جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء – كلية التربية

الدور الوقائي لزيت بذور العنب *Vitis vinifera* على بعض المعايير الوظيفية والهرمونية الناتجة من الإجهاد التأكسدي المستحدث بفرط الحديد في ذكور الأرانب

رسالة تقدمت بها الطالبة

هبة علوان عبد السلام السلامي

الى مجلس كلية التربية في جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة- علم الحيوان

بكالوريوس تربية -علوم حياة 2006

إشراف

الأستاذ الدكتور	**الأستاذ المساعد الدكتورة**
سعد حمد عبد اللطيف	**وفاق جبوري محمد البازي**
1432 هـ	**2011 م**

بسم الله الرحمن الرحيم

"يُؤْتِي الْحِكْمَةَ مَنْ يَشَاءُ وَمَنْ يُؤْتَ الْحِكْمَةَ فَقَدْ أُوتِيَ خَيْرًا كَثِيرًا وَمَا يَذَّكَّرُ إِلَّا أُولُوا الْأَلْبَابِ"

صدق الله العلي العظيم

سورة البقرة / اية 269

اقرار المقوم اللغوي

أشهد أنّ هذه الرسالة الموسومة ب(الدور الوقائي لزيت بذور العنب على بعض المعايير الوظيفية والهرمونية الناتجة من الإجهاد التأكسدي المستحدث بفرط الحديد في ذكور الأرانب) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ماورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب والصحة في التعبير .

التوقيع :

الاسم: احمد صبيح محيسن الكعبي

المرتبة العلمية :

الكلية والجامعة :

التاريخ :   /   / 2011

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار المشرفين

نقر أن اعداد هذه الرسالة الموسومة ب (**الدور الوقائي لزيت بذور العنب على بعض المعايير الوظيفية والهرمونية الناتجة من الاجهاد التاكسدي المستحدث بفرط الحديد في ذكور الارانب**) قد تم تحت اشرافنا في كلية التربية / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

التوقيع

المشرف: أ.د. سعد حمد عبد اللطيف

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : كلية التربية /جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2011

التوقيع

المشرف :أ.م.د. وفاق جبوري محمد البازي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : كلية التربية /جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2011

توصية رئيس قسم علوم الحياة

استنادا الى التوصيات المتوافرة لدينا أرشح هذه الدراسة للمناقشة .

التوقيع :

د.قيس حسين عباس السماك

المرتبة العلمية : مدرس

العنوان : كلية التربية / جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2011

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن اعضاء لجنة المناقشة ادناه، قد اطلعنا على الرسالة الموسومة " **الدور الوقائي لزيت بذور العنب على بعض المعايير الوظيفية والهرمونية الناتجة من الإجهاد التأكسدي المستحدث بفرط الحديد في ذكور الأرانب** " وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وكل ما يتعلق بها ووجدنا انها جديرة بالقبول بتقدير (**امتياز**) لنيل درجة ماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

رئيس اللجنة

التوقيع:

الاســم : أ.د. اسماعيل كاظم عجام

العنــوان: كلية الزراعة/ جامعة بابل

التــاريخ: / /2011

عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم:أ .م. د.اكرم يوسف ياسر

العنوان : كلية طب الاسنان/ جامعة كربلاء

التاريخ: / /2011

عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم:أ .م. حسين علي عبد اللطيف

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2011

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع:

الاسم: أ . د.سعد حمد عبد اللطيف

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2011

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع:

الاسم:أ.م.د. وفاق جبوري البازي

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2011

التوقيع:

الاسم: م.د.قيس عباس السماك

العنوان: عميد كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2011

الاهداء

إلى من أملي رضاه وغايتي حبه ورحمته وغفرانه .... الله رب العالمين

إلى من اذهب الله عنهم الرجس وطهرهم تطهيرا......... سادتي ومعتمدي والنور الذي ينير حياتي .... خير الخلق اجمعين محمد واله الطيبين الطاهرين

إلى ينبوع الحب والعطاء ...... إلى قطعة الفردوس في الأرض ..... امي نور عيني

إلى سندي ورفقة عمري .... زوجي حسام

إلى من شاركتني رحلتي منذ اول يوم ولادتها .... قرة عيني ابنتي رزان

صديقة عمري واختي .... نورس

إلى كلّ قلب احبني بصدق واخلاص ...... إلى كل يد امتدت لمساعدتي

هبة

شكر وتقدير

لك الحمد ياذا المجد والجود والعلا تباركت تعطي من تشاء وتمنع ، الهي وخلاقي وحرزي وموئلي اليك لدى الاعسار واليسر افزع . الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على أفضل أنبيائه وخيرة أصفيائه .... محمد المصطفى وعلى اله الطيبين الطاهرين... أعلام الهدى والعروة الوثقى واولي الحجة والنهى ... الحمد لله الذي جعل العلم ضياءً والقران نورا ورفع الذين اتوا العلم درجات عالية إنه كان ذلك في الكتاب مسطورا ... الهي مابي من نعمة فمنك وحدك لاشريك لك فلك الحمد والشكر على ذلك .

ها انا اطوي الصفحات الأخيرة من رحلتي الطويلة ويطيب لي فيها ويشرفني أنْ اتقدم بالشكر والامتنان والاحترام العميق الى الاستاذين المشرفين الدكتور سعد حمد عبد اللطيف و الدكتورة وفاق جبوري البازي لما كان لهما من الفضل في اختيار موضوع البحث واشرافهما على متابعتها على اكمل وجه واسال الله العلي القدير أن يمن عليهما بكل خير وعافية ويمدَ خطاهما لكل خير.

كما اتقدم بالشكر والتقدير الجزيل الى رئاسة جامعة كربلاء لاتاحتها الفرصة لاكمال دراستي واتقدم بالشكر الجزيل الى عمادة كلية التربية / قسم علوم الحياة والى منتسبي القسم كافة لكل ماقدموه من تسهيلات ودعم ساعدت على اخراج هذه الرسالة على افضل وجه .ومن العرفان بالجميل اتقدم بالشكر الجزيل الى مستشفى الحسيني التعليمي في محافظة كربلاء / شعبة الكيمياء السريرية وأخص بالذكر الدكتور رياض حنيوة .

ويطيب لي أن أتقدم بالشكر الجزيل الى الأستاذ المساعد حسين عبد اللطيف والدكتورة ازهار عبد اللطيف / جامعة بابل كما يطيب لي ان اشكر الاستاذالدكتور عبد الكريم البيرماني لما قدمه لي من مساعدة في تصنيف النبات المستخدم في دراستي.

يشرفني ويسعدني ان اتقدم بالشكر الجزيل الى عائلتي العزيزة (امي ، حسام ، رزان ، حسين ، حوراء ، طيبة ، علي ، مادي) لمساعدتهم لي في تسهيل الكثير من الصعوبات خلال ايام الدراسة والبحث ، كما يسعدني أن اتقدم بالشكر الجزيل الى صديقتي نورس لما قدمته لي من مساعدات طول مدة البحث ولايفوتني ان اقدم خالص اعتزازي وتقديري الى رفاقي في دراستي طلاب الدراسات العليا (محمد ، مالك ، عقيل، علياء) . اهدي شكري وتقديري الى كل من غاب اسمه وحضر فضله وخير عمله و فقهم الله جميعا لما فيه خير وعافية .

هبة

الخلاصة

تهدف هذه الدراسة معرفة الدور الوقائي لزيت بذور العنب الاسود *Vitis vinifera* ضد التلف الحاصل في الكبد ، الخصى والغدة الدرقية والمستحث بفرط الحديد في ذكور الارانب .

هدفت التجربة الاولى الى إستخلاص الزيت من بذور العنب كيميائيا اذ تم استخدام الهكسان كمذيب عضوي وجرت عملية الاستخلاص باستخدام جهاز السكسليت Sexhlet apparatus ، تضمنت التجربة الثانية تحديد الجرعة المؤثرة (ED50) لزيت بذور العنب من خلال دراسة منحني الجرعة المؤثرة فقد تم استخدام (25) من ذكور الأرانب البالغة والتي قسمت عشوائيا الى خمس مجاميع متساوية (خمسة حيوانات/ مجموعة) وجرعت فمويا اربع جرع متزايدة من زيت بذور العنب يوميا (0.25 ،0.50 ، 0.75 ، 1 مل/كغم / و.ج) ولمدة اربعة اسابيع ، جمعت عينات الدم في فترة ماقبل المعاملة وبعد نهاية التجربة لدراسة المعايير التالية : تركيز المالونالديهايد MDA ، تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH ، تركيز الكوليسترول الكلي TC ، وتركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL وكانت الجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب تساوي (0.5 مل /كغم / و.ج) .

هدفت التجربة الثالثة دراسة الدور الوقائي لزيت بذور العنب على التاثير الضار في وظائف الكبد ،الخصى والغدة الدرقية والمستحث من فرط الحديد ، فقد تم استخدام (25) من ذكور الأرانب البالغة والتي قسمت عشوائيا الى خمسة مجاميع متساوية (خمسة حيوانات / مجموعة) ، حقنت المجموعة الاولى (G1) 20 مل/ كغم من المحلول الفسيولوجي وعدت كمجموعة سيطرة ،وحقنت المجموعة الثانية (G2) 20 ملغم /كغم من مادة دكستران الحديد بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرع في الاسبوع الثالث واربعة جرع في الاسبوع الرابع ، اما المجموعة الثالثة (G3) فقد حقنت ب 20 ملغم /كغم من دكستران الحديد و جرعت فمويا ويوميا بالجرعة المؤثرة ED50 لزيت بذور العنب والبالغة 0.5 مل/كغم ، في حين حقنت حيوانات المجموعة الرابعة (G4) 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع حقن تحت الجلد(SC) 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرع في الاسبوع الثالث واربعة جرع في الاسبوع الرابع لكل مادة . اما المجموعة الخامسة (G5) فقد حقنت 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع حقن تحت الجلد (SC) 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين وجرعت يوميا بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب (0.5 مل / كغم) .

جمعت عينات الدم بعد تجويع الحيوانات Fasting blood sample في فترة ماقبل المعاملة وبعد نهاية كل اسبوعين حتى نهاية التجربة لدراسة المعاييرالتالي : ، حجم مكداس الدم PCV ، تركيز الهيموكلوبين Hb ،اعداد كريات الدم الحمرRBC ، معدل حجم كرية الدم الحمراء MCV ،معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCH ومعدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCHC ،اعداد كريات الدم البيض WBC ، وقياس تركيز الكوليسترول الكلي TC وتركيز الدهون الثلاثية TAG ، تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL والشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL والشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL وقياس تركيز الحديد Iron ونواقله (Ferritin وTransferrin) والسعة الكلية لارتباط الحديد TIBC اضافة الى قياس بعض الهرمونات المغذية للقند (الهرمون المحفز للجريبات FSH و الهرمون اللوتيني LH) اضافة الى قياس تركيز هرمون الشحمون الخصوي Testosterone وقياس تركيز الهرمون المحفز للدرقية TSH اضافة الى قياس تركيز هرمونات الغدة الدرقية (هرمون الثايرونين ثلاثي اليود T_3 وهرمون الثيروكسين T_4) .

اظهرت نتائج هذه التجربة ان الحقن العضلي لدكستران الحديد أدى الى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز PCV ،Hb ،RBC ، MCV ،MCH ،MCHC ،HDL وتركيز الهرمونات FSH ، LH ، Testosteron T_3و T_4 وفي السعة الكلية لارتباط الحديد TIBC ، وحدوث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى WBC ، TC ، LDL وتركيز هرمون TSH وتركيز الحديد Iron ونواقلة (Ferritin وTransferrin) ، في حين لم يلاحظ وجود فروق معنوية في تركيز VLDL و TAG مقارنة مع مجموعة السيطرة .

فيما اظهرت المجموعة المعاملة بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والمعرضة لفرط الحديد باستخدام مادة دكستران الحديد ان التجريع الفموي لزيت بذور العنب ادى الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز الحديد Iron ونواقلة (Ferritin , Transferrin) وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في السعة الكلية لارتباط الحديد TIBC وهرمون Testosteron ولم يلاحظ وجود فروق معنوية في مستويات Hb ، PCV ،RBC ، MCV ،MCH ،MCHC ، TC ،HDL ، LDL ، VLDL ،FSH ، TSH ،LH ،T_3 و T_4.

اما المجموعة التي تعرضت للحقن بمادة الديسفروكسامين فقد سجلت ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في اعداد كريات الدم البيضاء WBC ،LDL ، تركيز الحديد Iron وناقلة Ferritin و TSH وانخفاض

معنوي في مستوىPCV ، Hb ،HDL ، السعة الكلية لارتباط الحديد TIBC وتركيز الهرمونات FSH ، LH ، Testosteron ، T_3 و T_4 ، وفي السعة الكلية لارتباط الحديد في حين لم تسجل فروق معنوية في اعداد كريات الدم الحمراء RBC ومستويات MCV ، MCH، MCHC ، TC ، TAG و VLDL .
كما تبين التجربة ان التجريع الفموي لزيت بذور العنب مع الحقن بمادة الديسفيروكسامين تسبب في عودة المعايير السابقة الى تراكيزها الطبيعية والمتمثلة بارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوىPCV ، Hb، RBC، FSH ، LH ، Testosteron و T_3 وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز LDL و Ferritin وعدم وجود فروق معنوية في مستوى ، MCV ، MCH ، MCHC ، WBC ، TC، TAG HDL ، VLDL، Iron ، TIBC ، Transferrin، TSH و T_4.

اظهرت نتائج الفحص النسيجي ترسب الحديد بشكل هيموسدرين Hemosiderin في الكبد وحدوث تلف في النبيبات المنوية للخصى ونقصان ملحوظ في مستوى الغروان للغدة الدرقية بعد الحقن العضلي لدكستران الحديد Iron dextran ، اما بالنسبة للمجموعة التي حقنت بدكستران الحديد وجرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 لزيت بذور العنب فقد لوحظ انعدام ترسب الهيموسدرين في الكبد ، والمظهر الطبيعي للنبيبات المنوية في الخصى ولم يلاحظ وجود تغيرات في نسيج الغدة الدرقية مقارنة مع مجموعة السيطرة

يستنتج من الدراسة الحالية الدور الوقائي لزيت بذور العنب الاسود *Vitis vinifera* ضد التاثير الضار لفرط الحديد في الكبد والخصى والغدة الدرقية وتؤكد افضليته على مادة الديسفروكسامين .

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضـــــوع	التسلسل
I	الخلاصة	
IV	المحتويات	
IX	قائمة الجداول	
XI	قائمة الاشكال والصور	
XIII	قائمة المختصرات	
	الفصل الاول المقدمة	
1	المقدمـــــــــــة	
	الفصل الثاني استعراض المراجع	
4	الحديد	1-2
4	المصادر الغذائية للحديد	2-2
5	دور الحديد في الجسم	3-2
7	تمثيل الحديد في الجسم	4-2
7	امتصاص الحديد	1-4-2
8	اخذ الحديد	2-4-2
8	توزيع الحديد في الجسم	3-4-2
10	نواقل الحديد	5-2
10	الترانسفرين	1-5-2
10	الفرتين	2-5-2
11	فرط الحديد	6-2
12	دكستران الحديد	7-2
13	علاقة فرط الحديد ببعض الامراض	8-2
13	اصطباغ الدم الوراثي	1-8-2
14	فقر الدم (الانيميا)	2-8-2
15	الثلاسيميا	3-8-2
16	علاج فرط الحديد	9-2
17	الديسفروكسامين	10-2
17	الاجهاد التاكسدي	11-2
19	مضادات الاكسدة	12-2

20	الهرمونات المغذية للمناسل	13-2
21	الهرمون المحفز للجريبات FSH	1-13-2
22	الهرمون اللوتيني LH	2-13-2
22	هرمون الشحمون الخصوي Testosterone	14-2
24	الهرمون المحفز للدرقية TSH	15-2
25	الغدة الدرقية	1-15-2
26	النبات الطبي المستخدم في الدراسة	16-2
26	نبذة تاريخية	1-16-2
26	الاستخدامات العلاجية لزيت بذور العنب	2-16-2
27	المركبات البايلوجية لزيت بذور العنب	3-16-2
29	الاحماض الدهنية والفيتامينات الموجودة في زيت بذور العنب	4-16-2
	الفصل الثالث المواد وطرائق العمل	
34	حيوانات التجربة	2-3
34	تصميم التجربة	3-3
34	التجربة الاولى	1-3-3
35	التجربة الثانية	2-3-3
36	التجربة الثالثة	3-3-3
37	سحب الدم	4-3-3
37	الفحوصات الدمية	4-3
37	تقدير حجم خلايا الدم المضغوطةPCV	1-4-3
38	تقدير نسبة الهيموكلوبينHb	2-4-3
38	تقدير اعداد كريات الدم الحمرRBC	3-4-3
39	حساب نسبة مؤشرات كريات الدم الحمر	4-4-3
39	حساب قيمة حجم كرية الدم الحمراءMCV	1-4-4-3
39	حساب قيمة محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراءMCH	2-4-4-3
39	حساب قيمة تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراءMCHC	3-4-4-3
40	العد الكلي لخلايا الدم البيضWBC	5-4-3
40	الفحوصات الكيموحيوية	5-3
40	تقدير تركيز المالونالديهايد MDA في مصل الدم	1-5-3
42	تقدير تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH في مصل الدم	2-5-3
44	تقدير تركيز الكوليسترول في مصل الدم	3-5-3
46	تقدير تركيز الكليسريدات الثلاثية	4-5-3
47	تقدير تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة	5-5-3
49	تقدير تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة	6-5-3

50	تقدير تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا	7-5-3
50	قياس تركيز حديد المصل	8-5-3
52	قياس السعة الكلية لارتباط الحديد	9-5-3
53	قياس نسبة تشبع الترانسفرين	10-5-3
53	قياس تركيز الفرتين	11-5-3
56	قياس تركيز الهرمونات	6-3
56	قياس تركيز الهرمونات (محفز الجريبات - اللوتيني)	1-6-3
58	قياس تركيز هرمون الشحمون الخصوي	2-6-3
60	قياس تركيز هرمون TSH	3-6-3
61	قياس تركيز هرمون T_3	4-6-3
63	قياس تركيز هرمون T_4	5-6-3
64	التقطيع النسيجي	7-3
66	التصوير المجهري	8-3
66	التحليل الاحصائي	9-3
	الفصل الرابع النتائـــج	
67	التجربة الثانية تحديد الجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب	1-4
67	تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز المالونالديهايد	1-1-4
68	تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز الكلوتاثيون المختزل	2-1-4
68	تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز الكوليستيرول الكلي	3-1-4
69	تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة	4-1-4
71	التجربة الثالثة	2-4
71	تاثير فرط الحديد على المتغيرات الدمية	1-2-4
71	التغيرات في معدل حجم مكداس الدم	1-1-2-4
72	التغيرات في معدل تركيز الهيموكلوبين	2-1-2-4
74	التغيرات في معدل اعداد كريات الدم الحمر	3-1-2-4
75	التغيرات في معدل حجم كرية الدم الحمراء	4-1-2-4
77	التغيرات في معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء	5-1-2-4
78	التغيرات في معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء	6-1-2-4
79	التغيرات في معدل اعداد كريات الدم البيض	7-1-2-4
80	تاثير فرط الحديد على المعايير الكيموحيوية	2-2-4

4-2-2-1	التغيرات في معدل تركيز الكوليسترول الكلي	80
4-2-2-2	التغيرات في معدل تركيز الدهون الثلاثية	81
4-2-2-3	التغيرات في معدل تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة	82
4-2-2-4	التغيرات في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة	83
4-2-2-5	التغيرات في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا	84
4-2-2-6	التغيرات في معدل تركيز الحديد الحر	85
4-2-2-7	التغيرات في معدل سعة ارتباط الحديد الكلية في المصل	86
4-2-2-8	التغيرات في معدل اشباع الترانسفرين	88
4-2-2-9	التغيرات في معدل تركيز الفرتين	89
4-2-3	تاثير فرط الحديد على المعايير الهرمونية	90
4-2-3-1	التغيرات في معدل تركيز المحفز للحويصلات المبيضية FSH	90
4-2-3-2	التغيرات في معدل تركيز الهرمون اللوتيني LH	91
4-2-3-3	التغيرات في معدل تركيز هرمون الشحمون الخصوي	92
4-2-3-4	التغيرات في معدل تركيز هرمون TSH	93
4-2-3-5	التغيرات في معدل تركيز هرمونT_3	94
4-2-3-6	التغيرات في معدل تركيز هرمون هرمون T_4	95
4-2-4	التغيرات النسيجية	97
4-2-4-1	تاثير فرط الحديد على نسيج الكبد	97
4-2-4-2	تاثير المعالجة بزيت بذور العنب والديسفروكسامين على نسيج الكبد	97
4-2-4-3	تاثير فرط الحديد على الغدة الدرقية	100
4-2-4-4	تاثير المعالجة بزيت بذور العنب والديسفروكسامين على الغدة الدرقية	100
4-2-4-5	تاثير فرط الحديد على نسيج الخصى	103
4-2-4-6	تاثير المعالجة بزيت بذور العنب والديسفروكسامين على نسيج الخصى	103
	الفصل الخامس المناقشة	
5-1	تاثير فرط الحديد على بعض المعايير الدمية والقياسية	106
5-2	الدور الوقائي لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على بعض المعايير الدمية والقياسية	107
5-3	تاثير فرط الحديد على الكوليسترول والشحوم البروتينية	109
5-4	الدور الوقائي لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على الكوليسترول والشحوم البروتينية	110
5-5	تاثير فرط الحديد على معايير الحديد	111
5-6	الدور الوقائي لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معايير الحديد	112
5-7	تاثير فرط الحديد على الهرمونات الدرقية والهرمونات المغذية للقند	113
5-8	الدور الوقائي لزيت بذور العنب والديسفروكسامين الهرمونات الدرقية	114

	والهرمونات المغذية للقند	
9-5	تاثير فرط الحديد على الانسجة	115
10-5	الدور الوقائي لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على الانسجة	115
	الفصل السادس الاستنتاجات والتوصيات	
	الاستنتاجات	117
	التوصيات	119
	المصادر العربية	120
	المصادر الاجنبية	121
	الخلاصة باللغة الانكليزية	150

قائمة الجداول

التسلسل	العنوان	الصفحة
1-3	جدول الاجهزة المستخدمة حسب الشركة والمنشا	31
2-3	جدول الادوات الزجاجية والبلاستيكية حسب الشركة والمنشا	32
3-3	جدول المواد الكيميائية حسب الشركة والمنشا	32
1-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل مكداس الدم في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	72
2-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الهيموكلوبين في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	73
3-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل اعداد كريات الدم الحمر في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	75
4-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل حجم كرية الدم الحمراء في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	76
5-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	77
6-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	78
7-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل اعداد كريات الدم البيض في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	79
8-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الكوليسترول الكلي في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	80
9-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل الدهون الثلاثية في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	81
10-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	82
11-4	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب	83

	والديسفروكسامين على معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط	
84	الحديد جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	12-4
86	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الحديد الحر في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	13-4
87	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل سعة ارتباط الحديد الكلية في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	14-4
88	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل اشباع الترانسفرين في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	15-4
89	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الفرتين في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	16-4
90	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون FSH في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	17-4
91	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون LH في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	18-4
92	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون الشحمون الخصوي في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	19-4
93	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون TSH في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	20-4
95	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون T_3 في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	21-4
96	جدول تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون T_4 في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد	22-4

قائمة الصور والاشكال

التسلسل	العنوان	الصفحة
1-2	شكل الية امتصاص الحديد	9
1-3	شكل تصميم التجربة	33
2-3	شكل المنحنى القياسي للفرتين	55
3-3	شكل المنحنى القياسي لهرمون FSH	57
4-3	شكل المنحنى القياسي لهرمون LH	58
5-3	شكل المنحنى القياسي لهرمون Testosterone	59
6-3	شكل المنحنى القياسي لهرمون TSH	61
7-3	شكل المنحنى القياسي لهرمون T_3	62
8-3	شكل المنحنى القياسي لهرمون T_4	64
1-4	شكل تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز المالونالديهايد	67
2-4	شكل تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز الكلوتاثيون المختزل	68
3-4	شكل تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز الكوليستيرول الكلي	69
4-4	شكل تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة	70
1-4	صورة تبين مقطع نسيجي للكبد في حيوان مجموعة السيطرة	97
2-4	صورة تبين مقطع نسيجي للكبد في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد	98
3-4	صورة تبين مقطع نسيجي للكبد في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد + 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب	98
4-4	صورة تبين مقطع نسيجي للكبد في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد + 10 ملغم /كغم من مادة الديسفروكسامين	99
5-4	صورة تبين مقطع نسيجي للكبد في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد + 10 ملغم /كغم من مادة الديسفروكسامين + 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب	99
6-4	صورة تبين مقطع نسيجي للغدة الدرقية في حيوان مجموعة السيطرة	100
7-4	صورة تبين مقطع نسيجي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد	101
8-4	صورة تبين مقطع نسيجي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد + 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب	101

102	صورة تبين مقطع نسيجي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد + 10 ملغم /كغم من مادة الديسفروكسامين	9-4
102	صورة تبين مقطع نسيجي للغدة الدرقية في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد + 10 ملغم /كغم من مادة الديسفروكسامين + 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب	10-4
103	صورة تبين مقطع نسيجي للخصية في حيوان مجموعة السيطرة	11-4
104	صورة تبين مقطع نسيجي للخصية في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد	12-4
104	صورة تبين مقطع نسيجي للخصية في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد + 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب	13-4
105	صورة تبين مقطع نسيجي للخصية في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد + 10 ملغم /كغم من مادة الديسفروكسامين	14-4
105	صورة تبين مقطع نسيجي للخصية في المجموعة المعاملة ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد + 10 ملغم /كغم من مادة الديسفروكسامين + 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب	15-4

قائمة المختصرات

المصطلحات	المختصرات
Cyclic Adenosine monophosphate	CAMP
Deoxy Ribonucleic Acid	DNA
Desferrioxamine	DFO
Divalent Metal ion Transporter1	DMT1
Effective Dose	ED50
Ferric	Fe^{+3}
Ferric Reducing Antioxidant Power	FRAP
Ferrous	Fe^{+2}
Follical Stimulating Hormone	FSH
Glutathion	GSH
Gonadotrophic Hormones	Gn-H
Grape seeds oil	GSO
Hemoglobin	Hb
Hereditary Haemochromatosis	HHC
High Density lipoprotein	HDL
Hydrogen peroxide	H_2O_2
Low Density Lipoprotein	LDL
Luteinizing Hormone	LH
Malondialdehyde	MDA
Mean Corpuscles Hemoglobin	MCH
Mean Corpuscles Hemoglobin Concentrations	MCHC
Mean Corpuscles Volume	MCV
Methemoglobin	MetHb
Neuroblastoma	NB
Oligomeric Proanthocyanidin Complexes	OPCs
Packet Cell Volume	PCV
Polyunsaturated Fatty Acid	PUFA
Reactive Oxygen Species	ROS
Sodium Desmutase	SOD
Tetra Carbon Cloride	CCL4
Thiobarbituric Acid	TBA
Thyroid Stimulating Hormone	TSH
Thyroxin	T_4

Total Cholesterol	TC
Total iron binding capacity	TIBC
Total Iron Binding Capacity	TIBC
Total Protein	TP
Transferrine	Tf
Transferrine – Receptor 1	Tfr1
Transferrine – Transferrine Receptor 1	Tf-Tfr1
Triacylglycerol	TAG
Trichloro Acetic Acid	TCA
Triiodothyronine	T_3
TSH Receptor	TSH R
Very Low Density Lipoprotein	VLDL

الفصل الاول

المقدمه

Introduction

المقدمة

Introduction

يعد الحديد احد العناصرالغذائية الأساسية لكل الكائنات الحية ، ويلعب دورا رئيسيا في عدد من الوظائف الحيوية ، اذ يشكل جزءا اساسيا للعديد من الانزيمات والبروتينات التي تشترك في عملية تنظيم الأيض (Bodnar *et al* , 2002) كما انه يشترك في العديد من العمليات الخلوية مثل تحرير الطاقة ودوره كمرافق انزيمي في نقل الاوكسجين في بروتين الهيموكلوبين Hemoglobin والمايوكلوبين Myoglobin وكذلك في انزيمات السلسلة التنفسية وفي بناء الحامض النووي منقوص الاوكسجين Deoxy ribonucleic acid (DNA) (Hentze *et al* , 2004) .

