجيل تدهور الغضروف Cartilage degradation والتآكل عند نقص الاستروجين على الفئران والذي يعجل في تحول الغضروف ويزيد من سرعة تآكل سطح الغضروف (Hoegh –Andersen *et al.* , 2004) بينما نلاحظ بان

هرمون الاستروجن المكمل للعلاج يلعب دوراً مهماً في تأخير تطور هشاشة العظام Osteoporosis في النساء المعرضة للإزالة المبايض (Ren & Deng , 2003). بالإضافة إلى هشاشة العظام فان تكلس الأوعية Vascular calcification هو أول التعقيدات الرئيسية للأمراض القلب الوعائية وعامل خطورة مستقل للاحتشاء عضلة القلب Myocardial infarction وموت عضلة القلب وتبين علاقة التكلس الشرياني Arterial calcification مع هشاشة العظام وخصوصاً في النساء بعد سن اليأس ومرض الزهايمر Parkeus disease (Kiel et al . ,2001 ; Farhat et al . 2006 ).

## 2-7 الحديد Iron

يعد الحديد من العناصر الغذائية الأساسية المهمة لكل الكائنات الحية حيث انه احد المكونات الرئيسية للعديد من البروتينات وله دور مهم في العديد من الفعاليات الكيموحيوية إذ يقوم بوظيفة المرافق الإنزيمي لنقل الأوكسجين في بروتين الهيموكلوبين والمايوكلوبين وكذلك في إنزيمات السلسلة التنفسية وفي بناء الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA (Franchini et al , 2008) . وكذلك فان الحديد ضروري للمايوكلوبين في العضلات Myoglobin وفي الساييتوكرومات Cytochromes والإنزيمات الأخرى وتشمل الأنزيمات المضادة الأكسدة (Keya , 2006 ;Lieu et al., 2001) والحديد ضروري كمفتاح للعمليات البايولوجية والتي تشمل إنتاج خلايا الدم الحمراء وصناعة DNA والتنفس الخلوي (Andrews , 2001 ; Aisen et al . ,2008) إن الكمية الطبيعية في جسم الإنسان البالغ تكون من 35 إلى 45 ملي غرام من الحديد لكل كيلو غرام من وزن الجسم و أن أغلبية الحديد مرتبط مع الهيموغلوبين في خلايا الدم الحمراء والخلايا البلعمية Macrophages في النظام الشبكي Reticuloendothelial system يزود الحديد إلى نواقل البلازما ليتم تسليمها إلى نخاع العظم تقريباً 24 ملي غرام لكل يوم , لصناعة الهيموغلوبين في سلائف خلايا الدم الحمر (Andrews , 1999 ; Wood & Ronnenberg , 2006) وان حوالي 20 % من النساء و 50 % من الحوامل و 3 % من الرجال لايملكون مخازن من الحديد كافية إلى جانب الاختلافات ما بين الكمية من الحديد المتوفرة من الامتصاص وزيادة الطلب من الحديد , أن اغلب النساء في عمر الإنجاب تتعرض إلى نقص الحديد وتتعرض للأنيميا Anemia وان النساء الحوامل تتطلب كثيراً من الحديد بسبب زيادة مطالب النمو وتطور الجنين (Beard , 2000) والحديد الممتص من قبل الإنسان الطبيعي البالغ 1-2 فقط الحديد الموجود في

مكونات الغذاء اليومية والبالغة 15 – 10 ملغم , وتلثي هذه الكمية الممتصة تشترك في عملية تكوين الهيم Heme, أما الثلث المتبقي فهو عبارة عن الحديد غير عضوي , إن كلاً من الحديد العضوي وغير العضوي يمتص في البطانة الطلائية لخلايا (الاثني عشر) ويخزن حوالي - 20 30 % من الحديد في الخلايا الكبدية البلعمية الطلائية الشبكية وبمعدل اكبر ضمن الفترتين ونواتج تحلله التي تعرف بالهيموسدرين Hemosidrin (Andrews , 2000 ; Kohgo et al . , 2008) أما الحديد المتبقي فيخزن مبدئياً في المايكلوبيين والسايتوكرومات والإنزيمات الحاوية على الحديد ( Papanikoan & Pantopoulos , 2005 ) .

### 1-7-2 نقص الحديد Iron Deficiency

إن نقص الحديد معروف بتأثيره على الجسم مثل حدوث التغيرات المختلفة في عملية التمثيل الغذائي وتغيرات في عمل الغدد الصم في الثدييات , وقد أكدت الدراسات السابقة حول تجريب إجراء نقص الحديد على الفئران أدى إلى نفاذ الحديد الموجود في المايكوكوندريا ونفاذ حديد العضلات الإرادية Voluntary muscles والذي يكون مرتبط مع انخفاض قابلية تحلل السكر الهوائي حتى يحد من العمل المنجز للجسم (Ohira & Gill , 1983) إن نقص الحديد يؤدي إلى ارتفاع الكاتيكو لامينيز Catecholamines (Dillmann et al . , 1979) و اضطرابات في إفرازات هرمون الغدة الدرقية و اضطرابات في ايض الدماغ (Beard , 2003)

### 2-7-2 فرط الحديد Iron Overload

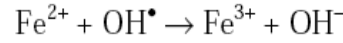
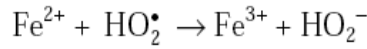
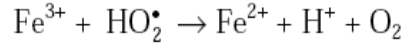
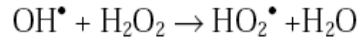
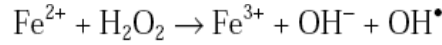
أشارت العديد من الدراسات بان فرط الحديد يؤثر وبشكل اكبر من نقص الحديد على الجسم . (Liehr & Jones , 2001 ; Fleming et al . , 2001; Milman et al . , 2003) رغم كون الحديد ضروري كالمغذيات الدقيقة Micronutrient ويلعب دور مهماً في مختلف الوظائف الفسلجية والتي تشمل نقل الأوكسجين ونقل الالكترونات وإنتاج الطاقة وصناعة الـ DNA ( Ponka et al . , 1998 ) إلا أن زيادته تكون سامة للجسم وذلك بسبب التأثيرات الضارة لجذور الأوكسجين الفعالة مثل جذر الهيدروكسيل الناتج من تفاعلات الفنتون , إذ يمتلك جذر الهيدروكسيل الفعال القدرة للحث على موت الخلايا من خلال بدء سلسلة من التفاعلات الكيميائية التي تشترك فيها العديد من الجزيئات الحيوية المهمة مما يؤدي إلى أكسدة الحامض النووي منقوص الأوكسجين وتحطم المايكوكوندريا وأكسدة الدهون

Per oxidation (Barham *et al.* , 2004) أن ازدياد ايونات الحديد الحرة لها القدرة على التفاعل مع الدهون غير مشبعة مكونة جذر البيروكسيل Peroxyl والكوكسيل Alkoxy (Lieu *et al.* , 2001) . وقد ينتج فرط الحديد من زيادة امتصاص الحديد الغذائي أو من خلال اخذ الحديد بشكل علاج أو عمليات نقل الدم أو من جميع هذه العوامل , وبصورة عامة فان زيادة جرعات الحديد العلاجية لا تؤدي إلى فرط الحديد ما لم يمتص الحديد بكميات كبيرة أو يرافقه عيب وراثي مرتبط مع زيادة امتصاص الحديد (Hentze *et al.* , 2004)

إن التأثير الضار للجذور الحرة هو إنتاجها للجذور الأوكسجين النشطة (ROS) Reactive oxygen species والتي تشمل السوبر اوكسايد انيون Super oxide anion (O<sup>2-</sup>) الجذر الحر وجذر الهيدركسيل Hydroxyl radical (OH<sup>·</sup>) وبروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) هذه الجذور تساهم في الإشعاع ويشمل السامة للخلايا Cytotoxicity مثل (أكسدة البروتين Protein oxidation , انحراف الكروموسوم , Chromosome aberration , إصابة العضلات والتغيرات المورفولوجية والايضية مثل ازدياد تحلل بروتينات العضلات , التغيرات في نظام الجهاز العصبي المركزي في الحيوانات والإنسان خلال التعرض لها (George *et al.* , 2001) وقد تم اكتشاف الوظيفة التحفيزية بالنسبة للسوبر اوكسيد الفائق (SOD) عام (McCord , 1969) وان هذه الجذور الخطرة تلعب دوراً مهماً في الأمراض مثل أمراض السرطانات Cancer وتصلب الشرايين Atherosclerosis والجلطة Stroke وتحطيم الخلايا العصبية والشيخوخة وأمراض القلب (Ferrari , 2000) وحالات العقم (Aitken & Baker , 2004) وأمراض السكر Diabetes (Gilbert , 2000) .

تتأكسد المواد والمركبات العضوية بواسطة الحديد وبيروكسيد الهيدروجين يدعى بـ (Fenton chemistry) وقد وصف أول مرة من قبل Fenton من خلال أكسدة Tartaric acid بواسطة H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> بمشاركة ايونات الحديد Ferrous (Dunford , 2002) بدلاً من ذلك يدعى تفاعل فنتون او Fenton reaction و يعرف بأنه خليط من بروكسيد الهيدروجين والحديد الثنائي . ويعتبر احد اغلب الطرق المؤثرة في أكسدة المكونات العضوية , وتحدث التأثيرات السمية للحديد كونه يحفز تكوين جذور الأوكسجين الفعالة (ROS) وبالتالي تكوين جذور الهايدروكسيل (O·H) والتي تنتج بواسطة تفاعلات فنتن Fentin أو معادلة – Haber Weiss وكما يلي :-





تتم القدرة التحفيزية للحديد في نشاطه التأكسدي والذي يستطيع التحول بين شكلين مستقرين ، الحديدوز  $\text{Fe}^{2+}$  ، الحديدك  $\text{Fe}^{3+}$  والذي يسمح له كواهب أو مستقبل للإلكترونون (Lieu *et al* , 2001) . وهذه التفاعلات يمكن أن تؤدي إلى موت الخلايا والتي تبدأ بسلسلة من التفاعلات الكيميائية مع العديد من الجزيئات الحيوية المهمة مؤدياً إلى أكسدة الـ DNA ودهون الأغشية الخلوية ( Bergeron *et al* . , 2003) ، بالإضافة إلى زيادة الحديد الحر والذي يستطيع التفاعل مع الدهون غير مشبعة لينتج جذور alkoxyl (RO-) و (ROO-) و peroxy . وهذه التفاعلات تؤدي إلى ضعف في الوظائف الخلوية ومن ثم تضرر الأنسجة أو الأعضاء والتي تكون واضحة في أمراض حمل الحديد (Lieu *et al* . , 2001 ; Wong & Richardson , 2003) .

إن هنالك علاقة وثيقة بين المانولديهايد وكثافة عمليات الأكسدة ، لذلك فإن المانولديهايد وكما اثبت بالتجارب والبحوث هو الحساس للبداءى من عمليات بيروكسيد الهيدروجن وتسهيل تحويلها إلى جذور الهيدروكسيالات والذي يكون النقطة الأساسية أو البادئة لأكسدة الدهون (Lesnefsky , 1994) .

### 3-7-2 فرط الحديد وعلاقته ببعض الأمراض Relationship between overload iron & other diseases

إن تفاعلات الأكسدة والنتيجة من فرط الحديد تؤدي إلى ضعف الوظائف الخلوية وتحطم الخلايا والأنسجة والأعضاء ومثل هذه التغيرات تكون واضحة في أمراض فرط الدم مثل الثلاسيميا  $\beta$  - Thalassemia ومتلازمة فرديريك Feriedreich ataxis لذلك فإن محتوى حديد الجسم يكون منظم بإحكام عن طريق بروتينات متخصصة التي تقوم بنقل وخرن الحديد بشكل ذائب وغير سام (Lieu *et al* , 2001) .

إن تكرار نقل الدم في المرضى المصابين بالأنيميا المزمنة يؤدي إلى فرط الحديد في عدة أعضاء مختلفة بالجسم وبالأخص عضلة القلب , مثل فرط الحديد بالقلب المزمن Chronic cardiac iron overload والذي يسبب فشل القلب الانقباضي وفشل وظيفة الانبساط والذي يسبب الوفاة في النهاية في بعض المرضى متكرري نقل الدم ( Kremastions ,2008 ) , وأيضا يسبب فرط الحديد المزمن التليف الكبدي Liver fibrosis بسبب زيادة بناء الكولاجين ( Ramm et al . ,1997 ) إلى أن زيادة التعبير الجيني للكولاجين التي تتطور إلى التليف الكبدي والتي تكون بسبب الحديد الفائض بالإضافة إلى أنها تسبب ضعف في الجهاز المناعي فقد وجد أن الحديد الغير المرتبط بالترانسفيرين والفرتين يثبط تمايز الخلايا للمفاوية ( Geisser , 2007 ) وقد أظهرت أبحاث متعددة حول تأثير الحديد على توليد أمراض سرطانية Carcinogenicity في حيوانات التجارب ( Huang , 2003; Liehr & Jones ,2001 ) وان ارتفاع مستويات الحديد مرتبط مع زيادة مخاطر عدة أمراض سرطانية في الإنسان ( Herrinton et al . , 1995 )

## 8-2 القلب Heart

القلب هو عضو عضلي مخروطي الشكل قاعدته Base إلى الأعلى وقمته Apex إلى الأسفل , يتكون القلب في الثدييات من أربعة تجاويف هي الأذنان Atria الأيمن والأيسر يفصل بينهما حاجز يدعى بالحاجز بين الأذني Interatrial septum والبطينان Ventricles الأيمن والأيسر يفصل بينهما حاجز يسمى بالحاجز البطيني Interventricular septum ويفصل الأذنين عن البطينين حاجز أذيني بطيني Atrioventricular septum ويكون هذا الحاجز دائري الشكل مكوناً من نسيج ليفي Fibrous tissue ولكون هذا الحاجز من النسيج الليفي فان له أهمية فسلجية كبيرة جداً (Craty, 2002).

## 9-2 مخطط القلب الكهربائي Electrocardiography

أن جهاز تخطيط القلب الكهربائي Electrocardiogram هو مسجل للفعالية الكهربائية المتولدة من القلب عبر سطح الجسم , ولوحظ أول مرة من قبل (والر) Waller في عام 1889 (Waller , 1889) واستخدم الحيوانات الأليفة لذلك عن طريق لدغ الحيوانات كهربائياً كمصدر للإشارة الكهربائية وقياسها , وفي عام 1903 جاء انتوفن (Einthoven , 1903) وطور هذه التكنولوجيا بواسطة استخدام سلسلة الكلفانوميتر Galvanometer كجهاز تسجيل واستخدمه على الإنسان لمجموعة من أمراض التشوهات القلبية Cadiac abnormalities , أن انتوفن هو المسؤول الرئيسي عن إدخال بعض المفاهيم التي لاتزال تستخدم حتى اليوم , بما في ذلك وضع العلامات على موجات القلب المختلفة , وتحديد بعض المواقع للتسجيل القياسي لكهربائية عضلة القلب على سطح الجسم من خلال استخدام مواقع الذراعين والساقين .

إن جهاز التخطيط الكهربائي للقلب Electrocardiograph (ECG) أو (EKG) Elektrokardiogram هو جهاز يترجم الفعالية الكهربائية للقلب عبر الصدر والإطراف خلال فترة معينة وتكشف بواسطة أقطاب كهربائية مثبتة على السطح الخارجي للجلد ويسجل بواسطة جهاز خاص للموجات الكهربائية للقلب خارج الجسم , وان جهاز المخطط لكهربائية القلب يستخدم لقياس معدل ضربات القلب بالإضافة إلى حجم وموقع (حجيرة القلب) Chambers التي فيها الخلل إن وجد في عضلة القلب وتأثيرات الأدوية على عضلات القلب تظهر من خلال هذا الجهاز وكذلك من خلال منظم الخطى للقلب (Pacemaker) .

إن جهاز التخطيط الكهربائي للقلب يستعمل لتشخيص أمراض القلب للإنسان مثل تشخيص اضطرابات النظم البطيني Ventricular Arrhythmia التي تحدث في البطين الأيمن Right ventricular وأمراض أخرى , و يستفاد من عرض البيانات الورقية لمخطط القلب الكهربائي ECG في مساعدة الطبيب في تشخيص أمراض التسارع فوق البطيني الانتيابي (paroxysmal supraventricular tachycardias (SVTs) وغيرها من أمراض عضلة القلب والاستدلال عليها بكل سهولة وبنسبة من الدقة من تلك المعلومات واتخاذ القرارات العلاجية المناسبة (Zipes , 2000) , وكذلك يستخدم للحيوانات عند إجراء التجارب مثلما قام Dirici وجماعته في قياس المخطط الكهربائي لعضلة القلب ECG في إناث الأرانب (Dirici et al . , 1996) , وكما قام Hamed وجماعته باستخدام مخطط القلب الكهربائي في قياس موجات القلب الكهربائية للفئران (Hamed ,2010) .

أن جهاز ECG يكشف ويضعف النغمة أو الإيقاعات الكهربائية وتغيراتها عبر الجسم من خلال الجلد وذلك بسبب إزالة الاستقطاب Depolarization من خلايا عضلة القلب خلال كل ضربة وعند عودة الاستقطاب Repolarization (Berbari ,2000) .

إن ECG هو عبارة عن مقياس لكيفية تغير الكهربائية بين نقطتين على سطح الجسم خلال زمن معين نتيجة للإحداث الكهربائية للدورة القلبية حيث أن الجهد الكهربائي المتولد بفعل الإحداث الكهربائية للقلب يصل إلى أنسجة الجسم وبالإمكان قياسه بوضع موصلات كهربائية على سطح الجسم وفي أي لحظة يتم اخذ الـ ECG فإنه يمثل الفعالية الكهربائية لخلايا العضلة القلبية في حالة إزالة استقطاب Repolarzation أو عودة استقطاب Depolarization وفي وقت واحد نلاحظ كهربائية عالية للـ ECG . وبما إن النظمية الكهربائية تنتشر عبر أنسجة القلب بشكل تدريجي ومنسق نجد أن التغيرات في الكهربائية بين النقطتين لسطح الجسم يكون أيضاً تدريجي ومنسق ويكرر نفسه في كل دورة قلبية (Hamilton ,2002) .

عندما تمر الموجة الكهربائية خلال القلب تنتشر منه تيارات كهربائية إلى الأنسجة المحيطة به وتنتشر بنسبة صغيرة من هذه التيارات إلى سطح الجسم فإذا وضعت مسارات كهربائية مقابل جوانب القلب لتسجيل التغيرات الكهربائية التي تولد هذه التيارات باستخدام جهاز مخطط القلب الكهربائي (غاتيون وهال , 2004) .

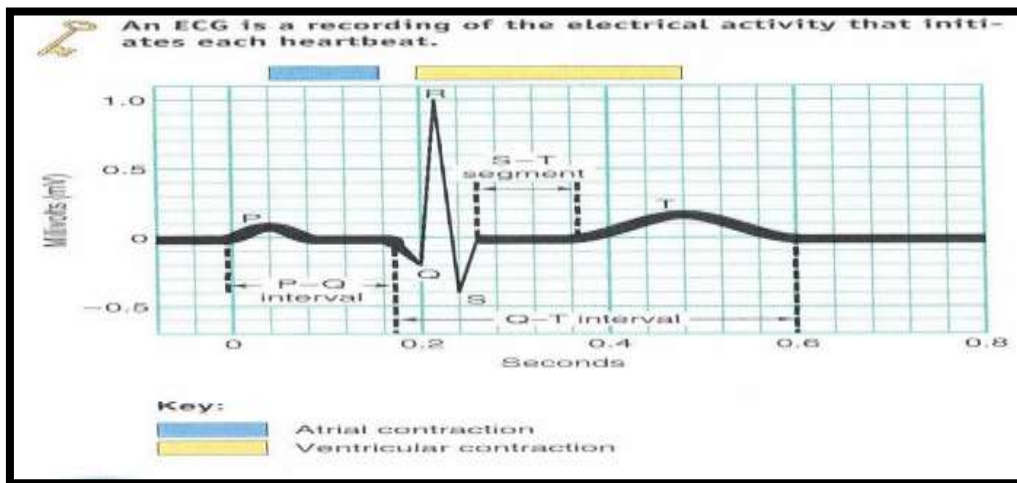
يتكون مخطط القلب الكهربائي من موجة (P wave) التي ترمز للجهد الكهربائي الحاصل خلال تقلص عضلات الأذنين من تولد إزالة استقطاب لخلايا عضلات الأذنين Depolarization , و الموجة لمعقد (QRS Complex) الذي يتسبب بالجهود التي تتولد عند

زوال استقطاب البطينين , وموجة ( T wave ) التي تتسبب بالجهود التي تتولد عند عودة الاستقطاب للبطينين Repolarization.

يكون الربط عادة بشكليين , الشكل الأول بعشرة أقطاب كهربائية والشكل الثاني يكون بثلاثة أقطاب و القطب الرابع يعتبر موصل ارضي , ويقراء بشكل أزواج اليد اليسرى Left arm (LA ) واليد اليمنى Right arm ( RA ) ويدعى بـ Lead I و اليد اليمنى Right arm (LA ) والرجل اليسرى Left leg (LL) ويدعى بـ Lead II والرجل اليسرى Left leg (LL ) والرجل اليمنى Right arm (RL ) ويعتبر موصل ارضي واليد اليسرى Left arm (LA) مع الرجل اليسرى Left leg (LL) والذي يعتبر القطب الثالث ويدعى بـ Lead III وهذا الشكل الثاني من الربط بمثلث انتوفن Einthoven's Triangle (Braunwald , 1997) .

إن القاعدة الأساسية للـ ECG تعتمد على أن التنبيه الكهربائي للخلية العضلية القلبية يسبب زوال استقطاب غشاء الخلية , ينتشر زوال الاستقطاب على طول الليف العضلي ثم إلى الألياف العضلية المجاورة مما ينتج عنه موجة متقدمة لزوال الاستقطاب تعبر العضلة القلبية وتشكل تياراً كهربائياً قابلاً للقياس بواسطة مسار على سطح الجسم , تضخم وتعرض على شكل مخطط قلب كهربائي ( Hampton , 2003 ) .

أن أمكانية عمل القلب يختلف عن أمكانية عمل الخلايا العصبية من خلال وجود هضبة الموسعة Extended plateau التي يحتجز فيها الغشاء على الجهد العالي للحصول على بضع مئات من ملي ثانية قبل أن تصبح Repolarized بواسطة تيار ايونات البوتاسيوم على النحو المعتاد ( Kleber & Rudy , 2004 ) وهذه الهضبة تسبب بطأ في فتح قنوات الكالسيوم وعقد جهد في الغشاء التي تحقق لها التوازن حتى بعد إغلاق قنوات الصوديوم



شكل (1-2) الرسم البياني لمخطط القلب الكهربائي Electrocardiograph ( Hampton , 2003 ) .

إن جهد الفعل في خلايا عضلة القلب يلعب دوراً مهماً في تنسيق تقلص القلب ويتم تنظيم ضربات القلب من خلال منظم الخطى (Pacemaker potential) الموجود في خلايا القلب في العقدة الجيبية الأذينية, وينتشر الجهد الكهربائي إلى خلايا القلب في البطين من خلال العقدة الأذينية البطينية (AV) Atrioventricular node والذي عادة يكون مسار التوصيل بين الأذنين والبطينين وعندها ينتقل جهد الفعل خلال حزمة هس Bundle of His ومن ثم إلى ألياف بركنجي العصبية Purkinje fibers, وعلى العكس من ذلك في بعض الحالات المرضية الشاذة في عمل القلب المحتملة سواء كانت أو قد تكون أمراض طفرة Mutation أو عيب خلقي Congenital والتي تؤدي إلى عدم انتظام ضربات القلب Aerrhythmia (Kleber & Rudy, 2004; Newmark, 2007) وهناك أسباب متعددة تؤدي إلى عدم انتظام ضربات القلب مثل بعض الأدوية المضادة للنظمية والتي تعمل على جهد الفعل لخلايا عضلة القلب مثل عقارات Quinidine, lidocaine, beta blockers and verapamil (Tamargo et al., 2004).

أن مصطلح تسارع القلب (Tachycardia) يستخدم لوصف النبض القلبي عندما يتجاوز 100 ضربة في الدقيقة, ومصطلح تباطؤ القلب (Brachycardia) لوصف النبض القلبي عندما يكون أقل من 60 ضربة بالدقيقة, ومصطلح النظم الجيبية Sinus rhythm لوصف النظم الناشئ في العقد الجيبية الأذينية والمنتشر إلى البطينات, ومصطلح اللانظمية الجيبية Sinus arrhythmia فهو التبدل في النبض القلبي مابين الشهيق والزفير (Kats, 1993).

أشارت دراسة حديثة إلى العلاقة بين مستويات الهرمونات الستيرويدية الجنسية Serum sex steroid levels و معدل ضربات القلب المتباينة Heart rate variability parameters في الذكور مع تأثير العمر (Dogru et al., 2006) كما أشارت دراسة على مجموعة من الأرناب حدوث تغيرات في أطوال موجات ECG نتيجة التعرض لـ Hypercholesterlemia وحقن مادة Isoproterenol وبيان الدور الوقائي للارجنين L-arginine حيث بينت نتائج هذه الدراسة حدوث زيادة في طول QT interval في مجموعة الحيوانات المعرضة لـ Hypercholesterlemia الناتجة من تناول غذاء عالي الكوليستيرول ولمدة 16 أسبوع, وبينما في مجموعة الحيوانات التي تناولت غذاء عالي الكوليستيرول مع تجريع الارجنين فقد لوحظ حدوث زيادة في طول QT لكن هذه الزيادة كانت أقل من الزيادة الحاصلة في المجموعة التي لم تجرع الارجنين (Kumar, et al.).

(2009). بينما في دراسة أخرى لوحظ تأثير الأرجنين L-Arginine على تغيير الموجات القلبية (QT, QRS) للحيوانات التي تعاني من حالة Hypercholesterolemia (فرط كوليستيرول الدم) الناتجة من لذاء عالي الكوليستيرول وأيضا تأثير العقار المستخدم في توسيع القصبات والمنبه لعضلة القلب Isoproterenol في الأرانب (Kumar *et al.* ,2009) كما أشارت دراسة حديثة أخرى إلى دور الفلافونيدات المعزولة من بذور الحبة السوداء في التقليل من تأثير بيرو كسيد الهيدروجين على المخطط الكهربائي للعضلة القلبية في الموجات الكهربائية P-R interval و الموجة الدالة على انبساط البطين T wave في ذكور الأرانب البالغة (العقيلي, 2009).

إن تأثير خزن الحديد المفرط في موجات القلب الكهربائية أدت إلى تشتت QTc interval في المرضى الذين يعانون من غسيل الكلى المتكرر Hemodialysis إذ أظهرت سبب عدم تجانس عودة استقطاب البطيني Heterogeneity of cardiac repolarization (Dervisoglu *et al.* , 2007) وفي دراسة أخرى عرضت مجموعة من الأرانب لفرط الميثيونين وبجرعة 100 ملغم/كغم أدت إلى حصول حالة تباطيء في ضربات القلب Bradycardiac وزيادة في أطوال موجة QT وموجة QRS. (الكناني, 2010).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

**Materials and Methodes**



## المواد وطرائق العمل

## Materials and Methodes

## 1-3 المواد Materials

## 1-1-3 الأجهزة

جدول (3 - 1) الأجهزة والأدوات المستخدمة حسب المنشأ والشركة

الشركة	المنشأ	الجهاز	التسلسل
Nunclon	Denmark	أدوات بلاستيكية مختلفة الأحجام	1
Gold star	Jordan	أنابيب مائعة التخثر EDTA tube	2
Gold star	Jordan	أنابيب غير حاوية على مادة مائعة للتخثر	3
Hermile	Germany	جهاز الطرد المركزي Centerfuge	4
Heraeus Christ	Germany	جهاز الطرد المركزي لمكدهاس الدم Hematocrit Centerfuge	5
Hettich	Germany	جهاز الطرد المركزي المبرد Cooling centrifuge	6
Promega	U S A	جهاز تجانس الأنسجة Homognizer	7
GFL	Germany	جهاز تسخي مختبري Bidstilliter	8
Hirayama	Japan	جهاز تعقيم Auto clave	9
Cleaver Scientific	UK	جهاز الترحيل الكهربائي Electrophoresis	10
Heidolph	Germany	جهاز Thermocycloer	11
Cleaver Scientific	UK	جهاز التصوير Photodocumantation	12

Cleaver Scientific	UK	UV transilluminator جهاز قياس التالىق بالأشعة فوق البنفسجية	13
Marqutte cardio Serv	German	جهاز التخطيط الكهربائي Electrocardiograph	14
BioNeer	Korea	جهاز تضخيم الأحماض النووية Polymerase chain reaction PCR	15
Thalhemet	German	جهاز التبريد Fraser cooling	16
Daihan Labtech	Korea	حاضنة رقمية Digital Incubator	17
Daihan Labtech	Korea	حمام مائي Digital Water Bath	18
Labtech	China	حاضنة مجهزة بالأشعة فوق البنفسجية UV Hood	19
Medical Ject	S.A.R.	حقن لاستعمال واحد Disposable Syringes	20
Volac	England	زجاجيات مقاومة للحرارة Pyrex	21
China MHECO	China	شرائح زجاجية Slides	22
Heidolph	Germany	صفحة ساخنة Hot Plate	23
S.I.E.	Pakistan	عدة تشريح Dissecting Set	24
Sony	Korea	كاميرا رقمية Digital Incubator	25
Unico ,TM.	U.S.A.	مايكروتوم دوار Rotary Microtome	26
Hettich	Germany	مجهز ضوئي Light Microscope	27
Clever Scientific	UK.	موازن حراري Gic Thermocycler	28
Denver	U.S.A.	ميزان حساس Sensitive Scale	29

Consort	UK.	Power Supply مجهز قدرة كهربائية	30
Bioneer	Korea	Exispin	31

### 2-1-3 المواد الكيميائية Chemical Materiales

جدول ( 2-3 ) المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة .

الشركة	المنشأ	المادة	التسلسل
BioBasic	Canada	BEBUFFER المحلول الدارئ	1
Fenaudin	France	Iron Dextran دكستران الحديد	2
BDH	England	Xylene زايلين	3
Merck	German	Paraffin Wax شمع البرافين	4
BDH	England	Giemsa Stain صبغة كمزا	5
BDH	England	Hemotoxyline & صبغة هيماوكسين والايوسين Eosin	6
Atlas	U.S.A.	عدة تقدير الكوليستيرول والدهون الثلاثية و الكوليسترول في الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C TG Kit	7
Biomaghreb	German	Free Iron عدة تقدير الحديد الحر	8
Promega	Korea	DNA عدة قياس استخلاص الـ	9
Veda Lab Veda	German	FSH ,LH , Estrogen Kit عدة تقدير الهرمونات	10
Dutch Farm	German	Ampicillin 20 % W.S.P. عقار الامبسلين	11
CEVA	France	sodium sulfadimidine عقار سلفات الصوديوم	12
Geneaid	USA	Genomic DNA Mini Kit ( Tissue ) PCR عدة	13
Spectrum	France	Lactate عدة قياس إنزيم اللاكتيت ديهيدروينيز dehydrogenase Kit	14
BDH	England	Chloroform كلوروفوم	15
BDH	England	Canada balsam كندا بلسم	16
BDH	England	Ethyl Alcohol كحول اثيلي	17
Tekam	Jodan	Ketamine ( 50 mg / ml ) مخدر الكيتامين	18
BioBasic	Canada	EDTA مسحوق الاكاروز مادة	19

### 2-3 الحيوانات المستخدمة في الدراسة Experimental animals

استخدمت في هذه الدراسة 20 من إناث الأرانب المحلية يتراوح معدل أوزانها ما بين (1500 – 2000) غرام و تراوحت أعمارها بين (8-9) أشهر , وضعت في أقفاص معدة لهذا الغرض في البيت الحيواني التابع لكلية العلوم / جامعة بابل , وتم توفير الماء والغذاء بصورة حرة وجرعت علاجاً للتأكد من خلوها من الأمراض المختلفة , آذ جرعت فموياً 0.5 ملغم من (Sodium -Sulfadimidine) في 1 لتر من الماء ولمدة 5 أيام متتالية , و 0.5 ملغم من (Ampicillin 20 % W.S.P.) في 1 لتر من الماء ولمدة 5 أيام متتالية وتركت الحيوانات للتأقلم لمدة شهر .

### 3-3 تصميم التجربة

قسمت 20 من إناث الأرانب عشوائياً وبصورة متساوية على أربع مجاميع ( خمسة لكل مجموعة ) طيلة مدة التجربة وقد اتبعت طريقة الحقن حسب (Dabbagh et al . ,1997) وكانت المجاميع :-

1 - مجموعة السيطرة G1 وعولمت ( 0.5) مل بالحقن العضلي من المحلول الفسلجي بالتدرج التصاعدي في الأسبوع الأول مرة والأسبوع الثاني مرتان والأسبوع الثالث ثلاث مرات والأسبوع الرابع أربع مرات .

2- المجموعة الثانية G2 وعولمت بإزالة المبايض الثنائية فقط Bilateral oophorectomy , لقد تمت العملية تحت ظروف جراحية معقمة إذ تم تخدير الحيوانات باستخدام مزيج من الكيتامين -زيبلازين (40 ملغم /كغم +5 ملغم /كغم من وزن الجسم ) . وضع الحيوان في وضع الاستلقاء الظهرى . جرى تحضير بطن الحيوان للعملية الجراحية , عمل شق جراحي في الجلد بطول 4 سم يمتد من السرة باتجاه الخلف , ثم يزداد الشق ليشمل الغلالة البيضاء والبريتون بعد دفع الأعور جانبا ليبدو الرحم وبعد متابعة الرحم إلى الأعلى من جهة اليسار يمكن الوصول إلى المبيض الأيسر .

يوضع ربطتان حول الشرايين المبيضية أعلى المبيض في مساريق المبيض وربطتان أخرى أسفل المبيض في الرباط الحقيقي باستخدام خيط قصابة Catgut حجم 0/4 ثم يقطع بين رباطين ثم قطع الرباط المعلق للمبيض لتحرير المبيض .

بعدها يتم فحص الجذعة المتبقية للأوعية الدموية للتأكد من عدم وجود النزف , ثم يتم ربط الخيوط مع بعضها وتعاد العملية على المبيض الأيمن , ثم يتم غلق جدار البطن بالخياطة المستمرة بخيط

القصابة 0/4 وغلق الجلد بالغرز المتقطعة بخيوط الحرير 0/4. جرى إزالة الخيط بعد مرور 10 أيام (Bojrab , 1998) شكل (1-3) .



شكل (1-3) تبين إجراء عملية إزالة المبايض في الأرانب

3 – المجموعة الثالثة **G3** وعولمت بإزالة المبايض الثنائية **Bilateral oophorectomy** , وعولمت بـ 20 ملغم /كغم بالحقن العضلي لدكستران الحديد وبجرع تصاعديّة.  
4- المجموعة الرابعة **G4** وعولمت فقط بالحقن العضلي للحديد وبشكل تصاعدي وبدون إزالة مبايض

تم سحب الدم بعد تجويع الحيوانات طول الليل في فترة ما قبل وبعد ثلاثة أشهر من المعاملة لقياس المعايير التالية:-

1 – أعداد خلايا الدم الحمر **RBC** وحجم مكدهاس الدم **PCV** وتركيز الهيموغلوبين **Hb** وأعداد خلايا الدم البيض الكلية **WBC** وقياس بعض المعايير القياسية الدموية مثل معدل حجم كرية الدم الحمراء (**MCV**) ومعدل محتوى هيموغلوبين كرية الدم الحمراء (**MCH**) .  
2- قياس مستوى تركيز الدهون الثلاثية (**TAG**) و (**TC**) ومستوى تركيز الدهون البروتينية عالية الكثافة (**HDL-C**) ومستوى تركيز الدهون البروتينية واطنة الكثافة (**LDL-C**) ومستوى تركيز الدهون البروتينية واطنة الكثافة جداً (**VLDL-C**) .

3- قياس تركيز الحديد الحر **Free Iron** .

4- قياس مستوى تركيز المالدوندايلديهايد **MDA** .

5- قياس مستوى تركيز الكلوتاثيون **GSH** .

- 6 - قياس تركيز الهرمونات مثل الاستروجين (E2) Estrogen hormone وهرمون محفز الجريبات (FSH) وهرمون اللوتيني (LH) .
- 7 - قياس تركيز أنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز LDH
- 8 - قياس موجات القلب الكهربائية بواسطة جهاز تخطيط القلب الكهربائي (ECG) Electrocardiograph مع تحويل الأقطاب المعدنية للجهاز.
- 9 - استخلاص الحامض النووي DNA وتضخيم قطع الـ DNA بواسطة Polymerase Chain Reaction (PCR) ومن ثم إجراء الترحيل الكهربائي في هلام الاكاروز للـ DNA والبراميرات .
- 10- اخذ مقاطع نسيجية صغيرة من القلب والكبد وحفظت في محلول ( الفورمالين ) لغرض عمل التقطيع النسيجي .

### 4-3 سحب الدم

تم سحب الدم بعد تجويع الحيوانات طول الليل وذلك قبل إجراء المعاملة pretreated وبعد ثلاثة أشهر تم سحب 2 مل من الدم من الأذن ووضعت في أنابيب حاوية على مادة مانعة للتخثر لإجراء الفحوصات الدموية وسحب 7 مل من الدم من القلب مباشرة heart (puncture) , وقد استخدمت محاقن طبية معقمة سعة 15 مل , وضع الدم بعد ذلك في أنابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة لقياس بعض المعايير الكيموحيوية وبعض المعايير الفسلجية وقد تم حفظ الأمصال في ثلاجة Refrigerator في درجة حرارة 4°C .

### 5-3 الفحوصات الدموية

#### 1-5-3 تقدير أعداد كريات الدم الحمر ( RBC ) Red blood cell count

يخفف الدم بمحلول Formal citrate المتكون من 1 % فورمالين في 38 غم /لتر من ثلاثي سترات الصوديوم Tri- sodium citrate ويتم ذلك بإضافة 20 مايكروايتز من الدم إلى 0.4 سم<sup>3</sup> من محلول Formal citrate ثم يحرك الدم المخفف بتحريك الأنبوب تحريك ميكانيكي , بعد ذلك يملأ جهاز العد counting chamber بالدم المخفف باستخدام Pasteur pipette ثم يفحص بالعدسة العينية تحت القوة 40x و 10x باستخدام المجهر الضوئي (Dacie & Lewis ,1995 )

### 2-5-3 قياس مستوى تركيز الهيموكلوبين Hemoglobin determination (Hb )

تم قياس الهيموكلوبين بقسمة حجم خلايا الدم المضغوطة على 3.3 بوصف إن الهيموكلوبين يمثل 3/1 حجم كريات الدم الحمراء وحسب القانون التالي ( Rodac , 2002 ) :-

$$\text{Hb} = \frac{\text{PCV (value)}}{3.3} = \text{g / 100ml}$$

### 3-5-3 تقدير معدل حجم مكداس الدم Packed Cell volume determination

استخدمت أنابيب شعيرية hapranized tube حاوية على مادة مانعة للتخثر إذ تم ملء ثلاثة أرباع الأنبوب الشعيري بالدم وسدت إحدى نهايات الأنبوب الشعيري بمادة خاتمة ثم وضعت هذه الأنابيب في جهاز الطرد المركزي الخاص بها Micro -Hematocrite centerfuge لمدة 5 دقائق بسرعة 5000 دورة / دقيقة , بعد ذلك يقرأ الأنبوب الشعيري في مقراء الراسب الدموي Hematocrit reader (Hillman & Ault , 2002 ) .

### 4-5-3 العد الكلي لخلايا الدم البيض Total White Blood Cell count (W.B.C.)

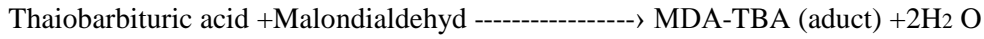
تم حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض وكذلك باستخدام شريحة عد الكريات Haemocytometer من نوع Improved Neubauer حسب ما ورد في (Dacie & Lewis , 1995 )

### 5-3 الفحوصات الكيموحيوية

#### 1-5-3 تقدير تركيز المالوندايالديهيد (MDA) Malondialdehyde في

##### مصل الدم

تم قياس المالوندايالديهيد بطريقة حامض الثايوباربيتورك (TBA). حيث تم إضافة 1 مل من مصلى الدم الى 3 مل من 1 % حامض الفوسفوريك و 1 مل من 0.6 % حامض الثايوباربيتورك (TBA) و 0.15 مل من هيدروكسي بيوتيليتيد تلون المذيب في 95 % ميثانول . تم وضع المحلول في حمام مائي مغلي لمدة 45 دقيقة. حيث يحصل نتيجة ذلك تفاعل بين المألون ثنائي الالديهيد وحامض الثايوباربيتورك (TBA) ليعطي معقد قرمزي اللون. كما في المعادلة التالية:-



يترك المحلول ليبرد عند درجة حرارة الغرفة ,وتضاف 4 مل من البيوتانول ثم يرج المحلول جيداً وينقل إلى جهاز الطرد المركزي عند 3000 دورة بالدقيقة لمدة 10 دقائق. ثم تقاس الامتصاصية للطور الكحولي عند الطول الموجي 532 نانوميتر . يتم إيجاد التركيز باستخدام معامل الامتصاصية :-

$$\epsilon = 1.53 * 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

الحسابات: نستخرج تركيز المالوندايلهايد من المعادلة التالية

$$\text{serumMDA} = \frac{\text{Absorbance}}{d \times \epsilon} \times D.F$$

Serum MDA :- تركيز المالونداي الديهيد

Absorbance :- الامتصاصية ( من الجهاز )

d=1 عرض الخلية ( اسم و هو ثابت)

$\epsilon$  = معامل الامتصاصية ( ثابت)

D.F =معامل التخفيف و يساوي 5.15



### 2-5-3 تقدير تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم (GSH) Glutathion

كل الطرق المستخدمة لقياس الكلوتاثيون كالطرق التفلورية و الضوئية و الكروماتوكرافية تعتمد على تحديد مستويات مجموعة السلفهايدريل (Sulphydryl).

#### المبدأ:

يتفاعل Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) مع السلفهايدريل ليعطي لون اصفر متألق له امتصاصية تتناسب طرديا مع تركيز الكلوتاثيون.

#### المحاليل:

1. المحلول المرسب 50% Tri chloroacetic acid (TCA) يحضر بإذابة 50gm من حامض الخليك ثلاثي الكلورايد في 100 ml ماء مقطر.
2. اثلين ثنائي أمين رباعي حامض الخليك: يحضر بإذابة 148.9gm اثلين ثنائي أمين رباعي حامض الخليك (EDTA-Na<sub>2</sub>) واحد لتر ماء مقطر.
3. المحلول المنظم (pH = 8.9) Tris-EDTA (0.4): يحضر بأذابة 48.458 gm الترس في 800 مل ماء مقطر ثم تضاف 100 ml من EDTA (0.4M) يكمل الحجم إلى واحد لتر ويضبط الـ pH عند 8.9
4. Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)(DTNB): يحضر بإذابة 0.099 gm من DTNB في 25 مل ايثانول.

#### تحضير منحني الكلوتاثيون القياسي:

يحضر المحلول القياسي (0.001M) بإذابة 0.0307 gm الكلوتاثيون في 100 مل EDTA (0.4M) وتحضر منه التراكيز (2,5,10,20,30 and 40µM) باستخدام قانون

$$N1 V1 = N2 V2$$

طريقة القياس:

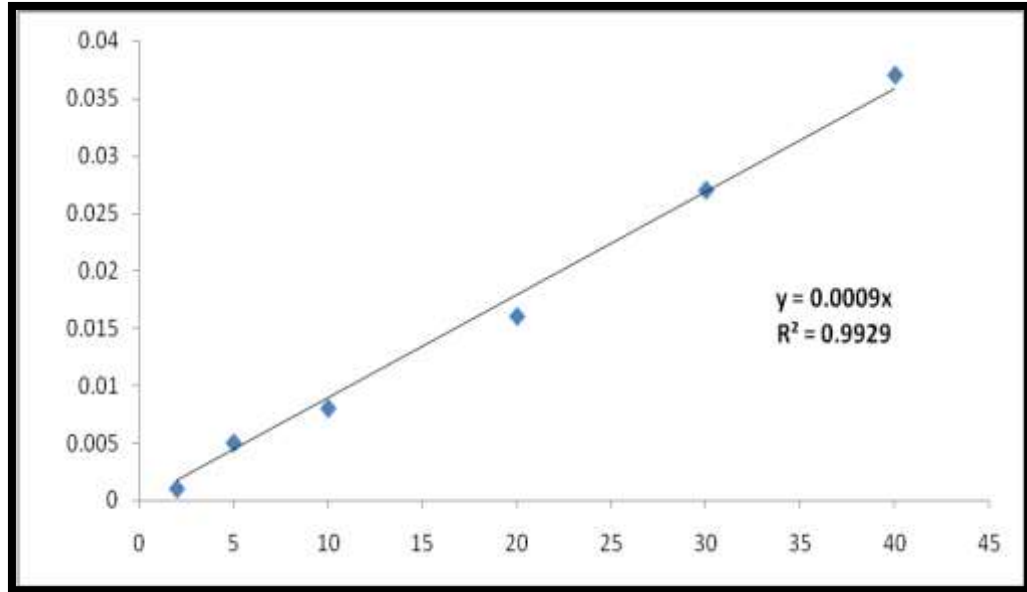
يتم إضافة الكواشف كما في أدناه:

الكاشف	محلل الاختبار	محلل الكفى	المحلل القياسي
المصل	100	-----	-----
الكلوثاينون القياسي	-----	----	100
الماء المقطر	800	900	100
TCA	100	100	100

يرج المحلول جيدا و ينقل إلى جهاز الطرد المركزي عند 3000 دورة بالدقيقة لمدة 15 دقيقة.  
بعدها نسحب الكميات المقابلة.

الكاشف $\mu$ l	النموذج $\mu$ l	الكفى $\mu$ l	المحلل القياسي $\mu$ l
الراشح	400	400	400
Tris EDTA buffer	800	800	800
DTNB reagent	20	20	20

ترج الأنابيب جيدا و تقاس الامتصاصية عند طول موجي 412 نانو متر و يحسب التركيز من  
المنحني القياسي أدناه:

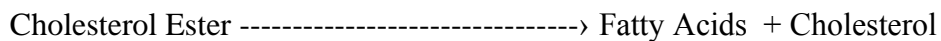


الشكل (2-3) المنحني القياسي للكلوتثاينون

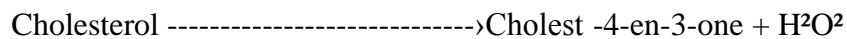
### 3-5-3 تقدير تركيز الكوليستيرول في مصل الدم (TC) Serum Total Cholesterol Concentrations

تم تقدير تركيز الكوليستيرول في مصل الدم بالطريقة الإنزيمية وفقاً لطريقة (Allani, 1974) إذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل Cholesterol Esterase بوجود الأوكسجين (O<sup>2</sup>) وإنزيم Cholesterol Oxidase اللذان يعملان على أكسدة الكوليستيرول الحر المتكون نتيجة التفاعل الأول إلى (Cholest - 4 en - 3 one) و (Hydrogen Peroxidase) وهذا الأخير يتفاعل مع الفينول Phenol و 4-Aminoantiprinel بوجود أنزيم Peroxidase ليكون كيتون أمين Quinoneimine وردي اللون وكما موضح في المعادلات التالية :-

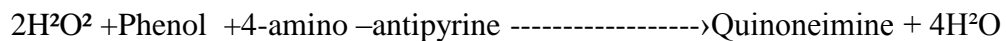
Cholesterol Estrase



Cholesterol Oxidase



n.



## Enzym

## طريقة العمل

تم استخدام ثلاثة أنابيب اختبار هي العينة **sample** , المحلول القياسي **standard** والكفء **blank** وحسب الجدول التالي :-

المحاليل	Blank	Sample	Standard
Sample		10 μ	
Standard			10μ
Blank	10μ		
Reagent (a)	1.0 ml	1.0 ml	1.0ml

بعدها أضيف 1.0 ml من reagent a إلى العينة والمحلول القياسي والكفء ومزجت المحاليل جيداً وتركت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة 37 مئوية وبعدها تم قراءة الامتصاصية لها بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 510 نانوميتر وذلك بعد تصفير الجهاز بواسطة الكفء .

## الحسابات

تم حساب تركيز الكوليسترول الكلي وفقاً للقانون التالي :-

$$\text{Total Cholesterol M/ dL} = \frac{\text{Sample} \times n}{\text{Standard}} \times N$$

أذن :

$200 = N$  وهو تركيز المحلول القياسي .

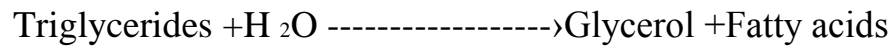
Sample = الامتصاصية الضوئية لعينة المصل .

Standard = الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

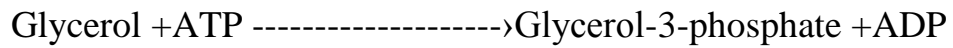
### 4-5-3 تقدير تركيز الكليسيريدات الثلاثية **Estimation of Triacylglycerol** (TAG) . Concentrations

تم تقدير تركيز الكليسيرات الثلاثية بالطريقة الإنزيمية وفقاً لطريقة (Fassati & Principe , 1983) إذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل الكليسيريدات الثلاثية الموجودة في مصل الدم من خلال سلسلة من التفاعلات الكيميائية وبوجود عدد من الإنزيمات إلى كيتون أمين وردي اللون كما في التفاعلات التالية :

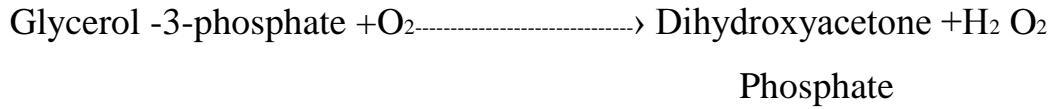
Lipase



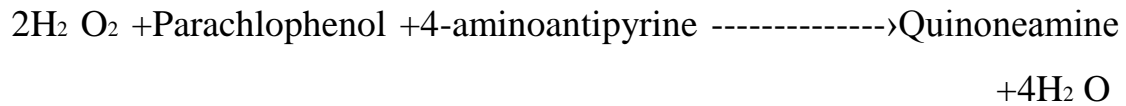
Glycerokinase



Glycerol-3-phosphate oxidase



Peroxidase



#### طريقة العمل

تم استخدام ثلاث أنابيب اختبار هي العينة **sample** , المحلول القياسي **Standard** والكفء **blank** , وحسب الجدول التالي :-

المحاليل	Blank	Sample	Standard
Sample		10μ	
Standard			10μ
Blank	10μ		
Working Reagent	1.0 ml	1.0ml	1.0 ml

بعدها أضيف 1 مل من محلول العمل Working reagent إلى العينة والمحلول القياسي والكفء ومزجت المحاليل جيداً ووضعت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة 37 مئوية , ثم قرأت الامتصاصية بواسطة جهاز المطياف الضوئي بطول موجي 505 نانوميتر .

### الحسابات

تم حساب تركيز الدهون الثلاثية وفق المعادلة التالية :-

$$\text{Triglyceral concentration} = \frac{\text{Sample}}{\text{Standard}} \times N$$

أذ إن :

$N = 200$  وهو تركيز المحلول القياسي .

**Sample** = الامتصاصية الضوئية لعينة المصل .

**Standard** = الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

### 5-5-3 تقدير تركيز الكوليستيرول في الشحوم البروتينية العالية الكثافة of

#### Cholesterol Concentrations HDL Estimate

تم تقدير تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL cholesterol بالطريقة الإنزيمية وفقاً لطريقة ( Burstein , 1970 ) وتعتمد هذه الطريقة على ترسيب دقائق الاستحلاب (الكيلوسية) وLDL و VLDL والموجودة في مصل الدم ويتم ذلك بإضافة معامل الترسيب Precipitating reagent إلى مصل العينات وبعد الانتهاء من هذه العملية وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي علماً إن المحلول الناتج بعد عملية الترسيب رائق ويحوي على HDL والذي يمكن قياس مستوى الكوليستيرول فيه باستخدام الكاشف Reagent A من العدة الخاصة بتقدير مستوى الكوليستيرول .

#### طريقة العمل

تتضمن طريقة العمل في تقدير مستوى HDL cholesterol خطوتين هما :-

**1 – الترسيب** استخدمت هذه الخطوة لتحضير الراشح (الرائق) وذلك بإضافة 0.5 مل من محلول الترسيب Reagent 1 إلى 0.5 مل من مصل الدم ويمزج جيداً ويترك لمدة 5 دقائق

في درجة حرارة الغرفة , ثم يوضع في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق بسرعة 3000 دورة / دقيقة .

## 2- تقدير كمية HDL-c cholesterol

قسم العمل على ثلاثة أنابيب اختبار هي (العينة , المحلول القياسي , الكفاءة )

المحاليل	Blank	Sample	Standard
محلول رائق من sample		0.5μ	
Standard			0.5μ
Blank	0.5μ		
Working Reagent	2.0ml	2.0ml	2.0ml

بعدها أضيف 2.0 مل من Reagent إلى المحاليل الثلاثة المذكورة أعلاه ومزجت جيداً ثم تركت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة حرارة 37 مئوية وبعدها تقرأ الامتصاصية بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 510 نانوميتر .

### الحسابات

تم حساب تركيز HDL cholesterol من القانون التالي :

$$\text{HDL -c Cocentration} = \frac{\text{sample} \times \text{STD C.} \times 2}{\text{Standard}}$$

أذن :

STD C. = قيمة المحلول القياسي وتقدر 50 mg / dl

(2) = عامل التخفيف بالمزج مع عامل الترسيب Precipiting reagent

### 6-5-3 تقدير تركيز الكوليستيرول في الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة Low-c density lipoprotine (LDL-c)

تم تقدير تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL - Cholesterol حسابياً باستخدام معادلة Friedwald equation (Chotkowska *et al* . , 2001 ; Friedwald *et al* ,1972) هي :

$$\text{LDL-c} = \text{TC} - (\text{HDL-c} + \text{TAG} / 5)$$

7-5-3 قياس تركيز الكوليستيرول في الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة جداً (Very Low density lipoprotein-c (VLDL-c) يمكن حساب تركيز VLDL من خلال تقسيم قيمة TAG على 5 (Friedwald *et al* . ,1972 )

$$\text{VLDL} = \text{TAG} / 5$$

### 8-5-3 Estimate of serum free الحديد الحرفي المصل Iron Concentration

تم تقدير تركيز الحديد الحر في المصل باستعمال عدة قياس حديد المصل (Serum Iron Kit ) من إنتاج شركة Biomaghreb التي تحتوي على الكواشف الكيميائية Chemical-Reagents الآتية :

- 1- الكاشف الأول R 1 ويتكون من Guanidine و HCL و Actete buffer PH<sub>5</sub> بتركيز 4.5 ملي مول / لتر .
- 2 - الكاشف الثاني R2 وهو Ascorbic acid .
- 3 - الكاشف الثالث R3 وهو Ferrozine بتركيز 40 ملي مول / لتر .
- 4 - الكاشف الرابع R4 وهو المحلول القياسي Standard Iron بتركيز 100 مايكروغرام / ديسيلتر .



**Principles of reaction مبادئ التفاعل**

الحديد الموجود في عينة المصل التي يجب أن يكون خالي من التحلل الدموي  
Hemolysis ينفصل الحديد من معقد حديد – ترانسفيرين بوساطة محلول الكواندين استنيت  
Acetate Guanidine المضاف ثم يختزل بوساطة حامض الاسكوربيك Ascorbic acid  
ويتفاعل مع ال Ferrozine ليعطي معقد وردي اللون .

**طريقة العمل**

تم تحضير الكواشف الآتية :-

1 – الكاشف A يحضر من إضافة 250 ملغم من الكاشف الثاني **R2** مع 50 مل من الكاشف  
الأول **R1** .

2 – الكاشف B يحضر من إضافة حجم واحد من الكاشف الثالث **R3** مع 25 حجماً من الكاشف  
A .

تم اخذ أربعة أنابيب بلاستيكية وصنفت إلى أنبوبة تصفير الكاشف وأنبوبة المحلول  
القياسي وأنبوبة تصفير العينة وأنبوبة الاختبار .

وضع في كل من أنبوبة تصفير الكاشف وأنبوبة المحلول القياسي وأنبوبة الاختبار 1 مل من  
الكاشف B ثم أضيف 0.2 مل من الماء المقطر إلى أنبوبة تصفير الكاشف و 0.2 مل من  
المحلول القياسي R4 إلى أنبوبة المحلول القياسي و 0.2 مل من مصل العينة المراد حساب  
تركيز الحديد فيها إلى أنبوبة الاختبار , إما أنبوبة تصفير العينة فوضع فيها 1 مل من الكاشف  
A و 0.2 مل من المصل العينة المراد حساب تركيز الحديد فيها .

مزجت تلك الأنابيب جيداً وتركت لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة بعدها قيست الكثافة  
الضوئية للمحاليل السابقة بعد معايرة الجهاز بوساطة محلول تصفير الكاشف وعلى طول موجي  
**562 نانوميتر** وتم حساب تركيز الحديد في المصل بتطبيق المعادلة الآتية :

OD sample – OD sample blank

-----X                      Con.                      Standaed                      =µg/dl  
OD standard

### 9-5-3 قياس تركيز هرمون الاستروجين Estimate of Estrogen hormone Concentration

يتم قياس الهرمون في مصل الدم المأخوذ من حيوانات المجموعة الأولى (G1) وحيوانات المجموعة الثانية (G2) ومجموعة G3 ومجموعة G4 وذلك بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة المتكونة من المواد الآتية:-

1- أشرطة ( STR ) Esteroidal الخاصة بهرمون Esteroidal : وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز Esteroidal لغرض تمييزها .

2 - Solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (tip) المستعمل في الماصة الدقيقة إلا أنها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز Esteroidal لغرض تمييزها .

3 - Esteriodl control (C1) : تم تحضيره بإضافة 3 مل من الماء المقطر ويترك لمدة 10-5 دقائق .

4 - Esteriol calibrator (S1) : تم تحضيره بإضافة 2 ملم من الماء المقطر ويترك لمدة 5 - 10 دقائق .

5 - Esteriodl dilutant (R1) : وهو جاهز للاستعمال .

6 - بطاقة Mle : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسية لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز هرمون الاستيرايډول .

اعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون الاستيرايډول على طريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection

وتعمل مستلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلاً عن عملها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة . أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة مختومة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً .

أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل أوتوماتيكي عن طريق جهاز Minvidas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من وإلى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة .

تم نقل العينة إلى داخل الحفرة الحاوية على Anti-Esteriodl - antibodies المعلمة Alkaline phosphates الرابطة . ويتحرك خليط ( العينة / الرابطة ) بشكل دوري من وإلى

SPRs , وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة SPR وكذلك بالرابط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich .

خلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس 4-methly- umbliliferone phosphate بشكل دوري من وإلى SPRs . ويقوم الإنزيم بعد ذلك بتحلل المادة الأساس إلى الناتج المشع وهو 4-methly- umbliliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي (450 نانوميتر) , وتعتمد شدة الإشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة

وفي نهاية المعايرة حسب النتيجة بشكل أوتوماتيكي عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضاً.

### طريقة العمل

تتضمن طريقة العمل الخطوات الآتية :-

1- وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل أوتوماتيكي آذ بدونها لا يتمكن الجهاز من أظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .

2- تم استخدام شريط SPR & STR واحد لكل عينة من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control وتوضع في المكان المخصص لها في الجهاز .

3 - تم سحب 100 ml من عينة مصل الدم ووضعت في الحفرة (1) الخاصة بها على شريط Strip (STR) ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .

4 - تم أتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ MANUAL الخاص بالجهاز , ليقوم الجهاز بالبدء بعملية المعايرة بشكل أوتوماتيكي والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .

5- بعد أن تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة تستعمل لمرة واحدة فقط .