إن وجود الحديد بصورته الحرة في الجسم يعد مادة سامة ويكون عادة بكميات ضئيلة او غير محسوسة اذ يكون في اغلب حالاته مرتبط مع ناقله البروتيني الذي يعرف بالترانسفرين Transferrin او مخزون في الخلايا بشكل فرتين Ferritin او هيموسدرين Hemosiderin (Franchini *et al* , 2008 ; Kohgo *et al* , 2008)،يتواجد الحديد بشكلين اساسيين هما الحديد العضوي Heam iron الذي يوجد بشكل اساسي في الأغذية الحيوانية التي تحتوي في تركيبها على الهيموكلوبين والحديد غير العضوي Non heam iron وهذا النوع من الحديد يتواجد في الاغذية النباتية (Conrad *et al* ,1999).

يعد نقص الحديد من المشاكل الصحية التي تؤثر سلبا على الجسم اذ انه يقلل قابلية الدم على نقل الكمية الكافية من الاوكسجين الذي تحتاجه الخلايا لنموها وادامة فعالياتها المختلفة (Guyton and Hall , 2000) كما ان زيادة كمية الحديد في الجسم تعتبر سامة وفي بعض الحالات ممكن أن يؤدي الى الموت نتيجة لتوليده مجموعة من الجذور الحرة اهمها جذر البيروكسيل والهيدروكسيل عن طريق تفاعلات الفنتون Fenton reaction (Hentze *et al* , 2004 ; Britton *et al* ,2004) .

إن عمليات نقل الدم المتكررة للأشخاص المصابين بالثلاسيميا تؤدي الى ترسب الحديد في أعضاء وأنسجة الجسم إذ يستلم الشخص المصاب جرعتين من الدم كل 2-6 أسابيع وتنقل في كل عملية نقل دم 250 ملغم من الحديد وعلى مدى مدة العلاج وبتكرار العملية فانها تؤدي الى الموت نتيجة لسمية الحديد

(Barham *et al* , 2004) اذ أن ترسب الحديد في القلب ، الكبد ، الرئتين ، الدماغ ونخاع العظم بامكانها ان تنتج العديد من الأمراض منها الفشل القلبي Heart failure (Ahmad *et al* , 2009) ، التليف الكبدي Liver fibrosis (Britton *et al* ,2004) ، داء السكري Diabetes ، التهاب المفاصل Arithritis (Willis *et al* , 2002) ،العقم Infertility (Baker and Morgan , 1994) والسرطان Cancer (Hentze *et al* , 2004).

تعتبر مادة الديسفروكسامين Desferoxamin (DFO) من أكثر الأدوية استخداما لعلاج حالات فرط الحديد والثلاسيميا والتي بامكانها ان تمنع العديد من التاثيرات السلبية لحالات فرط الحديد اذ يتم اعطائها عضليا اوتحت الجلد ونتيجة لنصف العمر القصير لهذه المادة لذا فهي تعطى عادة لجرعات ممتدة 8-12 ساعة بعد كل عملية نقل دم للاشخاص المصابين بالثلاسيميا (Hershko *et al* ,2003)، نتيجة الى الآلام والأورام المتسببة عند مواقع الحقن وكونها مادة باهضة الثمن الامر الذي دفع الباحثين للبحث عن مواد بديلة تكون فعالة في علاج حالات فرط الحديد .

نظرا للدور الوقائي للعديد من مضادات الأكسدة في علاج الكثير من حالات الإجهاد التأكسدي مثل فيتامين E وC جاءت فكرة استخدام زيت بذور العنب لعلاج حالات فرط الحديد نتيجة لاحتوائها على نسبة عالية من مضادات الاكسدة التي تحمي الجسم من العديد من المشاكل الصحية المتسببة بفعل الجذور الحرة ومن اهمها مادة Oligomeric Proanthocyanidin Complexes (OPCs) اضافة الى انه غني بالعديد من الفيتامينات منها فيتامين E وC و مادة β-carotin وكذلك احتوائه على العديد من الأحماض الدهنية غير المشبعة اهمها Omega-3 ، Omega-6 ، Omega-9 ، Palmatic acid و Stearic acid

نظرا لقلة الدراسات التجريبية عن الأضرار الصحية التي يسببها فرط الحديد نتيجة لعمليات نقل الدم المتكررة للاشخاص المصابين بالأنيميا اونتيجة لاخذ الحديد المفرط عن طريق الفم اوالحقن العضلي ونتيجة لقلة الدراسات التي تناولت تاثير فرط الحديد على الجهاز الهرموني في الجسم لا وسيما الهرمونات الجنسية والهرمونات الدرقية لذا جاءت اهداف الدراسة الحالية كما ياتي :

1- استحداث فرط الحديد باستخدام الحقن العضلي لدكستران الحديد iron dextran وقياس مستوى تركيز الحديد ونواقله في الجسم .

2- دراسة تاثير فرط الحديد على المعايير الدمية (PCV،HB، RBC، MCV ، MCH، MCHC، WBC) والمعايير الكيموحيوية (TC ، TAG، HDL-C، LDL-C، VLDL-C) .

3- معرفة تأثير فرط الحديد على بعض الهرمونات المغذية للقند(FSH و LH) وهرمون الشحمون الخصوي Testosterone والهرمون المحفز للدرقية TSHو الهرمونات الدرقية (T_3 و T_4).

4- دراسة الدور الوقائي لزيت بذور العنب الأسود على الإجهاد التأكسدي المستحث بفرط الحديد .

5- دراسة الدور الوقائي لمادة الديسفروكسامين على فرط الحديد.

6- دراسة التلف النسيجي المتسبب عن فرط الحديد في نسيج الكبد ، الخصى والغدة الدرقية .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

استعراض المراجع

Literature Review

1-2 الحديد Iron

الحديد هو فلز انتقالي يتميز بلون ابيض او رمادي عدده الذري 26 ووزنه الجزيئي 55.85 يكون مرتبط بالعديد من العناصر وتقريبا في كل أنواع الترب والمياه المعدنية (Ke Ya , 2006) وهو رابع اكثر العناصر وفرة على الأرض بعد الأوكسجين Oxygen والسليكون Silicon والالمنيوم Aluminume (Lieu *et al* ,2001)، ويعد من العناصر الغذائية الاساسية لكل الكائنات الحية فهو احد المكونات الرئيسية للعديد من البروتينات وله دور مهم في العديد من الفعاليات الكيموحيوية ، اذ يقوم بوظيفة المرافق الانزيمي لنقل الاوكسجين في بروتين الهيموكلوبين والمايوكلوبين وكذلك في انزيمات السلسلة التنفسية وفي بناء الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA (Franchini *et al* , 2008) .

يوجد الحديد في الجسم بكميات ضئيلة اوغير محسوسة اذ يكون في اغلب حالاته مرتبط الى البروتين الناقل للحديد الترانسفرين Transferrin ومخزون في الخلايا بشكل فرتين Ferritin او هيموسدرين Hemosiderin (Andrews , 2000 ; Conrad and Umbriet , 2002) اذ ان وجوده بشكل حر في الجسم يعد مادة سامة ويرتبط بمدى واسع من المشاكل الصحية (Orino *et al* ,2001) .

2-2 المصادر الغذائية للحديد Dietary resource of iron

يوجد الحديد بشكلين رئيسيين هما الحديد العضوي او الهيمي Heam iron والذي يتواجد في اللحوم الحمراء والبيضاء ، الكبد ، الفاصوليا ، الحبوب الكاملة او المدعمة واغلب الخضروات ذات الاوراق الداكنة (Conrad *et al*, 1999) ،اما الشكل الثاني للحديد فهو الحديد غير العضوي او غير الهيمي Non heam iron والذي يتألف بشكل اساسي من أملاح الحديد المشتقة من النباتات ومنتجات الالبان والذي يكون اغلبه حديد ثلاثي التكافؤ (Frary *et al* , 2004) .

يمتص الحديد في الأمعاء بنسبة حوالي 10-15 % عند البالغين (Kirk *et al* , 2001) إذ يتأثر امتصاص الحديد بعدة عوامل منها مستويات الحديد المخزونة في الجسم فقد وجد ان امتصاص الحديد يزداد عندما تكون مستويات الحديد المخزونة في الجسم منخفضة والعكس صحيح (Park *et al* , 2001 ; Kirk *et al* 2001) وهو ايضا يتاثر بنوعية الحديد الداخل في المادة الغذائية اذ يمتص معظم الحديد العضوي من بروتينات اللحوم بكميات كافية لكن نسبة 15-35 % من معدل امتصاصه يكون متاثر بنوع الغذاء وكذلك فان 2-20 % فقط من الحديد غير العضوي يمتص بشكل طبيعي اما النسبة الاكبر منه فتتاثر بشكل ملحوظ بمكونات الغذاء من العناصر الغذائية المختلفة (Lim and Vazivi , 2004) فقد وجد أن فيتامين C والبروتينات الحيوانية تدعم امتصاص الحديد غير العضوي في حين تعمل مادة التأنين Tannins الموجودة في الشاي وكذلك الكالسيوم والفينولات المتعددة والفايتات على تقليل امتصاصة (Park *et al* , 1997) .

تكون عملية تدعيم الأغذية بالحديد بمقدار (5-15 ملغم / يوميا) شائعة في الدول المتقدمة اما عملية التدعيم العلاجي للحديد على شكل مركبات دوائية فيوصى به للافراد البالغين عندما ينخفض لديهم تركيز الهيموكلوبين الى اقل من 10 غرام /دلسي لتر (Schumann *et al* , 1998) وربما يعطى فمويا أو عن طريق الحقن العضلي (Macdougall ,1999) اذ يمكن أن يعطى لوحده او مع الفيتامينات المتعددة Multi Vitamins والمعادن (Bonkousky *et al* , 1996) .

3-2 دور الحديد في الجسم The Role of iron in the Body

الحديد ضروري لكل اشكال الحياة ويمتلك العديد من الأدوار المهمة في الجسم فقد صنفت المركبات الحاوية على الحديد في الجسم الى صنفين ، وظيفية Functional ومخزونة Storage ، إذ ان ثلث الحديد الموجود في جسم الرجل يكون حديد وظيفي وما تبقى فهو حديد مخزون، اما في المرأة فيمثل الحديد المخزون حوالي ثمن كمية حديد الجسم وما تبقى فهو يدخل في العديد من العمليات الحيوية في الجسم (Yip and Dallman , 1996 ; Ke Ya , 2006) .

تعتمد العديد من الوظائف الحيوية للحديد مثل دوره كمرافق انزيمي في نقل الاوكسجين Oxygen transport وايض الطاقة Energy metabolism على فعالية الاكسدة والاختزال العالية للحديد Redox activity والتي تمكنه من الانتقال السريع بين شكلين اساسيين هما الحديدوز Fe^{2+} والحديديك Fe^{3+} إذ تكمن وظيفته الحقيقية كونه يقوم مرافق انزيمي Co – enzyme ضمن المواقع الفعالة

للانزيمات التي تشترك في المسارات الحيوية المهمة ، ومن جهة اخرى فأن هذه القدرة التي يمتلكها الحديد تعتبر ضارة من ناحية قدرته على تحطيم العديد من المركبات الخلوية مثل الاحماض الدهنية والاحماض النووية والبروتينات فالحديد يحفز تفاعلات الفنتون Fenton reactions التي ينتج عنها تحول السوبر اوكسيد Super Oxide وبيروكسيد الهيدروجين الى جذور حرة عالية الفعالية لذلك فان الحديد الموجود في الجسم سواء كان مخزون او داخل ضمن المسارات التحفيزية فانه يكون مرتبط مع بروتينات ناقلة او جزيئات تمتلك خواص مضادة للاكسدة وبذلك تلغي قدرته على التواجد بشكل حر التي ينتج عنها حصول الاجهاد التاكسدي (Richardson , 2002) .

يعد الحديد واحداً من اهم مكونات انزيم Ribonucleotide reductase الذي له دور مهم في عملية بناء ال DNA من خلال دوره كمرافق انزيمي Co-enzyme (Kohgo *et al* , 2008 ; Franchini *et al* , 2008) وهذا يعني ان القدرة على تجديد الخلايا تتاثر بشكل كبير عند انخفاض مستويات الحديد في الجسم وعلى هذا النحو فان ضمور الأنسجة المخاطية في الفم واللسان تكون ناتجة عن هذا الانخفاض ، اضافة الى ان الحديد له دور في نمو وتكامل انسجة الدماغ عند الاطفال ولذلك فان نقصه يؤدي الى انخفاض نسبة الذكاء (Beghetti *et al* , 1993).

يعد نقص الحديد من المشاكل الصحية الشائعة عند الاطفال والشباب والنساء فقد ذكر Bergeron وجماعته (1992) ان نقص الحديد يؤدي الى انخفاض في اداء الخلايا اللمفاوية التائية T-Lymphocytes بمقدار 20 % عند الاطفال اكثر من الذين يعانون من الانفلونزا او الاصابة في الامعاء الدقيقة ، كما ان انزيم Thyroperoxidase الذي يوجد في الغدة الدرقية يحتاج الى الحديد لاداء وظائفه في الجسم وإن نقص الحديد يسبب ضعف في تمثيل الغدة الدرقية فضلا عن العجز في السيطرة على درجة حرارة الجسم (Hurell , 1997)،اما Spivak وجماعته (2002) فقد ذكر ان فقر الدم عند النساء يحصل نتيجة الخسائر الكبيرة للحديد خلال فترة الحيض والتي تبلغ 80 ml وان انخفاض الحديد اثناء الرضاعة يمكن ان يخفض من وزن الاطفال الرضع (Bayuen and Bothwell , 1990) وان انخفاضه اثناء الحمل قد يؤدي الى حصول ولادات مبكرة(Scholl *et al* , 1995).

4-2 تمثيل الحديد في الجسم Metabolism Of Iron In The Body

1-4-2 امتصاص الحديد Iron Absorption

يحصل معظم امتصاص الحديد في كل اجزاء القناة الهضمية تقريبا ، لكن اغلب الحديد الممتص يكون في الاثنى عشر والجزء العلوي من الامعاء الدقيقة (Andrews 2000 ; Severyn *et al* , 2009) اذ تأخذ الخلايا المعوية الحديد بشكلين هما الحديد العضوي والحديد غير العضوي (Conrad and Umbreit , 2002) ينتقل الحديد غير العضوي بهيئة حديدوز Fe^{2+} من خلال السطح الحر للخلايا المعوية بواسطة ناقل معدني ثنائي التكافؤ (Divalent metal ion transporter 1 (DMT1 والذي يعرف ايضا بالبروتين الثاني للبلعم الكبير المرتبط بالمقاومة Resistance – Associated Macrophage Protine 2 (Fleming *et al* , 1997 ; Hentze *et al* , 2004) .

يوجد معظم الحديد غير العضوي بشكل معقدات الحديديك Ferric complexes لذلك يجب أن يختزل الى الحديدوز Fe^{2+} ليتم نقله بواسطة انزيم Cytochrom b enzyme المحصور في غشاء الاثنى عشر والذي وجد انه يمتلك فعالية الاختزال للحديديك Fe^{3+} (Mckie *et al* , 2001) .

توضح الآلية الدقيقة لنقل الحديد داخل الخلايا المعوية بأن هناك بروتينات عديدة تشترك في خزن وتحرير الحديد بضمنها الهيفايستين Hephaestin (Vulpe *et al* , 1999) وفروبروتين Ferroprotine 1 (Abboud and Hail , 2000) اذ يوجد بروتين الهيفايستين في الأمعاء وتم اكتشافه لاول مرة في فئران *Sla* فقد وجد Chen وجماعته (2004) ، إن الطفرة في هذا البروتين تقلل من تحرير الحديد الى مجرى الدم والذي بدوره يؤدي الى تجمع الحديد داخل الخلايا المعوية ولذلك وجد ان هذا البروتين ربما يلعب دوراً في تسهيل تحرير الحديد بالاشتراك مع ناقل الحديد الفروبروتين Ferroprotine1 اذ يوجد هذا البروتين على سطح الخلايا الظهارية للاثنى عشر ويعتقد بانه مسؤول عن تحرير الحديد الى الخلايا المعوية (Abboud and Hail 2000 ; Mckie *et al* , 2001) .

وجد مؤخرا ان الهرمونات الببتيدية المفرزة من الكبد والمعروفة باسم الهيبسدين Hepcidin لها اهمية في توازن الحديد في الجسم (Anderson *et al* , 2007) وتحت ظروف فرط الحديد فان هذا الهرمون ينظم سلباً امتصاص الحديد الموجود في الامعاء ونقل الحديد من الام الى الجنين عبر المشيمة اضافة الى تحرير الحديد من المصادر الكبدية (Ganz , 2003).

2-4-2 اخذ الحديد Iron Uptake

يوجد الحديد في المصل بشكل ذائب بدرجة كبيرة ويرتبط مع ناقله الخاص الموجود في المصل والذي يعرف بالترانسفرين Transferrin اذ يكون هذا الناقل قادر على الارتباط بذرتين من الحديد الثلاثي التكافؤ Fe^{+3} برابطة قوية عند النهايتين N و C (Richardson and Ponka , 1997 ; Andrews , 1999) ترتبط جزيئتين من الترانسفرين المحملة بالحديد الى الثلاثي التكافؤ الى مستقبلها الخاص الواقع على سطح الخلايا والذي يعرف Transferrin – receptor 1 (Tfr1) وبذلك يتكون معقد يعرف Transferrin – transferrin receptor 1 (Tf–Tfr1) اذ ينفذ هذا المعقد الى داخل الجسيم المركزي بعملية الالتهام الخلوي ، وحالما يدخل هذا المعقد الى داخل الخلية يتحرر الحديد من ناقله البروتيني الترانسفرين (Severyn *et al* , 2009 ; Morgan , 1981) .

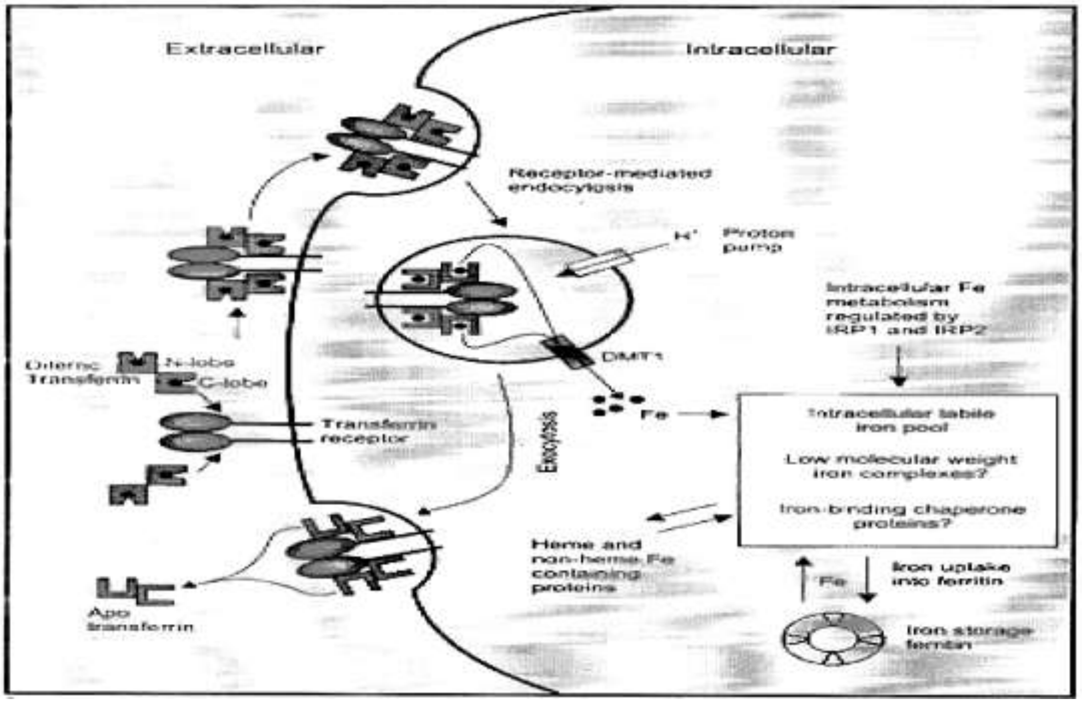
بالرغم من ان الحديد المرتبط بالترانسفرين هو حديد ثلاثي التكافؤ لكنه يتحرر بشكل حديد ثنائي التكافؤ اذ تكون الانزيمات المختزلة للحديد والمعروفة باسم Ferrireductase قادرة على الارتباط بالمعقد (Tf–Tfr1) التي تختزله الى الحالة الثنائية التكافؤ (Cheng *et al* , 2004 ; Richardson , 2004) بعد ذلك يقوم DMT1 بنقل الحديد المختزل عبر غشاء الاندوسوم الى داخل السايتوبلازم اما الترانسفرين فيتغير تركيبه بعد تحريره للحديد ويعود بعد ذلك الى سطح الخلية (Richardson , 2002) اما الفرتين فيقل عندما يكون تركيز حديد الجسم منخفض وبذلك فهو يساهم في توازن الحديد الخلوي إذ أن خزن الحديد داخل الجسم مهم جدا لمنع تكوين أنواع الاوكسجين الفعالة ROS وبالتالي حماية الخلية من التحطم بفعل الجذور الحرة (Barham *et al* , 2004) .

3-4-2 توزيع الحديد في الجسم Distribution Of Iron in The Body

يحتوي جسم الانسان حوالي 3-5 غم من الحديد اي حوالي 45- 55 ملغم /كغم من وزن الجسم في الرجال والنساء على التوالي (Papanikolaou and Pantopoulos , 2005) اذ يمتص 1-2 % فقط من الحديد الموجود في مكونات الغذاء اليومية والبالغة 10-15 ملغم ، وأن ثلثي هذه الكمية الممتصة تشترك في عملية تكوين الهيم ، اما الثلث المتبقي فهو عبارة عن حديد غير عضوي ، إن كلا من الحديد العضوي وغير العضوي يمتص في البطانة الطلائية لخلايا الاثنى عشر ويخزن تقريبا 20-30 %

من الحديد في الخلايا الكبدية والخلايا البلعمية الطلائية الشبكية وبمعدل اكبر ضمن الفرتين Ferritin ونواتج تحلله التي تعرف بالهيموسدرين Hemosidrin (Andrews , 2000 ; Kohgo *et al* , 2008)، اما حديد الجسم المتبقي فيخزن مبدئيا في المايوكلوبين والسايتوكرومات والانزيمات الحاوية على حديد (Papanikolaou and Pantopoulos , 2005) .

إن معظم الحديد الذي يحتاجه الجسم في عملية الأيض يكون ناتج من اعادة دورة الحديد المتحرر من تحطم كرية الدم الحمراء ، في حين يمثل الحديد الممتص 10 % فقط من احتياجات الجسم للحديد وبعد ذلك ينتقل الحديد الى جهاز الدوران ويرتبط الى بروتين الترانسفرين Transferrin الذي ينقله الى موقع خزنه اذ ينقله الى طلائع كريات الدم الحمراء في نخاع العظم ليتم استخدامه في بناء الهيموكلوبين (Richardson , 2002; Kohgo *et al* , 2008)، وإن اقصى خسارة يومية للحديد تكون في حالات النزف Bleeding والتبول الدموي Hemoglobinuria والتي تبلغ حوالي 4 ملغم يوميا ،فمن الجدير بالذكر ان اللبائن لاتمر باي مسار حيوي لاخراج او طرح الحديد لذلك فإن توازن حديد الجسم يكون منظم عند مستوى امتصاص الحديد اما اذا حدث خلل في هذا التنظيم فهذا يؤدي الى فرط او نقص الحديد (Andrews , 2000 ; Mckie *et al* , 2001) .



شكل (2-1) آلية امتصاص الحديد (Morgan, 1981)

5-2 نواقل الحديد Iron Transporter

1-5-2 الترانسفرين Transferrin (Tf)

هو بروتين سكري يتكون من سلسلة مفردة ويعد من اهم بروتينات البلازما المنظمة كنواقل للحديد ، وزنه الجزيئي 80 KDa ونصف العمر له (8-10) أيام وهو يتألف من مواقع ربط مفردة للحديد الثلاثي التكافؤ Fe^{+3} عند النهايتين N و C بالفة عالية عند الاس الهيدروجيني الطبيعي (PH = 7) وتقل هذه الالفة عند الاس الهيدروجيني PH=4.5 (Sargent *et al* , 2005) ويبلغ تشبع الترانسفرين حوالي 35 % (Rodak , 1995) .

يعد الكبد اكبر مصانع الترانسفرين ومع هذا فيمكن تصنيعه في الأنسجة التي يكون فيها تداول قليل له عن طريق البلازما مثل الدماغ والخصيتين (Baker and Morgan , 1994) ، يتجه الجزء الاكبر من الحديد المحمول بالدم الى الترانسفرين والسيدروفلين Siderophilin اذ يتم نقل اكثر من 30 mg من الحديد عن طريق هذا المسار والذي يمثل تقريبا 3 ملغم من وزن الجسم (Neufeld , 2006) ،فقد وجد Hershko وجماعته (1998) إن الانتاج غير الطبيعي لكريات الدم الحمر لدى مرضى الثلاسيميا يحفز امتصاص الحديد لكن اغلب الحديد المتحرر الى جهاز الدوران ناتج من تحلل هذه الكريات بحيث تتجاوز كمية الحديد المتحررة قدرة الترانسفرين على الارتباط بها اضافة الى عمليات نقل الدم المتكررة التي تزيد من مستوى حديد الجسم اذ تتجاوز قدرته على الارتباط بالحديد (Ponka , 1999)

2-5-2 الفرتين Ferritin

هو عبارة عن معقد بروتين الحديد الذائب في الماء يتكون من صدفة بروتينية apoferritin حلزونية ذات وزن جزيئي 450 KDa تغلق على لب مكون من Ferric dehydroxyle phosphate المحتوية على حوالي 20 % من حديد الجسم (4000- 5000 ذرة حديد) ، يتكون الفرتين من 24 وحدة ثانوية مقسمة الى وحدتين هما الوحدة الثقيلة H (ذات الوزن الجزيئي 21 KDa) والوحدة الخفيفة L (ذات الوزن الجزيئي19 KDa) ، يكون التجويف الداخلي لجزيئة الفرتين مرتبط مع الخارج عن طريق 6 قنوات التي يدخل ويخرج بواسطتها الحديد الثنائي التكافؤ (Larade and Storey , 2004).

تسيطر الابوفرتين apoferritin على كمية الحديد المخزونة في الجسم اذ يخزن حديد الجسم بصورة رئيسية في الكبد والطحال ونخاع العظم اما الهيموسدرين Hemosiderin فهو ينتج من تراكم الحديد الفائض بشكل حبيبات من اوكسيد الحديديك المحتوية على 0.1 من الحديد (Li *et al*, 2007).

وجد الكثير من العلماء من بينهم العالم Brittenham وجماعته (1993) ان هناك ارتباط كبير بين مستوى الحديد المخزون في الكبد ومستوى الفرتين ، اما Assia وجماعته (2010) فقد تحقق من ان مستويات الفرتين الموجودة في المصل تبدي ميل للارتباط وبشكل كبير عند زيادة مستويات الحديد في الجسم ، في حين بيّن Shamsian وجماعته (2008)ان الاطفال المصابين بالثلاسيميا الذين خضعوا لعدد قليل من عمليات نقل الدم قد عانوا من فرط الحديد المتزايد والذي تدل عليه المستويات المرتفعة من الفرتين .

6-2 فرط الحديد Iron overload

على الرغم من اهمية الحديد الا ان زيادته تكون سامة للجسم وهذا بسبب التأثيرات الضارة لجذور الاوكسجين الفعالة ROS مثل جذر الهيدروكسيل (OH-) الذي ينتج من تفاعلات الفنتون Fenton Reaction ، اذ 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 الى اكسدة الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA وتحطم المايتوكوندريا و اكسدة الدهون Lipid peroxidation (Barham *et al*, 2004 ; Bergeron *et al* , 2003).

إن زيادة أيونات الحديد الحرة لها القدرة على التفاعل مع الدهون غير المشبعة مكونة جذر البيروكسيل Peroxyl والكوكسيل alkoxyle (Lieu *et al* , 2001) وإن مثل هذه التفاعلات المؤكسدة تؤدي الى ضعف في الوظائف الخلوية وتحطم الخلايا والأنسجة والأعضاء ومثل هذه التغيرات تكون واضحة في أمراض فرط الحديد مثل الثلاسيميا β –Thalassemia ومتلازمة فردريك Feriedreich ataxis (Schrier *et al* , 2003) لذلك فان محتوى حديد الجسم يكون منظم باحكام عن طريق بروتينات متخصصة التي تقوم بنقل وخزن الحديد بشكل ذائب وغير سام وبذلك تمنع الاثار الجانبية الضارة لتفاعلات Haber – Weiss reaction (Richardson and Ponka , 1997 ; Lieu *et al* , 2001) ، وقد ينتج فرط الحديد من زيادة امتصاص الحديد الغذائي او من

خلال اخذ الحديد بشكل علاج او عمليات نقل الدم او من جميع هذه العوامل ، وبصورة عامة فان زيادة جرعات الحديد العلاجية لاتؤدي الى فرط في الحديد مالم يمتص الحديد بكميات كبيرة اويرافقه عيب وراثي مرتبط مع زيادة امتصاص الحديد (Pippard , 1994 ; Hentze *et al* , 2004) .

يسبب فرط الحديد المزمن التليف الكبدي Liver fibrosis بسبب زيادة بناء الكلايكوجين (Ramm *et al* , 1997) فقد أشار Britton وجماعته (2004) الى ان زيادة التعبير الجيني للكولاجين والتي تتطور الى التليف الكبدي تكون بسبب الحديد الفائض بالاضافة الى انها تسبب ضعف في الجهاز المناعي فقد وجد ان الحديد غير المرتبط بالترانسفرين والفرتين يثبط تمايز الخلايا اللمفاوية (Djeha and Brock , 1992; Bergeron *et al* , 1992; Geisser , 2007) وقد سجلت اختلافات واسعة في سمية الحديد بين مختلف املاح الحديد في النماذج الحيوانية حيث وجد ان الجرعة الفموية القاتلة LD50 في الفئران حوالي 300-800 ملغم / كغم بينما تصل الى 200 -800 ملغم / كغم في الجرذان (Fishbane , 2007) بينما بلغت الجرعة القاتلة في الانسان بحدود 200-250 ملغم / كغم (Morris *et al* , 1987) .

7-2 دكستران الحديد Iron Dextran

هو احد مركبات الحديد ذات الشكل الثابت والمستقر له وزن جزيئي 100,000 دالتون ، وبسبب وزنه الجزيئي العالي فهو لايمتص بشكل مباشر من مواقع الحقن الى مجرى الدم لكنه يدخل الى مجرى اللمف ، وهو يتكون بشكل اساسي من معقد هيدروكسي متعدد النوى للحديد الثلاثي التكافؤ مع سكر الدكستران Dextran (polyisomaltose) او مع Dextran (polymaltose) (Geisser and Burckhardt , 2011).

يزداد محتوى الحديد في العقد اللمفاوية والحرقفية بعد 3-4 ساعات من الحقن العضلي لمادة دكستران الحديد او تنتقل معقدات الحديد عن طريق الأوعية اللمفاوية الى كافة العقد اللمفاوية في الجسم بواسطة الخلايا البلعمية Macrophage التي تعمل على فصل الحديد من جزيئة الدكستران وإعادة ادخاله الى البلازما وتنقله الى نخاع العظم على شكل حديد مرتبط بالترانسفرين لكي يستخدم فيما بعد لبناء جزيئة الهيموكلوبين اما الدكستران فيمتص او يطرح (Geisser , 2007) .

ان الحديد المتحرر من دكستران الحديد ينشط تكوين الجذور الحرة التي تعمل على أكسدة الدهون مما يؤدي الى التهاب العضلات المتعدد polymyositis وتحلل العضلات المخططة Rhabdomyolysis (Foulkes *et al* , 1991)، كما ان حقنه يؤدي الى ظهور اعراض الروماتيزم والتهاب المفاصل الرثواني Rheumatoid arthritis بسبب فرط الحساسية hypersensitivity لهذا المركب او بسبب تأثيراته السامة للغشاء المبطن للمفاصل synovial membrane (Lloyd and Williams , 1970).

ذكر Svoboda وجماعته (2006) ان المدة المستغرقة لامتصاص 150 ملغم / كغم من دكستران الحديد في خنازير غينيا بشكل كامل عند مواقع الحقن تحتاج الى 13 يوم ، بينما اتفق كل من Drabek و Svoboda (2007) إن هذه الكمية تحتاج فقط الى 7 ايام للامتصاص الكامل ، كما وجد (Baustad , 1974) ان دكستران الحديد يعتبر عامل مهم لتصنيع كريات الدم الحمر في المرحلة المبكرة من حياة صغار الخنازير اذ ان المعالجة بمقدار 200 ملغم / كغم يحسن من تركيز الهيموكلوبين وبقية المعايير الدموية ، وعلى النقيض من ذلك بين كل من Drabek و Svoboda (2007) حدوث حالات التسمم بعد الحقن العضلي لهذه المادة لصغار الخنازير بعمر يوم واحد ، ووجد Morgan و Moos (2004) ان حقن دكستران الحديد يمكن ان يسبب اضرار في المشابك العصبية Nervous Synopses مما يؤدي الى ضعف في نقل الايعازات العصبية .

8-2 علاقة فرط الحديد ببعض الامراض

1-8-2 اصطباغ الدم الوراثي Hereditary Haemochromatosis (HHC)

هو مرض وراثي يتصف بزيادة امتصاص الحديد وترسبه في خلايا الأنسجة الحشوية Paranchymal cell وبدرجات متفاوتة في بقية الاعضاء (Fleming and Sly , 2002) ، يحدث هذا المرض نتيجة حصول طفرة في الجين HFE (Rubio *et al* , 2004) التي تشخص عن طريق زيادة امتصاص الحديد الغذائي على الرغم من ارتفاع نسبة الحديد المخزونة والتي تؤدي لاحقا الى تجمع الحديد في الكبد والقلب والبنكرياس وفي انسجة الجسم الأخرى (Ristic *et al* , 2005).

ان الطفرتين الاكثر شيوعا والمرتبطة بالجين HFE هي C282Y و H63D اذ تحدث الاولى عندما يستبدل الحامض الاميني التايروسين Tyrosin بالحامض الاميني السستين Cystin عند الموقع 282 ، اما الثانية فتحدث نتيجة استبدال الحامض الاميني الاسبارتيت Aspartate بالهستدين Histidin عند الموقع 63 . يحمل 85 % من مرضى ال HHC الطفرة من النوع الاول، اذ تؤثر الطفرات الحاصلة لهذا الجين على حصول الخلية على الحديد المرتبط بالترانسفرين مما يعيق تمثيل الحديد الخلوي والذي بدوره يؤدي الى زيادة امتصاص الحديد من الامعاء بشكل غير طبيعي وزيادة خزنه في الخلايا البرنكيمية لمختلف الاعضاء وبشكل اساسي القلب والكبد والبنكرياس (Rubio *et al* , 2004 ; Andrews , 1999 ; Ristic *et al* , 2005) .

ان العلامات السريرية التي يتميز بها هذا المرض فهي الآلام في البطن نتيجة لتضخم الكبد كما تصاحبه ظهور امراض اخرى مثل داء السكري (Jiang *et al* , 2004) والتهاب المفاصل (Willis *et al* , 2002 ; Lloyd and Williams , 1970) وضعف في الوظيفة الجنسية (Baker and Morgan , 1994) واصطباغ الجلد (Feder *et al* , 1996) .

2-8-2 فقر الدم (الانيميا) Anemia

يعرف فقر الدم بانه انخفاض تركيز الهيموكلوبين في الدم الى مادون المستوى الطبيعي ويقترن عادة بنقص في عدد كريات الدم الحمر المصنعة في نخاع العظم (Schmaier and Petruzzelli , 2003) مما يؤدي الى انخفاض قابلية الدم على نقل كمية كافية من الاوكسجين الى انسجة الجسم المختلفة نتيجة لانخفاض مستوى هيموكلوبين الدم في كريات الدم الحمراء وانخفاض معدل حجم الكريات Mean Corpuscular Volume (MCV) وانخفاض العدد الكلي لكريات الدم الحمر وعلى هذا الاساس لاتحصل الانسجة على الاوكسجين الكافي لنموها وادامة فعالياتها المختلفة (Guyton and Hall , 2000) .

يعتمد انخفاض الهيموكلوبين وقلة عدد كريات الدم الحمر على عاملي الجنس والعمر ويعد الشخص البالغ مصاب بفقر الدم اذا كان معدل الهيموكلوبين له اقل من 13.5 g/d بالنسبة للذكور واقل من 12 g/d بالنسبة للاناث ، اذ تظهر على المريض مجموعة من الأعراض منها صعوبة التنفس ،

التعب ، الاعياء ، الخفقان و الصداع اضافة الى شحوب الغشاء المخاطي للعين والانف . (Rubenstein *et al* ,2003)

يسبب الإجهاد التأكسدي المستحث من فرط الحديد تكسر كريات الدم الحمر Hemolysis نتيجة لفعل الجذور الحرة الناتجة تحت هذه الظروف (Hentze *et al* , 2004 ; Andrews , 2000) وقد تسبب جذور الاوكسجين الفعالة ROS اكسدة مجاميع السلفا Sulfhydroxyl groups – SH في السلسلة الببتيدية للهيموكلوبين وتكوين أواصر ثنائية السلف Disulfide bonds ، إن الضرر التأكسدي يمكن أن يصيب أيضاً الجزء الحديدي من الهيموكلوبين مسبباً تكوّن متهيموكلوبين Methemoglobin-MetHb، وذلك بسبب أكسدة الحديدوز في الهيموكلوبين (Hb) وتحويله إلى حديديك في المتهيموكلوبين MetHb (Stuhlmeier et al ,2003 ; Duncan and Mahaffy , 1994)

3-8-3 الثلاسيميا Thalassemia

تعد الثلاسيميا مجموعة متباينة من أمراض الدم التي تحصل بسبب طفرة في جينات الكلوبين globin المشفرة لزوجين من السلاسل المتعددة الببتايد polypeptide chain لجزيئة الهيموكلوبين مما يؤدي الى خسارة كبيرة للهيموكلوبين وتحطم كرية الدم الحمراء(Eldor and Rachmitewitz ,2002).

يعتمد مرضى الثلاسيميا على عمليات نقل الدم المتكررة لتعويض الضرر الحاصل نتيجة تحلل كرية الدم الحمراء(Kim *et al* , 2003) اذ يستلم الشخص المصاب كميات كبيرة من الحديد بعد كل عملية نقل دم وكميات اخرى ناتجة من تحلل كريات الدم الحمر بالاضافة الى الامتصاص المتزايد للحديد الغذائي الأمر الذي يؤدي الى تراكم الحديد بشكل Hemosiderin (Goswami *et al* , 2005). فقد ذكر Widad وجماعته (2003) ان فرط الحديد في الاشخاص المصابين بالبيتا ثلاسيميا β-thalassemia يؤدي الى تكوين الجذور الحرة التي تؤثر بدورها على عملية الاكسدة لكريات الدم الحمر اذ يرتبط هذا المرض بفقر الدم Anemia واليرقان Jaundice وتضخم الطحال Spleenomegaly فضلا عن توسع فراغات نخاع العظم وترسب الحديد في القلب ، وعادة تظهر

هذه الأعراض بعد 4-3 أشهر من عمر الطفل المصاب . اما Afroditi (2006) فقد بين ان عمليات نقل الدم المتكررة تؤدي الى تجمع الحديد الفائض في الجهاز الشبكي البطاني ومن ثم في جميع الانسجة البرنكيمية وبشكل اساسي في القلب والغدة النخامية والبنكرياس والاعضاء التناسلية.

9-2 علاج فرط الحديد The Treatment Of Iron Overload

يعالج فرط الحديد بالتقاط ايونات الحديد الفائضة في الجسم من خلال استخدام لواقط الحديد ، ويتضمن العلاج بلواقط ايونات الحديد Iron Chelating Therapy استخدام ادوية رابطة Ligating drugs التي تربط ايونات الحديد الحرة بشدة في امراض فرط الحديد والسرطان (Tam *et al* , 2003) ، اذ تعزز هذه اللواقط اخراج ثم استنفاذ لايونات الحديد الحرة في الجسم ، وهي تتالف بشكل اساسي من لواقط ثنائية ، ثلاثية وسداسية التسنن التي تربط ايونين ، ثلاث وست ايونات من الحديد الحر على التوالي فهي قادرة على تكوين معقدات ثمانية الاضلاع بالتناسق مع الحديد (Liu and Hidar , 2002) اذ ان ذرات الاوكسجين والنتروجين الموجودة ضمن هذه اللواقط تكون قادرة على ربط الحديد باحكام (Buss *et al* , 2004a) .

تحصل الميكروبات على الحديد وذلك بافرازها مركبات ذات وزن جزيئي واطئ تعرف بالسيدروفورس Siderophores التي تعمل على التقاط ايونات الحديد وتجعله قابل للاستخدام . على هذا الاساس اصبحت العديد من مركبات السيدروفورس مركبات رئيسية جاذبة لايونات الحديد . ومن مشتقات السيدروفورس هي مادة الديسفروكسامين Desferrioxamin (DFO) التي تستخدم حاليا لعلاج حالات فرط الحديد (Richardson , 2003) فقد اكد Buss وجماعته (2004 b) ان مادة الديسفيروكسامين تمتلك فعالية مضادة للتضاعف ضد تقدم الاورام الخبيثة بما في ذلك اللوكيميا Leukemia و Neuroblastoma (NB) .

10-2 الديسفروكسامين Desferrioxamin (DFO)

هي مادة كيميائية لاقطة لايونات الحديد الحرة سداسية التسنن Hexadentate Chelator تم عزلها من بكتريا *Streptomyces pilosus* وهي المادة الكيميائية التي تستخدم حاليا لعلاج امراض فرط الحديد مثل الثلاسيميا (Brittenham ,2003) ، تمتلك هذه المادة القدرة على استخراج ايونات الحديد بشكل مؤكسد وفعال مما يبين اهميتها في علاج مرضى فرط الحديد (Hershko *et al* , 2003) .

تمنع مادة الديسفروكسامين انتاج جذور الاوكسجين الفعالة ROS في الخلايا والذي بدوره يؤدي الى تقليل الاجهاد التاكسدي في الخلايا المعرضة لفرط الحديد (Olivieri and Brittenham , 1997)، وهي تمتلك طبيعة محبة للماء مما يجعلها ضعيفة الامتصاص في القناة المعوية اضافة الى ان ن لها يكون قليل (12 دقيقة) مقارنة مع بقية الادوية (Aoaud *et al* , 2002) لذلك يجب ان تحقن هذه المادة تحت الجلد لفترات ممتدة وبمعدل 8-12 ساعة للجرعات اليومية التي تتراوح من 20-60 mg/kg للمرضى المصابين بالثلاسيميا الذين خضعوا لعمليات نقل دم متكررة (Hershko *et al* , 2003) ، بالاضافة الى ان مادة DFO تكون باهضة الثمن وان ثلث المرضى الذين تمت معالجتهم بهذه المادة قد عانوا من الآلام وتورم عند موقع الحقن (Wong and Richardson , 2003) .

بينت الدراسات السابقة على بعض الامراض بضمنها اللوكيميا Leukemia و Neuroblastoma (NB) على حصول استجابة بعد العلاج بمادة الديسفيروكسامين (Buss *et al* , 2004 a) اذ لوحظ انخفاض في معدل نمو خلايا ال NB بعد 72 ساعة من التعرض الى 60 Mm من مادة DFO (Blatt and Stilely , 1987) وكجزء من الدراسات التي اجريت خارج الجسم لتقييم الفعالية المضادة لنمو الاورام التي تمتلكها هذه المادة فقد اخضع Donfrancesco وجماعته (1990) تسعة من الاشخاص المصابين بال NB لفترة علاج بالديسفروكسامين بلغت 8 ساعات مستمرة بجرعة 150 mg/kg لمدة خمسة أيام اذ حصلت الاستجابة بعد 7-8 ايام فقد لوحظ نقصان ملحوظ في معدل ترشيح نخاع العظم لخلايا NB بالاضافة الى نقصان 48 % من حجم الورم في مريض واحد.

11-2 الإجهاد التاكسدي Oxidative Stress

هو حالة عدم التوازن بين المؤكسدات Oxidants ومضادات الأكسدة Antioxidants لمصلحة المؤكسدات مما يسبب ضرر في الجزيئات الحيوية الكبيرة (Jurank and Bezek , 2005) فالجذور

الحرة والموكسدت تتولد بشكل مستمر في خلايا الجسم لكنها تتوازن وبشكل طبيعي من خلال ايض مضادات الاكسدة الطبيعية مثل تفاعلات السلسلة التنفسية او عملية البلعمة ، كما تنتج الجذور الحرة عند التعرض للملوثات البيئية او الاشعاعات المؤينة او ملوثات الهواء(Bagchi and Puri , 1998 ; Rottkamp *et al* ,2001) .

تمتاز الانواع الاوكسجينية الفعالة ROS مثل جذر الهيدروكسيل Hydroxyl (OH) وجذر السوبر اوكسيد Superoxid وبيروكسيد الهيدروجين Hydrogen Peroxide (H_2O_2) بقابليتها على اكسدة الدهون والاحماض الأمينية والكربوهيدرات بالاضافة الى احداث الطفرات في الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA (Jurank and Bezek , 2005) من خلال مهاجمة السوبر اوكسيد الى سلاسل الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) بقوة ويؤكسدها بعملية بيروكسيدية الدهون Lipid Peroxidation ومن ثم تحرير المانولديهايد Manoldiahdehde (MDA) (Valko) *et al* , 2007 .

يعد الاجهاد التاكسدي سبب لنشوء العديد من الأمراض كالسرطان والشيخوخة وأمراض القلب (Ferrari ,2000) وحالات العقم (Aitken and Baker , 2004) .

ان الحديد الفائض في الجسم سواء كان من عمليات نقل الدم كما في مرضى الثلاسيميا اونتيجة لزيادة جرعات الحديد العلاجية يعد مادة سامة تؤدي الى توليد عدد من الجذور الحرة عن طريق تفاعلات الفنتون وهذا بدوره يؤدي الى حصول خلل في كافة اجزاء الخلية الحية ، وفي كثير من الحالات يؤدي الى حث موت الخلية المبرمج Apoptosis (Barham *et al* , 2004) كما يشترك زيادة الحديد ونقصان الكلوتاثيون المختزل Reduced Glutathion (GSH) في حث الاجهاد التاكسدي والذي بدوره يقلل من تركيز انزيم Glutathion Peroxidase في الكبد والقلب (Cornejo *et al* ,2005 ; Shochaski *et al* , 2002) .

12-2 مضادات الاكسدة Antioxidant

بسبب التولد المستمر للجذور الحرة في الجسم تتولد انظمة مضادة لها تسمى بالانظمة المضادة للاكسدة Antioxidant Defense System تعمل على منع تكوين الجذور الحرة وعمليات الاكسدة في الجسم او الابطاء منها لذا فهي تشكل خطا دفاعيا ضد النشاط التخريبي للجذور الحرة (Bartosikova *et al* ,2003 ; Prakash and Joshi , 2004) .

ان لمضادات الاكسدة القدرة على وهب الكترون وتحويل الجذور الحرة الى مركبات مستقرة غير قادرة على التفاعل مع الجزيئات الحيوية في الجسم (Shih *et al* ,2002) وتكون مضادات الاكسدة بنوعين انزيمية Enzymatic Antioxidant مثل انزيم Superoxide dismutase و Catalase و Glutathione peroxidase ومضادات الاكسدة غير الانزيمية مثل فيتامين A و B و C وبيتا كاروتين β-carotin والترانسفرين Transferrin (Chen *et al* , 2004) ان هذه العوامل المضادة للاكسدة لاتكون معزولة عن بعضها البعض بل هناك نوع من التداخل في العمل لكل منها (Shih *et al* ,2002)، يعد الكلوتاثيون المختزل من اهم مضادات الاكسدة الداخلية وهي عبارة عن جزيئات صغيرة توجد نسبيا في مختلف انواع الكائنات الحية لها عمر نصف 3-4 أيام وتوجد بشكل مختزل وتعد اوفر مركبات الثايول تواجدا في انسجة اللبائن (Kerksick and Willoughby , 2005) يقدر تركيز الكلوتاثيون المختزل في مختلف الخلايا نسبة 0.5 – 10 Mm اذ يوجد بكميات قليلة في السوائل الخارج خلوية مثل اللمف والبلازما (Livingstone and Davis , 2007).