### 10-5-3 قياس تركيز هرمون محفز الجريبات Estimate of FSH

#### Concentration

يتم قياس تركيز الهرمون وذلك بإتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة

بهرمون FSH المتكون من المواد الآتية :

- 1-أشرطة (STR) الخاصة بهرمون FSH : وهي أشرطة جاهزة للاستعمال من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز FSH , لغرض تمييزها .
- 2 - Solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (tip) المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز FSH لغرض تمييزها .
- 3 - (C1) FSH control : تم تحضيره باضافة 3 مل<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 10-5 دقائق .
- 4 - (S1) FSH calibrator : تم تحضيره باضافة 2 ملم<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 5 - 10 دقائق .
- 5 - (R1) FSH dilutant وهو جاهز للاستعمال .
- 6 - بطاقة MIE وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسية لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز الهرمون المحفز للجريبات .
- اعتمد مبدأ قياس تركيز الهرمون المحفز للجريبات على طريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection .
- وتعمل مسلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلا عن عملها بوصفها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة, أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة مختومة Sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً . أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل اتوماتيكي عن طريق جهاز Minividas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من وإلى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة . تم نقل العينة الى داخل الحفرة الحاوية على anti - FSH - antibodies المعلمة Alkaline phosphates الرابطة . ويتحرك خليط ( العينة / الرابطة) بشكل دوري من وإلى SPRs وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة APR وكذلك بالربط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich خلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس 4-Methly-umbiliferone الى الناتج المشع وهو 4-Methly- umbliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي (450 نانوميتر) , وتعتمد شدة الإشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة . وفي نهاية المعايرة حسب النتيجة اتوماتيكي عن طريق الجهاز اعتمداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضا .

## طريقة العمل

تتضمن طريقة العمل الخطوات الآتية :

- 1 - وضعت بطاقة M / e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل اتوماتيكي إذ بدونها لا يتمكن الجهاز من أظهر النتيجة ومن ثم طباعتها .
- 2 - تم استخدام شريط SPR & STR واحد لكل من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control وتوضع في المكان المخصص لها في الجهاز .
- 3 - تم سحب 100 µl من عينة مصل الدم وتوضع في الحفرة (1) الخاصة بها على الشريط (STR) Strip ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .
- 4 - تم أتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ manual الخاص بالجهاز . ليقوم الجهاز بالبداية بعملية المعايرة اتوماتيكي والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .
- 5 - بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة تستعمل لمرة واحدة فقط .

### 3-5-11 قياس تركيز الهرمون اللوتيني Estimate of LH Concentration

تم قياس الهرمون اللوتيني بأتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بالهرمون اللوتيني المتكونة من المواد الآتية:

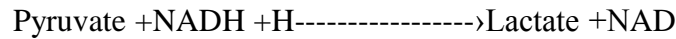
- 1 -أشرطة Strips الخاصة بالهرمون اللوتيني LH وهي جاهزة للاستعمال ومثلما هو الحال في أشرطة الهرمون المحفز للجريبات FSH , فهي تتكون من عشر حفر .
- 2 - Solid Phosereceptacles (SPR<sub>2</sub>) : وهي جاهزة للاستعمال مشابهة تماماً الى SPR<sub>2</sub> الخاصة بهرمون المحفز للجريبات الا انها معلمة بالهرمون اللوتيني .
- 3 - LH Control (C1) : تم تحضيره بإضافة 3 ملم<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 10-5 دقائق .
- 4 - LH Calibrator (S1) : تم تحضيره بإضافة 2 ملم<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 10-5 دقائق .
- 5 - LH dilutant (R1) : وهو جاهز للاستعمال .
- 6 - بطاقة MLe : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسية لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم نتيجة الاختبار الخاص بتركيز الهرمون اللوتيني .

اعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون LH أيضاً على Combines enzyme  
 إذ immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection  
 يحدث تنافس بين المستضد الموجود في العينة و المستضد المعلم بـ Anti-LH antibodies  
 المغطية للـ SPR1 وفي النهاية يتكون ناتج مشع تم قياس كمية هذا الإشعاع عن طريق الجهاز  
 بشكل اتوماتيكي . أما بالنسبة لطريقة العمل فقد تم اتباع الطريقة ذاتها المستخدمة في أثناء قياس  
 الهرمون المحفز للجريبات .

### 3-5-12 قياس تركيز أنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز Lactate Daehydrogenase (LDH)

أن أنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز يعجل بتحويل البايروفيت والـ NADH إلى  
 لاكتيت

LDH



إن السرعة البدائية للأكسدة NADH تتناسب طردياً مع الفعالية التحفيزية للإنزيم  
 اللاكتيت ديهيدروجينيز لذلك تم الاستفادة من هذه الصفة في تحديد فعالية هذا الأنزيم على طول  
 موجي 340 نانوميتر .

محتويات و عدة القياس Kit. و الكواشف Reagen

أن عدة الكواشف للإنزيم مجهزة من شركة Spectrum :

1- الكاشف الأول R1 هو محلول القياسي Buffer .

-phosphate buffer (PH 7.5 )	50 mmol/l
-pyruvate	3.0 mmol /l
-sodium Azide	8.0 mmol/l

2 – الكاشف الثاني R2 هو Enzyme :

-NADH	0.06 mmol/l
-Sodium azide	8.0 mmol/l

**- طريقة العمل Procedure**

- 1- يؤخذ من NADH حوالي 0.9 ml ويوضع في الحمام المائي Water bath في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 2-3 دقائق .
- 2-يؤخذ 0.1 ml من العينة وتخلط وتحضن في الحمام المائي عند درجة حرارة 37 مئوية ولمدة بالضبط 30 دقيقة .
- 3- يؤخذ 1 ml من الكواشف Color reagents ويخلط عند درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة
- 4 - يؤخذ من NaOH وبتركيز 1.6 % حوالي 10 ml ويخلط لمدة 10 دقائق , ويقرا الامتصاصية حسب المنحي للمحلول القياسي .

- الحسابات :

فعالية اللاكتيت ديهيدروجينيز :-

$$\text{الفعالية} = U/L = 6178 \times \Delta A$$

$\Delta A$  = قيمة التغير بالامتصاصية (تؤخذ من الجهاز) وتساوي الامتصاصية

الأولى A1 - الامتصاصية الثانية A2.

مثلا / الامتصاصية الأولى A1 تساوي 0.233

و الامتصاصية الثانية A2 تساوي 0.209

فإن  $\Delta A$  تساوي 0.024

**الفعالية** U/L مقدار فعالية الإنزيم تساوي 0.024 يضرب في الثابت 6178

فتكون الفعالية تساوي 148.

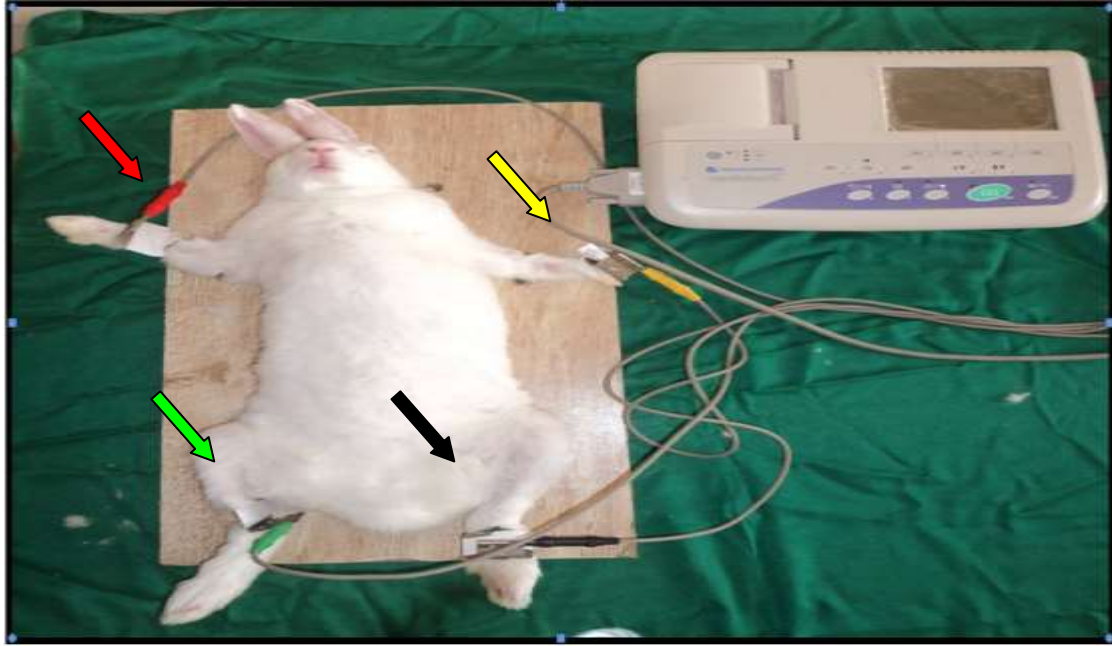
### 3-6 تسجيل مخطط القلب الكهربائي ECG في الملى ثانية

تم التسجيل باستخدام جهاز Electrocardiograph , وذلك بعد أن أكمل حلق مناطق من أطراف الحيوانات من الشعر و بعد تثبيت الحيوان على لوحة خشبية جهزت لهذا الغرض تتناسب مع حجم الحيوان وهي لوحة خشبية مثقبة من الأطراف الأربعة يتم ربط الحيوان عليها وبعد أن تم تحوير الأقطاب الخاصة بالجهاز لتتناسب مع أطراف الحيوان ووضع المادة الهلامية التي تساعد على إيصال الأحداث الكهربائية بشكل أوضح تم تثبيت الأقطاب الكهربائية بكل هدوء ودقة وبعد تهدئة الحيوان كررت العملية مرات متعددة قبل اخذ القراءات لكي يتم ترويض الحيوان على هذا الجهاز ولكي نحافظ على هدوء الحيوان وعدم حصول حالة الخوف والهلع وبعد أن يتم الربط يترك الحيوان لمدة 10-5 دقائق وبعد التأكد من هدوء الحيوان تم القياس على أساس طريقة الربط الأحادي والتي تدعى بـ **Einthoven's Tariangle** وتمت القراءة على طريقة Lead II على قوة التضخيم 10 mm/Mv وفولتية كهربائية 25 mm/s وبسرعة 1/2 ثانية . وقد تمت عملية قياس التخطيط بدون تخدير , حيث نلاحظ من الشكل التخطيطي للقلب على الورقة البيانية الخاصة بالجهاز والتي تقسم بشكل مربعات كبيرة مقسمة إلى مربعات صغيرة , ويحتوي كل مربع كبير على خمس مربعات صغيرة وتكون القراءة بشكل أفقي وعمودي .

إن الشكل العمودي ( Vertical axis-voltage ) للقراءة يمثل الفولتية الكهربائية Voltage ويقاس بالملي فولت mm/v وان المربع الصغير يساوي ( 1 mm =0.1 mv ) , إما الشكل الأفقي (Horizontal axis – time ) للقراءة فيمثل الزمن Time , وان المربع الصغير يساوي بالملي ثانية ( 1 mm =0.04 sec ) وتكون سرعة الورقة أي standard Depolarization تساوي 25 mm/sec , وتمثل P wave زوال الاستقطاب في الأذنين Repolarization وبما إن عضلات الأذنين تكون اقل سمكنا واصغر من عضلات البطينين فلا يمكن للجهاز التقاط الموجات الكهربائية لانبساطها (عودة الاستقطاب) Repolarization وتضخيمها من خلال المضخم .

إما QRS complex تمثل زوال الاستقطاب من عضلة البطين ( Depolarization ) وتكون اكبر من موجة P , إما موجة T wave تمثل عودة الاستقطاب إلى عضلة البطين Repolarization أي حالة استراحة واسترخاء العضلة.





شكل (3-3) يمثل كيفية ربط أقطاب المخطط الكهربائي للأرنب ويمثل السهم باللون الأحمر اليد اليمنى، والسهم ذو اللون الأصفر قطب اليد اليسرى، والسهم ذو اللون الأسود قطب الرجل اليسرى، واللون الأخضر الرجل اليمنى وهو الموصل الأرضي.

### 3-7 طريقة استخلاص الـ DNA

تم استخلاص الدنا DNA وحسب طريقة الشركة المصنعة (Promega) للعدة المستخدمة في عملية الاستخلاص وحسب الطريقة التالية:

- 1- تم نقل 10 - 20 ملغم من النسيج الحيواني (نسيج القلب) إلى أنبوبة ابندورف سعة 1.5 مل ثم أضيف 600 مايكروليتر من محلول تحليل الانوية Micropistol المبرد مسبقاً وتم البدء بالسحق بواسطة قطعة زجاجية معدة لهذا الغرض لمدة 10 ثواني وبوجود الثلج في هذه العملية.
- 2 - للتخلص من الأنسجة الحيوانية يتم إضافة 3 مايكروليتر لنفس الأنبوبة الحاوية على مسحوق النسيج الحيواني (نسيج القلب) ويتم المزج بواسطة الرج ثم تحضن الأنابيب من 15 إلى 30 دقيقة وعلى درجة حرارة 37 مئوية.
- 3 - للتخلص من البروتين يتم إضافة 200 مايكروليتر من محلول ترسيب البروتين ثم ترج الأنبوبة جيداً وترد مباشرة على الثلج لمدة 5 دقائق.
- 4 - توضع الأنابيب في جهاز الطرد المركزي ويتم استخدام سرعة 13000 - 16000 دورة ولمدة 3 دقائق.
- 5 - بعد أخراج الأنابيب من جهاز الطرد المركزي يتم نقل الرائق إلى أنابيب جديدة وإهمال الراشح.

- 6 - يتم إضافة 600 مايكروميتر من الايزوبروبانول وبدرجة حرارة الغرفة ويتم المزج بقلب الأنبوبة لعدة مرات .
- 7 - يتم التنبيذ بجهاز الطرد المركزي وبسرعة 13000- 16000 دورة ولمدة دقيقة واحدة .
- 8- يتم سحب الرائق وإهماله ثم يوضع 600 مايكروليتر من الايثانول وبتركيز 70 % ثم يمزج بالرج وتعاد خطوة التنبيذ السابقة .
- 9 -يتم سحب الايثانول بعد أخراج الأنابيب من جهاز الطرد المركزي ويتم تجفيف الكتلة المتبقية بواسطة الهواء الموجود في الغرفة .
- 10- لاستعادة الـ DNA يتم إضافة 100 مايكروليتر من محلول استعادة الـ DNA وتترك الأنابيب لمدة ساعة وبدرجة حرارة 65 مئوية أو بدرجة حرارة 4 مئوية لليوم التالي .
- 11 - يتم تعليم الأنابيب وتحفظ بدرجة حرارة -20 تحت الصفر لحين استخدامها في تجارب الـ DNA

### 3-7-1 جمع تفاعل أنزيم بلمرة الـ DNA المتسلسل

تم جمع مكونات التفاعل في ظروف معقمة حيث استخدمت الأشعة فوق البنفسجية لتعقيم المكان آذ استخدمت منصة للعمل حاوية على مصدر للأشعة فوق البنفسجية وعلى مروحة لسحب الهواء الملوث وإدخال هواء نقي وتم التعقيم لمدة ساعة قبل البدء بالعمل , تم استخدام الكفوف الجراحية المعقمة والكمادات لضمان عدم تلوث المعدات المستخدمة وأيضاً تم تعقيم كافة المواد المستخدمة بالديتول قبل البدء بالعمل لضمان ظروف معقمة قدر الإمكان .

1- ولتجميع مكونات التفاعل فقد تم إخراج عينات الـ DNA المستخلصة من نسيج قلب الأرنب لكي تذوب وتم وضعها على وعاء حاوي على الثلج لضمان عدم حصول صدمة حرارية سريعة وأيضاً تم معاملة البادئات بنفس الأسلوب .

2- حضرت المواد اللازمة وعملت الأنابيب التي سوف يتم تجميع التفاعل بها الحاوية على Taq DNA , Dntp's Polymerase , Mg<sup>+2</sup> (1.5 m M ), KCl (30 m M ) and Loading dye .

3 - تم إضافة 1 مايكروليتر من كل بادئ إلى أنبوبة التفاعل .

4 - تم إضافة 1 - 2 مايكروليتر من الدنا .

5 - تم إكمال الحجم إلى 20 مايكروليتر بواسطة الماء عالي النقاوة المجهز من شركة بايونير / كوريا .

6 - رجت الأنابيب ونبذت بسرعة 1000 دورة بالدقيقة باستخدام جهاز الطرد المركزي والهزاز المدمج .

- 7 - تم نقل الأنابيب إلى جهاز الـ Thermocycler لغرض بدء التفاعل .
- 8 - تم تحديد معايير البرنامج وفق المتغيرات التالية :
- ا- درجة حرارة 94 مئوية لمسح الـ DNA كمرحلة أولى لمدة ثلاث دقائق .
- ب- درجة حرارة 94 مئوية لمسح الـ DNA لمدة دقيقة واحدة .
- ت- درجة حرارة التصاق البرايمر 56 مئوية لمدة دقيقة واحدة .
- ث- درجة حرارة الاستطالة 72 مئوية لمدة دقيقة واحدة .
- ج- درجة حرارة 72 مئوية كمرحلة أخيرة للاستطالة ولمدة 5-7 دقائق .
- ح- درجة حرارة 4 مئوية لغرض إيقاف التفاعل والزمن مفتوح .
- الخطوات ب , ت , ث تتكرر لمدة 35 دورة .
- بعد نهاية التفاعل تم رفع الأنابيب وحفظت بالتجميد لحين الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز وبتركيز 2 % .

### 2-7-3 تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل **Polymerase chain reaction** (PCR)

تم تحضير المحلول الخزين Stock solution ومحلول العمل Work solution وكالتالي :-

أضيف 16 µl من Premix لكل أنبوبة ابندروف خاصة بجهاز الـ PCR وأضيف لها 1 مايكرو لتر (µl) من كل من R-primer و F – primer من محلول العمل وأضيف لها 2 مايكرو لتر من الـ DNA ونقلت الأنابيب إلى الـ PCR والذي تم على شكل 40 دورة تبدأ الدورة الأولى لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 94 م° ودرجة حرارة للـ exon الأول درجة حرارة 64 م° وللـ exon الثاني درجة حرارة 67 م° وللـ exon الثالث درجة حرارة 66 م° لمدة دقيقتين والدورة النهائية لمدة دقيقة وبدرجة 94 م° وتحفظ الأنابيب بالتجميد لحين عملية الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز .

جدول ( 3-3 ) يوضح تسلسل اكسونات البرايمر المستخدمة في انجاز البحث .

Exon	Forward primer (5-3)	Reverse primer (5-3)	Size bp	Annealing T.
1	GGGCTATTTAAAGGGCCTG	TCATGGCTCAGTGAGGGTG	222	64
2	TGCCCAGAGAGCAACAGCT	TTGCTGACAGGCACCACAG	385	67
2	GGAGGTGGCTGAGATCACA	CACAGGTCCTAGCCAGGAA	180	65

### تتكون تقنية PCR من ثلاث مراحل في الدورة الواحدة :

بعد وضع الحامض النووي المراد نسخه مع البرايمر وإنزيم البوليميريز مع الأحماض النووية في أنبوبة داخل جهاز التحكم الحراري فان هنالك ثلاثة مراحل منفصلة تمر بها عملية النسخ :

- مرحلة التسخن الحراري ( Thermal denaturation ) أو مرحلة التفكيك Denature لجزيئة الـ DNA وفيها يتم رفع درجة الحرارة إلى 94-95 C° وذلك لفك الحمض النووي DNA الأصل إلى شريطيين مفردين .

- مرحلة الالتصاق أو ارتباط البادئات Primers Annealing وهنا يتم إنزال درجة الحرارة اللازمة للارتباط البادئ بشريط الـ DNA المفرد وحسب تصميم البادئة وذلك ليقوم البرايمر بالالتصاق فيزيائياً بواسطة الروابط الهيدروجينية مع الحمض النووي DNA الأصل

- مرحلة الامتداد أو تطاول البادئات المرتبطة Annealed primers extension هنا يتم رفع درجة الحرارة إلى 75 C° ليقوم البلمريز بعمله في بناء الحامض النووي الجديد .

وهذه المراحل الثلاث تعتبر دورة كاملة وفيها يصبح الحامض النووي DNA قد تضاعف وتعتمد كمية الحامض النووي على عدد الدورات (Sails ,2009) . مما يؤدي إلى زيادة جزيئات الـ DNA بشكل كبير ويعطى عامل التضخيم بالمعادلة التالية :-

$$N (1+E)^X = n$$

$$E = \text{فعالية التضخيم (Efficiency)}$$

$$X = \text{عدد الدورات PCR}$$

### 3-7-3 الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز

#### 1- تحضير المحلول الدارئ ( Tris Boric acid EDTA Buffer ) و الترحيل

تم تحضير هذا الدارئ عن طريق تخفيف المحلول والذي تركيزه  $10 \times$  حيث تم اخذ 190 مل من الماء المقطر النقي مع 10 مل من الدرء بتركيز  $10 \times$  لينتج لدينا محلول دارئ بتركيز  $0.5 \times$ .

استخدم هذا المحلول الدارئ في عملية تحضير هلام الاكاروز وايضاً تم صب الباقي في الحاوية التي سيتم الترحيل الكهربائي بها .

#### 2- الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز :-

1- تحضير هلام الاكاروز بتركيز 2 % حيث تم وزن 1 غم من مسحوق الاكاروز واذيبت بمقدار 50 مل من المحلول الدارئ  $0.5 \times$  TBE .

2- أذيب المحلول باستخدام الحمام المائي او الصفيحة الساخنة ولحين ظهور الفقاعات .

3 - وضع الإناء الزجاجي الحاوي على الاكاروز بدرجة حرارة الغرفة لحين وصول درجة الحرارة بحدود 60 م ° ثم أضيفت صبغة Ethidium Bromide بمقدار  $1 \mu\text{l}$ .

4- حملت العينات بدون إضافة أي صبغة لاحتواء أنابيب التفاعل على صبغة محملة مسبقاً حيث حمل الدنا القياسي المجهز من شركة بروميكا (الماركر) في الحفرة الأولى والعينات في الحفرة المجاورة تبعاً

5 - تم ضبط جهاز القدرة على 70 فولت و 20 ملي أمبير ولمدة ساعة ونصف بعد انتهاء فترة

الترحيل تم فصل الدائرة الكهربائية ونقل الهلام إلى جهاز التصوير Photodocumentation بعد تسليط أشعة بطول موجي 256 نانومتر لغرض رؤية تالق الـ DNA

6 - تم التقاط الصور الرقمية بكاميرا رقمية نوع Canon وبدقة 12 ميغابكسل .

### 3-8 التحضيرات النسيجية Histological preprations

تم حفظ العينة في البداية بعد استئصالها من الحيوان في محلول الفورمالين بتركيز 10 % وبعد 4-5 أيام استخرجت من الفورمالين وغسلت عدة مرات بالكحول الايثيلي بتركيز 70 % بعدها أجريت عليها سلسلة من العمليات اعتماداً على الطريقة الموصوفة في (Presnell & Schreibman , 1997) ثم تم تصوير المقاطع النسيجية للقلب والكبد باستخدام كاميرا رقمية Digital Camera نوع Sony عالية الدقة .

**9-3 التحليل الاحصائي Statistical Analysis**

تم إجراء تحليل التباين لتجربة عاملية 5x2x4 مكرارات وفق التصميم العشوائي الكامل لدراسة تأثير المعاملة والمدة الزمنية في المعايير .  
واختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات باستخدام Duncans Multiple Range Test الساهوكي ووهيب (1990) .

الفصل الرابع

النتائج

والمناقشة

Results & Discussion

## تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد على معدل تركيز الهرمونات والشحوم البروتينية في مصل الدم

### 1-4 التغيرات في معدل تركيز هرمون الاستروجين E<sub>2</sub>.

أظهرت نتائج الجدول (1-4) إلى وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز هرمون الاستروجين في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض G2 خلال مدة التجربة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ومجموعة الحيوانات مزالة المبايض والمعرضة لفرط الحديد G3 وكانت جرعة الحديد 20 ملغم لكل كيلو غرام، كما يشير الجدول إلى وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز هرمون الاستروجين في مجموعة الأرانب المعاملة بفرط الحديد من دون إزالة المبايض G4 مقارنة مع بقية المجموع، كما يلاحظ انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز هرمون الاستروجين E<sub>2</sub> للمجاميع G2, G3, G4 بعد مرور ثلاثة أشهر من التجربة ولم يلاحظ أي هلاكات.

جدول (1-4) تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد في معدل مستوى الهرمونات (هرمون الاستروجين وهرمون محفز الجريبات والهرمون اللوتيني) ( $\mu\text{g/dl}$ ) في إناث الأرانب

المجاميع	Estrogen	FSH	LH
السيطرة G1	56.02 a 1.08 ± A	19.18 a 1.19 ± A	18.88 a 1.21 ± A
مجموعة إزالة المبايض فقط G2	b 22.03 1.81 ± B	20.43 b 1.30 ± B	20.57 b 2.34 ± B
مجموعة إزالة المبايض وفرط الحديد G3	20.55 b 2.34 ± B	19.49 b 1.26 ± A	17.13 b 1.89 ± C
مجموعة فرط الحديد فقط بدون إزالة مبايض G4	25.31 b 1.50 ± C	17.42 b 1.31 ± C	16.97 b 1.36 ± D

المعدل  $\pm$  الخطأ القياسي, n = 5 / مجموعة.

الحروف المختلفة الكبيرة تدل على وجود فروقات معنوية أفقياً عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ )

الحروف المختلفة الصغيرة تدل على وجود فروقات معنوية عمودياً عند مستوى احتمالية ( $P < 0.0$ )

### 2-4 التغيرات في معدل تركيز هرمون محفز الجريبات

أظهرت نتائج الجدول (1-4) حصول الارتفاع المعنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز هرمون محفز الجريبات FSH في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض فقط G2 مع مرور زمن التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.



كما يشير الجدول إلى وجود ارتفاع غير معنوي ( $P > 0.05$ ) مقارنة مع مجموعة السيطرة في معدل تركيز هرمون المحفز للجريبات في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1, ويشير الجدول إلى وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز هرمون المحفز للجريبات في مجموعة الحيوانات المعاملة بفرط الحديد فقط G4 وطول فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

#### 3-4 التغيرات في معدل تركيز الهرمون اللوتيني .

أظهرت نتائج الجدول (1-4) حصول ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الهرمون اللوتيني في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض G2 خلال الفترة الزمنية وبشكل تدريجي من بداية الإزالة حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1, ويلاحظ من الجدول الانخفاض المعنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الهرمون اللوتيني في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 من بداية التجربة حتى ثلاثة أشهر من نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1, كما يشير الجدول إلى الانخفاض المعنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الهرمون اللوتيني في مجموعة الأرانب المعاملة بفرط الحديد من دون التعرض لإزالة المبايض G4 خلال الزمن ومقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

أظهرت نتائج الدراسة انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز هرمون الاستروجين وارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل مستويات هرموني LH FSH في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة مبايض فقط G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 وهي نتائج متفقة مع (Edward et al., 2001) أن الانخفاض المعنوي في مستوى تركيز هرمون الاستروجين هي حالة طبيعية بسبب فقدان المبايض بسبب إزالتها من الحيوانات في هذه المجموعة مما ينتج عنه فقدان في صناعة وإنتاج هرمون الاستروجين وبالتالي انخفاض تركيزه إن إنتاج الستيرويدات يقل عند النساء في سن اليأس والنساء المعرضات لإزالة المبايض جراحياً وبصورة كبيرة مما ينتج عنه زيادة في مستوى الهرمون اللوتيني LH وذلك عن طريق التغذية الاسترجاعية بين هرمونات الغدة النخامية والمبيض لإنتاج الهرمونات الستيرويدية أما هرمون FSH فيرتفع أيضاً بسبب الهبوط الحاد في الهرمون المثبط Inhibin (الجبوري, 2003). كما أظهرت النتائج حدوث انخفاض المعنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل مستويات هرمون اللوتيني والهرمون الجريبي وهرمون الاستروجين بعد الحقن العضلي بدكستران الحديد Iron dextran في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 مقارنة مع مجموعة

السيطرة G1, إن سبب الانخفاض في نتائج مستويات الهرمونات هو نتيجة الضرر الحاصل والذي لحق بالغدة النخامية نتيجة لفعل الجذور الحرة يكون المسؤول عن الانخفاض في مستوى هرموني LH,FSH في المصل كما بين ذلك (Perera et al., 2002 ;Karamifar et al., 2005) وهذا الانخفاض يؤدي إلى ترسب الحديد في الغدة النخامية أو تحت المهاد أو كلاهما .

وأظهرت النتائج الانخفاض المعنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى هرمون اللوتيني والهرمون الجريبي وهرمون الاستروجين في مجموعة الأرانب المعرضة فقط للحقن العضلي بدكستران الحديد Iron dextrane (G4) مقارنة مع مجموعة السيطرة وهي نتائج تتفق مع (Yazigi et al., 2002) و (يكن, 2007) نتيجة لترسب الحديد في أنسجة المبيض وتحرر الجذور الحرة التي تعمل على مهاجمة وتحطيم خلايا الحويصلات المبيضية في المبيض مما يؤدي إلى انخفاض مستوى هرمون الاستروجين في المصل وكما إن الضرر الذي لحق بالغدة النخامية نتيجة لفعل الجذور الحرة يكون مسؤول عن الانخفاض في مستوى LH و FSH في المصل كما بينه كلاً من (Perera et al., 2002 ; Karamifar et al., 2005).

#### 4 - 4 التغيرات في معدل تركيز الكوليسترول الكلي Total Cholesterol (TC)

يشير الجدول (2-4) إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الكوليسترول الكلي TC في مجموعة الأرانب المزالة المبايض G2 ومجموعة الأرانب المزالة المبايض والمعرضة لفرط الحديد G3 ومجموعة الأرانب المعرضة فقط لفرط الحديد G4 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 وكان الارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) للمجاميع G2,G3, G4 وعلى طول فترة التجربة

جدول (2-4) تأثير إزالة المبيض وفرط الحديد في معدل تركيز (TC, TAG, HDL-c, LDL-c, VLDL-c) في إناث الأرانب

المجاميع	TC	TAG	HDL- c	LDL-c	VLDL-c
السيطرة G1	86.90 a 3.4 ± A	180.21 a 1.25 ± A	10.7a 3.02 ± A	39.4 a 2.2 ± A	17.6 a 2.9 ± A
مجموعة الأرانب مزلة المبيض فقط G2	133.02 b 3.8 ± B	190.25 b 1.13 ± B	8.2 a 2.02 ± B	75.2 b 2.8 ± B	25.5 b 1.7 ± B
مجموعة الأرانب مزلة المبيض وفرط الحديد G3	150.76 b 4.8 ± B	190.81 b 2.36 ± B	8.1 a 3.01 ± B	83.68 b 3.01 ± B	24.4 b 1.4 ± B
مجموعة فرط الحديد بدون إزالة المبيض G4	143.46 b 5.2 ± B	184.20 a 2.24 ± A	8.3 a 1.01 ± B	95.02 b 3.4 ± B	17.9 a 3.3 ± A

المعدل ± الخطأ القياسي, n = 5 / مجموع  
الحروف المختلفة الكبيرة تدل على وجود فروقات معنوية أفقياً عند مستوى احتمالية (P < 0.05)  
الحروف المختلفة الصغيرة تدل على وجود فروقات معنوية عمودياً عند مستوى احتمالية (P < 0.05)

#### 4-5 التغيرات في معدل الدهون الثلاثية TAG

يلاحظ في الجدول (2-4) إلى وجود ارتفاع معنوي (P < 0.05) في معدل الدهون الثلاثية TAG في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبيض G2 ومجموعة الأرانب مزلة المبيض والمعرضة لفرط الحديد G3 مقارنة مع مجموعة G1 وارتفاع معنوي (P < 0.05) طول فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1. كما يشير الجدول إلى عدم وجود فروقات معنوية (P > 0.05) في معدل الدهون الثلاثية في مجموعة الأرانب المعاملة بفرط الحديد بدون التعرض لإزالة المبيض G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 إما بالنسبة لتأثير الفترة الزمنية يلاحظ عدم وجود فروق معنوية (P > 0.05) لمجموعة السيطرة G1 ومجموعة G4.

#### 4-6 التغيرات في معدل تركيز الكوليستيرول في الشحوم البروتينية عالية الكثافة

#### HDL -C

يلاحظ من الجدول (2-4) إلى وجود انخفاض معنوي (P < 0.05) في معدل تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة (HDL-C) في المجاميع G2, G3, G4 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ولم يلاحظ فروق معنوية (P < 0.05) لتأثير الفترة الزمنية ولكل مجاميع التجربة.

#### 4-7 التغيرات في معدل تركيز الكوليستيرول في الشحوم البروتينية واطئة الكثافة

##### LDL-C

تشير النتائج في الجدول (4-2) إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C في مجموعة الأرانب المزالة المبايض فقط G2 ومجموعة الأرانب المزالة المبايض وفرط الحديد G3 ومجموعة الأرانب المعاملة فقط بفرط الحديد بدون إزالة G4 طول فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .  
إما بالنسبة لتأثير الفترة الزمنية فقد لوحظ وجود زيادة معنوية ( $P < 0.05$ ) في كل مجاميع فيما عدا مجموعة السيطرة G1 لم يلاحظ فروقاً معنوية .

#### 4-8 التغيرات في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جداً VLDL-C

تشير النتائج في الجدول (4-2) إلى وجود ارتفاع معنوي ( $p < 0.05$ ) في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جداً في مجموعة الأرانب المزالة المبايض فقط G2 ومجموعة الأرانب المزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 مقارنة بمجموعة السيطرة G1 ومجموعة الأرانب المعاملة بفرط الحديد فقط بدون إزالة مبايض G4  
وكما يشير الجدول إلى وجود فروق معنوية ( $p < 0.05$ ) في مجموعة الأرانب المعاملة بفرط الحديد G4 مقارنة مع مجاميع G2, G3 .  
ويشير الجدول إلى الارتفاع المعنوي ( $p < 0.05$ ) الحاصل خلال الثلاثة أشهر من التجربة في مجاميع G2 , G3 مقارنة مع مجموعة G1 و G4 .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية لمجموعة الأرانب مستأصلة المبايض زيادة معنوية ( $P < 0.05$ ) في تركيز الكوليستيرول الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C والشحوم البروتينية واطئة الكثافة جداً VLDL-C وحدوث انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C وجود فروق معنوية في الكليسيريدات الثلاثية TAG عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع (Huang et al., 1997) وعزت هذه الزيادة إلى عملية الاستئصال الجراحي للمبايض ذاتها التي تمثل احد أشكال الإجهاد التأكسدي , أو أن حدوث الارتفاع المعنوي في مستوى صورة الدهن يعود إلى الانخفاض المعنوي في

مستوى تركيز هرمون الاستروجين للحيوانات المزالة المبايض إذ ذكرت العديد من الدراسات لأهمية الاستروجين بوصفه عامل حماية يحد من نشوء أفات التصلب الشرياني في سن النضوج بينما يزداد في مرحلة سن اليأس، نتيجة لانخفاض مستوى هرمون الاستروجين لما له من دور في وصفه عاملاً وقائياً يحافظ على العمليات الأيضية للشحوم البروتينية والتي سيتبع عنها انخفاض مستوى apoB-LDL-C وزيادة مستوى HDL-C في بلازما الدم (Knopp & Zhu, 1997). كما إن للاستروجين دوراً مهماً في الفعالية الإنزيمية التي تشترك في تحول الكوليسترول إلى أحماض الصفراء Bile acid بواسطة إنزيم Cholesterol 7 $\alpha$ -dehydroxylase (Ferreri & Naito, 1987).

إن نتائج الدراسة الحالية توضح بأن الاستروجين قد يكون له دور وقائي ضد نشوء وتطور أمراض القلب الوعائية عند النساء مستأصلات المبايض في سن النضوج أو النساء السليمات في سن اليأس نسبة 35-50% (Kaul et al., 1991; Barrett-Connor & Bush, 2006). و (الكناني و الخفاف, 2006) وبما إن إزالة المبايض تعتبر احد أشكال الإجهاد التأكسدي والذي يؤدي إلى تحرير الأيبينفرين والنور إيبينفرين، وينشط هذان الهرمونين إنزيم لايباز الكليسيريد الثلاثي الحساس للهرمون Hormone Sensitive Lipase الذي يوجد بكثرة في الخلايا الدهنية مسبباً التحلل السريع للكليسيريدات الثلاثية وتحرير الأحماض الدهنية التي يزداد تركيزها أحياناً إلى ثمانية أضعاف (Eskin et al., 2003).

إن الزيادة الملحوظة للشحوم البروتينية الواطئة الكثافة LDL في بلازما الدم ينعكس لانخفاض الامتصاص بواسطة مستقبلات الدهون الواطئة والتي تكون معروفة بأنها تتحفز بواسطة هرمون الاستروجين عند مستويات البروتين و المرسل الراببوسومي mRNA (Di Croce et al., 1996; Ganong, 2001) وكذلك أن ازدياد مستويات الكوليسترول بالمصل وبالأخص LDL له علاقة وطيدة مع سن اليأس، وهذا يعزز تأثير هرمون الاستروجين المفيد على الشحوم البروتينية (Saranyaratana et al., 2006) وعوامل النزف والككوز والأنسولين والعوامل المشتقة في بطانة الأوعية الدموية مثل الاندوثيليك (النسيج البطاني) بالإضافة إلى تثبيط تكاثر وهجرة الخلايا العضلية الملساء من خلال تحفيز تحرير NO والتي تساهم في تثبيط هجرة الخلايا العضلية (Foegh & Ramwell, 1998).

كما أن نتائج الدراسة الحالية في مجموعة الحيوانات مزالة المبايض والمعرضة لفرط الحديد أظهرت ارتفاعاً معنوياً ( $p < 0.05$ ) في الدهون مقارنة مع مجموعة السيطرة بسبب انخفاض تركيز هرمون الاستروجين وكذلك زيادة تركيز الحديد الحر في الجسم والذي يعمل على توليد الجذور الحرة الأوكسيجينية و ROS وبالتالي أحداث تأكسد الدهون Lipid

peroxidation والذي قد ينتج من خلال قابليه في التأثير على الخلايا في إبطال فاعليتها في إفراز الاستروجين في مرحلة سن اليأس (المتعلقة باستئصال المبايض) بالإضافة إلى فقدان المصدر الرئيسي لإفراز هرمون الاستروجين والذي أكدته بعض البحوث إلى أن الاستروجين داخلي المنشأ عند سن اليأس يظهر بصفة ايسترون Estron ناتج من تحول Androstenedione داخل النسيج الدهني إلى ايستروجين داخلي المنشأ . (Yen *et al* . 1999), إلا أن كميته لم تكن كافية للحفاظ على مستوى صورة الدهن الطبيعية وهذا يتفق مع (Burea *et al* . , 1998 ;Michael , 2007)

إن التجمع المفرط للحديد في الخلايا الكبدية قد يؤدي إلى حدوث خلل في عملية توازن الدهون Lipid homeostasis مما يؤدي إلى تغيير فعالية إنزيم 3-Hydroxyle-Lipid methylglutary-Co- enzyme A(HMG-CoA) الذي يؤدي إلى حدوث اضطرابات لاسترات الكوليسترول Cholesterol esters وهبوط فعالية إنزيم Lipoprotein lipase وبالتالي زيادة نسبة الأحماض الدهنية الحرة Free fatty acids في الدم (Choie *et al* , 2010 ;Mateo-Gallepo , 2001 ; *al.* , كما إن زيادة نسبة الحديد في الكبد قد يؤدي إلى زيادة نسبة الساييتوكاينينات الكبدية مثل (TNF- $\alpha$ ) و(-IL) tumor necrosis interleukin التي تعمل على زيادة مستويات Cholesterogenic enzyme مثل HMG-Co A- reductase وانخفاض تركيز إنزيم Cholesterol7  $\alpha$ -Hydroxylase المسؤول عن عملية تقويض الكوليسترول في الكبد (Kojima *et al.*,2004), فضلا عن أهمية ما ذكره (Dabbagh *et al* . , 1997) حول تحسس مستقبلات LDL-receptors المتواجدة في جدران الأوعية الدموية لتجمع البروتينات الدهنية في البلازما مما يؤدي إلى ارتفاع نسبة LDL-C في المصل, إن تجمع LDL في المصل يكون له القابلية على أكسدة جزيئات LDL إلى ox-LDL وهذا ينتج العديد من الاوكسي ستيروول Oxysterol التي لها القابلية على تثبيط فعالية مستقبلات LDL وتحفيز فعالية إنزيم Cholesterol acyl transferase مؤديا إلى زيادة تكوين أسترات الكوليسترول (Brunet *et al* . 1999). كما يؤثر الإجهاد التاكسدي وبشكل مباشر على زيادة في تركيز الكوليسترول في LDL الذي له دور في تجمع الصفائح الدموية وانخفاض زمن التخثر (العقيلي, 2009) .

إن مستويات تركيز HDL-C في المصل ترتبط بعلاقة عكسية مع مستويات تركيز LDL-C إذ يكون للـ LDL دور في النقل العكسي للكوليسترول إذ ينقله من الأنسجة المحيطة إلى الكبد لذلك فإن زيادة LDL-C تسبب نقصان HDL-C (Pischon *et al.*, 2005) .

كما أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في مستويات الدهون الثلاثية TAG التي جاءت متفقة مع الكريبي (2011) الذي بين إن الحقن العضلي لدكستران الحديد لا يؤثر على مستويات TAG .

**تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد في معدل تركيز الحديد و بعض المعايير الدموية .**

#### 9-4 التغيرات في أعداد كريات الدم الحمر

أظهرت نتائج الجدول ( 3-4 ) إلى عدم وجود فروق معنوي (  $P > 0.05$  ) في أعداد كريات الدم الحمر في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض فقط G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 , بينما حصل انخفاض معنوي (  $P < 0.05$  ) في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد حقناً G3 في أعداد كريات الدم الحمر وكان الانخفاض بعد مرور ثلاثة أشهر مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 . كما حصل انخفاض معنوي في أعداد كريات الدم الحمر (  $P < 0.05$  ) في مجموعة الحيوانات المعاملة بفرط الحديد دون إزالة المبايض G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 والمجموعة مزالة المبايض فقط G2 وانخفاض معنوي (  $P < 0.05$  ) طول فترة التجربة في هذه المجموعة مقارنة مع مجموعة السيطرة .

جدول (3-4) تأثير إزالة المبيض وفرط الحديد في (Fe, WBC, MCH, MCV, PCV, Hb, RBC) في إنث الأرانب .

المجاميع	RBC	Hb	PCV	MCV	MCH	WBC	Fe
السيطرة G1	6.19 a 0.99 ± A	14.2 a 2.20 ± A	36.88 a 2.73± A	59.58 a 2.15 ± A	20.06 a 2.27 ± A	5.24 a 2.02 ± A	14.44 a 2.19±A
الأرانب مزالة المبيض G1	6.16 a 1.09 ± A	14.00 a 1.24 ± A	37.44 a 2.71 ± A	59.82 a 3.17 ± A	19.86 a 2.20 ± A	5.24 a 2.02 ± A	15.64b 3.14±B
الأرانب مزالة المبيض وفرط الحديد G2	4.18 b 3.03 ± B	12.14 b 3.02 ± B	23.68 b 1.60 ± B	40.36 b 2.11 ± B	14.58 b 2.25 ± B	7.16 b 1.05 ± B	24.42b 2.62±C
فرط الحديد بدون إزالة	4.08 b 0.98 ± B	12.26 b 3.07 ± B	24.72 b 3.17 ± B	40.20 b 3.05 ± B	14.40 b 1.20 ± B	6.86 b 1.23 ± C	22.26b 1.29±C

المعدل ± الخطأ القياسي, n = 5 / مجموعة .

الحروف المختلفة الكبيرة تدل على وجود فروقات معنوية أفقياً تحت مستوى احتمالية  $P < 0.05$

الحروف المختلفة الصغيرة تدل على وجود فروقات معنوية عمودية تحت مستوى احتمالية  $P < 0.05$

#### 4-10 التغيرات في معدل تركيز الهيموغلوبين

أظهرت نتائج الجدول (3-4) عدم وجود فروق معنوية ( $P > 0.05$ ) في معدل تركيز الهيموغلوبين Hb في المجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبيض خلال الفترة الزمنية G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

كما أظهرت نتائج الجدول إلى وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الهيموغلوبين في كريات الدم الحمر في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبيض والمعاملة بالحقن بفرط الحديد G3 طول الفترة الزمنية مقارنة مع مجموعة G1 ومجموعة G2 .

وكما يلاحظ من الجدول إلى وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز هيموغلوبين الدم في كريات الدم الحمر ( $P < 0.05$ ) في مجموعة الأرانب المعاملة بفرط الحديد G4 دون التعرض لإزالة المبيض طول الفترة الزمنية مقارنة مع مجموعة G1 ومجموعة G2 .



#### 11-4 التغيرات في معدل حجم مكداس الدم

أظهرت نتائج الجدول (3-4) إلى عدم وجود فروقات معنوية ( $P > 0.05$ ) في معدل حجم مكداس الدم في المجموعة المعرضة لإزالة المبايض G2 بعد ثلاثة أشهر من المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1, بينما لوحظ وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في مجموعة الأرانب المعرضة إلى إزالة المبايض وفرط الحديد G3 والمجموعة المعرضة لفرط الحديد مقارنة مع مجموعة G1 ومجموعة G2 كما يلاحظ من الجدول وجود انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بمجموعة G3 و G4 بعد مرور ثلاثة أشهر من المعاملة.

#### 12-4 التغيرات في معدل حجم كريات الدم الحمر .

أظهرت نتائج الجدول (3-4) إلى عدم وجود فروق معنوية ( $P > 0.05$ ) في مجموعة الحيوانات المعرضة لإزالة المبايض G2 في حجم كريات الدم طول فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1, كما يشير الجدول إلى وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل حجم كريات الدم الحمر في مجموعة الحيوانات المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 طول فترة التجربة ومقارنة مع مجموع G1 ومجموعة G2. وكما لوحظ إلى وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل حجم كريات الدم الحمر في مجموعة الحيوانات المعاملة بفرط الحديد دون التعرض لإزالة المبايض G4 طول فترة التجربة ومقارنة مع مجموعة G1 ومجموعة G2.

#### 13-4 التغيرات في معدل محتوى الهيموغلوبين في كريات الدم

أظهرت نتائج الجدول (3-4) عدم وجود فروقات معنوية ( $P > 0.05$ ) في معدل محتوى الهيموغلوبين في كريات الدم الحمر في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1, وعدم وجود فروقات معنوية خلال مدة التجربة بنفس المجموعة.

كما يشير الجدول إلى جود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل محتوى هيموغلوبين الدم في كريات الدم الحمر في مجموعة الحيوانات المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 والمجموعة المعاملة بفرط الحديد G4 طول فترة التجربة (من بدء التجربة حتى بعد ثلاثة أشهر) مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ومجموعة G

#### 14-4 التغيرات في أعداد كريات الدم البيض .

أظهرت نتائج الجدول (3-4) إلى عدم وجود فروق معنوية ( $P > 0.05$ ) في أعداد كريات الدم البيض في المجموعة المعرضة لإزالة المبايض فقط G2 طول فترة الزمنية من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1, بينما يلاحظ في الجدول إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد حقناً بالعضلة G3 طول فترة التجربة الزمنية مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ومجموعة G2 و يلاحظ أيضاً في الجدول إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في أعداد كريات الدم البيض في مجموعة الأرانب المعرضة لفرط الحديد دون التعرض لإزالة المبايض G4 مقارنة مع باقي مجاميع التجربة .

#### 15-4 تأثير التغيرات في معدل تركيز الحديد الحر.

أظهرت نتائج الجدول (3-4) إلى وجود ارتفاع المعنوي ( $p < 0.05$ ) في معدل تركيز الحديد الحر في مصل الدم في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض فقط G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 و الارتفاع المعنوي ( $p < 0.05$ ) لمجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 ومجموعة الأرانب المعاملة بفرط الحديد فقط G4 مقارنة مع مجموعة G1, G2 .

كما يشير الجدول إلى الارتفاع المعنوي الحاصل ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الحديد الحر في مصل الدم للمجاميع G2, G3, G4 طول فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إلى عدم وجود فروق معنوية ( $P > 0.05$ ) في مستويات أعداد كريات الدم الحمر RBC وحجم مكدهم الدم PCV وأعداد كريات الدم البيض WBC ومعدل حجم كرية الدم MCV ومعدل محتوى هيموغلوبين MCH ومعدل تركيز الهيموغلوبين Hb كما أظهرت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الحديد الحر في مجموعة الأرانب المزالة المبايض G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1. وقد جاءت هذه النتيجة متفقة مع Zimmermann & Hurrell (2011, السلامي, 2007).

أن فترة الحيض Menstruation هي ظاهرة فسيولوجية Physiological Phenomenon تحدث عند النساء الشباب خلال الفترة الإنجابية وتوصف بكونها فترة ارتفاع مستويات هرمون الاستروجين والتي ينسلخ فيها بطانة الرحم Shedding of the

endometrium و عند رفع المبايض جراحياً أو وصول المرأة إلى مرحلة سن اليأس , فتتوقف الفترة الحيضية ويتراكم الحديد في الجسم , وهنا أدت إزالة المبايض جراحياً في هذه المجموعة إلى تراكم الحديد في الجسم (Sullivan, 1981) .

إن الانخفاض المعنوي في المعايير الدمية والتي أشارت إليها الدراسة الحالية قد يعود بسبب الحقن العضلي بدكستران الحديد الذي أدى إلى توليد عدد من الجذور الحرة والتي تتولد من الارتفاع المعنوي للحديد الحر في الجسم حسب تفاعل الفنتون وبشكل أساسي جذر الهيدروكسيل (Barham et al., 2004) إذ يعمل جذر الهيدروكسيل على مهاجمة الإنزيم المختزل للمتهيموكلوبين Methemoglobin reductase الموجود في كرية الدم الحمراء والذي يعتبر الإنزيم المسؤول عن تحول المتهيموكلوبين MetHb إلى الأوكسيهيموكلوبين OxyHb , إذ أن كريات الدم الحمراء ليس لها القدرة على إعادة توليد هذا الإنزيم نتيجة لافتقارها إلى النواة ونتيجة لاستنفاد هذا الإنزيم لذلك تكون كرية الدم الحمراء أكثر عرضة للإضرار التأكسدية ولتكون أجسام هينز HbB وبالتالي تكون أكثر عرضة للتكسر في جيوب الطحال الضيقة (Josef, 2007) والذي يؤدي إلى حصول انخفاض في معدل أعداد كريات الدم الحمراء RBC وحجم مكدهاس الدم PCV والهيموكلوبين Hb , أو تكون كريات الدم الحمراء التي وصلت إلى الدم المحيطي تحمل كمية إضافية من  $\alpha$ -globin الذي يعمل على زيادة تكون أجسام هينز وزيادة مستوى ROS الذي بدوره يؤدي إلى تحطم كريات الدم الحمراء (Bank, 2005; Khani et al., 2007)

إن فقدان الدم في الدورة الحيضية يكون عامل حماية للمرأة من أمراض القلب والأوعية التاجية وأن توقفها يؤدي إلى تراكم الحديد الذي ينعكس في رفع مستويات بروتينات الحديد كالفرتين Ferritin. وعدم إصابة النساء بأمراض القلب المرتبطة بالحديد (Betsy et al., 2009) .

أن تكرار الحقن العضلي بمادة دكستران الحديد Iron dextran أدى إلى إشباع الترانسفيرين وزيادة مستوى الحديد  $Fe^{+3}$  وكما أصبح معروف أن ايونات الحديد ليس لها القدرة على نقل الأوكسجين في الدم وبالتالي تقل كمية الأوكسجين المجهزة لها من احتمال تكسرها لعدم حصولها على الأوكسجين الكافي لإدامة حياتها وهذا يتفق مع ماجاء به (Kaneto et al., 1997) .

كما بينت النتائج وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى حجم كرية الدم MCV ومحتوى معدل هيموغلوبين MCH بعد الحقن العضلي بمادة دكستران الحديد Iron dextran مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع عدة دراسات (Meral et al., 2000; Akar

( السلامي, 2011 ; 2002, Gokge & ) حيث تشير إلى انخفاض معدل كرية الدم الحمراء و MCH أي حصول حالة فقر الدم العام من نوع الصغير Microcytic وقليلة الصباغ hypochromaic anemia .

وتشير النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في أعداد خلايا الدم البيض WBC بعد الحقن العضلي بمادة دكستران الحديد Iron dextran وهذا يتفق مع ما جاء به ( الكريطي , 2011 ) و ( Hodge et al ., 1999; Cohen et al ., 2003 ) إذ يتضح إن زيادة نسبة جذور الحديد الحرة ممكن أن تؤدي إلى تلف في نسيج الطحال الذي بدوره يؤدي إلى ارتفاع نسبة مستوى أعداد كريات الدم البيض WBC , إضافة إلى تضرر نخاع العظم والجهاز اللمفاوي بفعل الجذور الحرة وهذه الأسباب كانت مسؤولة عن ارتفاع نسبة كريات الدم البيضاء (Piga et al., 2005).

وأظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الحديد الحر في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 ومجموعة الأرانب المعرضة فقط بفرط الحديد G4 مقارنة بمجموعة السيطرة بعد الحقن العضلي بدكستران الحديد ويمكن أن تفسر حالة الارتفاع العالي للحديد في المصل في المجموعة المعرضة لإزالة مبايض وفرط الحديد بسبب تراكم الحديد أولاً في الجسم بسبب انخفاض تركيز هرمون الاستروجين في الجسم وتراكم الحديد بسبب الحقن العضلي المفرط وهذا يتفق مع (الكريطي , 2011 ؛ السلامي, 2011) و (Jian et al., 2009) 4.

#### 4-16 التغيرات في معدل تركيز الموندلديهايد MDA .

يشير الجدول ( 4-4 ) إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الموندلديهايد في مجموعة الأرانب المزالة المبايض فقط G2 خلال مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

ويشير الجدول إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الماندلديهايد في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 خلال مدة التجربة ومقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

ويلاحظ في الجدول وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الموندلديهايد في مجموعة الأرانب المعرضة لفرط الحديد من دون إزالة مبايض G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

جدول (4-4) تأثير إزالة المبايض وفرط حغن الحديد في معدل تركيز (MDA ,GSH) في إناث الأرانب

المجاميع	MDA	GSH
السيطرة G1	1.97 a 1.04± A	8.87a 1.32 ± A
الأرانب المزالة المبايض G2	3.27 b 2.29 ± B	6.30 b 1.18 ± B
الأرانب المزالة المبايض وفرط الحديد G3	9.30 b 1.37 ± C	5.01 b 1.34 ± C
الأرانب فرط الحديد بدون إزالة G4	3.47 b 1.25 ± B	5.43 b 2.25 ± C

المعدل ± الخطأ القياسي , n = 5 / مجموعة .

الحروف المختلفة الكبيرة تدل على وجود فروقات معنوية افقيا عند مستوى احتمالية (P < 0.05)

الحروف المختلفة الصغيرة تدل على وجود فروقات معنوية عموديا عند مستوى احتمالية (P < 0.05)

#### 17-4 التغيرات في معدل تركيز الكلوتاثيون.

نلاحظ من الجدول (4-4) إلى وجود انخفاض معنوي (P < 0.05) في معدل تركيز الكلوتاثيون في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض فقط G2 خلال فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

كما يشير الجدول إلى وجود انخفاض معنوي (P < 0.05) في معدل تركيز الكلوتاثيون في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد حقنا G3 ومجموعة الحيوانات المعرضة لفرط الحديد G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 و G2، كما لوحظ تأثير معنوي (P < 0.05) للفترة الزمنية على المجاميع فيما عدا مجموعة السيطرة .

أشارت الدراسة الحالية إلى حدوث انخفاض معنوي (P < 0.05) في تركيز الكلوتاثيون في المصل في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض فقط G2 وهذه النتيجة تتوافق مع ما لاحظته (Weitzmann & Pacifici, 2006) من حدوث انخفاض معنوي في مستوى كلوتاثيون في الجرذان مستأصلة المبايض , ويتضح من التغيرات السابقة أهمية الاستروجين في تنظيم واستقرار مستوى كلوتاثيون الأنسجة وتثبيت أكسدة البروتينات الدهنية وبيروكسدة الدهن في أنسجة الحيوانات (Rificia & Khachadurian, 1992) وان الانخفاض في مستوى كلوتاثيون في إناث الأرانب المعرضة للإجهاد التأكسدي يمكن إن يعزى إلى أكسدة الكلوتاثيون GSH أو انخفاض تخليقه , والذي له دور كبير في كبح أنواع جزيئات الأوكسجين الفعالة

المتسببة في تحطيم أو هدم الخلايا , وجد أن مصدر الكلوتاثيون المختزل في الدم هو كريات الدم الحمر التي تحوي على أكثر من 99 % منه ( Schulz *et al.* ,2003 ) إذ إن الكلوتاثيون يشترك في العديد من العمليات الحيوية المهمة منها بناء البروتينات والنيوكليوتيدات وهو يساهم أيضاً في فعالية بعض الإنزيمات من خلال عمله كمادة أساسية Substrate أو كمرافق إنزيمي ( Co- enzyme ) لبعض العمليات الإنزيمية في الخلية , (Kerksick & Willoughby , 2005) لذا فإن انخفاض مستواه في المصل والأنسجة يعد مؤشراً على زيادة الإجهاد التأكسدي (Wohaieb *et al.*, 1994) .

وقد أظهرت الدراسة الحالية ارتفاع مستوى المألوندايالهايد في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض G2 أيضاً مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 . إن الزيادة في مستوى المألوندايالديهايد يرافقها زيادة في مستوى البروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليسترول في مصل الدم وذلك لكون المألوندايالديهايد ناتج من أكسدة البروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليسترول وتحويلها إلى البروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليسترول المؤكسدة ox-LDL حيث يعمل على تغيير خصائص وظائفه (Tian *et al.* ,1991) وتحدث بيروكسدة الدهون من خلال مهاجمة جذور الأوكسجين الحرة للأحماض الدهنية المشبعة أو غير المشبعة (Halliwell ,1993)

كما أظهرت النتائج في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 ومجموعة الأرانب المعاملة بفرط الحديد G4 إلى ارتفاع مستويات المألوندايالديهايد وانخفاض مستويات الكلوتاثيون في المصل مما يدل على حدوث أجهاد تأكسدي عالي بسبب انخفاض مستوى تركيز هرمون الاستروجين وارتفاع تراكم الحديد بشكل عكسي مع انخفاض تركيز الاستروجين ومع فرط الحقن العضلي للحديد مما يقود إلى توليد الجذور الحرة من تفاعلات الفنتون للحديد وزيادة الإجهاد التأكسدي الكلوتاثيون المختزل يساعد على حث الإجهاد التأكسدي والذي بدوره يقلل من تركيز إنزيم (Glutathion Peroxidase) في الكبد والقلب وبالتالي ازدياد الإجهاد التأكسدي وازدياد معدل تركيز المألوندايالديهايد ونقصان الكلوتاثيون حيث إن هناك علاقة وثيقة بين المألوندايالديهايد وكثافة عمليات الأكسدة لكونه الحساس للبادئ من عمليات بيروكسيد الهيدروجين ويسهل تحويلها إلى جذور الهيدروكسيل والذي يكون النقطة الأساسية أو البادئة لأكسدة الدهون في الجسم .