ينتقل جزء من الكلوتاثيون المختزل المصنع داخل الخلايا الى السوائل الجسمية عبر اغشية الخلايا وقد وجد ان مصدر الكلوتاثيون المختزل في الدم هو كريات الدم الحمراء التي تحوي على اكثر من 99% منه (Schulz *et al* , 2003) ، يشترك الكلوتاثيون المختزل في العديد من العمليات الحيوية المهمة منها بناء البروتينات والنيوكليوتيدات وهو يساهم ايضا في فعالية بعض الانزيمات من خلال عمله كمادة اساسية Substrate او مرافق انزيمي Co-enzyme لبعض العمليات الانزيمية في الخلية (Kerksick and Willoughby , 2005) .

يعد الكلوتاثيون المختزل احد الانظمة الدفاعية المضادة للأكسدة من خلال عمله كعامل مساعد للعديد من الانزيمات المسؤولة عن ازالة سمية المركبات المؤكسدة كاصناف الاوكسجين الفعالة ROS مثل انزيم

Glutathion Peroxidase و Glutathion transferase (Konijin , 2004) وهو يعمل على ازالة سمية العديد من السموم الداخلة الى الجسم في الكبد والتي تشمل الفورمالديهايد Formaldehyde و Acetaminophen و Benzyrene (Schulz *et al* , 2003) ويعد هذا النوع من مضادات الاكسدة ضروري لحماية البروتينات التي تشترك في بناء الحوامض النووية وتلعب دور في إعادة اصلاح المادة الوراثية DNA (Higuchi , 2004) اضافة الى ان نقص الكلوتاثيون المختزل يرتبط بنقصان المناعة فقد وجد ان نقصه يقلل من تضاعف وتمايز الخلايا اللمفاوية التائية (Hoffman *et al* , 2000 ; Blasko , 2003 ; Barkat *et al* , 2001) .

13-2 الهرمونات المغذية للقند (المناسل) Gonadotrophic Hormones (Gn-H)

تشمل الهرمونات المغذية للقند هرمونين هما هرمون محفز الجريبات Follicular stimulating hormone (FSH) والهرمون اللوتيني Luteinizing hormone (LH)، يفرزان من الفص الامامي للغدة النخامية Anterior Pituitary gland استجابة للفعالية العصبية لتحت المهاد Hypothalamus gland تحت تأثير محفزات نفسية Psychic stimuli(Blache *et al*., 2000; Ulloa-Aguirre *et al*., 2001) .

تعود هذه الهرمونات الى عائلة الهرمونات السكرية البروتينية Glycoprotein التي تتميز بتركيبها البروتيني الكاربوهيدراتي (Schubert *et al*., 2003). والتي تشمل بالاضافة الى هذه الهرمونات الهرمون المحفز للغدة الدرقية Thyrotrophin (TSH) وهرمون محرض المناسل الكوريوني البشري Human Chorionic gonadotrophin hormone (HCG) (Ulloa -Aguirre *et al*., 2001). والاخير يفرز من المشيمة ويوجد في مصل الام الحامل ويستعمل للاستدلال على وجود الحمل (D'-Antonio *et al*., 1999).

تحتوي الهرمونات المغذية للمناسل على 92 حامض اميني ،و يترواح الوزن الجزيئي لهرمون FSH بين 29000-31000 دالتون ، اما محتواه الكاربوهيدراتي فيقدر بـ14-25% و يقدر فترة نصف العمر بـ 149 دقيقة، في حين يبلغ الوزن الجزيئي لهرمون LH 26000-30000 دالتون ومحتواه الكاربوهيدراتي يقدر بـ 16% ويبلغ نصف العمر بـ 30 دقيقة (محي الدين وجماعته، 1990).

1-13-2 الهرمون المحفز للجريبات FSH

يؤثر هرمون FSH في نمو وتطور الجريبات المبيضية Ovarian follicles، وفي تطور واتمام نضج البيضة Oocyte maturation وتهيئة الجريبات المبيضية لتأثير الهرمون اللوتيني LH (Ulloa-Aguirre and Timossi, 1998; D'Antonio *et al*., 1999) الذي يحتاجه الجريب للوصول الى الحجم الكامل وافراز الاستروجين، فضلاً عن زيادة النشاط الافرازي للخلايا الحبيبية Granulosa cells والمتمثل بافراز البروجسترون، اذ توجود مستقبلات FSH على هذه الخلايا (Ulloa-Aguirre and Timossi, 1998 ; عشير و العلوجي , 1989).

اما في الذكور فيعد هرمون FSH هو المنظم الاساس للخصوبة في اللبائن (Haywood *et al*., 2002)، و يؤدي دوراً مهماً في عملية نشأة النطفة لا سيما في المراحل الاخيرة منها، وتطور وظائف الجهاز التناسلي (Robertson *et al*., 1999)، ويحث على نمو النبيبات المنوية Seminiferous tubules (Grover *et al*., 2004) ويعمل على تنظيم وظائف خلايا سرتولي Sertoli cells التي تعد من اهم الخلايا الموجودة في الخصى والمنظمة لعمليات فسيولوجية مهمة خلال الحياة الجنسية للذكر اذ تعد هذه الخلايا الهدف لهرمون FSH في الذكور لاحتوائها على مستقبلاته(Abdennebi *et al*., 2003) كما انه يعمل ايضا على زيادة مستقبلات LH عند البلوغ Puberty فضلا عن تنظيمه لافراز هرمون الشحمون الخصوي (Majumder *et al*., 1997) .

ينظم هرمون FSH افراز البروتينات المرتبطة بالاندروجين Androgen binding protein (ABP) والمفرزة من خلايا سرتولي، وتعد ABP البروتين الناقل الرئيس الذي يعمل على نقل تركيز عالٍ من الشحمون الخصوي الى البربخ Epididymis (Grover *et al*., 2004).

يسبب الاجهاد التاكسدي المستحث من فرط الحديد انخفاض تركيز هرمون FSH و LH نتيجة لتاثير الجذور الحرة التي تنتج من تفاعلات الفنتون Fenton reactions على عدد من الانسجة بما في ذلك انسجة الغدة النخامية مسببة حدوث حالات Hypogonadism ، اذ تعمل هذه الجذور الحرة مثل جذر الهيدروكسيل على حدوث تلف لاغشية خلايا الغدة النخامية نتيجة لزيادة لترسب الحديد فيها ومما يؤدي الى حدوث خلل في افراز هرمون FSH و LH (يكن ، 2008 ; Karamifar *et al* , 2005).

2-13-2 الهرمون اللوتيني LH

يتحرر الهرمون اللوتيني (LH) بوساطة تحفيز العوامل المحررة من تحت المهاد Hypothalamus التي تعرف بالهرمونات المحررة لمغذيات المناسل Gonadotrophins releasing hormones (Gn-RH) (Rees, 1993)، والتي تشمل هرمونين هما الهرمون المحرر للهرمون اللوتيني (LH-RH) والهرمون المحرر لهرمون محفز الجريبات FSH-RH اذ يحفز الاول تكوين وافراز الهرمون اللوتيني LH بينما يحفز الثاني تكوين وافراز هرمون محفز الجريبات FSH (Anderson and Baird, 2002) .

يمتلك الهرمون اللوتيني عدد من الافعال الحيوية المتميزة في اللبائن اذ يعتقد بأنه يحفز تصنيع الستيرويدات الجنسية (Abdennebi *et al*., 2003). كما يسبب زيادة جريان الدم في المبيض وزيادة وزنه مؤدياً الى احداث الاباضة Ovulation لذا فإنه يسمى احياناً هرمون الاباضة (عشير والعلوجي، 1989).

يؤدي هرمون LH دوراً اساسياً في السيطرة على انتاج وافراز البروجسترون من خلال تنظيم الحامض النووي الرايبوزي الناقل mRNA الذي يشفر الانزيمات المتضمنة في افراز البروجسترون هو عامل مغذي لوتيني Luteotrophic agent في تطور الوظائف الكاملة للجسم الاصفر Corpus Luteum وادامتها، اما في الذكور فيعد هذا الهرمون ضروري لتطور الخصية وتصنيع الهرمونات الذكرية Androgenes وافرازها من خلال خلايا لايدك Leydig cells (Anandy *et al*., 2002) ، لذا يسمى هذا الهرمون في الذكور هرمون محفز الخلايا البينية Interstitial cell stimulating hormone (ICSH) (Holdcraft and Braun, 2004) اذ يحفز خلايا لايدك لافراز هرمون الشحمون الخصوي الاساسي في اظهار صفات الذكورة وكذلك اتمام عملية نشأة وانضاج النطف Maturation of sperm (Hall and Adair, 1998) .

14-2 هرمون الشحمون الخصوي Testosteron

يعد هرمون الشحمون الخصوي اهم الاندروجينات الذي يصنع ويفرز من خلايا لايدك Leydig cells (Marshall, 1992)، تقع هذه الخلايا تحت تأثير الهرمون اللوتيني Luteinzing hormone (LH) المفرز من قبل الغدة النخامية Pituitary gland (Clarke and Henry, 1999).

ينتج الرجل الطبيعي يومياً ما بين 5-10 ملغم / مل دم من هذا الهرمون ويكون معظمه منتج عن طريق الخصية ،بينما تنتج نسبة قليلة منه عن طريق قشرة الغدة الكظرية Adrenal gland ، أو يكون مصدرهُ من الأندروستنديون Androstendione في بعض الأنسجة كالكبد أو الدم (Griffin and Ojeda,2000)

تتم السيطرة على افراز هرمون الشحمون الخصوي بوساطة ميكانيكية التغذية الراجعة الموجبة postive Feedback mechanism ، كما أن وجود تركيز عالي من هرمون الشحمون الخصوي في الدم يثبط افراز LH-RH من غدة تحت المهاد ومن ثم تثبيط افراز LH من الغدة النخامية الذي بدوره يثبط خلايا لايدك في تصنيع وافراز هرمون الشحمون الخصوي (Park *et al*, 2001; Okada *et al*., 2003) وتلعب مستقبلات الاندروجين Androgen receptor (AR) دوراً مهماً في تنظيم مستوى الشحمون الخصوي خلال آلية التغذية الراجعة الذاتية Autocrine feedback mechanism على خلايا لايدك عبر التأثير الصمي على انتاج GnRH ومن ثم تثبيط تصنيع وافراز LH بوساطة الغدة النخامية (Holdcraft and Braun, 2004) .

ينخفض مستوى هرمون الشحمون الخصوي في حالات فرط الحديد كما في مرضى الثلاسيميا اذ يترسب الحديد في انسجة الخصى وبشكل اساسي في خلايا لايدك المسؤولة عن انتاج هذا الهرمون و النبيبات المنوية مسببة انخفاض في عملية تكوين النطف Spermatogenesis (Yazigi *et al* , 2002) كما وجد (Fica *et al* , 2005) ان زيادة نسبة الحديد في المصل تؤدي الى انخفاض نسبة الحيوانات المنوية نتيجة لتحطم النبيبات المنوية بفعل الجذور الحرة . كما ان لاصناف الاوكسجين الفعالة تأثير مباشر على خلايا سرتولي التي تلعب دوراً مهماً في عملية تكوين النطف Spermatogenesis ، وبالتالي التأثير في التركيب الخلوي لأرومات النطف Spermatids وحدوث التشوهات (Hipler *et al*., 2000).

15-2 الهورمون المحفز للدرقية (TSH) Thyroid stimulating hormone

وهو بروتين سكري Glycoprotein ، ويفرز من خلايا Thyrotroph cells الموجودة في الفص الأمامي من الغدة النخامية ، يقوم TSH بالعديد من الوظائف للغدة الدرقية مثل اقتناص اليود ، صنع وتكوين T_4 وتحريره من الغدة اضافة الى دوره في حماية الخلايا الدرقية من موت الخلية المبرمج Apoptosis (Szkudlinski , *et al.*,2002).

يظهر تأثير هورمون TSH من خلال ارتباطه بمستقبلاته البروتينية الخاصة الواقعة على الغشاء الخلوي للخلايا الجريبية للغدة الدرقية التي تسمى TSH receptor (TSH R) ، تمثل هذه المستقبلات الطريق الرئيس لانتقال اشارة الهورمون وتحفيز انزيم الادنيليت سايكليز Adenylate cyclase , وهي تمتلك خصوصية التأثير المحرك لتنشيط بروتين G وبالتالي تحفيز الرسل الثانوية Second messengers وبالدرجة الأولى الادينوسين احادي الفوسفات الحلقي CAMP Cyclic adenosine monophosphate (Esapa and Hariss, 1999) ، لذا فإن حدوث أي تغيير في ارتباط الهورمون بمستقبلاته نتيجة قلة عدد المستقبلات أو بسبب تغير في آلفة الارتباط بين الهورمون والمستقبل يمكن عدها جميعاً مؤشرات مرضية للدرقية (Reub , *et al.*, 1992).

يزداد افراز هرمون TSH في حالات فرط الحديد والثلاسيميا(Shalitin *et al* , 2005) ، فقد بين(Beshlawy *et al* , 2008 , Abdelrazik and Ghanem , 2007) ان ارتفاع نسبة الحديد في المصل ينتج عنها ترسب الحديد في كافة اعضاء الجسم بما في ذلك الدماغ والغدة النخامية مسببة حدوث خلل في افرازات هذه الغدة بينما اشار (Bartalena *et al* , 1995) ان فرط الحديد يقلل من نسبة السايتوكاينينات وبشكل اساسي (interleukin- 6 (IL-6 الذي ينتج بواسطة الخلايا الطلائية للغدة الدرقية وله تاثيرات مختلفة على وظائف الغدة الدرقية مما يؤدي الى حدوث خلل في افراز الهرمونات الدرقية التي تلاحظ في امراض فرط الحديد والثلاسيميا ، أو ان ارتفاع نسبة هذا الهرمون في المصل يعود الى تحطم مستقبلات هرمون TSH الموجودة على سطح الخلايا الجريبية للغدة الدرقية بفعل الجذور الحرة الناتجة من فرط الحديد (Agrawal *et al* ,1992) .

1-15-2 الغدة الدرقية Thyroid gland

تعد الغدة الدرقية واحدة من أكبر الغدد الصم الموجودة في الجسم ، وهي تتألف من فصين أيمن وأيسر يربط بينهما تركيب وسطي يسمى البرزخ Isthmus (Porth,1994) ، تقع على جانبي الرغامى في جزئها العلوي وتكون على شكل حرف H ، وتظهر الغدة الدرقية بشكل الفراشة من المظهر الامامي (Seeley , *et al.* , 1998) , يتراوح وزنها في الإنسان البالغ ما بين (15-25) غم ، وطولها يكون بين (5-6) سم في محورها الطولي , وعرضها يكون بحدود (2) سم (Porth,1994).

تنشأ الغدة الدرقية كبرعم ظهاري صلد من الأديم الباطن في مستوى الجيب البلعومي الأول Third pharyngeal pouch ، ويتحول هذا البرعم في المراحل المبكرة من تطوره الى قناة مجوفة تسمى بالقناة الدرقية اللسانية Thyroglossal duct التي تفتح على التجويف الفمي في النهاية الخلفية من الدرنة المفردة للسان Tuberculum impar تكون كمية الدم المزودة للغدة الدرقية قياسيةً مقارنة مع بقية انسجة واعضاءالجسم الأخرى (Ganong, 2003).

تنتج الغدة الدرقية هرمونين متشابهين هما الثايرونين رباعي اليود Tetraiodothyronine او مايعرف بالثايروكسين (Thyroxin) وهو أحد مشتقات الحامض الأميني تايروسين (Tyrosin) مضافاً إليه اليود ويسمى أيودوثايرونين Iodothyronine , ويحتوي أربع ذرات يود، ويرمز له T_4. اما الهرمون الثاني فيعرف بالثايرونين ثلاثي اليود Triiodothyronine وهو مشتق من الحامض الأميني ثايرونين (Thyronine) مضافاً إليه اليود ، ويرمز له T_3 ، وهو أنشط واقوى بكثير من هرمون الثايروكسين (Junqueira and Carneiro ,2003) .

يفرز هرموني T_4 و T_3 من الخلايا الجريبية الدرقية Thyroid follicular cells وتترتب هذه الخلايا بهيئة كيس شبه كروي وتعرف بالجريبات Follicles , وتحتوي هذه الجريبات على تجويف يمتلئ بالغروان Colloid ، وتمتاز الخلايا الجريبية بوجود الزغيبات على سطحها لتساعد على زيادة سطح الامتصاص ، وتعمل هذه الخلايا على افراز هرموني T_4 و T_3 وهي تمثل الوحدة التركيبية والوظيفية للغدة الدرقية (Eroschenko, 2005).

في حالات فرط الحديد Iron overload يكون الدم المزود للغدة الدرقية محتويا على نسبة عالية من الحديد الذي يترسب في انسجة الغدة مسببة تلف الخلايا الجريبية للغدة الدرقية وانخفاض مستوى هرمونات T_3 و T_4 الذي ينتج عنه حالة نقص الدرقية Hypothyroidism (Agrawal *et al* ,1992).

16-2 النبات الطبي المستخدم في هذه الدراسة (العنب Grape)

الاسم الشائع : العنب

الاسم الانكليزي : Grape

الاسم العلمي : *Vitis vinifera*

العائلة : Vitaceae

الجزء المستخدم : البذور Seeds

1-16-2 نبذة تاريخية

يعد العنب احد الفواكه التي تستخدم في علاج مدى واسع من المشاكل الصحية فقد عرفت القيمة الطبية والعلاجية له منذ الالاف السنين اذ اكتشف الفلاسفة الاغريق القوة العلاجية للعنب قبل 6000 سنة مضت فقد صنع المعالجون الاوربيون مراهم من اوراق العنب تستخدم لمعالجة الاصابات الجلدية واضطرابات العيون ووجد ان اوراق العنب تستخدم لايقاف النزف والالتهابات والالام المزمنة المتسببة عن البواسير النزفية (Bagchi , 2002 b).

يستوطن هذا النبات في اسيا قرب بحر قزوين وتم نقل العديد منه الى شمال اسيا واوربا ، يستخدم العنب غير الناضج لعلاج التهاب الحنجرة والعنب المجفف (الزبيب) لعلاج الاضطرابات الهضمية وحالات الامساك اما العنب الحلو فيستخدم لعلاج العديد من المشاكل الصحية مثل السرطان ، الكوليرا ، الجدري ، اضطرابات الكلى و العيون والجلد وامراض الكبد (Hung *et al* , 2000).

2-16-2 الاستخدامات العلاجية لزيت بذور العنب The treatment uses of grape seed oil (GSO)

ان زيت بذور العنب هو زيت نباتي يستخلص من بذور العنب *Vitis vinifera* له درجة غليان عالية تبلغ تقريبا $215\ C^0$ (221 F) مما يجعله امن صحيا عند استخدامه تحت الدرجات الحرارية العالية (Bagchi *et al* , 2003) وان الطاقة الايضية له تكون مثالية بالنسبة الى بقية انواع الزيوت النباتية اذ

تبلغ كمية الطاقة فيه تقريبا(880 Kcal) 3700 Kj لكل 100 غرام او مايعادل (120Kcal) 500 Kj لكل 15 مل (Banerjee and Bagchi , 2001) .

يحتوي زيت بذور العنب على العديد من المواد الفعالة حيويا من اهمها Oligomeric Proanthocyanidin Complexes (OPCs) التي تستخدم كمضادات اكسدة قوية اكثر بحوالي 20-50 مرة من مضادات الاكسدة القوية مثل فيتامين C وفيتامين A التي لها القدرة على تحطيم الجذور الحرة (Fan and Lou , 2004) اذ وجد ان OPCs لها خاصية مضادة للالتهابات ولها دور في المحافظة على الوظائف المناعية فهي تقلل من نفاذية الاوعية الدموية الشعرية وبذلك فهي تحمي الجسم من تلف الاوعية الدموية بالاضافة الى انها تقلل من عملية اكسدة الدهون (Bagchi *et al* , 2002 a) .

بينت العديد من الدراسات التاثيرات الايجابية لزيت بذور العنب على مستوى الاحماض الدهنية عالية الكثافة فقد وجد Nash وجماعته (1993) ان هناك زيادة ملحوظة في مستوى HDL للاشخاص الذين استخدموا 45 مل من GSO في غذائهم اليومي لمدة اسبوعين فقد تم تسجيل زيادة ملحوظة (13-14 %) في مستوى HDL ، اما Bagchi وجماعته (2002 b) فوجد ان زيت بذور العنب يلعب دور في تقليل تجمع الصفيحات الدموية وهذا بدوره يقلل من خطر الاصابة بامراض القلب والشرايين ويمنع ارتفاع ضغط الدم المتسبب عن زيادة الصوديوم في الجسم ويقلل من الاضرار الحاصلة بفعل السمنة وداء السكري ، اما Maheswari and Rao (2005) فقد بين ان هناك زيادة ملحوظة في مستوى GSH وSOD بعد استخدام زيت بذور العنب كمضاد للفعل التاكسدي المتسبب عن استخدام رباعي كلوريد الكاربون CCl_4 بينما كان هناك انخفاض ملحوظ في مستوى TP و CCl_4 ووجد Fan و Lou (2004) ان زيت بذور العنب يكون فعال في السيطرة على نمو الخلايا السرطانية في المعدة والقولون والبروستات والرئة وهو ايضا يقلل من الوذمة والنزف بعد اجراء العمليات الجراحية .

3-16-3المركبات البايلوجية لزيت بذور العنب

يعد العنب واحداً من اهم الفواكه في العالم فقد بلغت انتاجيته عام 2007 حوالي 6.1 مليون طن في الولايات المتحدة (Maier *et al* ,2009) تشكل البذور نسبة 5 % منه ، وتعتبر نواتج عرضية من عمليات التصنيع التي تجرى على العنب .تتكون البذور من 10% زيت مع الياف وبروتينات ومركبات اساسية بضمنها مضادات الاكسدة الفينولية phenolic antioxidant (Kim *et al* ,2006 ; Choi

and Lee . 2008) اضافة الى محتواها العالي من المركبات العضوية مثل السكريات ، الفينولات المتعددة poly phenol ، الكحولات المتعددة poly alcohol ، البكتين pectin والدهون وتلعب هذه المركبات مجتمعة دور مهم في استهلاك جذور الاوكسجين الحرة مما يقلل بدوره الضرر الحاصل بفعل هذه الجذور (Lafka *et al* , 2007) .

اجريت العديد من الدراسات للتعرف على الخواص المضادة للاكسدة لنبات العنب ، ففي دراسة اجراها Guo وجماعته (2003) للمقارنة بين مختلف اجزاء حبة العنب (اللب ، القشرة ، البذور) في قابليتها على اختزال القوة المؤكسدة المتسببة بفعل ايون الحديد الثلاثي التكافؤ ferric reducing antioxidant power (FRAP) باستخدام فوسفات الحديديك FeSo4 فوجد ان البذور تمتلك قدرة ال FRAP تقدر حوالي 56 mmol/100 g مقارنة مع اللب والقشرة التي قدرت فيها ال FRAP بحوالي o.49 mmol/100 g و 11 mmol /100 g على التوالي مما يوضح القيمة العالية لمضادات الاكسدة التي يحتويها زيت بذور العنب التي تجعله شديد الفعالية لاستخدامه في علاج العديد من المشاكل الصحية المتسببة بفعل الجذور الحرة .

ان زيت بذور العنب غني بالمركبات الفينولية مثل الفلافونات flavonoid التي تشمل ثلاث مركبات اساسية proanthocyanidins و anthocyanin و resveratol (Bozan *et al* , 2008) اضافة الى catechin و galic acid ، اذ تحتوي هذه المركبات الفينولية المتعددة على مجموعتين او اكثر من مجموعة الهيدروكسيل المرتبطة بنظام حلقي مشكلة تركيب حلقي يشبه حلقة البنزين ، اذ تمتلك هذه الفينولات العديد من الخواص المضادة للاكسدة بضمنها امكانية علاج السرطان (Fan and Lou ,2004) وامراض القلب الوعائية (Zern *et al* , 2003 ; Zern *et al* ,2005) ففي دراسة اجريت لبيان تاثير ال proanthocyanidins على المرضى المصابين بسرطان البروستات prostat cancer وسرطان الثدي breast cancer وسرطان القولون colon cancer فقد ظهر انخفاض ملحوظ في معدل نمو الخلايا السرطانية (Englbrecht *et al* ,2007) اذ وجد ان ال proanthocyanidins يعزز من زيادة موت الخلية المبرمج apoptosis programmed cell death لخط الخلايا السرطانية الامر الذي يؤدي الى تخلص الجسم من هذه الخلايا ويقلل من نمو الورم ، اضافة الى ان proanthocyanidins يقلل من نسبة الاصابة بسرطان الجلد (Sharma and kaliyar ,2006) وانه يمنع وبشكل ملحوظ من تطور امراض القلب الوعائية ففي دراسة من قبل

Karthikeyan وجماعته (2007) قلل فيها جريان الدم في قلب فئران مختبرية تجريبيا واستخدم مادة proanthocyanidins كمادة مضادة للاكسدة وجد ان هذه المادة التي تم استخلاصها من بذور العنب قد اخرت من موت الخلايا القلبية الامر الذي قلل بدوره من احتمال الاصابة بالنوبات القلبية اما Sangeetha وجماعته (2005) فوجد ان proanthocyanidins يحافظ على سلامة غشاء كريات الدم الحمراء في الفئران المسنة اذ تؤدي الشيخوخة عادة الى فقدان كريات الدم الحمراء لشحنتها السطحية التي بدورها تقلل من كفاءة عمليات النقل لهذه الكريات بضمنها نقل الاوكسجين والمغذيات في كافة انحاء الجسم .

اما الانثوسيانين anthocyanin وهو الصنف الثاني من الفلافونات والمسؤولة عن اعطاء العنب وبذورها اللون الارجواني فيتميز بالعديد من الخواص الصحية التي تتراوح من خواص مضادة لالتهابات الاوعية الدموية الى تاثيرها في تقليل تجلط الصفيحات الدموية مما يبين الدور الذي يلعبه الانثوسيانين في تقليل خطر الاصابة بامراض القلب الوعائية (Mazza , 2007) ، تتوافق هذه الخواص للانثوسيانين مع خواص الصنف الثالث من الفلافونات resveratol الذي يمتلك تاثير في تقليل تجلط الصفيحات الدموية وخواصه المضادة للاكسدة وقدرته على تقليل السرطانات وامراض القلب الوعائية (Iacopini *et al* , 2008) .

4-16-4 الاحماض الدهنية والفيتامينات الموجودة في زيت بذور العنب

يحتوي زيت بذور العنب بالاضافة الى الفينولات على العديد من الفيتامينات وبشكل اساسي فيتامين C (Ascorbic acid) وفيتامين E (tocopherols) و فيتامين D اضافة الى مادة البيتا كاروتين β carotin ، فقد اظهرت هذه الفيتامينات تاثيرات ايجابية على امراض القلب وداء السكري اضافة الى تاثير فيتامين E في تقليل الاجهاد التاكسدي في خلايا ال Monocyte التي تساعد في التخلص من الكولسترول وبذلك فهو يمنع خطر الاصابة بمرض تصلب الشرايين التي ينتج عنها العديد من المشاكل الصحية (Cachia *et al* ,1998) وان العلاج بفيتامين C يخفف من اعراض النوع الثاني من داء السكري ويعزز سلامة الخلايا الكبدية اضافة الى تقليله للضعف العصبي الناتج عن زيادة تركيز سكر الدم بعد الطعام ويحسن الذاكرة وعمليات الادراك لدى مرضى داء السكري (Chui and Green wood ,2008) ، كذلك يعتبر زيت بذور العنب مصدر للعديد من الاحماض الدهنية الاساسية والالياف الغذائية التي تعد من المواد الكيميائية الضرورية للعديد من العمليات الكيموحيوية فهو يتالف من حوالي 70 % دهون غير مشبعة (Cao and Ito ,2003) اضافة الى بعض الاحماض الدهنية الغير مشبعة مثل omega -3

و omega-6 التي تعتبر من الاحماض الدهنية الاساسية لعدم امكانية تصنيعها ذاتيا من قبل الجسم (Smith ,2007) فقد ارتبطت بتقليل خطر الاصابة بامراض القلب والسرطان وارتفاع ضغط الدم واضطرابات المناعة الذاتية (Parry *et al* ,2005).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials & Methods

المواد وطرائق العمل

Materials and Methodes

1-3 المواد Materials

1-1-3 الاجهزة

جدول (3-1) الاجهزة المستخدمة حسب المنشا والشركة

التسلسل	الاجهزة	المنشأ	الشركة
1	جهاز الطرد المركزي Centerfuge	Germany	Hermile
2	جهاز الطرد المركزي لمكداس الدم Hematocrit centerfuge	Germany	Heraeus CHRIST
3	جهاز عد كريات الدم Hemocytometer	Germany	Superoior
4	جهاز سكسليت Sexhlet apparatus	Korea	Daihan Labtech
5	جهاز Rotary Laborata	Germany	Heidolph
6	حاضنة Digital Incubator	Korea	Daihan Labtech
7	حمام مائي Digital Water bath	Korea	Daihan Labtech
8	صفيحة حارة Hot plate	Germany	Mettle
9	كاميرا رقمية Camera Digital	Japan	Sony
10	مازج Vortex	Italy	Roma
11	مايكروتوم دوار Rotary Microtome	U.S.A	Unico , TM
12	مجهر ضوئي Light microscope	Germany	Human Scope
13	مطياف ضوئي Spectrophotometer	Japan	Apple 203
14	ميزان حساس Sensitive balance	Germany	Sartorius

2-1-3 الادوات

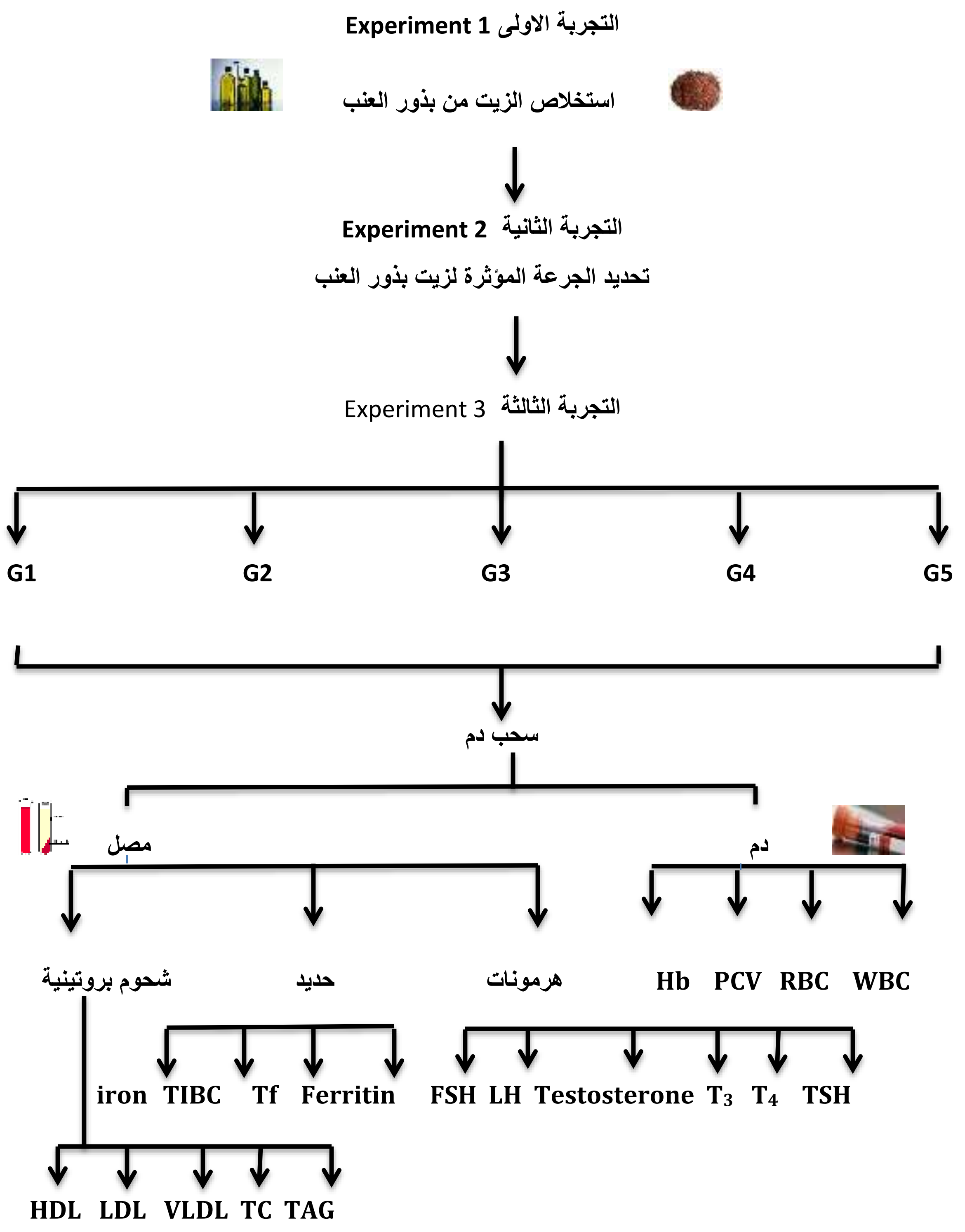
جدول (2-3) يبين الادوات الزجاجية والبلاستيكية حسب المنشأ والشركة

التسلسل	الادوات الزجاجية والبلاستيكية	المنشا	الشركة
1	ادوات بلاستيكية مختلفة الاحجام	Denmark	Nunclon
2	انابيب مانعة للتخثر EDTA tube	Jordan	Gold star
3	انابيب غير حاوية على مادة مانعة للتخثر	Jordan	Gold star
4	زجاجيات مختلفة الاحجام Pyrex	Englang	Volac
5	شرائح زجاجية Slides	China	China MHECO
6	عدة تشريح Dissecting Set	Pakestan	S.I.E.
7	محاقن نبيذية Disposable syringes	S.A.R.	Medical ject

2-1-3 المواد الكيميائية Chemical Materiale

جدول (3-3) المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة

التسلسل	المادة	المنشأ	الشركة
1	دكستران الحديد Iron Dextran	France	FENAUDIN
2	ديسفروكسامين	Swilzerland	NOVARTIS
3	زايلين Xylene	England	BDH
4	شمع البرافين Paraffin Wax	Germany	Merck
5	صبغة كمزا Giemsa Stain	England	BDH
6	صبغة هيماتوكسين والايوسين Hemotoxyline & Eosin	England	BDH
7	عدة تقدير الكولسترول TC والدهون الثلاثية TG والشحوم البروتيني عالية الكثافة HDL-C	U.S.A	Atlas
8	عدة تقدير الحديد الحر Free Iron وسعة ارتباط الحديد TIBC والفرتين Ferritin	Germany	Biomaghreb
9	عدة تقدير الهرمونات T3 , T4 , TSH, LH,FSH, Testosteron	Germany	Veda Lab Veda
10	كحول اثيلي Ethanol	England	BDH
11	كلوروفورم Chloroform	England	BDH
12	كندا بلسم Canada balsam	England	BDH
13	هكسان	Germany	Fucon



شكل (1-3) تصميم التجربة

2-3 حيوانات التجربة

استخدمت في هذه التجربة 50 أرنب من ذكور الأرانب المحلية *Oryctatagus cuniculus* وتراوحت اعمارها بين 8-9 أشهر واوزانها مابين 1500- 2000 غرام تم شرائها من الأسواق المحلية ووضعت في اقفاص معدة لهذا الغرض في البيت الحيواني التابع الى كلية التربية – جامعة كربلاء ، اخضعت هذه الحيوانات لظروف مختبرية خاصة بدرجة حرارة 25 م ، وتم تغذيتها بعليقة من البلت المركز concentrate pullet المتكون من (10% بروتين خام ، 20 % فول الصويا ، 35% طحين الحنطة ، 35% ذرة اضافة الى فيتامينات ومعادن 1 ملغم / كغم) و اعتمدت الإضاءة الطبيعية طول مدة الدراسة وبواقع 10 ساعات ضوء و 14 ساعة ظلام .

تركت الحيوانات مدة اسبوعين للتاقلم مع الظروف المشار اليها اعلاه قبل اجراء التجربة .

3-3 تصميم التجربة

1-3-3 التجربة الاولى experiment 1

استهدفت هذه التجربة استخلاص الزيت من بذور العنب الاسود *Vitis vinifera* ، جمعت بذور العنب من احد البساتين في ناحية الحسينية / محافظة كربلاء وتم تصنيف النبات كالاتي :

Class : Magnoliapae
Sub class : Rosidaea
Order : Rhamnales
Family : Vitaceae
Genus : *Vitis vinifera*

حُضّر الزيت حسب طريقة Luque – Rodiguez وجماعته (2005) اذ استخدم الهكسان كمذيب وتمت عملية تكسير البذور باستخدام الخلاط الكهربائي بعد ذلك جففت بدرجة حرارة $55\ C^0$ لمدة 72 ساعة ثم أُجريت عملية استخلاص الزيت من بذور العنب باستخدام جهاز

السكسليت Sexhlet apparatus ، تمت عملية استخلاص الزيت بتمرير 150 مل من الهكسان على 100 غم من مسحوق بذورالعنب لمدة 3 ساعات وتم الحصول على مزيج الزيت والهكسان (الماسيلا) من جهاز السكسليت ، ثم جرت عملية فصل الزيت من المذيب (الهكسان) باستخدام جهازالدوار ، بعدها تم ترشيح الزيت الناتج من بقايا البذور باستخدام عدة طبقات من القماش ، وجرت عملية الطرد المركزي بسرعة 1000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة للتخلص من بقايا البذور ، بعدها تم الحصول على زيت بذور العنب وهو زيت ذو لون اصفر عديم الرائحة ترك الزيت ليبرد عند درجة حرارة الغرفة ثم حفظ في علب زجاجية تحت درجة حرارة C^0 20- ليخضع الى التجربة الثانية وهي تحديد الجرعة المؤثرة .

2-3-3 التجربة الثانية experiment 2

صممت هذه التجربة لايجاد الجرعة المؤثرة ED50 لزيت بذور للعنب على بعض المعايير الحيوية لذكور الارانب ، اذ استخدمت جرع تصاعدية مختلفة من زيت بذور العنب باستخدام gavages needle للاعطاء الفموي لذكور الارانب .

قسمت عشوائيا 25 من ذكور الارانب الى 5 مجاميع وبواقع 5 ارانب لكل مجموعة وجرعت يوميا لمدة اربعة اسابيع وعلى النحو التالي:

1- المجموعة الاولى تم اعطائها الماء واستخدمت كمجموعة سيطرة G1

2- المجموعة الثانية G2 تم اعطائها 0.2 مل/ كغم من زيت بذور العنب .

3- المجموعة الثالثة G3 تم اعطائها 0.5 مل/ كغم من زيت بذور العنب .

4- المجموعة الرابعة G4 تم اعطائها 0.75 مل/ كغم من زيت بذور العنب .

5- المجموعة الخامسة G5 تم اعطائها 1مل/ كغم من زيت بذور العنب .

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طول الليل في فترة ماقبل المعاملة pretreated وبعد مرور اربعة اسابيع ووضع الدم بعد ذلك في انابيب خاصة غير حاوية على

مادة مانعة للتخثر ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة لقياس المعايير التالية:

1- تركيز المالوندايالديهايد Malondialdehyde (MDA).
2- تركيز الكلوتاثيون المختزل Glutathion (GSH) .
3- تركيز الكوليستيرول الكلي Total Cholesterol (TC).
4- تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة High Density Lipoprotein (HDL) .

3-3-3 التجربة الثالثة experiment 3

قسمت 25من ذكور الارنب عشوائيا الى خمسة مجاميع بواقع 5 أرانب لكل مجموعة :

تم حقن المجموعة الاولى (G1) 20 مل/ كغم بالماء المقطرلمدة 30 يوم يوميا واعتبرت كمجموعة سيطرة.

تم حقن المجموعة الثانية (G2) 20 ملغم / كغم من مادة دكستران الحديد لمدة 30يوم بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرع في الاسبوع الثالث واربع جرع في الاسبوع الرابع.

تم حقن المجموعة الثالثة (G3) 20 ملغم / كغم من مادة دكستران الحديد لمدة 30يوم بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرع في الاسبوع الثالث واربع جرع في الاسبوع الرابع +انها جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED5O (0.5 مل /كغم) من زيت بذور العنب grape seed oil التي تم استخراجها من التجربة الاولى ولمدة 30 يوم يوميا.

حقنت المجموعة الرابعة (G4) 20 ملغم / كغم من مادة دكستران الحديد لمدة 30يوم مع حقن تحت الجلد SC 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين لمدة30 يوم بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرع في الاسبوع الثالث واربع جرع في الاسبوع الرابع لكل مادة .

تم حقن المجموعة الخامسة(G5) 20 ملغم / كغم من مادة دكستران الحديد لمدة 30يوم مع حقن تحت الجلد SC 10 ملغم /كغم من مادة الديسفروكسامين لمدة 30يوم بواقع جرعة واحدة في الاسبوع الاول ، جرعتان في الاسبوع الثاني ، ثلاث جرع في الاسبوع الثالث واربع جرع في الاسبوع الرابع + انها جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED5O (0.5 مل /كغم) من زيت بذور العنب التي تم استخراجها من التجربة الاولى ولمدة 30 يوم يوميا.

4-3-3 سحب الدم

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طول الليل وذلك قبل اجراء التجربة pretreated وبعد نهاية كل اسبوعين اذ تم سحب 2 مل من الدم من الاذن لاجراء الفحوصات الدموية (PCV ,HB ,RBC ,WBC ,MCV ,MCH ,MCHC) وسحب 7 مل من الدم من القلب مباشرة عن طريق التحكم بالحيوان مستلقي على ظهره ، وقد استخدمت محاقن طبية معقمة سعة 5 مل ، وضع الدم بعد ذلك في انابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي centerfuge بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة لقياس بعض المعايير الكيموحيوية (TC, TAG, HDL, LDL VLDL) وبعض المعايير الفسلجية (T3,T4, TSH) و(FSH, LH ,Testesteron) (Iron ,ferritin ,TIBC) وقد تم حفظ الأمصال في ثلاجة Refrigerator في درجة حرارة 4C- لحين إتمام القياسات .

4-3 الفحوصات الدمية

1-4-3 تقدير معدل حجم مكداس الدم Packet Cell volume (PCV)

وهي النسبة المئوية لحجم كريات الدم المضغوطة الى الحجم الكلي ، تم تحديد هذه القيمة باستخدام انابيب شعرية زجاجية مفتوحة الطرفين Capillary hematocrite tube غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ، اذ تم ملئ ثلثي الانبوب الشعري بالدم الموضوع في انابيب حاوية على مادة مانعة للتخثر Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA tube) وسدت احدى نهايات الانبوب الشعري بمادة خاتمة ثم وضعت هذه الانابيب في جهاز الطرد المركزي الخاص بها

Micro-Hematocrite centerfuge لمدة 5 دقائق بسرعة 5000 دورة/ دقيقة على ان يكون الطرف المفتوح الى الداخل ، بعد ذلك يقرأ الانبوب الشعري في مقراء الراسب الدموي Hematocrit reader الذي يمثل النسبة المئوية لحجم كريات الدم المضغوطة (Hillman and Ault ,2002) .

2-4-3 قياس معدل تركيز الهيموكلوبين Hemoglobin determination (HB)

تم تقدير كمية الهيموغلوبين بقسمة حجم خلايا الدم المضغوط على 3.3 بوصف ان الهيموغلوبين يمثل 3/1 حجم كريات الدم الحمراء وحسب القانون التالي:

$$Hb=\frac{PCV\left(value\right)}{3.3}= g/100\ ml$$ (Rodac .2002)

3-4-3 تقدير اعداد كريات الدم الحمر Red blood cell count (RBC count)

يخفف الدم بمحلول formal citrate المتكون من 1% فورمالين في 38 غم /لتر من ثلاثي سترات الصوديوم Tri–sodium citrate ويتم ذلك باضافة 20 مايكروليتر من الدم الى 0.4 سم^3 من محلول formal citrate ثم يحرك الدم المخفف بتحريك الانبوب تحريك ميكانيكي ، بعد ذلك يملئ جهاز العد counting chamber بالدم المخفف باستخدام Pasteur pipette ثم يفحص بالعدسة العينية تحت القوة 40 X باستخدام المجهر الضوئي (Dacie and Lewis . 1995) .

4-4-3 تقدير نسبة مؤشرات كريات الدم الحمر Measurement of Red blood cell indices

1-4-4-3 حساب معدل حجم كرية الدم الحمراء MCV

تحسب كالتالي :

$$MCV = \frac{PCV\ \%}{RBC \times 10^{6}\ mm^{3}} \times 100$$

2-4-4-3حساب معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCH

تحسب كالتالي :

$$MCH = \frac{Hb}{RBC \times 10^{6}\ mm^{3}} \times 10$$

3-4-4-3حساب معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCHC

تحسب كالتالي:

$$MCHC = \frac{Hb}{PCV} \times 100$$ (Dacie and Lewis,1995)

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

تم حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض وذلك باستخدام شريحة عد الكريات Haemocytometer من نوع Improved neubauer ومحلول ترك يتكون من 2% حامض الخليك وصبغة المثيل البنفسجية وتم تخفيف العينة بنسبة 20:1 سم^3 وذلك باضافة 20 مايكروليتر من الدم الى 0.4 سم^3 من محول التخفيف الموجود داخل انبوب زجاجي نظيف وجاف وسدت فوهته بغطاء بلاستيكي ، ومزج بشكل جيد لمدة دقيقة وترك لمدة 5 دقائق لاكمال تحلل خلايا الدم الحمر واصطباغ انوية خلايا الدم البيض ثم وضعت قطرة من عينة الدم المخفف على شريحة العد وحسب عدد الخلايا البيض من اربعة مربعات كبيرة ذات حجم 1 × 0.1 ملم باستخدام المجهر الضوئي بقوة تكبير 40X ثم حسب العدد الكلي لخلايا الدم البيض من 1 سم^3 حسب المعادلة التالية:

العدد الكلي في مربع واحد × 200 = العدد الكلي لخلايا الدم البيض

.(Dacie and Lewis,1995)

3-5 الفحوصات الكيموحيوية

3-5-1 تقدير تركيز المالوندايالديهايد Malondialdehyde (MDA) في مصل الدم

استخدمت طريقة تفاعل حامض الثايوباربيتيورك Thiobarbituric acid (TBA) وحسب هذه الطريقة، قيس تركيز المالوندايالديهايد Malondialdehyde (MDA) الذي يمثل احد النواتج االرئيسة لعملية اكسدة الدهن ويعد مستواه مؤشرا لهذه العملية، اذ يعتمد القياس على التفاعل بين المالوندايالديهايد مع (TBA) (Muslih, *et al.*, 2001).

المحاليل المستخدمة

1- محلول الثايوباربايتيورك (TBA- solution)

يحضر باذابة 0.6 غم من مادة الـ TBA في 100 مللتر من الصودا الكاوية بتركيز 0.05 مولالي باستخدام القليل من التسخين، ويحضر هذا المحلول عند الاستعمال.

2- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro Acetic Acid (TCA-solution)

يحضر هذا المحلول بتركيزين، التركيز الاول 17.5% يحضر بإذابة 17.5 غم من مادة TCA في 100 مللتر من الماء المقطر، والتركيز الثاني 70% يحضر بإذابة 70 غم من المادة نفسها في 100 مللتر من الماء المقطر، ويحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام.

طريقة العمل

1- يؤخذ 150 مايكروليتر من مصل الدم و يضاف اليه 1 مل من محلول TCA بتركيز 17.5%، ويضاف 1 مللتر من محلول TBA الى المزيج، ويرج جيدا وتحضن الانابيب في ماء مغلي لمدة 15 دقيقة.

2- تبرد العينات ويضاف اليها 1 مللتر من محلول TCA بتركيز 70 % ويترك المزيج بدرجة 37 مئوية لمدة 20 دقيقة.

3- يفصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/دقيقة ولمدة 5 دقائق.

4- تقرأ الإمتصاصية عند الطول الموجي 532 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي ويحسب مستوى MDA حسب المعادلة الآتية:

امتصاصية العينة عند 532 نانوميتر

تركيز المالوندايالديهايد (ميكرومول/ مول) = ________________ X معامل التخفيف

Eo x L

اذ ان :

L = light path (1 cm).

Eo = extinction coefficient 1.56×10^5 mol^{-1} cm^{-1}

معامل التخفيف = 0.15 / 1 ml vol. Used in Ref = 6.7

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

تم قياس تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم باستخدام طريقة كاشف المان Ellmans المتبعة من قبل (AL-Zamely, *et al*., 2001).

المحاليل المستخدمة

1- محلول حامض السلفوسالسيليك sulfosalicylic acid solution

يحضر باذابة 4 غم من حامض السلفوسالسيليك في 100 ملليلتر من الماء المقطر ويحفظ في الثلاجة.

2- محلول دارئ الفوسفات phosphate buffer solution

يحضر بمزج (0.6 M KH_2PO_4) و(0.08 M Na_2HPO_4)، ويضبط الاس الهيدروجيني عند 8 .

3- محلول كاشف المان Ellmans

يحضر بتركيز 0.1 ملي مول باذابة 0.00396 غم من مادة 5-5 dithio bis 2- nitrobenzoic acid (DTNB) في 100 ملليلتر من المحلول المنظم ويحفظ الكاشف في الثلاجة.

طريقة العمل

1- مزج حجم متساوي (150) مايكروليتر من مصل الدم ومحلول حامض Sulfosalicylic acid بتركيز 4%.

2– فصل الراشح بإستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة /دقيقة لمدة 5 دقائق.

3- سحب 150 مايكروليتر من الراشح الى انبوبة اختبار، واضيف اليها 4.5 مللتر من كاشف المان 0.1 Ellmans ملي مول، وتترك لمدة 5 دقائق.

4- قرأت الامتصاصية للمحلول باستخدام جهاز الطيف الضوئي عند الطول الموجي 412 نانوميتر.

تم حساب تركيز الكلوتاثايون في مصل الدم باستخدام المعادلة الاتية :

$$\text{تركيز الكلوتاثايون (ميكرومول/ مول)} = \frac{\text{العينة عند 412 نانوميتر}}{L} \times Eo$$

$$Eo = 13600\ M^{-1}\ CM^{-1}$$

L =light path (Cm)

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

تم تقدير تركيز الكوليستيرول في مصل الدم بالطريقة الانزيمية وفقا لطريقة (Allain,1974) اذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل Cholesterol Esterase بوجود الاوكسجين (O_2) وانزيم Cholesterol Oxidase اللذان يعملان على اكسدة الكوليسترول الحر المتكون نتيجة التفاعل الاول الى (Cholest -4en-3one) و (Hydrogen Peroxidase) وهذا الاخير يتفاعل مع الفينول Phenol و 4- Aminoantipyrinel وبوجود انزيم Peroxidase ليكون كيتون امين quinoneoimine وردي اللون وكما موضح في المعادلات التالية :

$$\text{Cholesterol Ester} \xrightarrow{\text{Cholesterol Estrase}} \text{Fatty Acids + Cholesterol}$$

$$\text{Cholesterol} \xrightarrow{\text{Cholesterol Oxidase}} \text{Cholest–4–en–3–one} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{Phenol} + 4-\text{amino–antipyrine} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Quinoneimine} + 4H_2O$$

طريقة العمل

تم استخدام ثلاث انابيب اختبار هي العينة sample ، المحلول القياسي standard والكفئ blank) وحسب الجدول التالي :

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

بعدها اضيف 1.0 ml من reagent a الى العينة والمحلول القياسي والكفئ ومزجت المحاليل جيدا 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 الكفئ .

الحسابات

تم حساب تركيز الكوليسترول الكلي وفقا للقانون التالي :

$$\text{Total Cholesterol Mg/dl} = \frac{\text{sample}}{\text{standard}} \times n$$

اذ ان :

N = 200 وهو تركيز المحلول القياسي.