وبما أن الكلوتاثيون GSH المختزل من أهم مصادر الأكسدة الداخلية عمره النصف 3-4 أيام وهو من أوفر مركبات الثايول تواجداً في أنسجة اللبائن , (Kerksick & Willoughby , 2005) تنتقل جريئة GSH المصنعة داخل الخلايا إلى السوائل الجسمية عبر أغشية الخلايا وله

أهمية في العديد من العمليات الحيوية المهمة منها بناء البروتينات ويساهم في فعالية بعض الإنزيمات من خلال عمله كمادة أساس Substrate أو مرافق إنزيمي لبعض العمليات الحيوية للخلية (Townsend *et al.* , 2003) كما إن له أهمية كونه احد أهم الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة من خلال عمله كعامل مساعد للعديد من الإنزيمات المسؤولة عن إزالة سمية المركبات المؤكسدة , كأصناف الاوكسيجين الفعالة لـRO مثل إنزيم (Glutathion peroxiday و Glutathion transferse) (Kojima , 2004) كما إن له دور في حماية البروتينات التي تشترك في بناء الحوامض النووية والتي لها دور في إصلاح المادة الوراثية , (Higurchi , 2004) لذا فان انخفاض مستوى الكلوتاثايون هو دليل قاطع على الإجهاد التأكسدي الحاصل بسبب الجذور الحرة التي هاجمت أنسجة الجسم وبالأخص نسيج الكبد والقلب .

#### 18-4 التغيرات في معدل تركيز إنزيم اللاكتيك ديهيدروجينيز LDH

يشير الجدول (4-5) إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز أنزيم اللاكتيك ديهيدروجينيز LDH في مجموعة الأرانب المزالة المبايض G2 طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 وبالمقارنة مع باقي المجاميع . كما يشير الجدول إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز إنزيم اللاكتيك ديهيدروجينيز LDH في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ومجموعة G2 و G4 . كما أشار الجدول إلى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز إنزيم اللاكتيك ديهيدروجينيز LDH في مجموعة الأرانب المعاملة بفرط الحديد فقط دون الإزالة للمبايض طول مدة التجربة G4 مقارنة مع باقي المجاميع .

جدول (4-5) تأثير إزالة المبيض والحقن بالحديد في معدل تركيز إنزيم اللاكتيك ديهيدروجينيز LDH  $\mu\text{m/l}$  في إناث الأرانب

المجاميع	السيطرة	إزالة المبيض فقط	إزالة المبيض + فرط الحديد	فرط الحديد دون إزالة المبيض
المدة	G1	G2	G3	G4
قبل المعاملة	a 97.80 A $\pm$ 8.21	a 97.09 A $\pm$ 7.13	a 92.80 A $\pm$ 2.55	a 97.75 A $\pm$ 2.54
بعد ثلاثة من أشهر المعاملة	a 98.12 A $\pm$ 7.54	b 113.94 B $\pm$ 9.68	b 234.86 C $\pm$ 12.17	b 191.39 D $\pm$ 16.18

المعدل  $\pm$  الخطأ القياسي , n = 5 / مجموعة .

الحروف المختلفة الكبيرة تدل على وجود فروقات معنوية أفقياً عند مستوى احتمالية (P < 0.05)

الحروف المختلفة الصغيرة تدل على وجود فروقات معنوية عمودياً عند مستوى احتمالية (P < 0.05)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الارتفاع المعنوي (P < 0.05) في معدل تركيز إنزيم اللاكتيك ديهيدروجينيز LDH في مجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبيض فقط G2 ومجموعة الأرانب المعرضة لإزالة المبيض والمعاملة بفرط الحديد G3 ومجموعة الأرانب المعاملة بفرط الحديد فقط G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 إن إنزيم LDH دوراً مهماً في التنفس الخلوي من خلال أهميته في ايض الكلوز في إنتاج الطاقة , ونتيجة لقلة مستوى تركيز هرمون الاستروجين والارتفاع في مستوى تركيز الحديد الحر من خلال تفاعلات فنتون Fentin تتولد الجذور الحرة الاوكسيجينية (Selwoad & Jaffe , 2011) والتي تعمل على أكسدة الدهون ومن ثم حدوث التحطم الخلوي وبالتالي الضرر النسيجي وارتفاع مستوى إنزيم LDH في مصلى أرانب الدراسة الحالية . وبما إننا استخدمنا في هذه الدراسة عدة إنزيم اللاكتيك ديهيدروجينيز الخاص بعضلة القلب إذن هذا مؤشر عن وجود خلل في عضلة القلب بسبب الإجهاد الحاصل في انخفاض مستوى تركيز هرمون الاستروجين وفرط الحديد.

## التغيرات في موجات القلب الكهربائية Electrocardiograph

### 19-4 تأثير إزالة المبيض في موجات القلب الكهربائية ECG

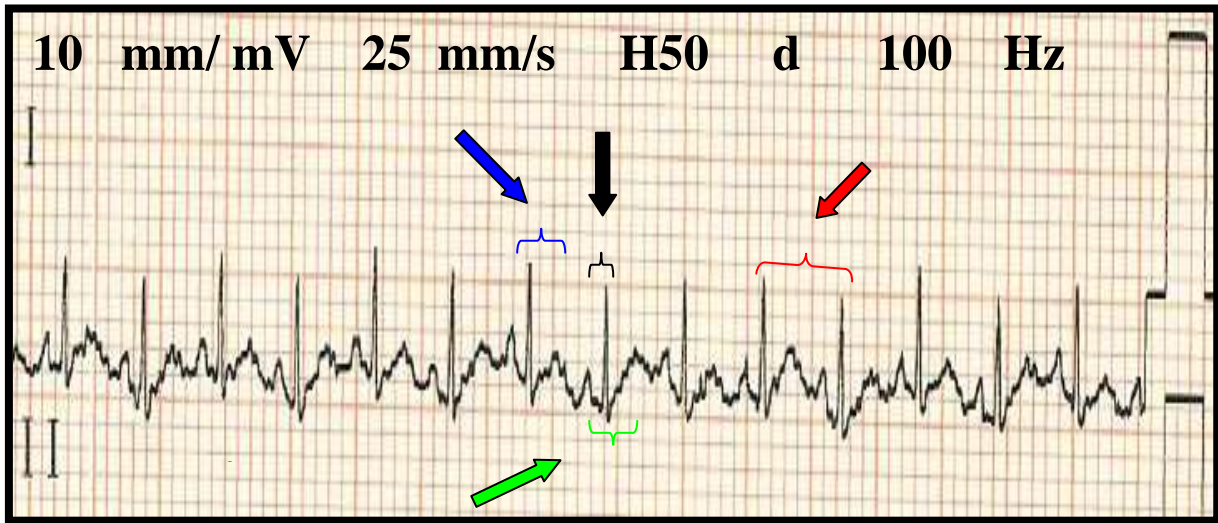
يلاحظ من الشكل (4-1) تخطيط قلب كهربائي لأنثى أرنب تمثل مجموعة السيطرة

بان :-

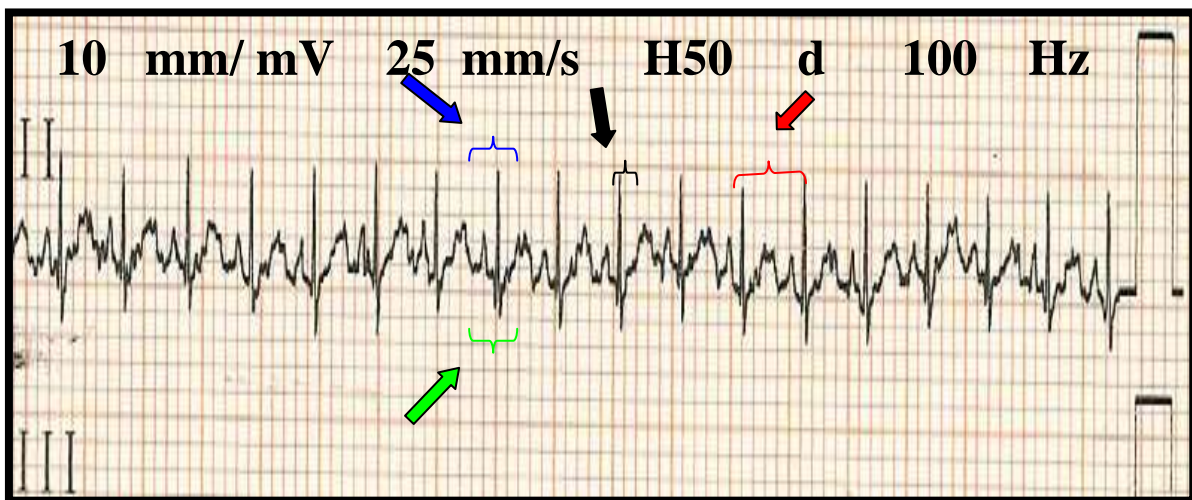
- النسبة لمعدل المسافة بين R-R يساوي 0.24 ملي ثانية .



- طول المدة الفاصلة في انقباض وانبساط البطين والتي تمثل بـ QT interval تساوي 0.12 ملي ثانية
- النسبة لمعدل الفترة الفاصلة لـ P-R interval والتي تمثل (الوقت اللازم لاندفاع الإشارة الكهربائية من الأذنين إلى العقدة الأذينية - البطينية) تساوي 0.08 ملي ثانية .
- قيمة الموجة الكهربائية المركبة QRS complex والتي تمثل (زوال الاستقطاب في البطينين) تساوي 0.06 ملي ثانية .



شكل (1-4) تبين المخطط البياني لقلب أنثى أرنب تمثل مجموعة السيطرة G1 ونلاحظ من المخطط النظمية لضربات القلب طبيعية

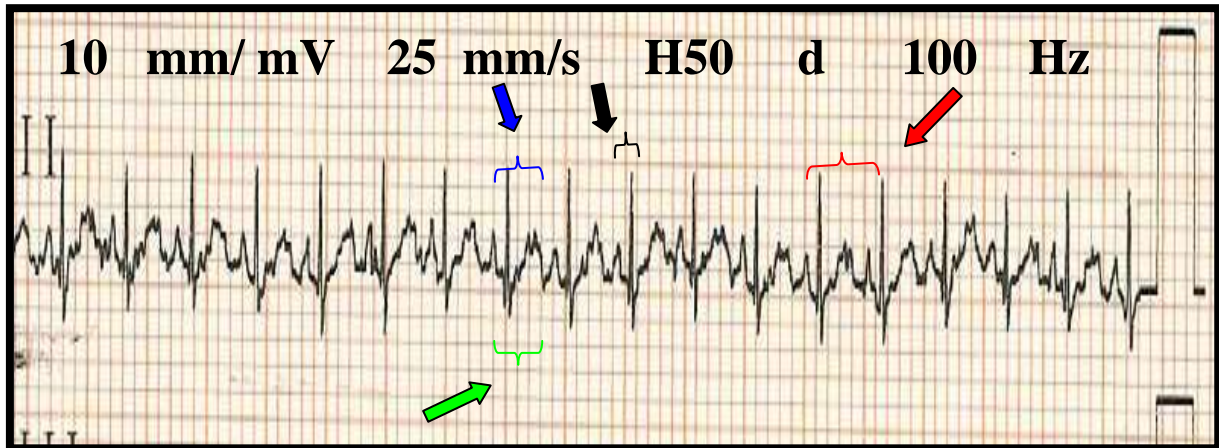


شكل (2-4) يبين المخطط البياني لقلب أنثى أرنب تمثل مجموعة الحيوانات مزالة المبايض (G2) ويشير الشكل إلى حالة التسارع في نظمية القلب Tachycardia .

يلاحظ من الشكل (2-4) إلى قصر المسافة (R-R) إذ بلغت 0.20 mm/s أي وجود حالة تسارع بضربات القلب (Tachycardia), وكما يلاحظ من الشكل إلى قصر الفترة الفاصلة (Short QT interval) فأصبحت تساوي 0.11 mm/s كما يظهر الشكل قصر المسافة بمربع واحد للفترة الفاصلة لـ PR- interval فأصبحت تساوي 0.06 ملي ثانية وقصر في قيمة الموجة المركبة QRS complex بمربع واحد فأصبحت تساوي 0.02 ملي ثانية مقارنة مع مجموعة السيطرة G1

#### 4-20 تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد في موجات القلب الكهربائية ECG

نلاحظ من الشكل البياني (3-4) إلى قصر المسافة لنظمية القلب R-R Rhythm إذ تساوي 0.20 mm/s وهي اقصر في المسافة مقارنة مع مخطط القلب لمجموعة السيطرة, كما يلاحظ أن الفترة الفاصلة للـ QT interval كانت مشتتة (أي عدم تساوي المسافة للفترة الفاصلة) وقصر في قيمة الفترة الفاصلة PR-interval فأصبحت تساوي 0.06 ملي ثانية وقصر في قيمة الموجة المركبة QRS complex فأصبحت تساوي 0.02 ملي ثانية مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 و مجموعة الحيوانات مزالة المبايض G2



شكل (3-4) تبين المخطط البياني لمجموعة الحيوانات المعرضة لإزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد G3 إلى تأثير فرط الحديد وانخفاض مستوى تركيز هرمون الاستروجين على النظمية وحصول Tachycardia.

إن نتائج الدراسة الحالية تشير إلى الانخفاض المعنوي في مستوى تركيز هرمون الاستروجين والنتائج من إزالة المبايض حيث اثر وبشكل مباشر على انبساط عضلة القلب البطيني حيث ظهرت التغيرات المعنوية ( $P < 0.05$ ) على مخطط القلب الكهربائي على الفترة

الفاصلة للانقباض وانبساط عضلات البطين في القلب فأصبحت اقصر QT short وأيضاً من خلال قصر المسافة للفترة الفاصلة PR- interval وقصر في الموجة المركبة QRS complex وان أي تغير في قيمة الفترة الفاصلة للـPR و QRS تعني علامة تشخيصية إلى عدم انتظام نظمية القلب أو تضخم البطيني Ventricular hypertrophy أو احتشاء عضلة القلب أو اختلال كهربائي في خلايا عضلة القلب Electrolyte derangement (ذياب وجماعته, 2009). وقد لاحظنا من الدراسة الحالية بأن هناك ميكانيكية جزئية ذات علاقة وطيدة مع انخفاض مستويات تركيز هرمون الاستروجين تؤثر على قصر الفترة الفاصلة لانقباض وانبساط عضلات البطين, حيث إن انخفاض مستوى تركيز هرمون الاستروجين في الجسم يغير من التعبير الجيني لقنوات البوتاسيوم Potassium channels وهذا ما أكده (Sebastien *et al.* , 2003) والذي ينظم مرحلة عودة استقطاب خلايا عضلة القلب, من خلال جهد الفعل الذي ينعكس على المدة الفاصلة لموجة QT interval (Luhr *et al.* , 2000) إن عملية إزالة المبايض تؤدي إلى انخفاض مستوى تركيز هرمون الاستروجين والذي يؤثر على موجات القلب الكهربائية من خلال اضطرابات في نظمية القلب Arrhythmia وحصول حالة التسارع في ضربات القلب Tachycardia, الناتجة من التغيرات في فترة جهد الفعل (APD) Action Potential Duration المرتبطة بالتغيرات في سرعة خروج كثافات تيارات ايونات البوتاسيوم من قنوات البوتاسيوم –الصوديوم ( Outward K<sup>+</sup> Current Densities) في منطقة Pacemaker وبالتالي الاضطرابات في نظمية ضربات عضلة البطين والتسارع فيها Ventricular repolarization حيث أن دور هرمون الاستروجين في انخفاض مستوى التنظيم لتيارات ايونات البوتاسيوم Down regulating K<sup>+</sup> Current Densities وهذا ما أكده (Tomoak *et al.* , 2009) وقد لاحظ Nakagawa وآخرون بان المدة الفاصلة لموجة QT interval تكون اقصر عند إناث الفئران في مرحلة الجسم الأصفر Luteal phase وهي المرحلة التي ينخفض فيها معدل تركيز هرمون الاستروجين مقارنة مع مرحلة الجريبات Follicular phase التي يكون معدل تركيز هرمون الاستروجين عالي حيث تكون المدة الفاصلة لموجة QT interval طويلة (Nakagawa *et al.* , 2006) وان تأثير هرمون الاستروجين المعالج للنساء بعد سن اليأس يؤثر على انبساط القلب البطيني (Haseroth *et al.* , 2000; Carnethon *et al.* , 2003), وقد اثبت بأن الأرانب المزلة المبايض والمعاملة بجرع من هرمون الاستروجين يؤدي إلى إطالة موجة QT prolongation وذلك بسبب انخفاض التعبير الجيني لقنوات البوتاسيوم وبشكل تنظيمي يتناسب

مع الاختلافات الجينية في قنوات البوتاسيوم من صنف (*HK2* و *Kv 1.5*) في خلايا أنسجة البطين .

إن قصر موجة QT interval ربما يعود السبب إلى حدوث طفرة في قنوات البوتاسيوم وبالأخص في مواقع بدء النسخ الجيني سبب استئصال المبايض إلى تضخم عضلة البطين في بعض الحالات Hypertrophied, وان نتائج مجموعة الأرانب المزالة المبايض سببت قصر في موجة QT والتي تمثل فترة انقباض وانبساط القلب في البطين إلى ارتفاع مستوى تنظيم Up regulation صناعة قنوات البوتاسيوم بسبب انخفاض مستوى المنظم وهو الاستروجين وبالتالي زيادة جهد الفعل وازدياد تقلص العضلة وعدم الوصول إلى فترة زوال الاستقطاب ونتيجة ذلك يحصل اضطرابات في نظمية ضربات القلب Arrhythmia وقصر المسافة للفترة الفاصلة لعودة استقطاب خلايا عضلة البطين .

كما تظهر النتائج لمجموعة الأرانب المزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد تأثير كلاً من انخفاض تأثير هرمون الاستروجين على عضلة القلب وتأثير ازدياد تراكم الحديد في خلايا عضلة القلب ويظهر ذلك من خلال عدم انتظام ضربات القلب (R-R) Arrhythmias قصر المسافة مقارنة مع مجموعة المقارنة و أيضاً تشتت الفترة الفاصلة لموجة QT Dispersion حيث يظهر اختلافات في المعدل الزمني للفترة الفاصلة للـ QT interval وهذا يدل على وجود خلل في عضلة القلب وبالأخص في عضلات البطين للقلب .

إن تراكيز هرمون الاستروجين الطبيعية ينظم عملية الخروج السريع لايونات البوتاسيوم (*I<sub>to,f</sub>*) Fast-transient outward K<sup>+</sup> current وبالتالي يؤدي إلى إطالة QT Prolongation interval وهذا يؤدي إلى انخفاض مستوى التنظيم للتعبير الجيني لقنوات البوتاسيوم لكل من (*Kv 4.3 & Kv 1.5*) مما يدل على وجود علاقة جزئية لإطالة QT interval عند ارتفاع مستوى الاستروجين (Tomoak et al ., 2009).

وبما إن انخفاض مستوى الاستروجين بسبب الإزالة للمبايض للأرانب فتكون العلاقة عكسية أي أن انخفاض مستوى تركيز الاستروجين أدى إلى ارتفاع مستوى التعبير الجيني للقنوات البوتاسيوم من نوع (*Kv 4.3 & Kv 1.5*) , وكما أن مستقبلات هرمون الاستروجين Estrogen receptor بشكل طبيعي تقمع أو تقلل من التعبير الجيني لقنوات الكالسيوم Ca<sup>+</sup> channels من نوع L-type Ca<sup>+</sup> channel في عضلة القلب وان تحطم أو تعطيل هذه المستقبلات يحدث من خلال انخفاض مستوى هرمون الاستروجين عند سن اليأس أو عند إزالة المبايض جراحياً ينعكس بازدياد التعبير الجيني لهذه القنوات Ca<sup>+</sup> channels من نوع L-type Ca<sup>+</sup> channel (Johnson. et al ., 1997; Sarkar et al ., 2008) وقد

لاحظ ذلك من خلال تحطم المستقبلات لهرمون الاستروجين في عضلة قلب الفئران وبالأخص في البطين من خلال غياب الاستروجين جراحياً أدى إلى ازدياد في التعبير الجيني لقنوات الكالسيوم من نوع L-type  $Ca^{2+}$  channels في نسيج البطين ventricular myocytes وبالمقابل التأخير في عودة استقطاب البطين QRS وقصر المسافة في المدة الفاصلة QT interval وبالتالي إلى تخلخل نظمية القلب Arrhythmia كما يلاحظ هذا التأثير في النساء في سن اليأس أو النساء مزالة المبايض جراحياً ويؤدي إلى الهياجية Excitability والانقباضية Contracility وبالتالي إلى قصر R-R وقصر QT interval (Johnson *et al.* 1997).

كما أشارت نتائج موجات القلب الكهربائية إلى حصول حالة التسارع (Tachycardia) لمجموعة إناث الأرانب المزالة المبايض والمعرضة لفرط الحديد إذ إن انخفاض مستوى هرمون الاستروجين يؤدي إلى خلل في تنظيم قنوات البوتاسيوم والصوديوم من خلال زيادتها Upregulated إما الزيادة الحاصلة في تراكيز الحديد الحر بالجسم نتيجة الجرعات التصاعدية على طول فترة التجربة , فإن ميكانيكية تأثير فرط الحديد على خلايا عضلة القلب من خلال توليد الحديد الحر للجذور الحرة Per oxidative stress الذي يؤثر على المادة الوراثية DNA وبالتالي يؤثر على وظائف قنوات الصوديوم والبوتاسيوم بالإضافة إلى تحطيمه للغشاء الدهني للخلية والبروتينات (Kuryshev *et al.* 1999) , وربما يكون التأثير على تحويل قنوات الصوديوم- بوتاسيوم ضمن الغشاء الخلوي لخلية العضلة القلبية للقنوات المطمورة بالغشاء وتسبب الجذور البيروكسدية المتولدة من الحديد الحر إلى حدوث تغيرات في الأحماض الدهنية في غشاء الخلية والتأثير على إنزيمات التنفس الخلوي في المايوتوكونديريا وبالتالي الانخفاض في ATP والذي يؤدي إلى التغيرات في الفسفرة Phosphorylation لبروتينات قنوات الصوديوم – بوتاسيوم وبالتالي يؤثر على حالة التوازن في داخل الخلية و ثم خلل في القلب وتشنت QT interval وبالتالي اعتلال وفشل القلب وربما يؤدي إلى طفرات للمادة الوراثية, وهنا في هذه المجموعة من الأرانب تعرضت لأجهادين هو انخفاض مستوى الاستروجين وفرط الحقة بالحديد فكانت النتيجة تشنت في QT interval Dispersion و Tachycardia وبما إن هذه المجموعة تعرضت لأجهادين وذات تأثير مباشر على عضلة القلب فلربما حصلت طفرة أو تغير في المادة الوراثية الخاصة بالقنوات الأيونية في نسيج عضلة القلب.

#### 21-4 تأثير فرط الحديد في موجات القلب الكهربائية ECG





Lipid peroxidation والذي يحفز الحديد للتفاعل lipoperoxidation فيؤدي إلى ازدياد فسفرة الغشاء الخلوي وتحطيم العضيات المرتبطة بالغشاء الخلوي وانخفاض مستوى الأحماض الدهنية غير المشبعة Reduction in polyunsaturated fatty acids (PUFAs) وازدياد إنتاج شكل البيروكسيد الدهني الخلوي وبالأخص الالديهايد السام Toxic aldehydes (Bartfay & Bartfay, 2000) وان نواتج الالديهايد مثل المانولديهايد Malon-dialdehyde وغيرها يعيق وظائف البروتينات والوظائف الخلوية الأخرى (Kerjaschki, 2001) وانخفاض عمل الإنزيمات الداخلية للتنفس في المايوتوكونديريا وانخفاض إنتاج الإنزيمات المضادة للأوكسدة Antioxidant enzyme مثل الكلوتاثايون Glutathione peroxidate وضعف وانخفاض عناصر الليف العضلي وانخفاض أعداد بيوت الطاقة .

ويظهر تأثير سمية الحديد على القلب من خلال التحفيز على بيروكسيده الدهون في الغشاء الخلوي والتغيرات الناتجة من تفاعلاتها مثل التغيرات في الإنزيمات المرافقة لعمل التراكيب الخلوية المطمورة في الغشاء الخلوي مثل قنوات الصوديوم - بوتاسيوم  $Na^+$  -  $K^+$  وATPase والبروتينات لمستقبلات الهرمونات وغيرها حيث تعمل الجذور الحرة على مهاجمة الإنزيمات من خلال تحويل وتغيير مجموعة السلفهايدريل Sulfhydryl groups للإنزيم والذي يؤدي إلى انخفاض نشاط قنوات البوتاسيوم - الصوديوم وبالتالي ازدياد جهد الفعل في عودة استقطاب العضلة القلبية والتغير في ايونات التوصيل وينتج زيادة تركيز ايون الصوديوم داخل الخلية ويحدث التحول للانعكاس الصوديوم إلى داخل الخلية عن طريق التبادل الأيوني بين الكالسيوم والصوديوم  $Ca^{+2}$  -  $Na^+$  exchange والذي ينتج عنه تدفق ايونات الكالسيوم بكثرة إلى داخل الخلية وهذا الكالسيوم المتدفق ربما يستمر بالتدفق بسبب قذف الكالسيوم  $Ca^{+2}$  extrusion بسبب تثبيط ايون الحديد لمضخة الكالسيوم على الليف العضلي النشطة Sarcolemmal  $Ca^{+2}$  pump وهكذا يستمر تدفق الكالسيوم بسبب إطلاقه من الشبكة الهيولية العضلية (SR) Sarcoplasmic reticulum وان تنافس ايون الحديد مع ايون الكالسيوم يزيد من تدفق الكالسيوم (Zeitz et al ., 2002) .

إن فرط الكالسيوم من خلال التبادل بين الصوديوم يترافق مع الاختلال الوظيفي للقلب وهذه الميكانيكية قد توضح الحالة الفيزيولوجية المرضية لوظيفة القلب بشكل مستمر أثناء التعامل بفرط الحديد , وبالتالي تقيد والتأخير للتوصيل الكهربائي وضعف النقل وانخفاض تيارات البوتاسيوم وانخفاض تيارات أيون الصوديوم يكون مرتبط مع فترة إطالة التعرض لجرع الحديد العالية تؤدي إلى قصور في فترة جهد الفعل مسبباً اضطرابات في التوازن الدقيق للتيارات

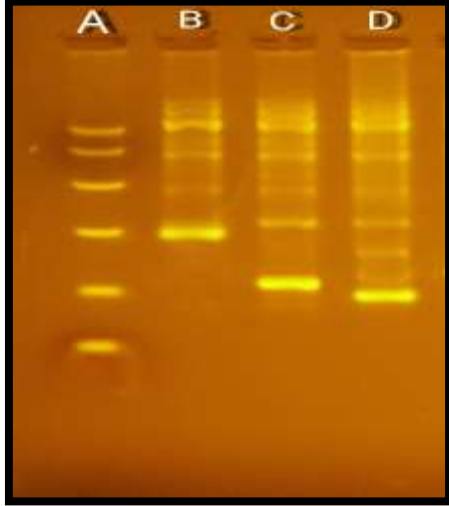
الكهربائية مما يؤخر دفعة التقلص وتشتت في QT interval وإطالة في R-R Rhythm وبالتالي Bradycardia (Lekawanviji & Chattipakorn , 2009) .

أن فرط الحديد عند مرضى الثلاسيميا  $\beta$ -thalassemia أو عند مرضى اضطراب الهيموغلوبين الوراثي Hereditary hemoglobinopathy والذي يسبب ضعف صناعة  $\beta$ -globin chain والذي يتطلب نقل الدم المتكرر (Oliver ,1999) وبالتالي فرط الحديد والذي يتراكم ويخزن في عضلة القلب يؤدي إلى مضاعفات حادة في القلب مثل عدم انتظام ضربات القلب الخبيث Malignant arrhythmia وفشل القلب Heart failure حيث أن فرط الحديد المزمن يمكن أن يؤدي عدة اختلافات وتشكيلات في عدم انتظام ضربات القلب وتقييد أو الحصر الأذيني البطيني Atrioventricular block وبالتالي نقص التوصيل Conduction defects واضطرابات النظم التسرعى Tachyarrhythmias وموت القلب المفاجئ Sudden cardiac death (SCD) في المرضى الذين لديهم تراكمات بالحديد في القلب (Oudit et al. ,2010)

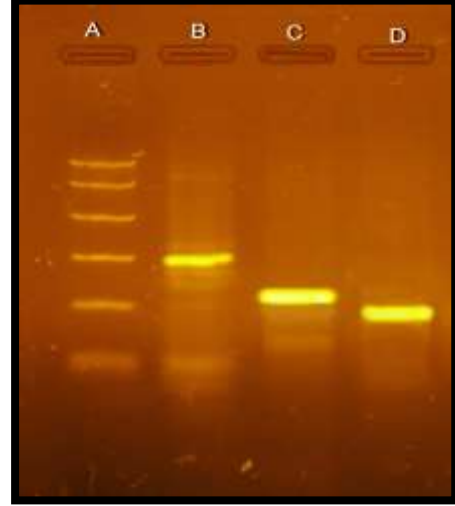
#### 4-22 التغيرات الجزيئية في القنوات الأيونية في نسيج عضلة القلب (البطين)

تم تفاعل أنزيم بلمرة الـ DNA المتسلسل باستخدام بادئات اعتماداً على الدراسة السابقة لـ Mazzone وجماعته (Mazzone et al . ,2008) إذ تبين الإشكال (4-5) و (4-6) و (4-7) و (4-8) الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز للـDNA لمجاميع الدراسة الحالية .

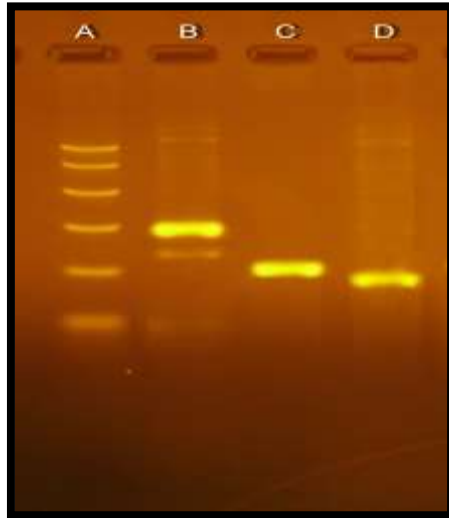




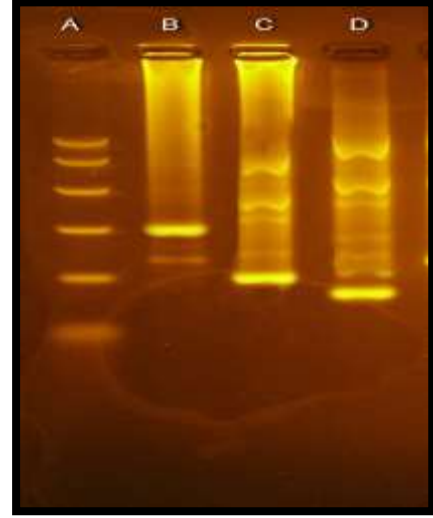
شكل (6-4) يمثل الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لـ DNA لمجموعة الأرانب المزالة المبيض G2 .