Sample= الامتصاصية الضوئية لعينة المصل .

Standard = الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

4-5-3 تقدير تركيز الكليسيريدات الثلاثية triacylglycerol (TAG)

تم تقدير تركيز الكليسيريدات الثلاثية بالطريقة الانزيمية وفقا لطريقة(Fassati and Principe, 1982) اذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل الكليسيريدات الثلاثية الموجودة في مصل الدم من خلال سلسلة من التفاعلات الكيميائية وبوجود عدد من الانزيمات الى كيتون امين وردي اللون كما في التفاعلات التالية :

$$\text{Triglycerides} + H_2O \xrightarrow{\text{Lipase}} \text{Glycerol} + \text{Fatty acids}$$

$$\text{Glycerol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Glycerokinase}} \text{Glycerol-3-phosphate} + \text{ADP}$$

$$\text{Glycerol-3-phosphate} + O_2 \xrightarrow{\text{Glycerol-3-phosphate oxidase}} \text{Dihydroxyacetone phosphate} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{Parachlorophenol} + \text{4-aminoantipyrine} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} Quinoneamine + 4H_2O$$

طريقة العمل

تم استخدام ثلاث انابيب اختبار هي العينة sample ، المحلول القياسي standard والكفئ blank) وحسب الجدول التالي :

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

بعدها اضيف 1 مل من محلول العمل Working reagent الى العينة والمحلول القياسي والكفئ ومزجت المحاليل جيدا ووضعت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة 37 مئوية ، ثم قرات الامتصاصية بواسطة جهاز المطياف الضوئي بطول موجي 505 نانوميتر.

الحسابات

تم حساب تركيز الدهون الثلاثية وفق المعادلة التالية :

$$\text{Triglyceride concentration} = \frac{\text{sample}}{\text{standard}} \times n$$

اذ ان :

N = 200 وهو تركيز المحلول القياسي .

Sample= الامتصاصية الضوئية لعينة المصل .

Standard = الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

3-5-5 تقدير تركيز الشحوم البروتينية العالية الكثافة HDL cholesterol

تم تقدير تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL cholesterol بالطريقة الانزيمية وفقا لطريقة (Bursten ,1970) وتعتمد هذه الطريقة على ترسيب دقائق الاستحلاب (الكيلوسية) و LDL و VLDL والموجودة في مصل الدم ويتم ذلك باضافة معامل الترسيب Precipitating reagent الى مصل العينات وبعد الانتهاء من هذه العملية وضعت العينات في جهاز الطرد

المركزي علما ان المحلول الناتج بعد عملية الترسيب يكون رائق ويحوي على HDL والذي يمكن قياس مستوى الكوليسترول فيه باستخدام الكاشف Reagent A من العدة الخاصة بتقدير مستوى الكوليسترول .

طريقة العمل

تتضمن طريقة العمل في تقدير مستوى HDL cholesterol خطوتين هما :

1- الترسيب

استخدمت هذه الخطوة لتحضير الراشح (الرائق) وذلك باضافة 0.5 مل من محلول الترسيب Reagent1 الى 0.5 مل من مصل الدم ويمزج جيدا 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 cholesterol

قسم العمل على ثلاثة انابيب اختبار هي (العينة ، المحلول القياسي ، الكفئ)

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

بعدها اضيف 2.0 مل من Reagent A الى المحاليل الثلاثة المذكورة اعلاه ومزجت جيدا ثم تركت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة حرارة 37 مئوي وبعدها تقرا الامتصاصية بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي510 نانوميتر.

الحسابات

تم حساب تركيز HDL cholesterol من القانون التالي :

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

اذ ان:

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

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

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

تم تقدير تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-Cholestrol حسابيا باستخدام معادلة Friedewald equation (Chotkowska *et al* ,2001 ; Friedewald *et al* ,1972) وهي :

$$LDL = TC - (HDL + TAG/5)$$

7-5-3 قياس تركيز الشحوم البروتينية الواطئة الكثافة جدا Very low density lipoprotein (VLDL)

يمكن حساب تركيز VLDL من خلال تقسيم قيمة TAG على 5 (Friedwald *et al* ., 1972)

VLDL = TAG/5

8-5-3 قياس تركيز الحديد الحر في المصل

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

1- الكاشف الاول R1 ويتكون من Guanidine و HCl و Actete buffer pH_5 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.

مبادئ التفاعل Principles of reaction

الحديد الموجود في عينة المصل التي يجب ان يكون خالي من التحلل الدموي Hemolysis ينفصل الحديد من معقد حديد- ترانسفرين بوساطة محلول الكواندين استيت Guanidine aceteate المضاف ثم يختزل بوساطة حامض الاسكوربيك Ascorbic acid ويتفاعل مع الـ Ferrozine ليعطي معقد وردي اللون.

طريقة العمل

تم تحضير الكواشف الآتية:

1- الكاشف A يحضر من اضافة 250 ملغم من الكاشف الثاني R2 مع 50 مل من الكاشف الاول R1.

2- الكاشف B: يحضر من اضافة حجم واحد من الكاشف الثالث R3 مع 25 حجماً من الكاشف A.

تم أُخذ أربعة انابيب بلاستيكية وصنفت الى انبوبة تصفير الكاشف وانبوبة المحلول القياسي وانبوبة تصفير العينة وانبوبة الاختبار.

وضع في كل من انبوبة تصفير الكاشف وانبوبة المحلول القياسي وانبوبة الاختبار 1 مل من الكاشف B ثم اضيف 0.2 مل من الماء المقطر الى انبوبة تصفير الكاشف و 0.2 مل من المحلول القياسي R4 الى انبوبة المحلول القياسي و 0.2 مل من مصل العينة المراد حساب تركيز الحديد فيها الى انبوبة الاختبار، أما انبوبة تصفير العينة فوضع فيها 1 مل من الكاشف A و 0.2 مل من مصل العينة المراد حساب تركيز الحديد فيها.

مزجت تلك الانابيب 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 الاتية:

$$\frac{\text{OD sample-OD sample blank}}{\text{OD standard}} \times \text{Con. Standard} = \quad \mu g/dl$$

9-5-3 قياس سعة ارتباط الحديد الكلية TIBC

تم قياس سعة ارتباط بروتين الترانسفرين الكلية بالحديد باستعمال عدة قياس السعة الكلية لارتباط الحديد TIBC-Kit من انتاج شركة Biomaghreb.

تتألف عدة القياس من الكواشف الكيميائية (Chemical Reagents) الاتية:

1- الكاشف الاول R1 : وهو محلول الحديد المشبع Saturating iron solution وتركيز الحديد فيه 5 ملغم/لتر.

2- الكاشف الثاني R2 وهو الممتز Adsorbant ويتكون من Basic magnesium carbonate.

مبادئ التفاعل Principles of reaction

يتشبع ترانسفرين المصل بالحديد غير المرتبط المضاف ثم يترسب باضافة كاربونات المغنسيوم وبعد عملية الطرد المركزي يتم تعيين تركيز الحديد في الرائق باستعمال عدة قياس حديد المصل.

طريقة العمل

وضع 1 مل من الكاشف الاول R1 في انبوبة اختبار بلاستيكية معقمة وجافة (Plain Tube) واضيف اليها 0.5 مل من مصل العينة المراد قياس السعة الكلية لارتباط الحديد فيها مزج الخليط جيداً وترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق.

تم وزن 100 ملغم من الكاشف الثاني R2 واضيف الى الخليط السابق ومزج جيداً وترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة مع الرج المستمر بين الحين والاخر.

نبذ الخليط بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق ثم سحب 0.2 مل من الرائق واجريت عليه طريقة قياس تركيز المصل باستعمال عدة قياس حديد المصل (Iron – Kit) من انتاج شركة Biomaghreb كما مرَّ سابقاً.

وحسبت السعة الكلية لارتباط الحديد بتطبيق المعادلة الاتية:

$$\frac{\text{OD sample-OD sample blank}}{\text{OD standard}} \times \text{Con.standard} \times 3 = \mu g/dl$$

3-5-10 قياس معدل اشباع الترانسفرين

تم تقدير نسبة نسبة تشبع بروتين الترانسفرين بالحديد بحسب ماذكره Wolmasley و Whit (1988) وذلك بتطبيق المعادلة الاتية:

$$TS\% = \frac{\text{Serum iron concentration}}{\text{Total iron binding capacity}} \times 100$$

3-5-11 قياس تركيز الفرتين FRT

المبدأ العام للاختبار

يعتمد الاختبار الكمي للفرتين FRT على طريقة التحليل المناعي الانزيمي (Elisa)، اذ يتم التفاعل مع الاجسام المضادة للفرتين FRT الموضوعة في اوعية التعيير الصغيرة (Microtiter wells) والأجسام المضادة لـ FRT الموجودة في محلول الارتباط (horse radish peroxidase) وبناءً على ذلك فإنه عند إضافة عينة الاختبار إلى وعاء التعيير فإنها تتفاعل مع الأجسام المضادة اذ تلتف جزيئات FRT بين الطور الصلب (Solid Phase) والأجسام المضادة المرتبطة بالأنزيم.

بعد فترة الحضن تغسل الأوعية بالماء لإزالة الأجسام المضادة غير المرتبطة ويضاف بعد ذلك محلول الكاشف (Trimethylene blue) TMB وتتم حضانته في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة ليؤدي ذلك إلى ظهور اللون الأزرق بفعل أنزيم الأرتباط.

بعدها يتوقف ظهور اللون الأزرق ويتحول إلى اللون الأصفر عند إضافة محلول الإيقاف دلالة على توقف التفاعل بين المادة الأساس وانزيم الارتباط، ويتم بعد ذلك قياسه بوساطة القارئ الخاص بجهاز الاليزا عند الطول الموجي 450 نانوميتر.

طريقة العمل

1- ثبت العدد المناسب من اوعية التعبير الصغيرة على الحامل الخاص المزود مع طقم الهرمون

2- تم وضع 20 µl من عينات الاختبار المنظمات والمادة القياسية في الأوعية المخصصة لكل منها.

2- تم إضافة 100 µl من الكاشف المرتبط بالأنزيم إلى كل وعاء ورجت بلطف لمدة 30 ثانية

3- تمت عملية حضانة الخليط في درجة حرارة الغرفة °C 18-25 ولمدة 45 دقيقة.

4- تم إزالة الخليط عن طريق قلب محتويات الصفيحة في سلة المهملات

5- تم غسل أوعية التعبير خمس مرات بالماء المقطر ثم جرى تنشيف الأوعية بورق الامتصاص لإزالة جميع قطرات الماء.

6- تم إضافة 100 µl من كاشف TMB إلى كل وعاء ثم جرت عمليه المزج من خلال رج الخليط لمدة 10 ثواني.

7- تمت حضانة الخليط في حرارة الغرفة في الظلام لمدة 20 دقيقة.

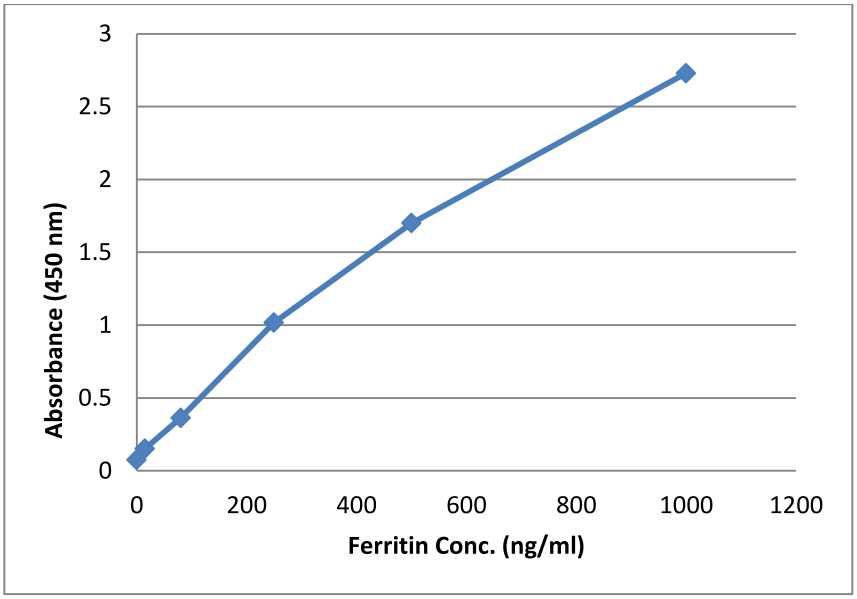
8- تم إيقاف التفاعل بإضافة 100 µl من محلول الإيقاف لكل وعاء.

9- تمت عملية المزج لمدة 30 ثانية اذ تم تغير اللون الأزرق إلى اللون الأصفر بصورة كاملة.

10- جرى قراءة الكثافة البصرية باستخدام القاري الخاص بجهاز الاليزا عند الطول الموجي 450 نانوميتر.

الحسابات

تم احتساب معدلات قيم الامتصاص الضوئي لكل مجموعة (العينات المنظمات والمادة القياسية) ثم جرى رسم منحنين قياس بوساطة معدل الامتصاص الذي تم الحصول عليه من كل قياس مقابل تركيزه على ورقة الرسم الخطية، اذ تكون قيم الامتصاص على المحور العمودي أو المحور Y والتراكيز على المحور الأفقي أو المحور X، ثم تم بعد ذلك تسقيط القيمة الامتصاصية التي حصلنا عليها من العينات على المنحني لمعرفة تركيز الهرمون.



شكل (3-2) المنحنى القياسي للفرتين

6-3 قياس تركيز الهرمونات

تم اجراء قياس تراكيز الهرمونات في مختبرات مستشفى الحسيني التعليمي/قسم الكيمياء السريرية، كما تم استخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة بكل هرمون بالاعتماد على الطريقة المناعية المعروفة(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الالماني المنشأ واجريت الخطوات لقياس كل هرمون بالاعتماد على الخطوات الموافقة لكل طقم وكالآتي:-

1-6-3 قياس تركيز الهرمونات (محفز الجريبات-اللوتيني)

تم قياس تركيز كل هرمون باتباع الخطوات الآتية:

1- تم وضع 50 µl من عينات الاختبار المنظمات والمادة القياسية في الأوعية المخصصة لكل منها.

2- تم إضافة 100 µl من الكاشف المرتبط بالأنزيم إلى كل وعاء.

3- تمت عمليه الرج لمدة 30 ثانية بوساطة جهاز Shaker.

4- تمت عملية حضانة الخليط في درجة حرارة الغرفة °C 18-25 ولمدة 45 دقيقة.

5- تم إزالة الخليط عن طريق قلب محتويات الصفيحة في سلة المهملات

6- تم غسل أوعية التعبير خمس مرات بالماء المقطر ثم جرى تنشيف الأوعية بورق الامتصاص لإزالة جميع قطرات الماء.

7- تم إضافة 100 µl من كاشف TMB إلى كل وعاء ثم جرت عليه المزج من خلال رج الخليط لمدة 10 ثواني.

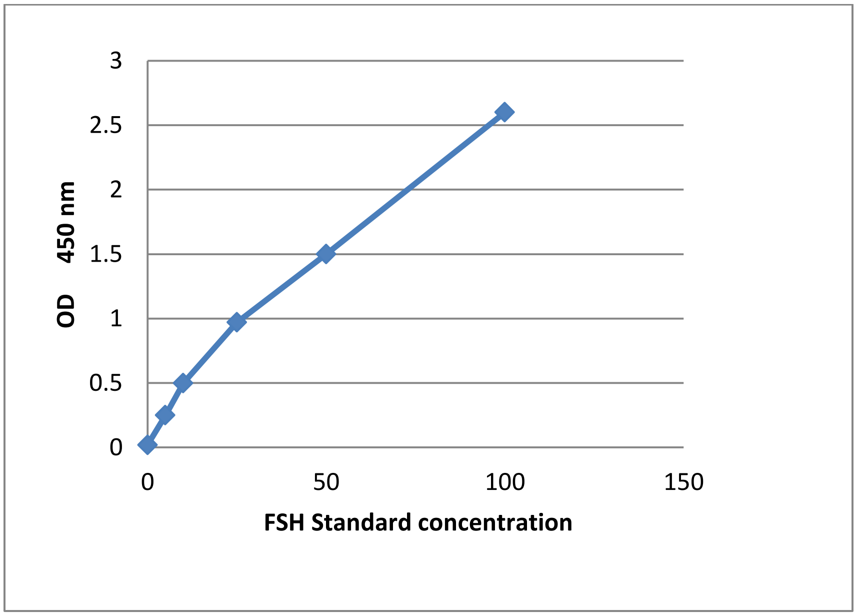
8- تمت حضانة الخليط في حرارة الغرفة في الظلام لمدة 20 دقيقة.

9- تم إيقاف التفاعل بإضافة 100 µl من محلول الإيقاف لكل وعاء.

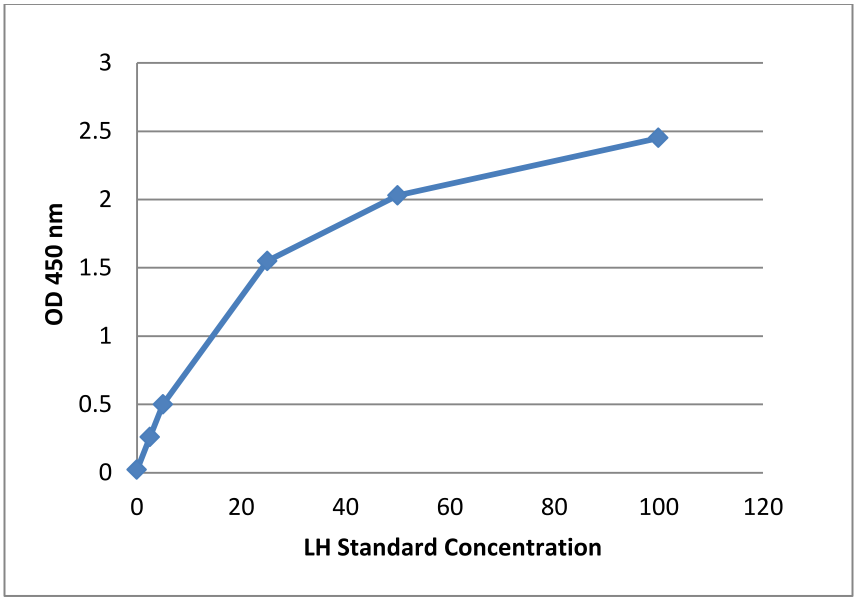
10- تمت عملية المزج لمدة 30 ثانية اذ تم تغير اللون الأزرق إلى اللون الأصفر وبصورة كاملة.

11- جرى قراءة الكثافة البصرية باستخدام القاري الخاص بجهاز الاليزا وبطول موجي 450 نانوميتر

12- يرسم المنحني القياسي كعلاقة بين التراكيز القياسية والامتصاصية، كما في الاشكال (3-3) و(3-4).



شكل (3-3) المنحني القياسي لهرمون FSH



شكل (3-4) المنحني القياسي لهرمون LH

3-6-2 قياس تركيزهرمون الشحمون الخصوي

طريقة العمل:

1- ثبت العدد المناسب من الحفر Wells على المسند أو الحامل الخاص بها والمجهز مع طقم الهرمون .

2- تم اخذ 25 µl من مصل الدم ونفس الحجم من المادة القياسية Standard (بتراكيز مختلفة) ، وتوضع هذه الأحجام في الحفر المهيأة لها.

3- اضيف 100 µl من كاشف Testosterone –HRP لكل حفرة

4- تم مزج محتويات الحفر لمدة نصف دقيقة مزجاً جيداً، ثم تحضن بدرجة حرارة 37c لمدة 60 دقيقة.

5- غسلت الحفر بمحتوياتها برفق باضافة 300l µمن محلول الغسل خمس مرات.

6- اضيف 100 µl من كاشف TMB لكل حفرة ، وتمزج برفق لمدة 10 ثانية.

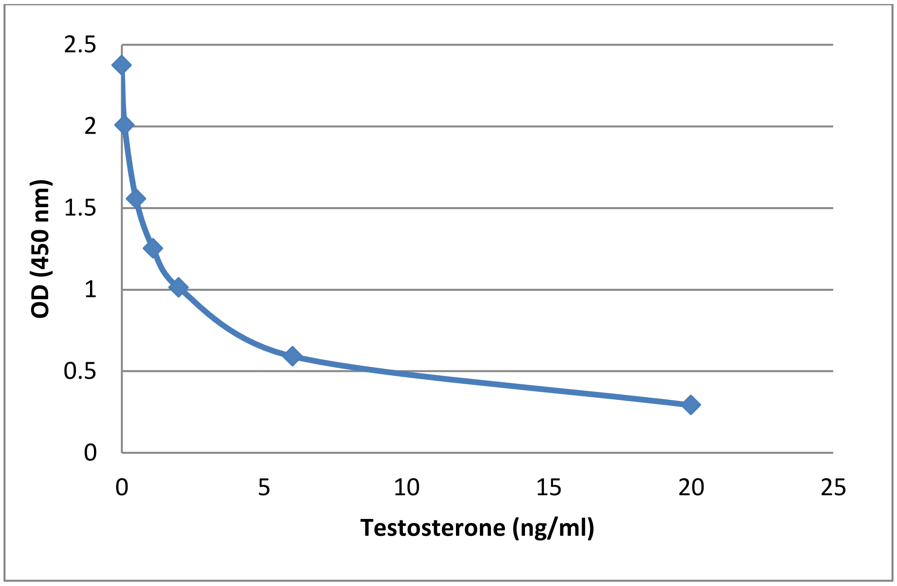
7- تم حضن الحفر بمحتوياتها بدرجة حرارة الغرفة (18 – 25 c) لمدة 20 -30 دقيقة .

8- تم ايقاف التفاعل بإضافة 150 µ l من المحلول الموقف للتفاعل Stop solutionوهو عبارة عن حامض الهيدروكلوريك ذي عياريه 1N لكل حفره .

9- مزجت المحتويات برفق لمدة 10 ثواني

10-قرأت الامتصاصية Absorbance لمحتويات كل حفرة عند الطول الموجي 450 nm بواسطة جهاز ELISA Reader .

11- يرسم المنحني القياسي كعلاقة بين التراكيز القياسية والامتصاصية، كما في الشكل (3-5) ومن خلال هذا المنحني يتم استخراج تركيز الهرمون لكل عينة.

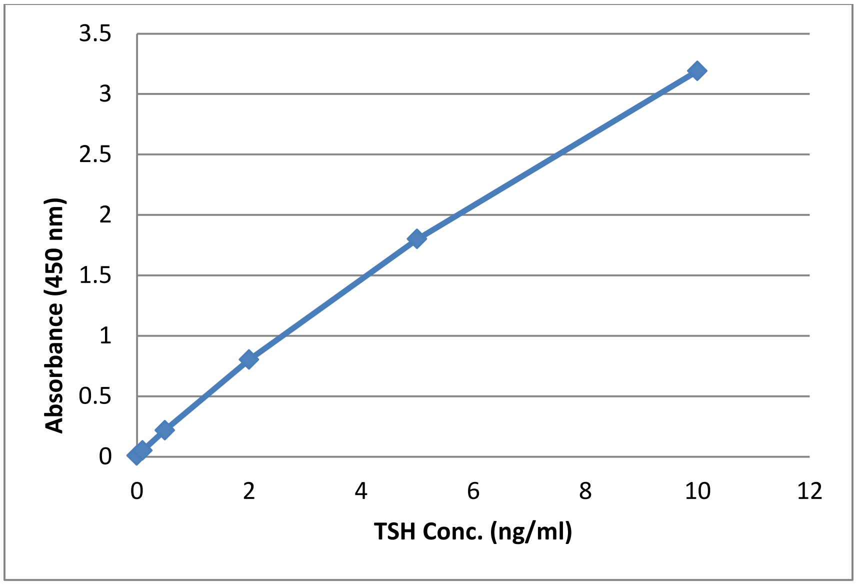


شكل (3-5) المنحني القياسي لهرمون الشحمون الخصوي.

3-6-3 قياس تركيز هورمون TSH

طريقة العمل

1- ثبت العدد المناسب من الحفر المغطاة بالاجسام المضادة لل TSHعلى المسند او الحامل الخاص بها والمزود مع طقم الهرمون
2- اضيف 100 µl من عينة الاختبار ونفس الكمية من المحاليل القياسية (بتراكيز مختلفة) وتوضع هذه الاحجام في الحفر المهياة لها
3- اضيفµ l 100 من الكاشف المرتبط بالانزيم الى كل وعاء وتم مزجه جيدا لمدة 30 دقيقة
4- حضنت الحفر عند درجة حرارة الغرفة (25-18) درجة مئوية مع الرج بالجهاز الخاص بسرعة 175 RPM لمدة 120 دقيقة
5- تم ازالة محتويات الحفر وذلك عن طريق قلب محتويات الاوعية في سلة المهملات
6- غسلت اوعية التعيير5 مرات بالماء المقطر
7- جففت الاوعية عن طريق قلب هذه الاوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية
8- اضيف 100 µl من كاشف TMP الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 10 دقائق
9- تم حضن الاوعية عند درجة حرارة الغرفة وفي الظلام وتركت مدة 20 دقيقة
10- تم ايقاف التفاعل باضافة 100 µl من محلول الايقاف الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 30 ثانية فيلاحظ تغير اللون من الازرق الى الاصفر كليا
11- قرات الامتصاصية بجهاز Microtiter well reader عند الطول الموجي 450 نانوميتر
12- يرسم المنحني القياسي كعلاقة بين التراكيز القياسية والامتصاصية، كما في الشكل (3-6)



شكل (3-6) المنحني القياسي لهرمون TSH

3-6-4 قياس تركيز هورمون T_3

تحضير كاشف Working T3-HRPO Conjugate Reagent

لتحضيركاشف Working T3-HRPO Conjugate Reagent اضيف 0.1ml من مركز انزيم الارتباط الى 0.1ml من مخفف انزيم الارتباط بنسبة (1:10)ومزج بشكل جيد جدا وترك ليستقر بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة.