شكل 5-4 تمثل الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لـ DNA لمجموعة السيطرة G1 .



شكل (8-4) يمثل الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لـ DNA لمجموعة الأرانب المعرضة لفرط الحديد فقط G4 .



شكل (7-4) تمثل الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لـ DNA لمجموعة الأرانب المزالة المبيض والمعاملة بفرط الحديد G3 .

–المسار A يمثل DNA القياسي 100 bp DNA Ladder

2 – المسار B يمثل الترحيل الكهربائي للقطعة المستهدفة من الـ Exon ذات الحجم 385 bp

3 – المسار C يمثل الترحيل الكهربائي للقطعة المستهدفة من الـ Exon ذات الحجم 222 bp

4 – المسار D يمثل الترحيل الكهربائي للقطعة المستهدفة من الـ Exon ذات الحجم 180 bp

بتركيز 0.2 % ، 0.5 x ، TBE ، 70 v ، zom A ، ولمدة ساعة ونصف لكل المجاميع

بما أنه تم تضخيم القطع المستهدفة من Exon 1 (222) و Exon 2 (385, 180) بنجاح لمجموعة السيطرة ولبقية المجاميع المعاملة (G2, G3, G4) وبالاستناد إلى الدراسة الحديثة التي أجراها الباحث **Mazzone** وجماعته في عام 2008 على بروتين التليثونين Telethonin والذي يرتبط بتفاعلات مع قنوات الصوديوم - بوتاسيوم مما يعرقل ويغير من عمل هذه القنوات الموجودة فقد أشارت هذه الدراسة إلى عدم حدوث تغير في اكسونات بروتين التليثونين Telethonin protein المعروف بتفاعله مع القنوات الأيونية والذي يعمل بمثابة امتداد استشعار Stretch sensor والذي يشترك في نفس الموقع للتعبير الجيني لقناة الصوديوم *Na v1.5* المشفر بـ SCN5A . ويمكن تفسير هذه النتيجة ضمن الاحتمالين أدناه :-

- 1- أن عاملي إزالة المبايض أو فرط الحديد لم يؤدي إلى حدوث تغيرات وراثية في الـ DNA في كل من الاكسون I و II .
  - 2- قد يؤدي العاملان أعلاه إلى حدوث تغيرات وراثية تتمثل بحصول طفرة نقطية يتطلب تحديدها استخدام تقنية دراسة تسلسل متواليات الـ DNA (DNA Sequencing).
- إن التعبير الجيني للخلايا السريعة الانفعال مختلف في القنوات الأيونية والذي يسمح بالتبادل السريع الأيوني مع الفراغ الداخلي الخلوي وهذا التفاعل الأيوني ينتج عنه انعكاس لايونات الصوديوم وحصول حالة إزالة الاستقطاب, حيث أن وظيفة التعبير الجيني للصوديوم عند موقع *Na v1.5* موجودة في القلب والدماغ والأنبوبة المعوية , وتتغير هذه الوظيفة لقناة الصوديوم حسب التفاعل للبروتينات المرتبطة مثل تفاعلات بروتين التليثونين, وعند حصول اضطرابات في هذا الجين يؤدي إلى حصول أمراض في القلب أو (الدماغ و الأمعاء) وعدم انتظام تنظيمية القلب وقد أشارت الدراسة (**Mazzone , et al ., 2008**) إلى حصول طفرة وراثية في هذا الجين مما أدى إلى حصول انسداد كاذب معوي بسبب حدوث تغيرات في قنوات الصوديوم مما سببت مرض , من هذا نستنتج بان قد تكون هنالك تغيرات أو حدوث طفرة في اكسونات بروتين التليثونين والذي قد ينتج عنه تغير في وظيفة قناة الصوديوم عند *Na v1.5* .
- وان التليثونين هو بروتين صغير يزن (19Kda) كيلودالتن يعبر جينياً بشكل رئيسي في العضلات المخططة والقلبية والذي يرتبط ويتفسر بواسطة Kinase D, Titin Kinase وهو معروف بتفاعله مع عدد من البروتينات (**Mazzone , et al ., 2008**). لذا فإنه بالإمكان تحديد الطفرة النقطية في حال حدوثها ولكن ذلك يتطلب إلى أجهزة خاصة غير متوفرة لدينا وقد توفرت للباحث **Mazzone** وقد استطاع تحديد طفرة نقطية تم فيها استبدال قاعدة واحدة بأخرى

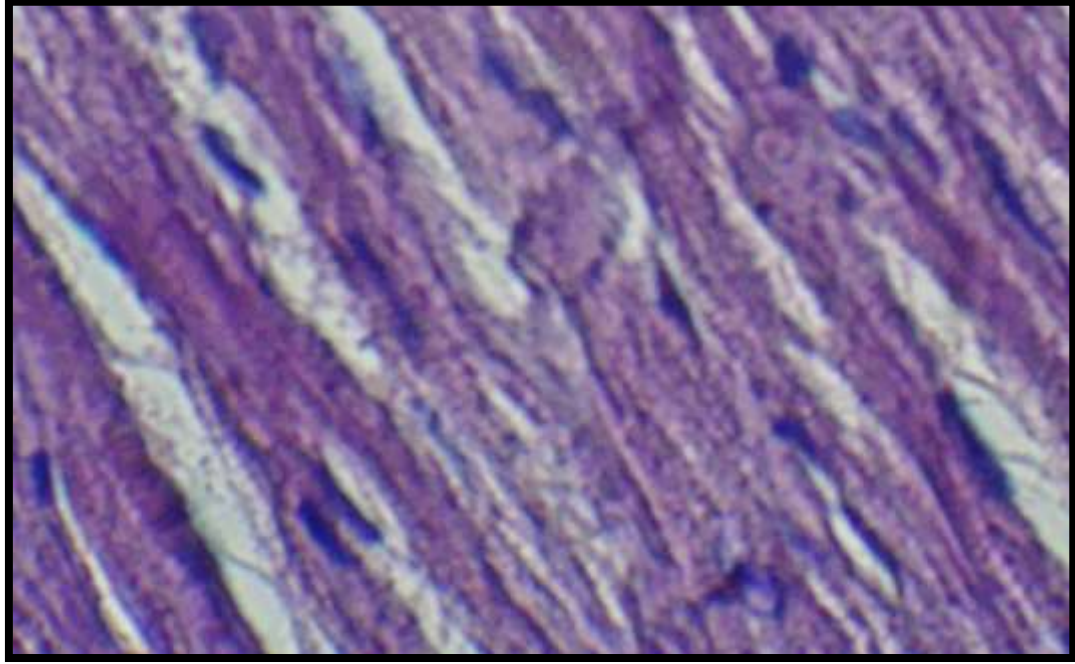
وبالتالي تم تغيير السلسلة الببتيدية للأحماض الامينية الناتجة والمسؤولة عن تصنيع بروتين التليوثونين .

## التغيرات النسيجية Histological changes

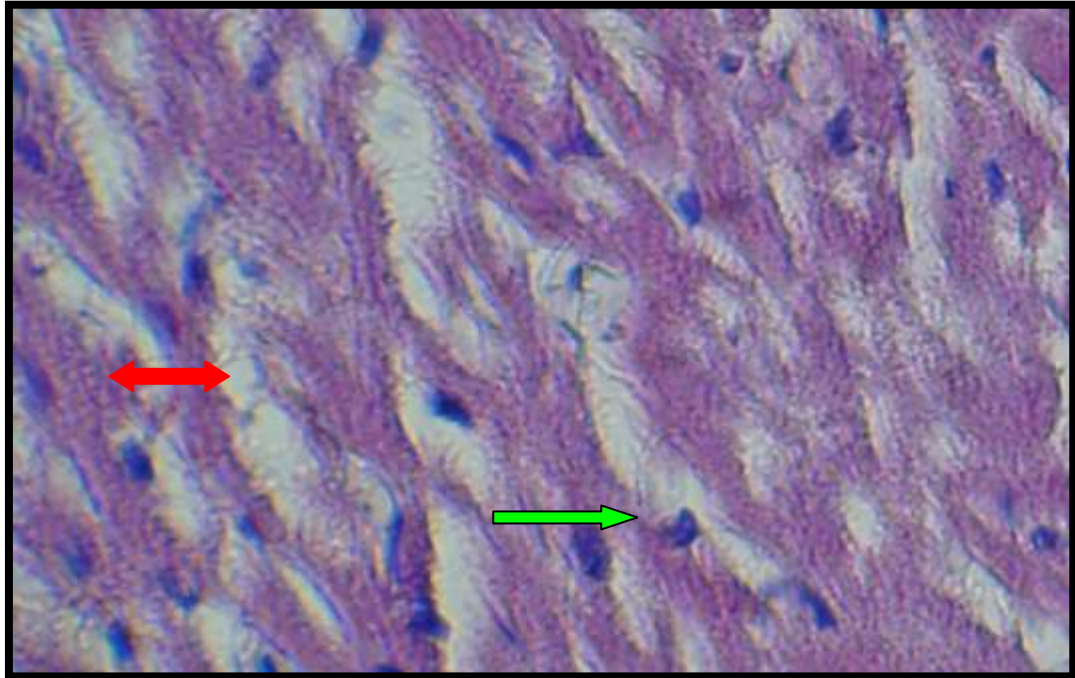
### 23-4 تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد على نسيج القلب

يلاحظ من الشكل (4-10) تأثير انخفاض مستوى تركيز هرمون الاستروجين بسبب إزالة المبايض في المجموعة المزالة منها المبايض G2 , إذ يلاحظ فقدان حالة الليف العضلي القلبي المميز و انفصال انويه الخلايا وعدم انتظام المقطع العضلي وانعزال الانوية عن الليف , احتشاء المسافات البينية بالسوائل مما يدل على حدوث حالة استسقاء Edema و تغلظ بعض الانوية Pyknotic nuclei. مقارنة مع الشكل (4-9) التي تمثل نسيج عضلة القلب في مجموعة السيطرة وقد جاءت هذه النتيجة متفقة مع ( Hamed et al . , 2010 ) .

إما في الشكل (4-11) والتي تمثل مجموعة الأرانب المعاملة فقط بفرط الحديد دون إزالة المبايض G4 فقد أظهرت نتائج المقاطع انفصال الانوية عن الخلايا , انفصال الخلايا عن النسيج و ترسبات الحديد Hemosiderosis ونزف دموي Hemorrhage وتنكس دهني واضح ما بين الالياف العضلية و تورم غائم Cloudy swelling وتنخر في النسيج Necrosis إما في المجموعة الأخيرة وهي مجموعة إناث الأرانب المعرضة لإزالة المبايض وفرط الحديد نلاحظ في الشكل (4-12) ترسب الحديد Hemosidrosis وانفصال الانوية عن الخلايا واضح في خلايا النسيج ونضوح دموي Hemorrhage وانكماش بالخلايا في الليف العضلي وازدياد في المسافات البينية و تليف النسيج الخلالي لنسيج عضلة القلب Interstitial fibrosis وتنكس دهني Vacular degeneration وارتشاح التهابي غير مؤثر Mild inflammatory infiltrate . جاءت النتائج متفقة مع ( Oudit et al . , 2004 ) و ( الكريطي (2011,



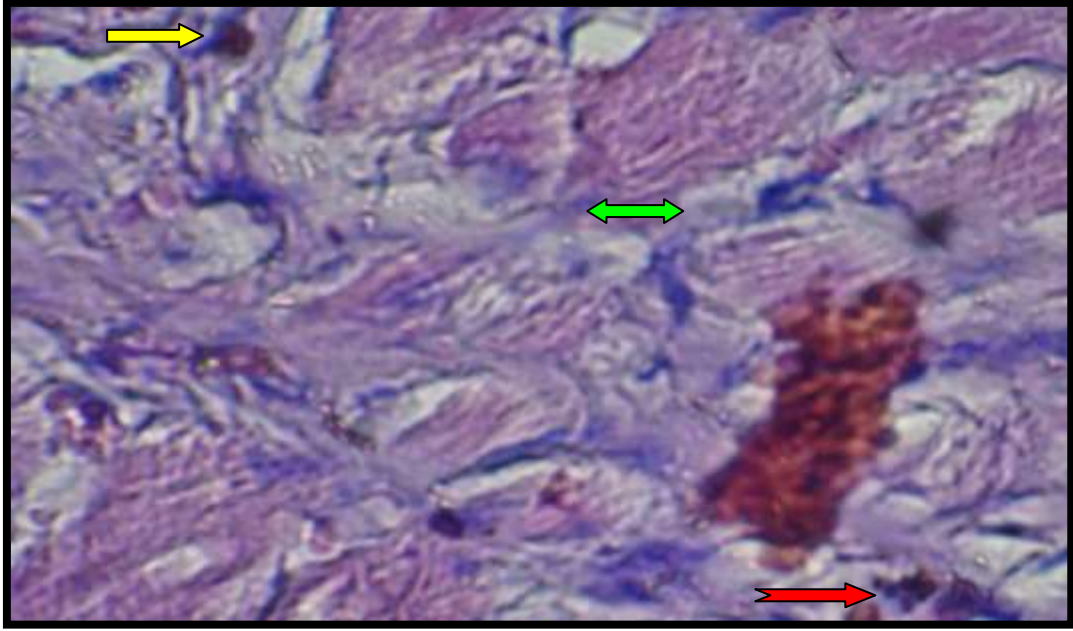
الشكل ( 9-4 ) تبين مقطع نسيجي من عضلة قلب أنثى أرنب (مجموعة السيطرة) (H & E 100X.)



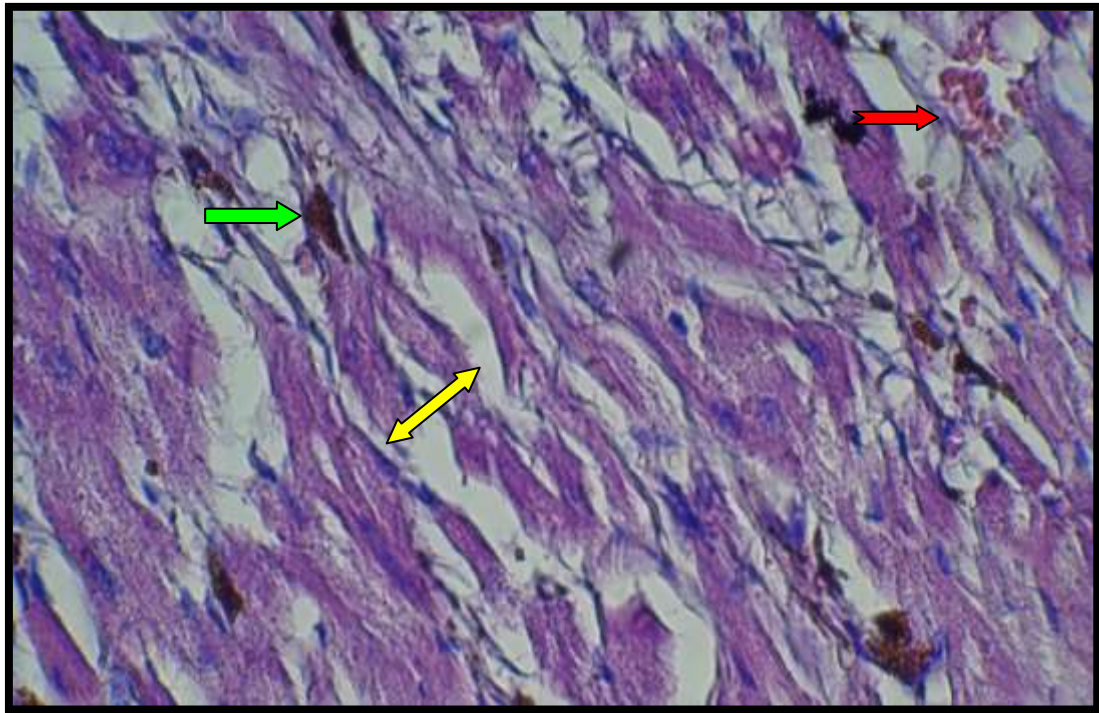
الشكل (10-4) تبين مقطع من نسيج القلب لمجموعة الأرانب المزالة المبيض يلاحظ فيها تنكس لخلايا

العضلة القلبية ← مع ملاحظة انفصال انويه الخلايا → (H & E 100X.)





الشكل (4-11) تبين مقطع نسيجي لعضلة قلب مجموعة الأرناب المعاملة بفرط الحديد، يلاحظ وجود نضح دموي  $\rightarrow$  ويلاحظ التناكس الدهني وانفصال الخلايا عن النسيج  $\leftrightarrow$  وترسبات الحديد  $\rightarrow$  والتناكس دهني واضح ما بين الألياف العضلية وتورم غائم Cloudy swelling وتخر في النسيج (H & E 400X.) Necrosis



الشكل (4-12) تبين مقطع من نسيج عضلة القلب لمجموعة الأرناب مزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد , ويلاحظ فيها ترسب الحديد Hemosiderosis  $\rightarrow$  وتناكس دهني fatty degeneration  $\leftrightarrow$  نزف دموي Hemorrhage  $\rightarrow$  (H & E 100X. )

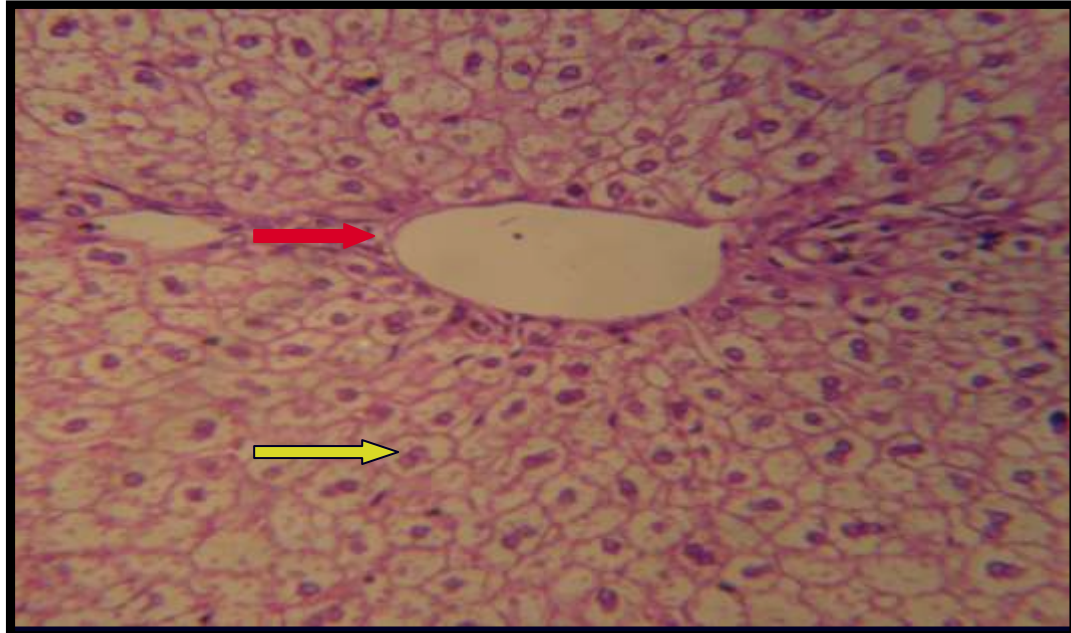
#### 24-4 تأثير إزالة المبايض وفرط الحديد على نسيج الكبد



تبين الشكل (4-13) مقطع مستعرض في نسيج الكبد لمجموعة السيطرة , حيث يلاحظ الوريد المركزي Central Vein مع الخلايا الكبدية Hepatic Cell , و الانوية Nuclei مركزية الموقع بشكلها الطبيعي .

أما في الشكل ( 4-14) تبين تأثير انخفاض مستوى تركيز هرمون الاستروجين على نسيج الكبد في مجموعة الأرانب المعرضة للإزالة المبايض حيث يظهر ترسب قطيرات الدهون في خلايا الكبد ( تغيرات نسيجية دهنية تشمع الكبد وتخر ) مقارنة مع مجموعة السيطرة.

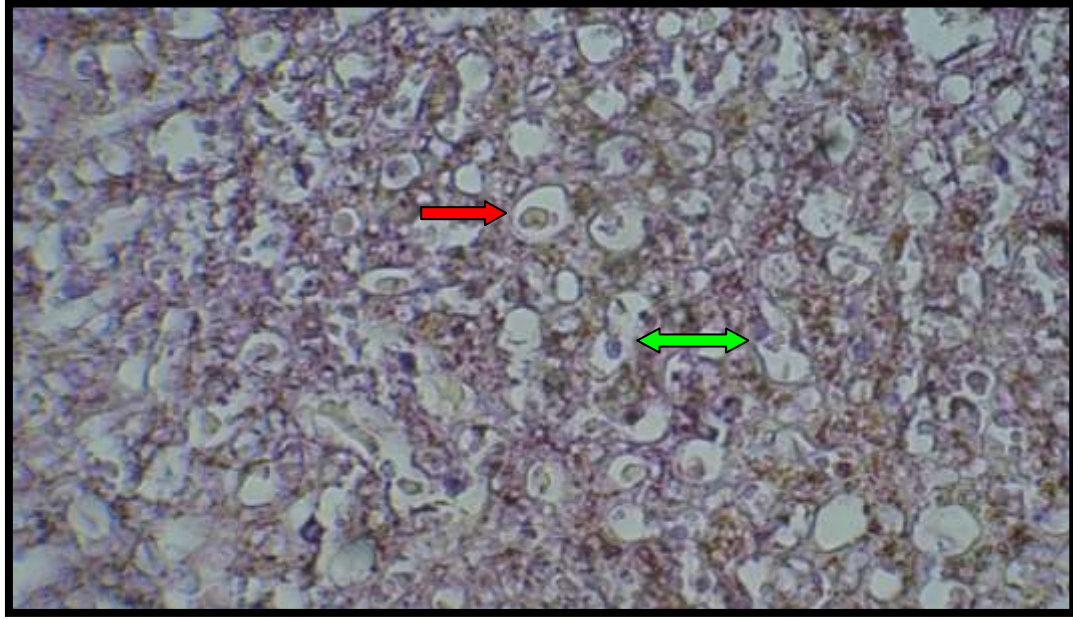
أما الشكل ( 4-16) تبين تأثير فرط الحديد على نسيج الكبد في الأرانب المعرضة لفرط الحديد من دون إزالة المبايض ويظهر ترسب الحديد Hemosidrosis , تغيرات تنكسية (ترسب الحديد وتشمع الكبد , تحلل تنكس الخلايا الكبدية) وامتلاء خلايا الكبد بالهيموسدرين وعدم انتظام ترتيب الخلايا مقارنة مع مجموعة السيطرة .

أما الشكل ( 4-15) تبين تأثير انخفاض مستوى تركيز هرمون الاستروجين وفرط الحديد على نسيج الكبد في مجموعة الأرانب المزلة المبايض والمعاملة بفرط الحديد حيث يلاحظ ترسب الحديد Hemosidrosis وتشمع الكبد ونضح دموي Hemorrhage قرب البوابة يزداد ترسب الحديد , وتمسخ لنسيج الكبد مقارنة مع مجموعة السيطرة

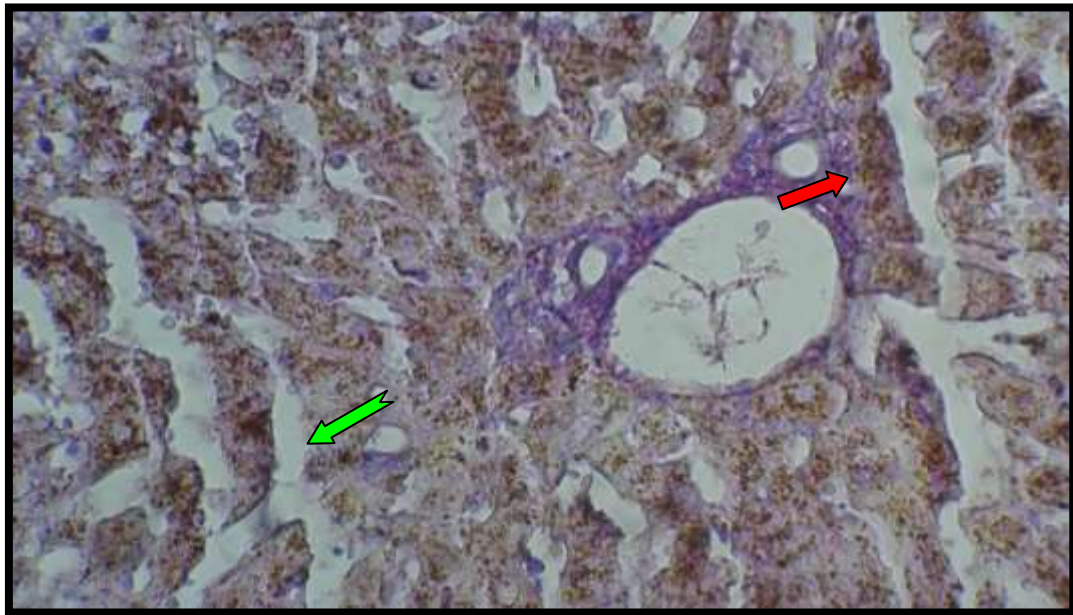


شكل (4-13) تبين مقطع نسيجي لكبد حيوان ( مجموعة السيطرة ) يلاحظ فيها تراكيب الكبد الطبيعية , ويلاحظ الوريد المركزي  الخلايا الكبدية  ( H & E 400X )

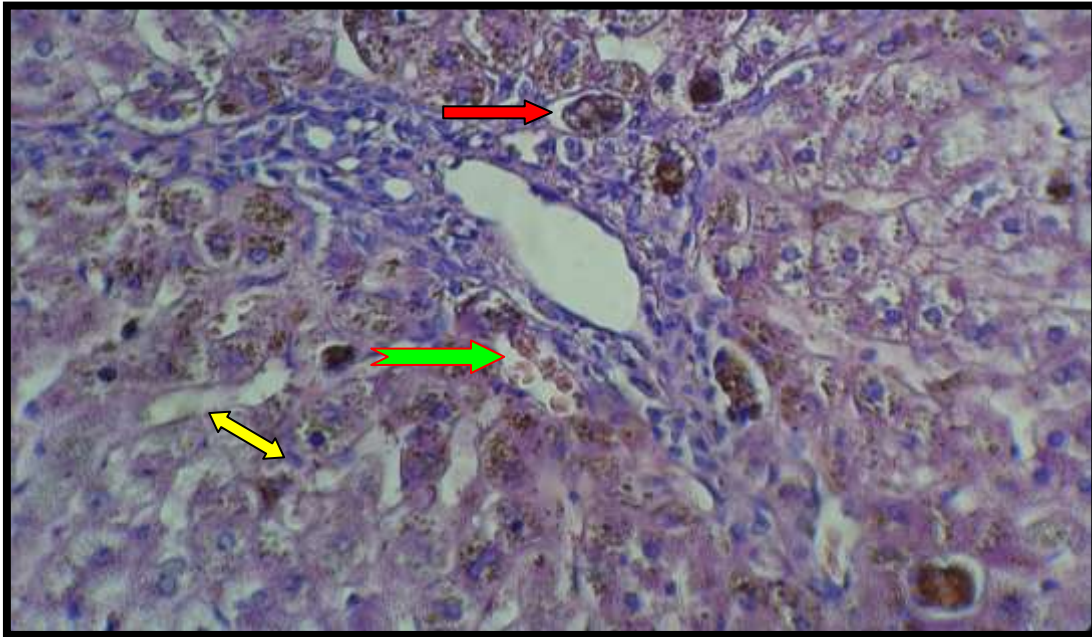




شكل (4-14) تبين مقطع من نسيج كبد مجموعة الأرانب المزالة المبايض يلاحظ ترسبات قطيرات الدهون في خلايا الكبد  $\rightarrow$  وتنكس في الخلايا الكبدية  $\longleftrightarrow$  (H & E 400X)



شكل ( 4-15) تبين مقطع من نسيج كبد لمجموعة الأرانب المزالة المبايض والمعرضة لفرط الحديد، يلاحظ فيها ترسب الحديد  $\rightarrow$  مع تغيرات تنكسية في الخلايا الكبدية  $\longleftrightarrow$  (H & E 400X)



شكل (4-16) تبين مقطع من نسيج كبد مجموعة الحيوانات المعرضة لفرط الحديد ويلاحظ ترسب الحديد  
وتغيرات تنكسية ← دموي ← ( H & E 400X )

إن الزيادة في الشحوم الدهنية الواطئة الكثافة LDL-C والانخفاض في الشحوم الدهنية العالية الكثافة HDL-C بسبب انخفاض مستوى تركيز الهرمون المنظم لها (الاستروجين) يؤدي إلى عدم انتظام شكل الليف العضلي القلبي المميز وإلى عدم تجانس النسيج وإلى تغلظ الانوية بسبب ازدياد التعبير الجيني لصناعة الدهون وازديادها وبسبب انخفاض تركيز الاستروجين وبشكل كبير أي فقدان المنظم للتعبير الجيني لبروتينات القنوات الأيونية للبوتاسيوم والكالسيوم (Nakamura *et al.* , 2007) مما يسبب التغير في شكل النسيج والانوية .

إن إزالة المبايض من الأرانب أدت إلى ازدياد صناعة الدهون Lipogenesis وقلة تحلل الدهون Lipolysis وهذا التغير في الـ metabolic ينتج بسبب انخفاض تركيز هرمون الاستروجين وانخفاض دوره بشكل كبير الذي له تأثير في تنظيم صناعة وازدياد الدهون في داخل أنسجة الجسم (Hamed *et al.* , 2010).