طريقة العمل

1- ثبت العدد المناسب من الحفر المغطاة بالاجسام المضادة لل T3على المسند او الحامل الخاص بها والمزود مع طقم الهرمون

2- اضيف µl 50 من عينة الاختبار ونفس الكمية من المحاليل القياسية الى حفر التعيير

3- اضيف µ l 50 من كاشف Working T3-HRPO Conjugate Reagent الى كل وعاء وتم مزجه جيدا لمدة 30 دقيقة

4- حضنت الحفر عند درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق

5- تم ازالة محتويات الحفر وذلك عن طريق قلب الاوعية في سلة المهملات

6- غسلت اوعية التعيير 5 مرات بالماء المقطر

7- جففت الاوعية عن طريق قلب هذه الاوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية

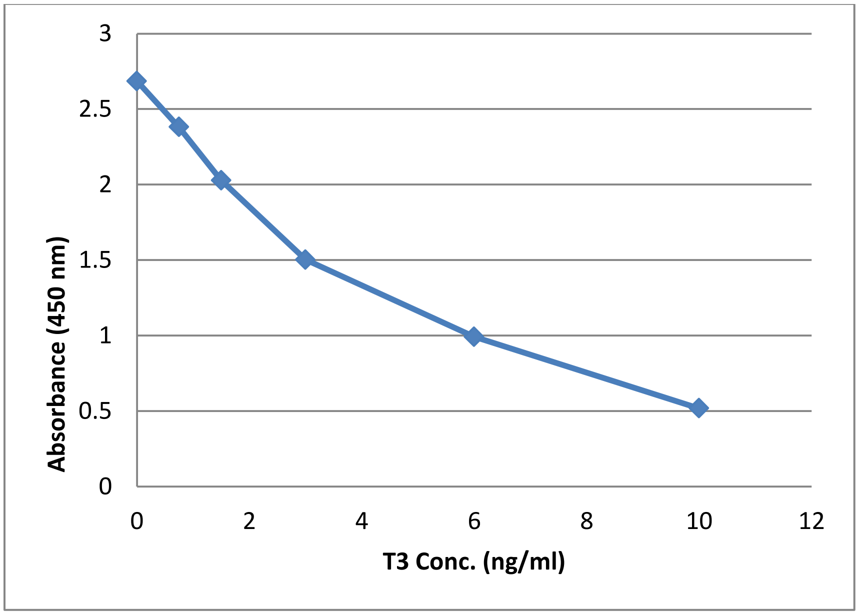
8- اضيف µ l 100 من كاشف TMP الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 10 دقائق

9- تم حضن الاوعية عند درجة حرارة الغرفة وفي الظلام وتركت مدة 20 دقيقة بدون رج

10- تم ايقاف التفاعل باضافة µl 100 من محلول الايقاف الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 30 ثانية فيلاحظ تغير اللون من الازرق الى الاصفر كليا

11- قرات الامتصاصية بجهاز Microtiter well reader عند الطول الموجي 450 نانوميتر

12- - يرسم المنحني القياسي كعلاقة بين التراكيز القياسية والامتصاصية، كما في الشكل(3-7)



شكل (3-7) المنحني القياسي لهرمون T_3

5-6-3 قياس تركيز هورمون T4

تحضير كاشف Working T4-HRPO Conjugate Reagent

اضيف 0.1ml من مركز انزيم الارتباط الى 0.1ml من مخفف انزيم الارتباط بنسبة (1:10) ومزج بشكل جيد جدا وترك ليستقر بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة.

طريقة العمل

1- ثبت العدد المناسب من الحفر المغطاة بالاجسام المضادة لل T4على المسند او الحامل الخاص بها والمزود مع طقم الهرمون

2- اضيف 25 µl من عينة الاختبار ونفس الكمية من المحاليل القياسية الى حفر التعيير

3- اضيفـ100 µ l من كاشف Working Conjugate Reagent الى كل وعاء وتم مزجه جيدا لمدة 30 دقيقة

4- حضنت الحفر عند درجة حرارة الغرفة (25-18) لمدة 60 دقيقة

5- تم ازالة محتويات الحفر وذلك عن طريق قلب محتويات الاوعية في سلة المهملات

6- غسلت اوعية التعيير5 مرات بالماء المقطر

7- جففت الاوعية عن طريق قلب هذه الاوعية على ورق الترشيح لازالة قطرات الماء المتبقية

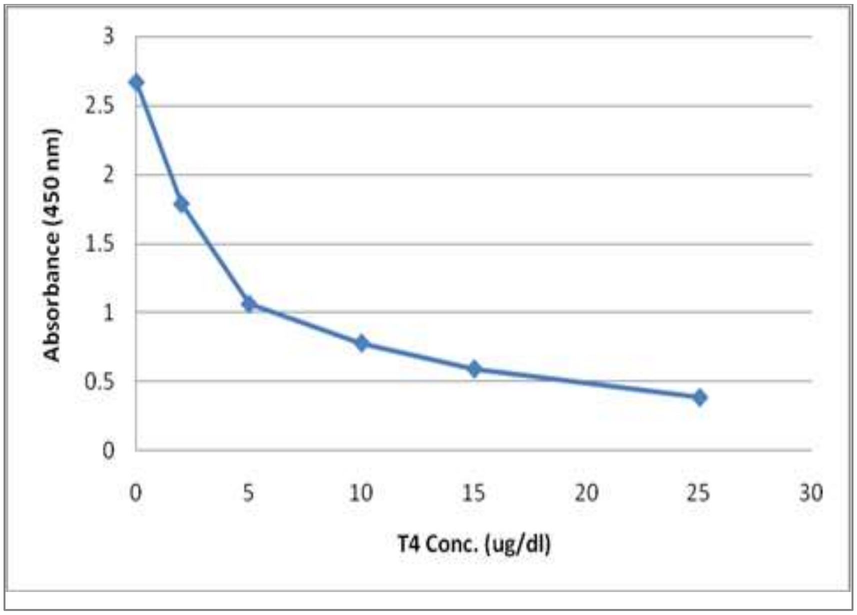
8- اضيفـ100 µ l من كاشف TMP الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 10 دقائق

9- تم حضن الاوعية عند درجة حرارة الغرفة وفي الظلام وتركت مدة 20 دقيقة

10- تم ايقاف التفاعل باضافة100 µ l من محلول الايقاف الى كل وعاء وتم مزجه بلطف لمدة 30 ثانية فيلاحظ تغير اللون من الازرق الى الاصفر كليا

11- قرات الامتصاصية بجهاز Microtiter wellreader عند الطول الموجي 450 نانوميتر

12- يرسم المنحني القياسي كعلاقة بين التراكيز القياسية والامتصاصية، كما في الشكل (3-8)



شكل (3-8) المنحني القياسي لهرمون T_4

3-7 التحضيرات النسجية Histological preprations

تم حفظ العينة في البداية بعد استئصالها من الحيوان في محلول الفورمالين بتركيز 10 % وبعد 5-4 ايام استخرجت من الفورمالين وغسلت عدة مرات بالكحول الاثيلي بتركيز 70% بعدها اجريت عليها سلسلة من العمليات اعتماداً على الطريقة الموصوفة في (Presnell and Schreibman, 1997).

3-7-1 الانكاز والترويق Dehydration and Clearing

تم سحب الماء من النسيج وذلك بتمرير النماذج في سلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%، 80%، 90%، 95%، 100%) ولمدة ساعتين في كل تركيز بعدها روقت النماذج بوضعها في الزايلين لمدة ساعتين.

3-7-2 التشريب Infiltration

بعد الانتهاء من عملية الترويق نقلت النماذج الى قناني حاوية على خليط من شمع البرافين Paraffin wax (ذي درجة انصهار 57–60 ْم) المنصهر والمرشح والزايلين بنسبة 1:1 لمدة

نصف ساعة داخل فرن كهربائي درجة حرارته 60°م وذلك لابقاء الشمع منصهراً ولضمان تمام عملية التشريب الكامل للنماذج بالشمع نقلت الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين داخل الفرن ايضاً لمدة ساعة واحدة ثم نقل مرة اخرى الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين لمدة ساعة واحدة ايضاً.

3-7-3 الطمر Embedding

تم عمل قوالب من الشمع حاوية على نماذج العينات وذلك بصب الشمع في قوالب بلاستيكية خاصة طمرت فيها النماذج وتركت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ثم فصلت عن القالب وحفظت حتى وقت تقطيعها.

3-7-4 التقطيع Sectioning

تم استخدام جهاز المشراح اليدوي Rotary Microtome لتقطيع النماذج وبسمك تراوح ما بين 5-6 مايكروميتر، ثم حملت اشرطة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة وممسوحة بآح ماير بعد ان وضعت في حمام مائي درجة حرارته 45-50°م لمدة دقيقة- دقيقتين لضمان فرش المقاطع بعدها تركت على صفيحة ساخنة Hot Plate لتجف بدرجة حرارة 37°م.

3-7-5 التصبيغ والتحميل staining and Mounting

صبغت جميع المقاطع النسجية باستخدام صبغة هيماتوكسلين- ايوسين Haematoxylin-Eosin stain اذ وضعت الشرائح في الزايلين لمدة 5 دقائق للتخلص من الشمع ثم مررت بسلسلة تراكيز تنازلية من الكحول الاثيلي (100%، 100%، 90%، 80%، 70%، 50%) لمدة دقيقتين في كل تركيز بعدها صبغت بصبغة الهيماتوكسلين لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت بالماء المقطر لمدة دقيقتين بعدها غطست بالكحول الحامضي لمرتين او ثلاث مرات لازالة الصبغة الزائدة ثم صبغت بصبغة الايوسين لمدة ربع دقيقة ونقلت بعدها الى سلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (50%، 70%، 80%، 90%، 95%، 100%، 100%) ولمدة دقيقتين في كل تركيز ما عدا التركيز الاخير وضعت فيه لمدة 5 دقائق ثم روقت بالزايلين بمرحلتين في كل مرحلة لمدة 10 دقائق بعدها اجريت عليها عملية التحميل باستخدام بلسم كندا Canada Balsam

لتثبيت غطاء الشريحة ثم تركت على صفيحة ساخنة لتجف لمدة 8 ساعات لتكون جاهزة للفحص المجهري.

8-3 التصوير المجهري Microphotography

تم تصوير المقاطع النسيجية بأستخدام كاميرا رقمية Digital Camera نوع SONY عالية الدقة.

9-3 التحليل الأحصائي Statistical Analysis

تم تحليل النتائج عن طريق الاستعانة بالبرنامج الجاهزSPSS حيث تم تقدير معامل الارتباط البسيط بين بعض المعايير الكيموحيوية (تركيز المالونالديهايد MDA ،تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH ، تركيز الكولسترول الكلي TC وتركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL) والجرع التصاعدية لزيت بذور العنب وايجاد معادلة الخط المستقيم للمعايير الكيموحيوية على الجرع التصاعدية لزيت بذور العنب بهدف بيان تاثير الجرعة المؤثرة ED50 على هذه المعايير، معادلة الخط المستقيم هي:

$$y=a+bx$$

y= المتغير التابع (المعايير الكيموحيوية).

a= نقطة تقاطع خط الانحدار مع المحور الصادي.

b= معامل انحدار المتغير التابع على المتغير المستقل .

x= قيمة المتغير المستقل (جرع زيت بذور العنب) .

واختبرت معنوية معامل الارتباط عن طريق تحليل التباين لتجربة عاملية 5X2X5 وفق التصميم العشوائي الكامل Complet randomized design (CRD) واستخدم تحليل التباين Anova table لتجربة عاملية 5X3X5 وفق التصميم العشوائي الكامل لتحليل بيانات التجربة الثالثة كما تم إستخدام إختبار أقل فرق معنوي Least Significant difference(L.S.D) لأظهار معنوية النتائج. (Spss , 1999)

الفصل الرابــع

النتائــــج

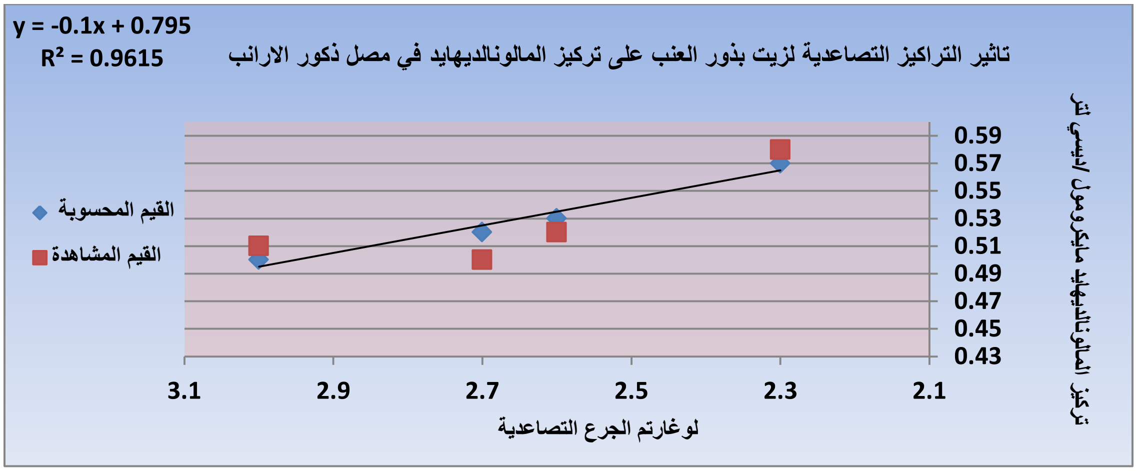
Results

التجربة الثانية Experiment 2

1-4 تحديد الجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب Determination of ED50 of grape seeds oil

1-1-4 تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز المالونالديهايد MDA

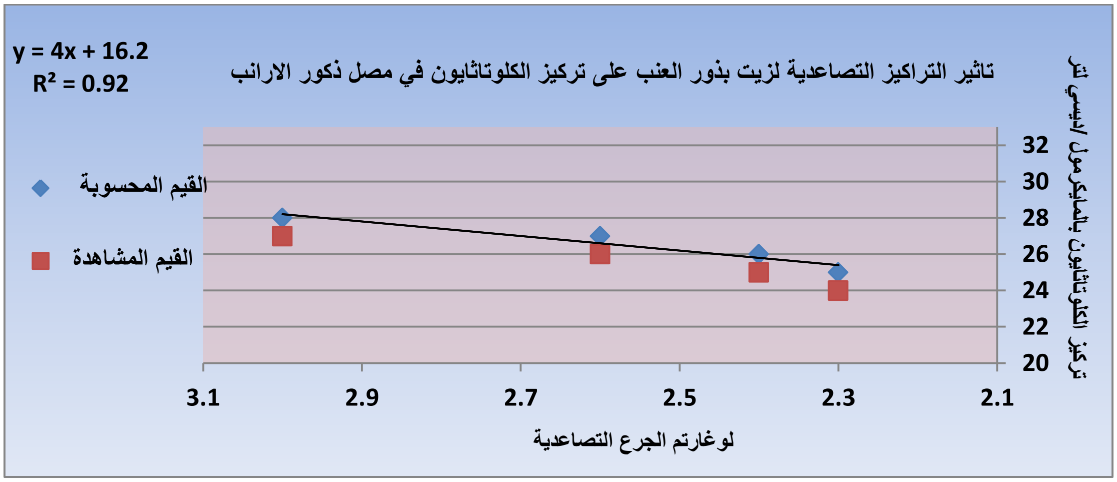
يبين الشكل (4-1) وجود علاقة خطية عكسية لزيت بذور العنب وتركيز المالونالديهايد MDA اذ وجد ان مقدار الجرعة المؤثرة (بلغت 0.53 مل / كغم)



شكل (4-1) تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب الاسود على تركيز المالونالديهايد MDA بعد اربعة اسابيع n =5 ، ED50 =0.53 مل /كغم

2-1-4 تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH

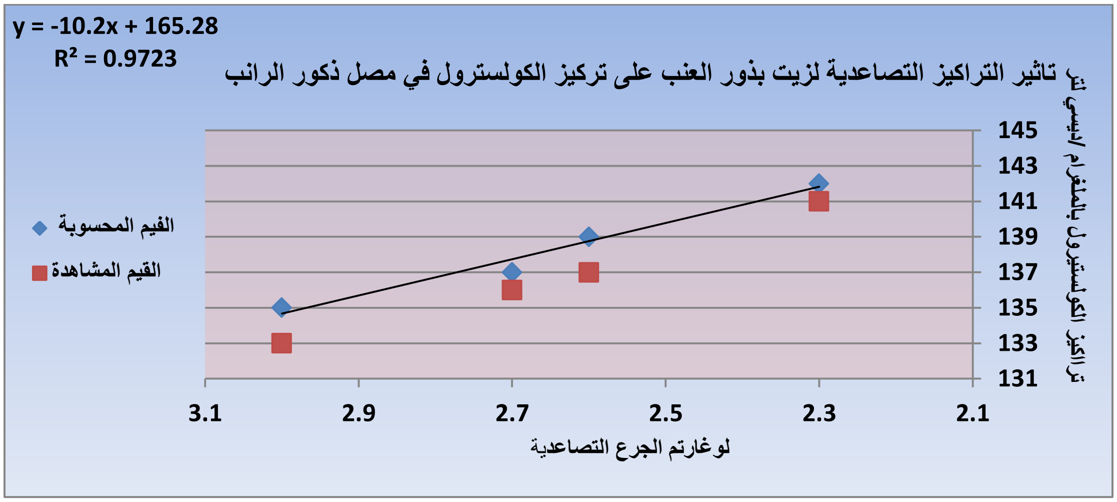
من الشكل (4-2) يلاحظ وجود علاقة خطية طردية بين الجرع التصاعدية من زيت بذور العنب ومستوى تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH في مصل ذكور الارانب ، كما وجد من خلال الشكل (4-3) ان الجرعة المؤثرة ED50 بلغت 0.58 مل / كغم



شكل (4-2) تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب الاسود على تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH بعد اربعة اسابيع . n =5 ، ED50 = 0.58 مل /كغم

3-1-4 تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز الكوليستيرول الكلي TC

يلاحظ من الشكل (4-3) وجود علاقة خطية عكسية بين الجرع التصاعدية المختلفة لزيت بذور العنب ومستوى تركيز الكوليستيرول الكلي TC ومن المعادلة الخطية وجد ان الجرعة المؤثرة ED50 بلغت (0.44 مل / كغم)



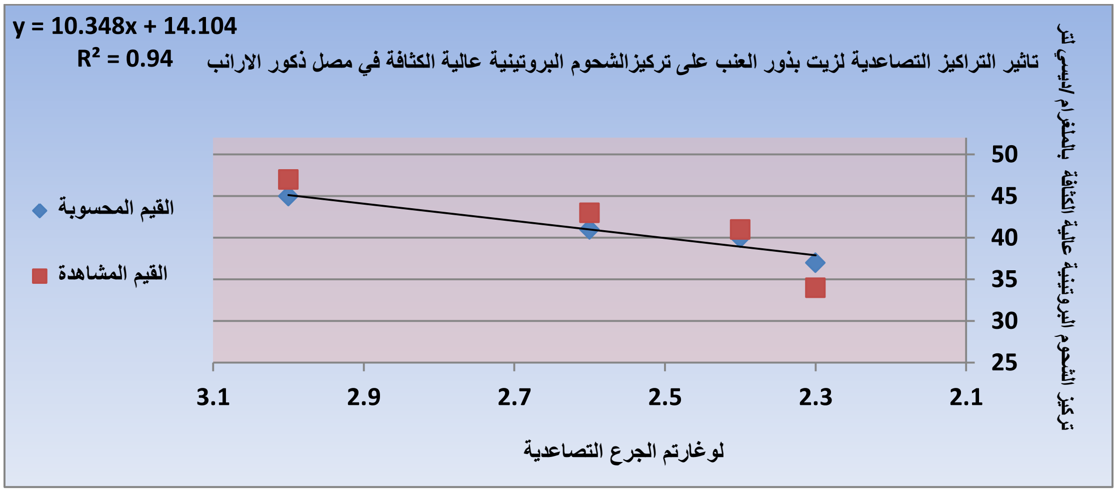
شكل (3-4) تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب الاسود على تركيز الكوليسترول الكلي TC بعد اربعة اسابيع

n =5 ، ED50 =0.44 مل /كغم

4-1-4 تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C

يبين الشكل (4-4) وجود علاقة خطية طردية بين الجرع التصاعدية المختلفة من زيت بذور العنب ومستوى تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL ومن خلال استخدام المعادلة الخطية لوحظ ان مقدار ED50 بلغت 0.45 مل / كغم .

من خلال قيم الجرعة المؤثرة ED50 للمعايير الاربعة السابقة (TC,MDA , GSH , HDL) تم حساب معدل الجرعة المؤثرة الكلية لزيت بذور العنب اذ بلغت 0.5 مل /كغم / و.ج.



شكل (4-4) تاثير الجرع المختلفة من زيت بذور العنب الاسود على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C بعد اربعة اسابيع ، n =5 ، ED50 =0.53 مل /كغم

2-4 التجربة الثالثة Experiment 3

1-2-4 تأثير فرط الحديد على المتغيرات الدمية

1-1-2-4 التغيرات في معدل حجم مكداس الدم (%)

يلاحظ من الجدول (4-1) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل حجم مكداس الدم في المجموعة المعرضة لفرط الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1، كما يشير الجدول ان المعاملة بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب في المجموعة G3 ادى الى عدم وجود فروقاً معنوية في حجم مكداس الدم في الاسبوع الثاني والرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يظهر ان هنالك فروق معنوية ($P<0.05$) للمدة الزمنية بين فترة بداية ونهاية التجربة في هذه المجموعة G3 .يلاحظ وجود فروق معنوية ($P<0.05$)بين المجموعة المحقونة عضليا بدكستران الحديد G2 والمجموعة المجرعة فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب G3 على طول فترة التجربة .

كما يلاحظ ان الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم مادة الديسفروكسامين في المجموعة G4 ادى الى عدم وجود فروق معنوية في قيمة مكداس الدم في الاسبوع الثاني لكن ظهر انخفاض معنوي ($P<0.05$) بعد الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يشير الجدول الى وجود فروق معنوية في قيمة حجم مكداس الدم بين المجموعتين G2 وG4 وبين المجموعتين G3و G4 في الاسبوع الرابع .

اما في المجموعة G5 التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب وحقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم دكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين فيلاحظ وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في حجم مكداس الدم في الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرةG1. كما يشير الجدول الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المجموعتين G5 و G2 في الاسبوع الثاني والرابع من التجربة .

جدول (4-1) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل مكداس الدم PCV (%) في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	44.82 ±0.89 A a	43.22 ±0.66 A a	44.62 ± 0.61 A a	43.82 ± 0.56 A a	43.82 ± 0.64 A a	2.02
بعد اسبوعين	44.22 ± 0.64 A a	39.40 ± 1.21 B b	43.84 ± 0.18 A ab	42.80 ± 0.56 A a	44.88 ± 0.83 A a	2.25
بعد اربعة اسابيع	44.76 ± 0.73 A a	35.40 ± 1.57 B c	42.94 ± 0.07 CA b	41.98 ± 0.81 C a	47.54 ± 0.58 D b	2.64
LSD	2.25	3.55	1.09	1.93	2.05	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة

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

4-2-1-2 التغيرات في معدل تركيز الهيموكلوبين (g/100 ml)

يلاحظ من الجدول (4-2) ان الحقن العضلي بدكستران الحديد بجرعة 20 ملغم / كغم (G2) ادى الى انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الهيموكلوبين بعد مرور اسبوعين واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 لزيت بذور العنب 0.5 مل / كغم لذكور الارانب المحقونة عضليا بدكستران الحديد في المجموعة G3 ادى الى عدم وجود فروق معنوية في قيمة الهيموكلوبين بعد مرور اسبوعين وكذلك بعد مرور الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 بينما لوحظ فروق معنوية P<0.05 بالمقارنة مع المجاميع الاخرى .

كما يلاحظ من الجدول ان مجموعة ذكور الارانب التي حقنت عضليا بدكستران الحديد والمحقونة تحت الجلد ب 10 ملغم /كغم من مادة الديسفروكسامين (G4) ادى الى عدم وجود فروق معنوية في قيمة الهيموكلوبين في الاسبوع الثاني ، لكن ظهر هنالك انخفاض معنوي(P<0.05) في قيمة الهيموكلوبين بعد الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يلاحظ وجود فروق معنوية (P<0.05) بين مجموعة G4 والمجموعة G2 التي حقنت عضليا بمادة دكستران الحديد فقط .

اما بالنسبة لمجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 لزيت بذور العنب مع الحقن العضلي بدكستران الحديد بالاضافة الى الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم /كغم من مادة الديسفروكسامين في المجموعة G5 فقد سجلت ارتفاع معنوي في قيمة الهيموكلوبين بعد الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (2-4) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الهيموكلوبين (g/100 ml) في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	13.94 ± 0.30 a A	13.83 ± 0.29 a A	13.86 ± 0.21 a A	13.60 ± 0.19 a A	13.60 ± 0.22 a A	0.72
بعد اسبوعين	13.72 ± 0.22 a A	12.12 ± 0.39 b B	13.60 ± 0.07 ab A	13.30 ± 0.19 a A	13.94 ± 0.29 a A	0.75
بعد اربعة اسابيع	13.92 ± 0.24 a A	10.82 ± 0.52 c B	13.30 ± 0.03 b AC	12.98 ± 0.27 a C	14.86 ± 0.20 b D	0.86
LSD	0.75	1.21	0.38	0.64	0.71	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة

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

4-2-1-3 التغيرات في اعداد كريات الدم الحمر RBC ($10^6/mm^3$)

يشير الجدول (4-3) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في اعداد كريات الدم الحمر في المجموعة المحقونة عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب الى عدم وجود فروق معنوية في اعداد كريات الدم الحمر في المجموعة G3 على طول مدة التجربة ، كما ان الحقن تحت الجلد بالمادة اللاقطة لايونات الحديد (الديسفروكسامين) في المجموعة G4 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في اعداد كريات الدم الحمر مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 . يلاحظ من الجدول (4-3) عدم وجود فروق معنوية بين المجموعتين G3 و G4 طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

اما المجموعة G5 التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب والتي حقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من الديسفروكسامين فقد اظهرت ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في اعداد كريات الدم الحمر في الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يلاحظ من الجدول عدم وجود فروق معنوية في اعداد كريات الدم الحمر بين المجموعتين G3 و G5 بعد الاسبوع الرابع .