إن ازدياد تراكم الحديد داخل خلايا عضلة القلب والكبد يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي للجذور الحرة المتولدة من أيون الحديد الحر المتراكم من بعد إشباع بروتين الفريت بالحديد وبما أنه لا يوجد ممر لخروج الحديد الزائد فشكله الحر يكون مولد لتفاعل الفنتون المولد للجذور وبالتالي حصول الضرر في خلايا عضلة القلب من خلال ازدياد أكسدة الدهون Lipid



peroxidation وإنتاجها للمالونديهايد , وهذا الضرر يظهر من خلال ازدياد ترسب الحديد على شكل هيموسدرين وازدياد التنكسات الدهنية في النسيج والتغيرات الواضحة في شكل النسيج مثل ظهور التنكس الدهني و التحطم في خلايا فصيصات الكبد Lobules liver وهذا متفق مع ما جاء به ( Oudit et al . , 2004 ) .

إن انخفاض مستوى هرمون الاستروجين المنظم لعمليات أيض الدهون والمنظم للتعبير الجيني للقنوات الأيونية وغيرها من التأثيرات المهمة لهرمون الاستروجين وبما إن انخفاض هرمون الاستروجين عند النساء بعد سن اليأس أو استئصال المبايض الجراحي يؤدي إلى ارتفاع مستوى تركيز الحديد (Jian et al . ,2009) ,والحقن العضلي المفرط لدكستران الحديد يزيد من تراكم ايون الحديد بعد اشباع الفرتين وازدياد تراكمه بالخلايا وبالتالي توليد الجذور الحرة المحطمة لخلايا نسيج عضلة القلب ونسيج الكبد من خلال التنكسات الدهنية الواضحة بالمقاطع النسيجية وتغيرات نسيجية والنزف الدموي و ارتشاح لخلايا الدم والخلايا الالتهابية وتكوين الفجوات الدهنية المملوءة بالدهون الناتجة من الأكسدة الكبيرة للدهون الواطئة الكثافة وتحطمت في أغشية الخلايا وانفصال انويتها وتحطمت في المادة الوراثية كلها تسببها الجذور الحرة الناتجة من ازدياد جرع الحديد وانخفاض مستوى تركيز الاستروجين وبالتالي تشمع في الكبد وخلل في نظمية القلب وتشنت في الفترة الفاصلة لانبساط وانقباض القلب وعند الاستمرار ربما يؤدي ذلك إلى فشل عمل القلب .

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Concolusions & Recommendations

## الاستنتاجات

استنتج من الدراسة الحالية :-

- 1- إن عملية إزالة المبايض فقط وإزالتها مع التعرض لفرط الحديد أدى إلى حصول :-
  - انخفاضاً معنوياً في مستوى تركيز هرمون الاستروجين وبالتالي إلى حدوث حالة تسارع في نظمية القلب (Tachycardia) وقصر في موجة (QT interval) في مجموعة الأرناب المزالة المبايض فقط , وتشتت في موجة QT في مجموعة الأرناب المزالة المبايض والمعاملة بفرط الحديد مع حصول تغيرات نسيجية واضحة في نسيج القلب والكبد .
  - زيادة معنوية في الشحوم البروتينية واطئة الكثافة وواطئة الكثافة جداً وانخفاضاً معنوياً في العالية الكثافة .
  - ارتفاعاً معنوياً في مستوى تركيز الـ FSH والـ LH وإنزيم الـ LDH والـ MDA والحديد الحر و انخفاضاً معنوياً في مستوى الـ GSH في مصل دم الأرناب .
- 2- أن تعرض الأرناب إلى فرط الحديد فقط أدى إلى :-
  - حالة تباطيء في نظمية القلب (Bradycardia) وتشتت في موجة الـ (QT interval) وترسب الهيموسدرين في نسيج القلب والكبد .
  - ارتفاعاً معنوياً في مستوى هرمون الـ LH وإنزيم الـ LDH والـ MDA والحديد الحر و انخفاضاً معنوياً في مستوى الـ GSH ولم يلاحظ فروقا معنوية في مستوى تركيز هرمون الـ FSH في مصل دم الأرناب .
- 3 - إن عملية إزالة المبايض والتعرض لفرط الحديد أدت إلى احتمال حدوث تغيرات وراثية في بروتين التليثونين ثم تغيرات في عمل قنوات الصوديوم - والبوتاسيوم في عضلة قلب إناث الأرناب .

## التوصيات

- 1- إجراء دراسة وظيفية و وراثية عن تأثير سن اليأس الطبيعي والجراحي عند النساء في العراق و تأثير فرط الحديد على الجهاز العصبي و التنفسي في الحيوانات المختبرية
- 2- إجراء دراسة نسيجية ووظيفية عن تأثير عملية إزالة المبايض وفرط الحديد على الجهاز الهيكلي, العصبي و البولي في الحيوانات المختبرية.
- 3- إجراء دراسة وراثية وبشكل دقيق باستخدام الـ Real Time PCR و الـ DNA sequencer للكشف عن الطفرات الوراثية والتي قد تحصل في بعض القنوات الأيونية و الناتجة من تأثير إزالة المبايض.

المصادر  
References

## المصادر العربية

- **العلوجي**, صباح ناصر (1989). هرمونات الغدد الصم والغدد التناسلية, دار الفكر للطباعة والنشر, عمان, الاردن .
- **الجميل**, رنا رياض (2002). دراسة أعراض متلازمة تكيس المبايض لدى نساء العراق . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة البصرة : 30-31 .
- **العلوجي**, صباح ناصر (2005). هرمونات الغدد الصم والغدد التناسلية, دار الفكر للطباعة والنشر, عمان, الأردن .
- **الجبوري**, وفاء عيسى (2003). انقطاع الطمث الثانوي وعلاقته بالحالة الفسيولوجية والهرمونات لدى النساء . رسالة ماجستير . كلية التربية, جامعة تكريت : 28-30 .
- **العلاف**, ايناس شيت مصطفى جاسم (2004). تأثير الثوم كمضاد للأكسدة للحد من تطور أفات التصلب العصيدي المحدث في إناث الأرانب . رسالة ماجستير . كلية الطب . البيطري, جامعة الموصل .
- **الكناني**, رقية كريم ( 2010 ) . تأثير فرط الميثيونين على بعض المعايير الهرمونية والوظيفية في في إناث الأرانب النيوزلندية , رسالة ماجستير , كلية التربية – علوم الحياة . جامعة كربلاء .
- **السلامي**, هبة علوان عبد السلام ( 2011 ) . الدور الوقائي لزيت بذور العنب *Vitisvinifera* على بعض المعايير الوظيفية والهرمونية الناتجة من الإجهاد التأكسدي المستحدث بفرط الحديد في ذكور الأرانب . رسالة ماجستير , كلية التربية . جامعة كربلاء
- **الكناني**, انتصار رحيم , الخفاف , أسرار إسماعيل ( 2006 ) . قابلية بيروكسيد الهيدروجين على إحداث الإجهاد التأكسدي ونشوء أفات التصلب العصيدي مع دراسة تأثير بعض مضادات الأكسدة المتمثلة بالاستراديول وفيتامين هـ والثوم الطازج في إناث الجرذان المستأصلة المبايض , المجلة العراقية البيطرية , المجلد 21 , 1 ( 93-110 )
- **الكريطي**, حيدر بخيت عباس (2011). بعض التغيرات الوظيفية والنسجية المتسببة عن فرط الحديد في الأرانب . رسالة ماجستير , كلية التربية . جامعة كربلاء .
- **الساھوكي**, مدحت ووهيب , كريمة محمد (1990) تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب , مطبعة جامعة بغداد .

- العقبلي , براء نجم, (2009) دور الفلافونيدات المعزولة من بذور الحبة السوداء في التقليل من تأثير بيروكسيد الهيدروجين على المخطط الكهربائي للعضلة القلبية في ذكور الأرناب البالغة , المجلة الطبية البيطرية العراقية , المجلد 33, 1, (145-152) .
- نياي , دينا سعدون وتوما , باسم شابا و خضير , خالصة كاظم (2009) . تأثير بيروكسيد الهيدروجين على كفاءة عمل العضلة القلبية في ذكور الأرناب رسالة ماجستير , كلية الطب البيطري . جامعة بغداد .
- غايتون وهال , (2004) . المرجع في الفزيولوجيا الطبيعية . دار المنجد . قسم النشر الطبي : 235 .
- يكن , سرباز ابراهيم محمد ( 2007) . حالة الحديد كدليل لتأخر النمو والنضج الجنسي لدى الاكراد المصابين بفقر الدم البحري الكبرى . اطروحة دكتوراه , كلية العلوم , جامعة بابل .

## المصادر الاجنبية

- Aisen , P. ; Enns , C. & Wessling –Resnick , M. (2001) Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism . Int.J. Biochem cell Biol . ; 33:940 -959
- Aitken .R. J. & Baker , M.A. (2004) Oxidative stress and male reproductive biology . Vertebrata Reproductive science & technology ., 16(5):581-588.
- Akar ,N. & Gokge , H.(2002) Red blood cell Indexes in patients with hereditary spherocytosis and  $\beta$ -thalassemia combination :pediatric hematology and oncology ;19:569-573 .
- Allani , I. (1974). Measurment of cholesterol . Clin. Chem. ;20 :470-475.
- Andrews , NC. (1999) Disorders of iron metabolism.N.Engl. J. Med . ;341:1986-1995.
- Andrews , NC. (2000) Inherited iron overload disorders .Curr.opin . pediater.;12:596-602.
- Andrews , NC.(2008) Forging a field :the golden age of iron biology blood . ;112:219-230.
- Bank , A.(2005) Understanding globin regulation in  $\beta$ -thalassemia :its as simple as simple as  $\alpha$  , $\beta$ , $\gamma$  and  $\sigma$ . J. Clin. Hnvestigation , 115 (6): 1470-1473.
- Barham ,K.J. ;Masters ,C.L. &Bush ,A.L. (2004) Neurodege nerative Diseases and oxidative stress .Nat.Rev. Drug. Discov.;3:205-214.
- Barrett –Connor ,E. & Bush ,T.(1991).Estrogen and Cronary heart disease in women .JAMA .; 265 :1861-1867.



- Barrett-Conner ,R. &Stuenkel ,C. (1999) . Hormones and heart disease in Women :Heart and Estrogen / Replacement study in perspective J.Clin . Endocrinol. Metab. ; 84:1848-53.
- Bartfay , WJ. & Bartfy , E., (2000) Iron-overload cardiomyopathy : Evidence for a free radical mediated mechanism of injury And dysfunction in a murine model . Biol. Res. Nurs .; (2):49-59.
- Barham ,K.J. ;Masters , C.L. & Bush , A.L. (2004) Neurodegenerative diseases and oxidative stress . Nat. Rev Drug . Discov.,3:205-241.
- Beard , JL. (2000) Effectiveness and strategies of iron supplementation during pregnancy .Am. J.Clin. Nutr. ;71:12885-12945.
- Beard ,J. (2003). Iron Deficiency Alters Brain Development and Functioning .J.Nutrition .;1468s-1472s.
- Berbari , E. (2000) . Principles of Electrocardiography . Biomedical Engineering Handbook : Second Edition .Ed ., Bronzino , J. Boca Raton :CRC Press LLC , 2000.
- Bergeron ,R.; Huang ,G.;Smith ,R.;Bhart,N.;McManis ,J. &Butter ,A.(2003) .Total synthesis and structure revision of pertrobactin Tetrahedron .; 59 :2007-2014.
- Betsy , L.; Lee, A. ; Larura, M. ; Laura, N. ; Ulrike , G. & Manju , B.(2009) .Association of Oxidative Stress, Iron , and Centralized Fat Mass in Healthy postmenopausal Women . J. Women's Health ; (18): 795-800.
- Bojrab ,M.J. (1998) .Current Techniques in Small Animal Surgery (4<sup>th</sup> ed.) Lippincott Williams and Wilkins. Pp .790.
- Bourassa , PA.;Milos, PM.;Gaynor , BJ. ;Breslow , JL. &Aiello, RJ. (1996). Estrogen reduces atherosclerotic lesion development in Apolipoprotein E -deficient mice .Proc .Nati. Acad. Sci. U.S.A. ; 39:

- 10022-10027.
- Braunwald ,E.(**1997**).Heart Disease :Atexbook of cardiovascular Medcine, Fith Edition ,P.108 ,Phila delphia ,W.B .Saunders Co.,ISBNO -7216-5666-8.
- Bray , JJ.;Cragg, PA. ;Macknight,AC.;& Mills, RG. (**1999**).Lecture notes On human physiology .4<sup>th</sup> ed .London :Blakwell Scientific Publication :276.
- Brunet ,S. ;Thibault .L.; Delvin ,E.; Yotov ,W.; Bendayan ,M.& Levy ,E. (**1999**) . Dietary Iron overload and induced lipid Peroxidation Are Associated with Impaired plasma Lipid Transpor t and Hepatic Sterol Metabolism in Rats .Hepatology .1809-1817.
- Britt ,K.&Findlay , J. (**2002**). Estrogen actions in the ovary revisited .J. Endocrinol. ; (175) :269-276.
- Brunette ,M.&Leclerc ,M. (**2001**).Effect of estrogen on calcium and sodium transport by the nephron luminal membranes .J. Endocrinol. ;170 :441-450.
- Burea,I.;Lewis , C.S. &Fields ,M. (**1998**) . Effect of hepatic Iron on hypercholesterolemia fed rats . Nutrition , 14:366-371.
- Bustamant ,A. ;Croxatto , H. ;Cardenas ,H. & Orihuela ,P. (**2012**). Differential participation of endothelin receptors in estradiol- Induced oviductal egg transport acceleration in unmated and Mated rats .Asian Pacific .J. Reproduc. ;(1):17-21.
- Burstein ,M. J. (**1970**) . Measurement of HDL .Lipid Res., 11:583.
- Carnethon , MR .; Anthony , MS. ; Cascio , WE. ; Folsom , AR. ;Rautaharju , PM. ; Liao , D .; Evans , GW. &Heiss , G. (**2003**) . Arosepective evaluation of the risk of QT Prolongation with hormone replacement therapy :the Atherosclerosis risk in communities stud. Ann. Epidemiol

- ; (7):530-6.
- Cao ,Y.; Mori ,S.; Mashiba ,T.; Westmore , M.; Ma,L.; Sato,M.; Akiyama ,T.; Shi ,L. ; Komatsubara , S. ; Miyamoto ,K .& Norimatsu ,H.(2002). Raloxifene ,Estrogen , and Alendronate Affect the processes of Fracture Repair Differently .in Ovariectomized Rats .J . Bone & Mineral Research .; (17): 2237-2246.
  - Caulin-Glaser, T.; Watson , CA.; Pardi, R. & Bender , JR. (1996) . Effects of 17- beta estradiol on cytokine induced endothelial Cell adhesion molecule expression . J. Clin. Invest. ; 98:36 -42.
  - Chattipakorn, N. ; Kumfu, S. ; Fucharoen , S. & Chattipa Korn ,S. (2011) Calcium channels and iron uptake in to the World .J . Cardiol. ; 3(7):215-218.
  - Christian ,C.&Moenter ,S.(2010 ). The Neurobiology of preovulatory and Estradiol –induced Gonadotropin –Releasing Hormone Surges .Endocrine .Rev. 31 :544-577.
  - Chotkowska ,E. ;Kurjata ,P.&Kupsc ,W. (2001). Evaluation of the precision of the friedewalds nsformula for the calculuation of LDL-C Concentraction in serum .Pol. Merkariusz –Lek 11 (64) 348-51.
  - Clegg ,D.;Brown ,L.; Zigman ,J .; Kemp ,C ;Strader ,A.; Benoit ,S.; Woods , S .; Mangiaracinea , M .& Geary ,N . (2007) . Estradiol- D ependent Decrease in the Orexigenic Potency of Ghrelin in Femal Rats . Diabetes .; (56):1051-1058.
  - Cohen , A.R. ; Galanello,R. &Pigan, A. (2003) . Safety and Effectiveness of long –term therapy with the Oral iron chelato Deferiprone: Blood 102:1583 -1587. (cited by) pigate et al. ,

- 2005).
- Coulter ,S. (2011). Heart Disease and Hormones .Heart inst. J.;38(2):137-141.
  - Choie ,J.W. ;Kim ,S.K. &Pai ,S.H. (2001) Changes in serum lipid concentration durin Iron depleting and after iron suppleme-  
Natatio Annals of clinical and liboratory science, 31(2): 151-157.
  - Craty ,R.(2002). The Scientific Role of the Heart in Learning and Performance. ;Heart. Math. Res . Center . publ. 02-030 :10-20.
  - Crist ,B.; Alekel ,L.; Ritland ,L.; Hanson ,L.; Genschel ,U.&Reddy ,M . (2009).Association of Oxidative Stress ,Iron ,And Centralized Fat Mass in Healthy Postmenopausal Women ,J. Women's Health.; 18:795-801.
  - Currie ,H. & Williams ,C. (2008). Menopause , Cholesterol , and Cardiovascular Disease ,Disease Risk management .;12- 14.
  - Dabbagh , A.J. ; Shwaery ,G.T. ; Keaney , J.F. & Frei, B. (1997) . Effect of iron overload and deficiency on atherosclerosis in the hyper-Cholesterolemicrabbit Arterioscler . Thromb . Vase .Biol. , 17 : 2638-2645.
  - Dacie , V. & Lewis , S.M. (1995) Practical Hematology .2 ed .ed Philadelphia ,Tokyo . ,352-354.
  - Desai ,MM. ; Zhang ,P . & Hennessy , CH. (1999). Surveillance for morbidity and mortality among older adults - United states, 1995-1996. MMWR CDCsurveill summ; 48:7-25.
  - Demolis , J.L. ; Charransol , A. ; Funk-Brentano , C. ; *et al* . (1996) . Effects of asingle oral dose of sparfloxacin on ventricular Repolarization in heaithy volunteers . Br.J.Clin. pharmacol.

- 41:499-503.
- Dervisoglu E. ;Yilmaz ,A. ;Sevin ,E. & Kalender ,B. (2007). The relationship between iron stores and corrected QT dispersion In patients undergoing hemodialysis. Anadolu .Kardiyol. Derg .; 7 : 270-4.
  - Dicroce , L. ; Bruscalupi , G.&Trentalance , A. (1996) . Independent behavior of rat liver LDL receptor and HMGCOA reductase Unrer estrogen treatment. Biochem Biophys . Res. Commum. 224 :345-50.
  - Dillmann , E. ;Johnson , DG.;Martin , J.;Mackler , B. ; & Finch , C. (1979). Catecholamine elevation in iron def iciency .Am. J.Physiol. ; 237:R 297-300.
  - Dirici ,MD.;Burklow ,TR.;Haridase ,V.; Glazer ,RI.& Woosley ,RL.(1996).Sex hormones prolong the QT interval and downregulated Potassium channel expression in the rabbit heart .Circulation 15 ;94(6):1471-4.
  - Dunford ,H . (2002).Coordin chem.. . Rev. 233-234, 311-318.
  - Dogru ,M. ;Basar ,M.; Yuvanc ,E.; Simsek ,V. & Sahin ,O. (2006). The relationship between serum sex steroid levels and heart rate Variability parameters in males and the effect of age . Turk . Kardiyol . Dern . Ars. – Arch Turk Soc . Cardiol. ; 38 (7): 459-465.
  - Edward ,J.; Wagner ,O. ; Ronnekleiv , M. & Martin , J. (2001).Estrogen Biphasically Modified hypothalamic GABAergic Function Concomitantly with Negative and positive control of Luteinizing hormone Release . J. Neuro. 21(6) :2085-2093.
  - Eghbali , M. ; Deva , R. ; Alioua , A. ; M inosyan , TY. ; Run , H. ; Wang , Y. ; Toro , L., & Stefani , E. (2005) .Molecular and functional Signature of heart hypertrophy during pregnancy.Circ. Res. ;

- (11):1208-16.
- Emslie ,C. (2005). Women ,men and coronary heart disease :review of the qualitative literature. J . Advanced .Nurs. ;15 (4): 382-395.
  - Einthoven ,W. (1903). Die galvanometrische Registrirung des menschlichen Electrokardiogramms ,zugleich eine Beurtheilung Anwendung des Capillar-Electrometers in der physiologie . Pflugers Arch Ges .Physiol . 99 : 472.
  - Eskin ,B.; Snyder ,D .; Roberts ,J.& Aloyo ,V. (2003). Cardiac Norepinphrine Release ;Modulation by Ovaryectomy and Estrogen .Exp .Biol. Med. ; 228 :194-199.
  - Eseobar –Morreal , HF.; Luque –Ramirez , M. ;Alvarez-Blasco , F. ; Botella – Carretero, JI. ; Sancho, J.& Sanmillan, JI. (2005) . Body iron stores are increased in overweight and obese Women with polycystic ovary syndrome . Diabetes .Care. ; 28:2042-4.
  - Fassati ,P.&Principe ,L.(1983). Measurment of triglyceride. Clin. Chem .;28 :2077.
  - Farhat ,G. ;Cauley ,J. ;Matthews ,K.;Newman ,A.; Johnston ,J. ;Mackey ,R.;Edmundowicz ,D. &Sutton –Tyrrell ,K.(2006) . Volumetric BMD and Vascular Calcification in Middle – Aged Women :The Study of Women’s Health Across the Nation .J. Bone .& Mineral . Res.;(21):1839-1846.
  - Fang ,H.;Tong ,W. ; Shi ,L .;Blair ,R.;Perkins ,R. ; Branham ,W. ; Hass ,B.; Xie ,Q.;Dial ,S.;Moland ,C.;Sheehan ,D.; (2001).Structure-Activity relationships for a large diverse set of natural ,synthetic ,and environmental estrogens Chem .Res. Toxicol. ;14 (3): 280-94.

- Fernandez-Real ,JM. ;Lopez-Bermejo , A. ; Ricart , W.(2002). Cross-talk between iron metabolism and diabetes . *Diabetes* .;51: 2348-54.
- Ferrari ,c.k.b. (2000).Free radical , lipidperoxidation and implications in cancer , cardio vascular and neurological disease . *Biologia. Cel. Mol.*, 55:581-590.
- Ferreri ,L.&Naito ,H.(1987). Effect of estrogens on rat serum cholesterol concentration :consideration of dose , type of Estrogen ,and treatment duration . *Endocrinol .* ;102 :1621-1672.
- Fleming , DJ.; Jacques ,PF. ; Tucker, KL. ; *et al* .(2001).Iron status of the free-living elderly framingham heart study cohort :an iron replete Population with a high prevalence of elevated iron stores . *Am. J. Clin .Nutr.* 73:638-646
- Flores ,A. ;Gallegos ,AI. ;Velasco, J.; *et al* . (2008) .The acute effects of bilateral ovariectomy or adrenalectomy on progesterone , Testosterone and the day of the estrous cycle when they are Performed ,*Reprod Biol. Endocrinol.* ; 6:48.
- Franchini , M.;Targher ,G. ; Montagnana, M. & Lippi,M. (2008). Iron and Thrombosis *Ann. Hematol.* ; 87:167-173.
- Freedland ,ES. ; (2004). Role of acritical visceral adipose tissue threshold (CVATT) in metabolic syndrome :implication for Controlling dietary carbohydrates :a review . *Nur. Metab (Lond)*; 1:12.
- Fried ewald ,W.;Levy ,R. &Fredirckson ,D. (1972) .*Clin .Chem.* 18 :199.
- Foegh ,M. &Ramwell ,P.(1998) . Cardiovascular effects of estrogen : Implications the discovery of the estrogen receptor subtype  $\beta$  . *Curr .Opin .Nephrol. Hyperten .*;7 v:83-89.

- Furukawa, T.;Ono ,Y.; Tsuchiya,H. ; Katayama , Y. ; Bang,M. ; Labet , D. ; Labeit , S . ; Inagaki ,N. & Gregorio , C. (2001) .J.Mol. Biol. 313, 775-784.
- George ,K.;Durante ,M.; Wu ,H.; et al . (2001). Chromosome aberrations in the blood lymphocytes of astronauts after Space flight . Rediat .Res. ;156-731.
- Ganong ,WF. (2001).Energy balance ,metabolism ,nutrition .in :Ganong ,WF .ed .20 Review of medical physiology, 20<sup>th</sup> Ed .New York :McGraw-Hill ;271-306.
- Gierach ,G. ;Johnson .B .; Merz ,C.;Kelsey ,S.; Bittner ,V. ; Olson ,M.; Shaw ,L .; Mankad ,s.;Pepine ,C.;Reis ,S.;Rogers ,W.;Sharaf , B.&Sopko ,G. (2006).Hypertension Menopause ,and Conorary Artery Disease Risk – in the Women ’s Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study . J.Amer. College .Cardiol. ;47 (3): 50s-58s.
- Gilbert ,D. (2000). Fifty years of radical ideas .Ann. Ny .Acad.Sci. 899-1.
- Ginsbury ,E.S. ; Mellon , N.K. ; Mendelson , J. H. ; Barbieri , R.L. ; Teoh , S.K. ; Rothman , M. ; Gao , X. ; & Sholar , J. W. (1996) Effects of alcohol ingestion on estrogens in postmenopausal Women .J. Amer. Medical Associa. ;276: 1747 – 1751 .
- Geisser ,P.(2007).Safety and efficacy of Iron (III )hydroxide polymaltose complex –Drug .Res. 57 :439-452.
- Guyton ,AC . & Hall, JE. (2006). Text book of medical physiology 11<sup>th</sup> ed. Philadephia v: Elsvier .Science .
- Hamed ,G. M. ; Bahat ,N.M. ; El-Agaty ,S.M. ; Soliman , G.ZA. & Emarah .M.M. (2010) . Effect of asoy bean protein diet on Ovaectomised female albino rats subjected to myocardial Infarction . Singpore .Med. J. 51(10):781-789.



- 
- Hamilton ,P.(2002). Open source ECG Analysis . Computers in Crdiol. ;(29):101-104.
- Haseroth ,K.; Syffart , K. ;Wehling ,M.; & Christ ,M. (2000).Effects of progesterin – estrogen replacement therapy on QT- dispersion In postmenopausal women .Int.J. Cardiol. ; (2-3):161-5.
- Halliwell, B. (1993).The role of oxygen radicals in human disease with particular reference to the vascular system .Haemostasis 23:118-126.
- Hampton, J.R. (2003).The ECG made easy 6<sup>th</sup> ed .Churchill livingstone . Edinburgh .London . New York.Oxford
- Hardman ,M.&Ashcroft ,G.(2008). Estrogen not intrinsic aging ,is the major regulator of delayed human wound healing in the elderly . Genome . Biol. ;9 :R 80.
- Heinig ,M. &Johnson ,R. (2006). Role of uric acid in hypertension ,renal disease ,and metabolic syndrome .Cleveland .Clin. J. Med. 73 (12):1059-1065.
- Hentze,M.W. ; Muckenthaler M.U. &Andrews ,N.C. (2004). Balancing acts Molecular control of mammalian iron metabolism cell 117:285-297.
- Herrinton , LJ. ; Friedman , GD. ; Baer, D. & Selby ,JV. (1995). Transferrin saturation and risk of cancer .Am. J. Epidemiol ; 142: 692-698.
- Hess,RA. ; Bunick , D; Lee , KH. ; Bahr , J. ; Taylor , JA. ; Korach, KS. ; & Lubahn ,DB. (1997) .Arole for estrogens in the male Reproductive system .Nature J. ; 390(6659).:447-8.
- Higuchi ,Y. (2004).Glutathion depletion –induced chromosoomal DNA fragmentation associated with apoptosis and Neerosis .J. Cell Mol. , 8(4):455-464.

- Hill ,RA. ;Pompolo , S.; Jones , ME.; Simpson ,ER. ; &Boon , WC. (2004)  
.Estrogen deficiency leads to apoptosis in dopaminergic  
Neurons in the medial preoptic area and arcuate nucleus of  
Male mice .Mol. Cell. Neurosci. ; 27(4):466-76.
- Hickey ,M.;Davis, SR. & Sturdee ,DW. (2005). Treatment of menopausal  
symptoms :what shall we do now ? .Lancet .366:  
409-421.
- Hillman ,R.S.&Ault ,K.A.(2002) .Haematology in clinical practice .3<sup>rd</sup> ed .,  
McGraw – Hill , companies , New York .
- Hodge ,G.; Liyod ,J.V. ; Hodge S. ; Story , C. & Han, P. (1999)  
.Immunopheno types observed in thalasaemia and  
Haemophilia pateints receiving current blood product  
Prepration .Br.J. Haematol.;155(3):817-815.
- Hoegh-Andersen , P.; Tanko , L.B. ; Andersen , TL. ; Lundberg , CV. ; Mo,  
JA. ; Heegaard , AM. ; *et al* . (2004) . Ovariectomized  
Rats as amodel of postmenpoausal osteoarthritis :validation  
And application Arthritis .Res. ther. ; 6:R169-80.
- Hofbauer , LC. ; Khosla , S. ; Dunstan , DR. ; Lacey , DL. ; Spelsberg , TC.  
& Riggs , BL. (1999) . Estrogen stimulates gene expression  
And protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic  
Cells. Endocrinolog . ; 140 :4367-4370.
- Huang, X. (2003).Iron overload and its association with cancer risk in  
humans : evidence for iron as a carcinogenic metal . Mutat Res.  
;533:153-171.
- Huang ,C. ;Dong ,C. &Tang ,Z. (1993).Waste Manage . (13):361-377.
- Huang ,Y.; Schwendner ,S.;Rall, S.;Sanan ,D.&Mahley ,R.(1997).  
Apolipoprotein E2 Transgenic Rabbits Modulation

- Of the type III hyperlipoproteinemic phenotype by estrogen  
And occurrence of spontaneous atherosclerosis .J.Biological  
Chemistry .;272 (36):22685-22694.
- Humaidan ,P. (2004) .Effect of recombinant LH supplementation in women  
undergoing assisted reproduction with GnRH agonist  
Down -regulation and stimulation with recombinant FSH :  
An opening study .Rev.Bio .Med. Online .;8 (6) :635-643.
- Ian ,M. (2004).Prince Henry's Institute –Media Release Male Sex drive  
linked to estrogen . Prince Henry Institute
- Jensen ,J;Nilas ,L. & Christiansen ,C.(1990).Influence of menopause on  
Serum lipids and lipoproteins Maturitas.;12:321-331. .
- Jian ,J. ; Pelle , E. & Huang , X.(2009). Iron and menopause :Does  
increased Iron affect the heart of postmenopausal women  
Antioxidant .& Redox Scinali.; (11):2939-2943.
- Johnson , B.D. ;Zheng ,W.;Korach , K.S. ; Scheur , T. ; Catterall,G.M.  
(1997 ). Increased expression of the cardiac L-type calcium  
Channel in Estrogen receptor – deficient Mice rockefeller U.  
Press 110 (2):135-140.
- Josef ,B. (2007). Phenylhydrazine haematotoxicity.J. Applied .Biomed .5:  
125-130.
- Joswing ,M. ; Hach-Wunderle , V. ; Ziegler , R. & Nawroth , P.  
(1999).Postmenopausal hormone replacement therapy and the  
Vascular wall: mechanism of 17 beta – estradiol 's effects on  
Vascular biology . Exp. Clin . Endocrinol .Diabetes ; 107:477  
-87.
- Kaneto , J. ; Harrey , J. & Bruss, M. (1997). Clinical Biochemistry of  
domestic animals .5<sup>th</sup> ed Acad. Press . London .;132.

- Karamifar ,H.;Shahriari ,M.& Amirhakimi ,G. (2005). Failure of puberty and linear Growth in Beta –thalassemia Major .Turk.J. Haematol. ;22(2):65-69.
- Kats , A. (1993). Cardiac ion channels . N.Engl. J. Med ; 328:1244-1251.
- Kaul ,N. ;Devaraj ,S. &Jialal , I. (2006) .  $\alpha$ -Tocopherol and atherosclerosis .Exper . Biol. Med. ;226:5-12 .
- Kerksick ,C. & Willoughby, D. (2005). The antioxidant vole of glutathione and N- Acetyl- cysteine supplements and exercise Induced oxidative stress .J. Int. Soc . Sports Nutr. 2(2):38-44.
- Kerjaschki ,D. (2001). Caught flat –footed :Podocyte damage and the molecular bases of focal glomerulosclerosis J.Clin Invest .108 (11):1583-1587.
- Keya ,H.(2006). Iron metabolism Iron and disorders .Sci. Asian .J. Pharmacodynamics & Pharmaco Kinetics .;6 (1):5-8.
- Kiel ,D. ; Kaoppila , L. ; Cupples, L. ; Hannan , M. ; Odonnell , C. &Wilson , P. (2001). Bone loss and the progression of abdominsl Aortic calcification over A25 year . period :the Framingham heart Study . Calcif tissue Int. ;68:271-276
- Khani,I. ;Montazeri , A. ;Ghorbani, A. ; Ramezani , M.; Seyedi , T.; Mohseni ,F. &Narmani , B.(2007).Mental health status of beta- Thalassemia major in mazandaran province in 2006 .J. Fundametals .Mental Health .; (9):35-36.P.85-96.
- Kleber , A. & Rudy , Y. (2004). Basic mechanisms of cardiac impulse propagation and associated arrhythmias .Physiol. Rev . 84(2): 431-88.
- 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.

- Kojima, M.; Masui ,T. ; Nemoto , K. & Degawa ,M.(2004).Lead nitrate induced development rats: sterol.independent gene regulation Of hepatic cholesterol homeostasis . Toxicol. Lett.; 154:35-44.
- Knopp ,R. & Zhu ,X. (1997). Multiple beneficial effect of estrogen on lipoprotein metabolism .J. Clin .Endocrinol .Metab. ;82 : 3952-3954.
- Kremastions ,D. (2008). B- Thalassemia Heart Disease :is it Time for its Recognition as a Distinct cardiomyopathy ? Hellenic .J. Cardiol. 49:451-452.
- Kumar, P .; Goyal ,M. &Agawal , J. (2009). Effect of L-Arginin on Electrocardiographic change induced by Hypercholestrolemia And isoproterenol I Rabbits. Indian. Pacing .Electrophysiol. J. ;(1):45-52.
- Kurachi ,H.;Adachi , H. ; Ohtsuka , S. ; Morishige , K. ; Amemiya , K.; Keno ,Y. ;Shimomura , I.; Tokunaga , K.; Miyake ,A.& Tanizwa O. (1993) . Involvement of epidermal growth factor in inducing Obesity in overiectomized rats .Am. J. Physiol. ; 265 :323-331.
- Kuryshv , Y. ; Brittenham ,G. ; Fujioka ,H.; Kannan , P. ; Shieh , C. ; Cohen , S. & Brown , A. (1999) . Decreased sodium and Increased transinf outword potassium carrents in iron –loaded Cardiac myocytes : implications for the Arrhythmogenesis of Human siderotic heart disease .Amer. Heart .Associ. learn &liver . ; 100:675-683
- Kumar ,P. ;Goyal ,M. & Agarwal , J. (2009) . Effect of L-Arginine On Electrocardiographic Changes Induced By Hypercholesteroemia And Isoproterenol In Rabbits .Indian Pacing & Electrophysiology J. ;9 (1): 45-52.

- Lekawanviji, S. & Chattipakorn, N. (2009). Iron overload thalassemic cardiomyopathy iron status assessment and mechanism of Mechanical and electrical disturbance due to iron toxicity J. Cardiol. ; 25 (4) : 213-218.
- Lesnefsky, E. (1994). Tissue iron overload and mechanism of iron catalyzed oxidative injury. Adv. Exp. Med. Biol. ; 366-192
- Liang, Y. ; Akishita, M. ; Kim, S. ; Ako, J. ; Hashimoto, M. ; Iijima, K. ; Ohike, Y. ; Watanabe, T. ; Yoshizumi, M. & Ouchi, Y. (2002). Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 26 : 1103-1109.
- Liehr, J. & Jones, J. (2001). Role of iron in estrogen-induced Cancer. Current Medicinal Chem ; 8 : 839-849.
- Lieu, P. ; Heiskala, M. ; Peterson, P. & Yang, Y. (2001). The role of iron in health and disease. Mol. Aspect. Med. , 22: 1-87
- Li, C. ; Luk, C. ; Ling, S. ; Ching, M. ; Chang, K. & Yuen, P. (2002). Morbidity and mortality patterns of thalassaemia major Patients in Hongkong : retrospective study. Hongkong Med. J. ; 8 : 255-260.
- Longnecker, M. & Tseng, M. (1998). Alcohol, Hormones, and Postmenopausal Women. Alcohol Health & Res. World ; 22 (3) : 185-189.
- Luque, M. ; Alvarez, F. ; Botella, J. ; Sanchon, R. ; San, J. & Escobar, H. (2007). Increased body iron stores of obese women with Polycystic ovary syndrome are a consequence of insulin Resistance and hyperinsulinism and are not a result of reduced Menstrual losses. Diabetes Care. ; 30 : 2309-13.
- Luhr, M. ; Saels, A. *et al.* (2000). Are there sex-specific differences in ventricular repolarization or in drug-induced early after Depolarizations in isolated rabbit Purkinje fibers? J. Cardio-

- Vasc. Pharmacol. ;132-139.
- Massaro , D. & Massaro ,G.(2004).Estrogen regulates pulmonary alveolar formation loss , and regeneration in mice .Am. J. Physiol. Lung cell Mol. Physiol. ; 287 (6) :1154-9.
- Marnett , L . (2000). Oxyradicals and DNA damage . Carcinogenesis .21:361-370.
- Maclean ,P.;Giles ,E.; Johnson ,G.; McDaniel ,S.; Fleming –Elder ,B.;Gilman ,K.; Andrianakos ,A.; Jackman ,M.; Shroyer ,K & Schedih ,P .(2010) .A Surprising Link Between the Energertics of Ovariectomy- induced Weight Gain and Mammary Tumor progression in Obese Rats . Obesity 18 (4):696-703.
- Manson ,J. ; Allison , M. ; Rossouw , J. ; Carr , J. ; Langer , R. ; Hsia , J. ; Kuller , L .; Cochrane , B. ; Hunt , J.; Ludlam , S. ; Pettinger, M ; Gass , M.; Margolis ,K.; Nathan , L.; Okene , J.; Prentice R.; Robbins , J.&Stefanick , M. (2007).Estrogen therapy and Coronary –artery calcification .Engl. J. Med. ; 356 :2591-2602
- Mateo –Gallepo , R.; Solanas-Barca , M. ; Burillo ,E. ; Cenarro , A.& Civeira , M. (2010 ) Iron deposits and dietary patterns in familial Combined hyperlipidemia and familial hypertriglycerdemia.J. Physiol . Biochem. ; 3:36-45.
- Mazzone ,A.;Strege ,P.;Tester ,D.;Bernard ,C.; Faulkner ,G.; Giorgio ,R.; Makielski , J. ; Stanghellini,V.;Gibbons ,S.;Ackrman ,M.& Farrugia ,G.(2008). A Mutation in Telethonin Alters *Na<sup>v</sup> 1.5* Function .J. Biol. Chem .;283 (24):16537-16544.
- McCord ,J. (1998). Iron free radicals , and oxidative injury .Sem .Hemaltol. ; 35:5-12.
- Mc Cord ,J. & Fridovich ,I. (1969) . Superoxid dismutase :an enzymatic function for erythrocytein (hemocuprein) .J.Biol.Chem. ;

- 244:6049.
- Mechoulam ,R.; Brueggemeier,R.; Denlinger ,D.(2005) .Estrogens in insects . Cellular &Molecular life Sci. ; 40 (9): 942-944.
  - Meli ,R.; Pacilio ,M.; Raso ,G.;Esposito ,E.; Coppola ,A.; Nasti ,A.; Di Carlo ,C.; Nappi ,C .& Dicarolo ,R. (2004) .Estrogen and Raloxifene Modulate Leptin and Its Receptor in hypothalamus And Adipose tissue from Ovariectomized Rats .General . Endocrinol ;145(5):3115.
  - Metcalf ,L. ;Lohman ,T.; Going ,S.;Houtkooperv,L.; Ferriera,D.;Flint – Wagner ,H.; Guido ,T.; Martin ,J.; Wright ,J.& Cussler ,E. (2001).Post-menopausal Women and Exereise for prevention Of osteoporosis the Bone ,Estrogen ,Strength ,Training (BEST)Study published in ACSMS Health &Fitness .J. 1-19.
  - Mendelsohn ,M .&Karas ,R.(1999).The protective Eeffects of Estrogen on the cardiovascular system . N.Engl. J. Med. ;340 :1801-1811.
  - Mendelsohn ,M. & Karas , R. (1999). The Protective Effects of Estrogen on The Cardiovascular Syatem . Massachsetts Medical. Society.; 340 (23): 1801-1811.
  - Meral ,A.;Tuncel ,P.;Surmen ,E.; Ozbek ,R.;Ozturk ,E. & Gunay ,U. (2000) .Lipid peroxidation and Antioxidant Status in  $\beta$ -Thalassemia : Pediatriche matol.& Oncol. 17 :687-693.
  - Meyer ,M. ; Capuco ,A.; Boisclair ,Y. &Van Amburgh , M. (2006). Estrogen – dependent responses of the prepubertal dairty Heifers . AJ. Endocrinol. ; (190) : 819 -827.
  - Michael ,S.(2007).Iron overload cardiomyopathy .Associated with iron overload conditions health .J. ;11(3): 1-6.



- Milman , N. ; Byg, K. ; Ovesen , L.; Kirchoff , M. & Jurgensen , K. (2003 ) . Iron status in Danish women , 1984-1994 : a cohort comparison of changes in iron store and the prevalence of iron deficiency and iron overload .Eur. J. Haematol. ; 71 : 51-61.
- Mycek ,M. ;Harrey ,R.;Champe ,P. & Fisher ,B. (2000) .Lippincotts 'illustrated reviews pharmacology .2<sup>n</sup> d .,Lippincott Williams an wilkins .P.263-267.
- Nakamura ,T. ; Imia , Y. ; Matsumoto , T.; Sato , S. ; Takeuchi, K. ; Igarashi , K.; Harda , Y. ; Azuma , Y. ; Krust , A. ; Yamonoto Y. ; Nishina ,H. ; Takeda , S. ; Takayanagi , H. ; Metzger , D.; Kanno , J. ; Takaoka, K.; Martin , J. ; Chambon , P.& Kato , S. (2007) . Estrogen prevents bone loss via estrogen Receptor alpha and induction of fas ligand in osteoclasts . Cell ; 130 :811-823.
- Nakagawa ,M. ; Ooie ,T.; Taniguchi ,Y.;Anan ,F.;Yonemochi ,H.& Saikawa ,T. (2006). Influence of menstrual cycle on QT Interval dynamics .*Pacing Clin Electrophysiol* .;29 (6): 607-13.
- Nelson ,H.(2008).Menopause .Lancet . 371 :760-770.
- Newmark .J. (2007). Nerve agents (Neurologist 13 (1): 20-320
- Ohira ,Y. &Gill ,S. (1983). Effects of Dietary Iron Deficiency on Muscle Fiber characteristics and Whole Body Distribution Of Hemoglobine in mice .J. Nutrition .; (1): 1811-1818.
- Oliveri , N. (1999). The beta – thalassemia , N. Engl. J. Med. ; 8: 341(2) 99-109.
- Oudit ,G. ; Trivieri , M. ; Khaper , N. ;Liu , P. & Backx, P. (2010).Role of L-type Ca<sup>+</sup> channels in iron transport and iron – overload Cardiomyopathy .J.Mol. Med. (Berl).; 84:349-364.

- Oudit ,G. ; Trivieri ,M.;Khaper ,N.; Husain , T. ;Wilson ,G.; Liu ,P.; Sole ,M. &Backx, P .(2004) . Taurine supplementation Reduces Oxidative Stress and Improves Cardiovascular Function in An Iron –overload Murine .Model .J. Amer .Heart. Associati . ; 109:1877-1885.
- Parker,W. (2010). Bilateral oophorectomy versus ovarin conservation :effects on lung – term woman’ s health. J. Minim Invasive Gynecol. ;17 (2):161-66.
- Parker, W. ; Jacoby , V.; Shoupe , D. & Rocca , w. (2009) . Effect of bilateral oophorectomy on women’s long –term health . Womens health (Lond Engl ). ; 5 (5): 565-76.
- Papanikoaoon ,G. & Pantopoulos , K. (2005). Iron metabolism and toxicity – toxicol . Appl. Pharmacol. ;202 :199-211.
- Paquette , A. Shinoda ,M. ; Rabasa,-Lhoret , R. ; Prud-homme ,D.&Lavoie ,J. (2007) . Time couerse of liver lipid infiltration In ovariectomized rats :Impact of a high-fat aiet . Maturitas ; 58:182-190.
- Perera ,D. ; Arnold ,P.; Alastair ,C.;Maurice ,K.; John ,P.;Mary ,P. ; Irvine ,D .& Chatterjee, R. (2002) .Sperm DNA Damage in Potentially Fertile Homozygous  $\beta$ -thalassemia patients with Iron overload . Human Reprodu .;17 (7):1820-1825.
- Piga, A. ; Roggero , S. ;Vinciguerra, T. ; Sacchetti , L.; Gallo , V.& Longo , F.(2005) . Deferiprone :New insight . Ann. N.Y. Acad Sci., 1045:169-174.
- Pinelli ,A.;Trivulzio , S.;Tomasoni ,L. ; et al . (2004).Isoproterenol. induced myocardial infraction in rabbits protection by Propranolol. Or labetalol : aproposed non - invasive Procedure. Eur .J. Pharm . Sci . ;23:277-85.

- Pischon ,T.;Girman ,C.;Saks ,F.;Rifai ,N.&Rimm ,E. (2005). Non –high - density Lipoprotein cholesterol and apolipoprotein in the Prediction of coronary heart disease in men .Circulation ,112 : 3375-3383.
- Ponka ,P. ; Beaumont ,C.&Richarason , D.(1998). Function and regulation of transferrin and ferritin .Sem .Hematol . 35:35-54.
- Presnell,J.&Schreibman , M.(1997). Humason’s animal tissue techniques ,5<sup>th</sup> ed .John Hopkins .Univ. Press ,Baltimore ,596.
- Patterson ,E. ;Ma ,L.; Szabo ,B.;Robinson ,C.& Thadani ,U.(1998) .Ovariectomy and Estrogen –Induced Alterations in Myocardial Contractility in Female Rabbits :Role of the L-Type Calcium Channel. J.Pharmacol. & Experimental Therapeutics .;284 (2): 586-591
- Ramm ,G.A. ; Grawford , D.H. ; Powell ,L. W. ;Walker ,N.I. ;Fletcher ,L.M. & Halliday ,J.W. (1997).Hepatic Stellate Cell Activation In Genetic Haemochromatosis .J.Hematol.;26 (3): 584-592.
- Rificia ,V.&Khachadurian ,A. (1992). The inhibition of low density lipoprotein oxidation by 17-beta estradiol .Meta . Clin . Exper .; 41 :1110-1114.
- Rivera ,C. ; Grossardt ,B. ; Rhodes ,D. & et al .(2009). Increased cardiovascular mortality after early bilateral oophorectomy . Menopause .; 16 (1): 15-23.
- Ren ,Y.& Deng ,Y. (2003). An experimental study on effect of estrogen on osteoarthritis in female rats . Zhongguo Xiu . Fu . Chong Jian .Wai . Ka. Zhi. ; 17 :212 -4 .
- Ross ,J. ;Stefanatos ,G. ; Kushner ,H.; Bondy ,C . ; Nelson ,L.; Zinn ,A. & Roeltgen ,D. (2004). The Effect of Genetic Differences and Ovarian Failure : intact Cognitive function in Adult Women

- With premature Ovarian Failure *Versus* Turner syndrome.  
J. Clin .Endocrinol . &Metabol. ; 89 (4):1817 -1822.
- Rodac ,S.B. (2002) .Hematological Clinical principles and application .2<sup>nd</sup>  
Ed .WB. Saunder company. Philadelphia ,London ,Toronto ,  
156.
- Ryan ,K.(1982). Biochemistry of aromatase :significance to female  
reproductive physiology cancer Res. ; 42(8):3342s -3344s.
- Sarkar ,S. ; Qi –Huang ,R. ; Longan , S. ;Don Yi ,K.;Dillon ,G. &Simpkins  
,J, (2008) . Estrogens directly potentiale neuronal  
L-type Ca<sup>2+</sup> channels .Proceed. Nation . Acad. Sci. Amer .  
.;105 (39) :15184-15161.
- Salis ,A. (2009)." Applications in Clinical Microbiology "Real –time PCR  
:Current Technology and Applications caister Academic Prees  
.ISBN 978-1-904455-39-4.
- Saranyaratana ,W.;Sakondhavat ,C.; Silaruks ,S.;Soontrapa ,S.&  
Kaewrudee , S. (2006). Effect of Hormone therapy on lipid  
Profile in Menopausal Women .J. Med .Assoc. Thai .; (4):37  
- 41.
- Selwood ,T&Jaffe ,E. (2011). Dynamic dissociating homo-oligomers and  
the control of protein function . Arch .Biochem .Biophys  
519(2):131-43 .
- Seldrum ,S.;Pierard ,S.;Monitte ,S.; Vermeylen ,C.; Vancraeynest ,D.;  
Pasquet ,A. Vanoverschelde ,J .& Gerber ,B .(2011). Iron  
Overload in polytransfused patients without heart failure is  
Associated with subclinical alteration of systolic left ventricular  
Function using cardiovascular magnetic resonance tagging .J.  
Cardiovas . Magnatic .Res. ;13 :23:2-9.
- Sebastein ,H. ; Jean-Louis ,D. ; Rachel ,R. ; Soraya , S.; Sophie ,C. &  
Christian ,F. (2003) .Influence of endogenous oestrogens on

- QT interval duration .European heart .J. 24,166-1667 .
- Sharman ,S.(2011).Prophylactic Bilateral Oophorectomy :Dose Benefits Out Weigh Risks ?India .;13 (1):1-2 .
- Schwartz ,P. (1992).The role of prophylactic oophorectomy in the avoidance of ovarian cancer .Int .J. Gynaecol .Obster .;39(3): 175-84.
- Shuster ,L.;Gostout ,B. ; Grossardt , B.&Rocca, W.(2008) .Prophylactic oophorectomy in premenopausal women and long-term health . Menopause .Int. ; 14(3):111-16.
- Sreelathakumari ,K.;Menon , V. & Leelamma ,S.(1993). Lipid peroxidw metabolism in oophorectomised rat .Indian .J. Med. Res. ; 98 :305-308.
- Schulz, J. ; Linder ,J. & Seyfried ,J. (2003). Glutatheory .Oxidative stress and neuro degeneration Eur .J. Biochem .;267:4904-4911.
- Schrier ,S.L. ;Centis ,F. ; Verneris ,M. ; Ma. I. & Angelucci ,E. (2003). The role of oxidant injury in the pathophysiology of human Thalassemia .Redox . Rep. ; 8 : 241-245.
- Sullivan ,J. (1981). Iron and the sex differencein heart disease risk .Lane .6.1293.
- Tamargo, J. ;Caballero , R. &Delpon ,E. (2004). Pharmacological approaches in the treatment of atrial fibrillation .Curr. Med. Chem .; 11(1):13-28.
- Tian ,H. ;Liange ,J.&Zhang ,X. (1991).Malondialdehyde –modified low density lipoprotein in diabetes mellitus .Hua .I.Ko.Ta.Hsueh PAO .; 22:97-99.
- Tomoak ,S. ;Andrea ,C.; Jeam ,C. ; Ligia ,T.;Enrico ,S.&Mansoureh ,E.(2009). Estrogen contributes to gender differences in Mouse Ventricular repolarization .Circ .Res. 24; 105 (4):343-352.

- Townsend ,D.;Tew ,K.&Tapiero ,H.(2003).The importance of glutathione in human disease .Biomed .Pharmacotherapy (57): 145-155.
- Tsay ,J.; Yang ,Z.; Ross ,F.; Cunningham –Rundles ,S.; Lin, H.;Coleman ,R.; Mayer-Kuckuk ,P.; Doty ,S.&Vogiatzi ,M .(2010). Bone loss Caused by iron overload in amurine model : importance of Oxidative stress .Amer .Sci .Hematol.Blood .J. 116:2573-2689
- Turbino ,S.; Silva ,M. ; Chianca , D. ; Depaula ,H.; Cardoso ,L. & Pedrosa ,M. (2003) . Iron overload in hypercholestelemic rats Affects iron homeostasis and serum lipids but not blood Pressure .J. Nutr.; 133:15-20.
- Turner ,R. ;Maran ,A.;Lotinun ,S.;Hefferan ,T.; Evans ,G. ; Zhang,M.&Sibonga ,J. (2001).Animal models for osteoporosis . Reviews in Endocrin e and Metabolic .Disorders ;2:117-27.
- Virant-Klun,I. ;Rozman ,P.;Cvjeticanin ,B.;Vrtacnik-Bokal ,E .;Novakovic,S. ;Ruelicke ,T.; Dovc ,P.& Meden-Vrtovec ,H. (2007) .Parthenogenetic Embryolike Structures in the Human Ovarian Surface Epithelium Cell Culture in Postmenopausal Women with No Naturally present Follicles and Oocytes . (Accepted for publication) . Stem cells & Development .
- Warnock,J.; Swanson ,S.;Borel, R.;Zipfel ,L.&Brennan ,J. (2005). Combind esterified estrogens and methyltes to sterone versus Esterified estrogen alone in the treatment of loss of sexual Interest in surgically menopausal women .Menopause .;12 (4) :359-60.
- Waller ,D. (1889) . One of the electromotive changes connected with the beat of the mammalian heart , and the human heart in particular Phil .Trans .B. 180 :169 .

- Walsh ,B.; Kuller ,L.; Wild ,R.;Paul, S.; Farmer ,M .; Lawerence ,J. ; Shah, A. & Anderson ,P .(1998). Effects of raloxifene on serum Lipids and coagulation factors in healthy postmenopausal Women . JAMA .;279 :1445-1451.
- Wang ,J.;Guo, Y. ;Niu ,J. ; et al . (2004). Effects of radix puerariae flavones on liver lipid metabolism in ovariectomized rats .World .Gastronterol .;10:1967-70
- Weitzmann ,M.&Pacifici ,R. (2006 ). Estrogen deficiency and bone loss :an inflammatory tale . J.Clin .Invest . ;116 (5):1186-1194 .
- Whitehead ,S.&Nussey ,S.(2001).Endocrinology :an intergrated approach .Oxford :BIOS :Taylor & Francis .ISBN. 1-85996 -25 -1.
- Williams ,C. (2007) .Menopause , Cholesterol ,And Cardiovascular Disease .The Evidence ,Climacteric .,10 (1) : 19 -24 .
- Wohaieb ,S.; Tohala ,S.&AL-Dewachi ,D. (1994).Effect of induced .Iraq .J. Vet.Sci .; 7 :81-84.
- Wong ,C. & Richardson ,D.(2003), $\beta$ -Thalassemia :eneryence of new and improved Iron chelatore for treatment .Int.Biochem. Ceel. Biol. ;35 :1144-1149.
- Wood ,R.&Ronnenberg ,A. (2006). Minerals in :Shils , ME. ;Shike ,M.; Ross ,AC.;Caballero ,B. Cousins, RJ. ;editors .Modern nutrition In health and disease .10ed:Lippincott .Williams & Willkins ; 248-271.
- Xu ,J.; Gong ,J.;Chang ,X.; Luo,J. ;Dong,L.; Hao , Z.;Jia ,A.&Xu ,G.(2002 ). Estrogen reduce s CCL 4-induced liver fibrosis inrats . World .J. Gastroenterol. 8 (5):883-887.
- Yazigi ,A. ; Maalout ,G. ;Khorati ,A.;Tamim ,H.&Saab ,C. (2002). Bone mineral density in  $\beta$  -thalassemic Lebanese children. J.Musculosked .Neuron .Interact ,2 (5):463-468.

- 
- Yen ,S. ;Jaffe , R.; Barbieri ,R. (1999).Reproductive endocrinology .4<sup>th</sup> ed . Philadelphia :Saunders . 110 -133 ;301 -319;751-784.
  - Zeitz ,O.;Maass ,A.;Van ,P.; *et al* . (2002).Hydroxyl radical-induced acute diastolic dysfunction is due to calcium overload via Reverse -mode Na<sup>+</sup> - Ca<sup>2+</sup> exchange .Circ .Res. ;90 :988-95.
  - Zimmerman ,M. &Hurrell ,R. (2007).Nutritional iron deficiency .Lancet . 370 :511-520.
  - Zipes ,D. (2000) .Clinical application of the Electrocardiogram \* FREE .J.Amer. Coll. Cardiol. ; 36 (6): 1746-1748.



# Summary

This study aimed to investigate the effect of the ovaries removal on electrocardiogram specially on ventricle repolarization and depolarization in addition of some physiological parameters and some changes in the specific genetic material which are occurs in sodium - potassium ion channels on adult female rabbits which were exposed and non exposed to iron overload .

Twenty adult females rabbits were randomly divided into four groups (5/group) for three months , the first group was injected with (20ml/kg)normal saline served as control group (G1) , second group was exposed to ovaries removal only (G2) ,while the third group in addition to ovaries removal was injected with 20mg/kg iron dextran in ascending (G3), the fourth group was injected iron dextran only in ascending (G4), after fasting , blood samples and histological sections were collected and electrocardiogram estimated . The results of this study were :-

- Tachycardia cleared by shortening in R-R wave in the ovaries removal group(G2) and short in period QT interval ,short in PR-interval and short in QRS complex which compared with control and iron overload group (G4) .
- Ovaries removal group with exposed to iron load (G3) was showed tachycardia and dispersion in the ventricle diastolic period QT interval ,short in PR- interval and short in QRS complex .
- Bradycardia was occurred by elongation of R-R wave and dispersion on period QT interval of ventricle diastolic period of the heart on G4 with short in PR- interval and non significant differences in QRS complex which compared with G1,G2and G3 groups .

- Showed non significant differences ( $P > 0.05$ ) was observed in RBC, WBC, PCV, Hb, MCV and MCH in G2, which compared with all groups.
- Showed significant decrease ( $P < 0.05$ ) RBC, PCV, Hb, MCV and MCH were compared with G1, G2. and also a significant increase ( $P < 0.05$ ) in WBC in G3 and G4 groups were compared with G1 and G2 groups.
- The significant increase ( $P < 0.05$ ) was cleared in the levels of iron concentration in G2, G3, G4 were compared with G1, also significant decrease ( $P < 0.05$ ) in Estrogen concentration in G2, G3, G4 were compared with G1 and significant increase ( $P < 0.05$ ) was cleared in FSH, LH Hormone in the G2 compared with G1, G3, G4, and significant decrease ( $P < 0.05$ ) FSH, LH Hormone in G4 and significant decrease ( $P < 0.05$ ) in LH hormone and non significant increase ( $P < 0.05$ ) in FSH Hormone in G3 compared with G1, G2, in addition a significant increase was showed ( $P < 0.05$ ) in the concentration levels of TC, TAG, LDL-C and VLDL-C and a significant decrease ( $P < 0.05$ ) in the HDL-C concentration in G2, G3 and G4 were compared with control group.
- The present study was showed a significant increase ( $P < 0.05$ ) in MDA and LDH enzyme activity with a significant decrease ( $P < 0.05$ ) in GSH concentration in the all groups were compared with control group.
- The histological examination of the present study on the heart and liver of ovaries removal group revealed to loss of myocardial fibers and separation nuclei of the some cardiac cells with edema in addition the deposition of fats droplet with necrosis in the hepatocytes, also showed in the third and fourth groups iron

deposition as haemosidrien and hemorrhage was cleared in heart and liver .

- Regarding the molecular genetic study by PCR ,the present study revealed that there is no difference in molecular size of DNA PCR Product of Exon I & Exon II for protein of sodium –potasum Channels with in the cardiac muscle in all treated groups whene Compared with control group .

Ministry of Higher Education  
And Scientific Research  
University of Kerbala-Education Collage



**Effect Ovariectomy and Overload iron on the some  
genetic and physiological parameters in the adult  
rabbits females**

Athesis submitted to the council college of Education of Kerbala  
University as a partial fulfillment of the requirements for the degree of  
Master of Scince in Biology –Zoology

By

**Reem Abdul –Raheem Mardan Al-Saadi**

Supervised by

Assist professor Dr .  
Wefak Gaborry Al- Bazii

Assist Professor .  
Hussein Ali Abdul -Latif

2012 A.D

1433 A .H