كما يشير الجدول عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في الفترة الزمنية في المجاميع G3، G4 و G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 بينما سجلت فروق معنوية في الفترة الزمنية بين فترة بداية ونهاية التجربة في المجموعة المعرضة لفرط الحديد G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-3) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل اعداد كريات الدم الحمر في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد ($10^6/mm^3$)

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	5.42 ± 0.09 A a	5.46 ± 0.13 A a	5.68 ± 0.06 A a	5.64 ± 0.04 A a	5.60 ± 0.10 A a	0.36
بعد اسبوعين	5.54 ±0.16 A a	5.16 ±0.09 B b	5.60 ± 0.05 A a	5.56 ± 0.07 A a	5.64 ± 0.10 A a	0.30
بعد اربعة اسابيع	5.40 ±0.17 A a	4.90 ± 0.08 B b	5.54 ±0.04 AC a	5.48 ± 5.24 A a	5.82 ± 0.11 C a	0.32
LSD	0.43	0.31	0.61	0.21	1.31	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة .

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

4-1-2-4 التغيرات في معدل حجم كرية الدم الحمراء Mean Corpuscles Volume –MCV (ft)

يشير الجدول (4-4) الى عدم وجود فروق معنوية في معدل حجم كرية الدم الحمراء MCV في المجموعة المحقونة عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني لكن لوحظ انخفاض معنوي (P<0.05) بعد نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

تشير النتائج الى عدم وجود فروق معنوية في معدل حجم كرية الدم الحمراء MCV في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة من زيت بذور العنب G3 ، كذلك لوحظ عدم وجود فروق معنوية في معدل حجم كرية الدم الحمراء MCV في المجموعة التي حقنت تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

كما يشير الجدول الى عدم وجود فروق معنوية في معدل حجم كرية الدم الحمراء MCV في المجموعة المجرعة فمويا بالجرعة المؤثرة من زيت بذور العنب والمحقونة عضليا بدكستران الحديد مع

الحقن تحت الجلد بمادة الديسفروكسامين G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما لم يلاحظ وجود تاثير للمدة الزمنية في كل المجاميع طول مدة التجربة .

جدول (4-4) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل حجم كرية الدم الحمراء MCV (ft) في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	a 82.86 ± 2.80 A	a 80.74 ± 3.21 A	a 78.62 ± 1.54 A	a 77.70 ± 0.56 A	a 78.40 ± 2.41 A	6.82
بعد اسبوعين	a 80.20 ± 3.34 A	a 76.44 ± 2.56 A	a 78.30 ± 0.77 A	a 77.32 ± 0.07 A	a 79.70 ± 2.30 A	6.42
بعد اربعة اسابيع	a 82.24 ± 2.07 A	a 72.30 ± 3.33 B	a 77.52 ± 0.49 A	a 76.86 ± 0.52 A	a 81.84 ± 2.33 A	6.10
LSD	8.23	9.01	3.06	1.30	6.95	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة . الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.05
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.05

4-2-1-5 التغيرات في معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء Mean Corpuscles Hemoglobin –MCH (pg)

يلاحظ من الجدول (4-5) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCH للمجموعة المعاملة ب 20ملغم /كغم من دكستران الحديد G2 في الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب الى عدم وجود فروق معنوية في معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء في المجموعة G3 كما ان الحقن تحت الجلد بالمادة الاقطة لايونات الحديد الحرة (الديسفروكسامين) لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في معدل محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء في المجموعة G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

كما لم يلاحظ وجود فروق معنوية في المجموعة G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، يشير الجدول عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في الفترة الزمنية في المجاميع G3، G4 و G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 بينما سجلت فروق معنوية في الفترة الزمنية بين فترة بداية ونهاية التجربة في المجموعة المعرضة لفرط الحديد G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

جدول (4-5) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على محتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCH (pg) في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	25.78 ± 0.91 a A	25.42 ± 1.02 a A	24.44 ± 0.52 a A	24.12 ± 0.21 a A	24.34 ± 0.79 a A	2.21
بعد اسبوعين	24.78 ± 1.06 a A	23.44 ± 0.82 b A	24.00 ± 0.20 a A	23.92 ± 0.08 a A	24.54 ± 0.83 a A	2.11
بعد اربعة اسابيع	25.56 ± 0.64 a A	22.08 ± 1.08 b B	24.14 ± 0.19 a A	23.66 ± 0.17 a AB	25.58 ± 0.74 a A	1.96
LSD	2.63	2.89	1.00	0.48	2.33	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة

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

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

6-1-2-4 التغيرات في معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء Mean Corpuscles Hemoglobin Concentration-MCHC (g/dl)

يشير الجدول (4-6) الى وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء في المجموعة المعرضة لفرط الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من زيت بذور العنب في المجموعة G3 لم يؤدي الى حدوث فروق معنوية في معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما ان المعاملة ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين في المجموعة G4 والمحقونة ب 20 ملغم/ كغم من دكستران الحديد لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCHC حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

في حين ظهر هنالك ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء في المجموعة التي جرعت فمويا ب ED50 من زيت بذور العنب وحقنت عضليا بدكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد بمادة الديسفروكسامين G5 بعد الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-6) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCHC (g/dl) في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	31.06 ± 0.05 a A	31.48 ± 0.45 a A	31.06 ± 0.07 a A	31.01 ± 0.05 a A	31.00 ± 0.06 a A	0.62
بعد اسبوعين	31.00 ± 0.06 a A	30.76 ± 0.05 ab B	30.98 ± 0.04 a A	31.06 ± 0.05 a A	31.12 ± 0.07 ab A	0.16
بعد اربعة اسابيع	31.08 ± 0.05 a AC	30.56 ± 0.11 b B	23.94 ± 0.32 a A	30.88 ± 0.05 b A	31.26 ± 0.04 b C	0.21
LSD	0.16	0.81	0.19	0.14	0.17	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة ، الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال $P<0.05$
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P<0.05$

7-1-2-4 التغيرات في معدل اعداد كريات الدم البيض ($10^6/mm^3$)

يلاحظ في الجدول (4-7) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في اعداد كريات الدم البيض في المجموعة المعرضة لفرط الحديد G2 واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب في المجموعة G3 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في قيمة اعداد كريات الدم البيض في الاسبوع الثاني لكن لوحظ الارتفاع المعنوي ($P<0.05$) عند نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

اما المجموعة G4 والمعاملة ب10 ملغم / كغم من الديسفروكسامين فقد سجلت ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في اعداد كريات الدم البيض بعد الاسبوع الرابع ، كذلك لم يلاحظ وجود اي فرق معنوي بين المجموعة التي حقنت بدكستران الحديد G2 و المجموعة المحقونة بالديسفروكسامين G4 بعد الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

يشير الجدول الى عدم وجود فروق معنوية في اعداد كريات الدم البيضاء في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب وحقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم دكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين G5 ، ولم يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G5 وG3 في الاسبوع الرابع .

جدول (4-7) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل اعداد كريات الدم البيض($10^6/mm^3$) في دم ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	a 71.00 ± 2.98 A	a 74.60 ± 1.16 A	a 69.60 ± 2.27 A	a 70.60 ± 0.93 A	a 71.40 ± 0.68 A	5.39
بعد اسبوعين	a 72.00 ± 2.83 A	b 79.40 ± 1.29 B	a 71.60 ± 2.42 A	b 74.00 ± 0.90 A	ab 72.00 ± 0.44 A	5.36
بعد اربعة اسابيع	a 69.00 ± 2.45 A	cb 82.80 ± 1.28 B	a 74.60 ± 2.25 C	c 80.20 ± 0.86 BD	b 73.60 ± 0.60 CA	4.09
LSD	8.15	3.68	6.83	2.64	1.72	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة .الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال $P<0.05$
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P<0.05$

4-2-2 تاثير فرط الحديد على المعايير الكيموحيوية

4-2-2-1 التغيرات في معدل تركيز الكوليسترول الكلي Total Cholesterol (TC) (mg/dl)

يلاحظ من الجدول (4-8) وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الكولسترول الكلي TC في المجموعة التي حقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد G2 بعد الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 لزيت بذور العنب في المجموعة G3 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في معدل تركيز الكوليسترول الكلي مقارنة مع مجموعة السيطرة G1، كما لم يلاحظ وجود فروق معنوية في مجموعة الحيوانات المحقونة ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب (0.5 مل / كغم) مع الحقن العضلي ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد اضافة الى الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين في المجموعة G5 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في معدل تركيز الكولسترول الكلي TC مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-8) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الكوليستيرول الكلي TC في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد (mg/dl)

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	a 134.66 ± 5.40 A	a 134.20 ± 4.83 A	a 133.20 ± 0.88 A	a 133.24 ± 0.77 A	a 131.70 ± 0.61 A	9.72
بعد اسبوعين	a 134.80 ± 5.45 BA	b 143.46 ± 5.22 A	a 134.32 ± 1.09 BA	ab 134.90 ± 0.74 BA	ab 130.48 ± 0.67 B	10.15
بعد اربعة اسابيع	a 134.46 ± 5.23 A	b 150.76 ± 4.88 B	a 134.54 ± 0.91 A	b 135.88 ± 0.99 A	b 128.52 ± 0.73 A	9.66
LSD	15.84	14.70	2.87	2.48	1.98	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة

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

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

2-2-2-4 التغيرات في معدل تركيز الدهون الثلاثية TAG (mg/dl)

يشير الجدول (4-9) عدم وجود فرق معنوي في معدل تركيز االدهون الثلاثية TAG في المجموعة المعرضة لفرط الحديد G2 كما لم يلاحظ وجود فروق معنوية معدل تركيز االدهون الثلاثية TAG في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب G3 والمجموعة التي حقنت بمادة الديسفروكسامين G4 على طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

يلاحظ من الجدول عدم وجود فروق معنوية معدل تركيز االدهون الثلاثية TAG في المجموعة التي جرعت فمويا ب ED50 من زيت بذور العنب وحقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

كما لم يلاحظ اي تاثير للمدة الزمنية في المجاميع G2 و G3 و G4 لكن ظهر هنالك فرق معنوي للمدة الزمنية في المجموعة G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-9) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الدهون الثلاثية TG في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد (mg/dl)

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	a 135.58 ± 5.42 A	a 135.18 ± 4.98 A	a 132.60 ± 0.88 A	a 133.28 ± 0.83 A	a 133.90 ± 0.74 A	9.90
بعد اسبوعين	a 135.46 ± 5.29 A	a 137.30 ± 5.08 A	a 133.74 ± 0.98 A	a 134.00 ± 0.88 A	b 131.24 ± 0.66 A	9.88
بعد اربعة اسابيع	a 135.22 ± 4.98 AB	a 139.78 ± 5.06 A	a 134.02 ± 0.96 BA	a 135.36 ± 0.93 BA	c 128.60 ± 0.75 B	9.59
LSD	15.46	14.89	2.79	2.59	1.12	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة

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

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

3-2-2-4 التغيرات في معدل تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C (mg/dl)

لوحظ من الجدول (4-10) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C في المجموعة المعرضة لفرط الحديد والمحقونة ب 20 ملغم / كغم دكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض طول فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

كما يلاحظ ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (0.5 مل / كغم) من زيت بذور العنب لم يؤدي الى حدوث اي تاثير معنوي في معدل تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C حتى نهاية التجربة ، اما المجموعة G4 المعاملة ب 10 ملغم / كغم من الديسفروكسامين اضافة الى 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد فقد سجلت النتائج انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل HDL-C في الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

في حين سجلت المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب والمحقونة عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم /كغم من الديسفروكسامين G5 ارتفاع في معدل HDL-C بعد الاسبوع الثاني والرابع لكنه لم يصل الى حد المعنوية .

جدول (4-10) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL (mg/dl) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	36.46 ± 1.48 a A	36.48 ± 1.41 a A	36.44 ± 0.26 a A	36.32 ± 0.51 a A	35.84 ± 0.19 a A	2.82
بعد اسبوعين	36.68 ± 1.61 a CA	32.34 ± 1.19 b B	35.54 ± 0.35 ab A	34.52 ± 0.52 b BA	38.70 ± 0.23 bc C	2.80
بعد اربعة اسابيع	36.52 ± 1.63 a DA	27.76 ± 0.86 c B	35.20 ± 0.38 b A	31.98 ± 0.34 c C	38.70 ± 0.23 c D	2.56
LSD	4.66	3.49	0.99	1.37	0.66	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال $P<0.05$
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P<0.05$

4-2-2-4 التغيرات في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C (mg/dl)

يلاحظ من الجدول (4-11) وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C في المجموعة المعرضة لفرط الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرةG1.

كما يلاحظ عدم وجود فروق معنوية في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C في حيوانات المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (0.5 مل / كغم) من زيت بذور العنب G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، بينما يشير الجدول الى وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في مستوى LDL-C في المجموعة التي حقنت تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين G4 بعد الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

في حين سجلت المجموعة التي جرعت بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب مع الحقن العضلي بدكستران الحديد اضافة الى الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من المادة الاقطة لايونات الحديد (الديسفروكسامين) G5 انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C بعد الاسبوع الرابع من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يلاحظ وجود تاثير معنوي للمدة الزمنية في المجاميع في كافة المجاميع عدا مجموعة السيطرة .

جدول (4-11) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL (mg/dl) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	65.08 ± 6.79 A a	70.70 ± 2.41 A a	70.24 ± 0.59 A a	70.34 ± 0.47 A a	69.08 ± 0.67 A a	9.61
بعد اسبوعين	70.88 ± 2.64 CA a	83.68 ± 3.01 B b	72.04 ± 0.73 A ab	73.66 ± 0.50 CA b	66.92 ± 0.57 C b	5.47
بعد اربعة اسابيع	70.90 ± 2.60 A a	95.02 ± 3.41 B c	72.66 ± 0.53 CA b	76.82 ± 0.72 C c	63.96 ± 0.74 D c	5.82
LSD	13.19	8.78	1.85	1.70	0.66	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة . الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.05
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.05

5-2-2-4 التغيرات في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL-C (mg/dl)

تشير النتائج الى عدم وجود فروق معنوية في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL-C في مجموعة الحيوانات المعرضة لفرط الحديد G2 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ،كما تشيرالنتائج الى عدم وجود فروق معنوية في معدل تركيز VLDL-C في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب G3 والمجموعة التي حقنت تحت الجلد بمادة الديسفروكسامين G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

سجلت المجموعة التي جرعت فمويا ب ED50 من زيت بذور العنب وحقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين G5 انخفاض في معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL-C في الاسبوع الرابع لكن لم يصل الى حد المعنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما لم يلاحظ وجود اي تاثير معنوي للمدة الزمنية في المجاميع G2 وG3 و G4 لكن وجد فرق معنوي للمدة الزمنية في المجموعة G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-12) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL (mg/dl) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المدة \ المجاميع	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	27.12 ± 1.08 A a	27.02 ± 0.99 A a	26.52 ± 0.18 A a	26.66 ± 0.16 A a	26.78 ± 0.15 A a	1.97
بعد اسبوعين	27.10 ± 1.06 A a	27.46 ± 1.02 A a	26.74 ± 0.19 A a	26.78 ± 0.17 A a	26.22 ± 0.14 A bc	1.98
بعد اربعة اسابيع	27.04 ± 0.99 BA a	27.98 ± 1.02 A a	26.78 ± 0.18 BA a	27.08 ± 0.18 BA a	25.86 ± 0.07 B c	1.91
LSD	3.09	2.99	0.55	0.50	0.37	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة .

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

6-2-2-4 التغيرات في معدل تركيز الحديد الحر في المصل (µg/100 ml)

توضح النتائج وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الحديد الحر في مجموعة الحيوانات المحقونة عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الارتفاع طول فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

كما تشير النتائج الى وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الحديد الحر في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (0.5 مل /كغم) من زيت بذور العنب والمعرضة لفرط الحديد G3 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يبين الجدول وجود فروق معنوية في معدل تركيز الحديد الحر بين المجموعتين G2 و G3 وبين المجموعتين G2 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

يلاحظ وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الحديد الحر في المجموعة التي حقنت تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من الديسفروكسامين G4 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب مع الحقن العضلي ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد اضافة الى الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين في المجموعة G5 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في معدل تركيز الحديد الحر طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-13) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الحديد الحر (µg/100 ml)في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	116.00 ± 2.42 A a	116.40 ± 1.80 A a	116.20 ± 2.88 A a	114.80 ± 1.65 A a	115.20 ± 1.88 A a	6.43
بعد اسبوعين	114.60 ± 3.14 A a	272.40 ± 4.69 B b	130.80 ± 3.56 C a	145.40 ± 2.50 D b	110.80 ± 1.01 A a	9.51
بعد اربعة اسابيع	115.40 ± 2.71 A a	394.80 ± 6.68 B c	169.40 ± 11.86 C b	189.60 ± 4.31 D c	105.80 ± 1.35 A b	19.28
LSD	8.19	14.25	21.69	8.96	4.31	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة

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

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

4-2-2-7 التغيرات في معدل سعة ارتباط الحديد الكلية TIBC ـفي المصل (µg/100 ml)

يشير الجدول (4-14) الى وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل سعة ارتباط الحديد الكلية TIBC في المجموعة التي حقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

توضح النتائج وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل سعة ارتباط الحديد الكلية في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب والمعرضة لفرط الحديد G3 في الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يلاحظ وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في TIBC في المجموعة المحقونة تحت الجلد بالديسفروكسامين والمحقونة عضليا بدكستران الحديد G4 بعد الاسبوع

الرابع من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، ويشير الجدول عدم وجود فروق معنوية بين المجموعتين G3 وG4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

في حين لم تسجل فروق معنوية في معدل سعة ارتباط الحديد الكلية في مجموعة الحيوانات التي جرعت فمويا ب ED50 من زيت بذور العنب وحقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين G5 طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-14) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل سعة ارتباط الحديد الكلية TIBC (µg/100 ml) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	259.60 ± 8.89 A a	260.00 ± 9.22 A a	260.40 ± 8.29 A a	259.80 ± 6.55 A a	242.20 ± 6.24 A a	23.42
بعد اسبوعين	247.80 ± 9.27 A a	203.60 ± 3.98 B b	249.00 ± 8.51 A ab	242.60 ± 6.32 A bc	257.00 ± 7.32 A ab	21.60
بعد اربعة اسابيع	253.60 ± 9.53 A a	120.60 ± 5.97 B c	232.60 ± 7.48 DC b	227.80 ± 1.93 D c	270.20 ± 5.42 A b	19.38
LSD	27.25	19.91	23.92	15.86	18.82	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة

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

8-2-2-4 التغيرات في معدل اشباع الترانسفرين Transferrin %

تشير النتائج الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل اشباع الترانسفرين في المجموعة المعرضة لفرط الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يلاحظ وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل اشباع الترانسفرين في المجموعة التي جرعت حيواناتها ب 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب والمحقونة ب 20 ملغم /كغم من دكستران الحديد G3 في الاسبوع الثاني، لكن لم يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعة G3 وبين مجموعة السيطرة G1 بعد الاسبوع الرابع .

يلاحظ وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل اشباع الترانسفرين في المجموعة التي حقنت تحت الجلد بمادة الديسفروكسامين والمعرضة لفرط الحديد G4 في الاسبوع الثاني ولم يلاحظ وجود فروق معنوية في معدل اشباع الترانسفرين بعد الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

في حين سجلت المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب وحقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين G5 انخفاض غير معنوي في معدل اشباع الترانسفرين مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

جدول (4-15) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل اشباع الترانسفرين % في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	44.93 ±1.97 A a	44.20 ± 1.28 A a	44.75 ± 1.42 A a	44.37 ±1.55 A a	47.67 ± 1.28 A a	4.50
بعد اسبوعين	46.53 ± 2.17 A a	133.94 ± 2.78 B b	52.71 ± 1.73 C a	60.02 ± 1.31 D b	43.20 ± 1.06 A b	5.05
بعد اربعة اسابيع	45.76 ± 1.95 CA a	322.00 ± 28.08 B c	72.68 ± 5.77 CA b	83.14 ± 1.80 A c	39.20 ± 0.72 C c	37.99
LSD	6.01	48.11	10.56	4.63	3.12	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال $P<0.05$
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P<0.05$

9-2-2-4 التغيرات في معدل تركيز الفرتين Ferritin (ng/ml)

يلاحظ من الجدول (4-16) وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الفرتين في المجموعة التي حقنت ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

كذلك يلاحظ وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الفرتين في المجموعة التي جرعت بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب والمعرضة لفرط الحديد G3 وكذلك المجموعة التي حقنت تحت الجلد بمادة الديسفروكيسامين والمعرضة لفرط الحديد G4 في الاسبوع الثاني والرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يشير الجدول الى وجود فروق معنوية P<0.05 في معدل تركيز الفرتين بين المجموعتين G3 وG4 وبينها وبين مجموعة السيطرة G1 .

ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب مع الحقن العضلي ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد اضافة الى الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين في المجموعة G5 ادى الى انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الفرتين في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض الى نهاية فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

جدول (4-16) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز الفرتين (ng/ml) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	88.36 ± 1.19 A a	87.34 ± 0.69 A a	86.10 ± 2.62 BA a	83.26 ± 2.84 BA a	80.84 ± 2.44 B a	6.30
بعد اسبوعين	88.20 ± 1.17 A a	186.30 ± 1.74 B b	101.12 ± 1.21 C b	119.92 ± 1.41 D b	79.42 ± 2.60 E a	5.05
بعد اربعة اسابيع	88.08 ± 0.99 A a	304.78 ± 1.72 B c	120.94 ± 1.56 C c	132.90 ± 1.51 D c	75.98 ± 3.20 E a	5.74
LSD	3.30	4.33	5.60	5.99	8.17	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة . الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.05
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.05

3-2-4 تاثير فرط الحديد على المعايير الهرمونية

1-3-2-4 التغيرات في معدل تركيز الهرمون المحفز للحويصلات المبيضية FSH (mIU/ml)

يلاحظ من الجدول (4-17) وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل مستويات هرمون FSH في المجموعة المعاملة بدكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب في المجموعة G3 ادى الى عدم وجود فروق معنوية في معدل مستويات هرمون FSH مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، في حين سجلت المجموعة التي حقنت بمادة الديسفروكسامين والمعرضة لفرط الحديد G4 انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل مستويات هرمون FSH بعد الاسبوع الثاني والرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما لوحظ وجود فرق معنوي في معدل مستويات هرمون FSH بين المجموعتين G2 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

في حين سجلت المجموعة المجرعة فمويا ب 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب والمحقونة بكلا من دكيستران الحديد والديسفروكسامين G5 ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل مستويات هرمون FSH بعد نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-17) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون FSH (mIU/ml) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	2.74 ± 0.24 a A	2.70 ± 0.18 a A	2.78 ± 0.12 a A	2.88 ± 0.23 a A	2.58 ± 0.16 a A	0.56
بعد اسبوعين	2.78 ± 0.24 a A	1.36 ± 0.16 b B	2.56 ± 0.08 a CA	2.16 ± 0.19 bc C	3.00 ± 0.20 ab A	0.55
بعد اربعة اسابيع	2.82 ± 0.22 a A	0.34 ± 0.02 c B	2.46 ± 0.14 a A	1.78 ± 0.16 c C	3.50 ±0.15 b D	0.48
LSD	0.69	0.45	0.34	0.59	0.52	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة ،الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.05
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.05

2-3-2-4 التغيرات في معدل مستويات الهرمون اللوتيني LH (mIU/ml)

تشير النتائج من الجدول (4-18) وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الهرمون اللوتيني LH في المجموعة التي حقنت ب 20 ملغم /كغم من دكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفا ض حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

كما لم يلاحظ وجود فروق معنوية في معدل مستويات الهرمون اللوتيني LH في المجموعة المجرعة بالجرعة المؤثرة ED50 لزيت بذور العنب G3 طول فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1، في حين سجلت المجموعة التي حقنت تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين والمعرضة لفرط الحديد G4 انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الهرمون اللوتيني LH في الاسبوع الثاني والرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، ولم يلاحظ وجود فروق معنوية في معدل مستويات هرمون FSH بين المجموعتين G2 و G4 في الاسبوع الثاني .

ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب مع الحقن العضلي ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد اضافة الى الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين في المجموعة G5 ادى الى ارتفاع معنوي P<0.05 في معدل مستويات الهرمون اللوتيني LH بعد نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

جدول (4-18) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون LH في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد (mIU/ml)

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	10.10 ± 0.20 A a	10.32 ± 0.21 A a	10.28 ± 0.15 A a	10.18 ± 0.19 A a	9.82 ± 0.18 A a	0.57
بعد اسبوعين	10.16 ± 0.18 A a	7.90 ± 0.16 B b	10.05 ± 0.01 A ab	8.46 ± 0.31 B b	10.26 ± 0.17 A a	0.58
بعد اربعة اسابيع	10.04 ± 0.26 A a	3.30 ± 0.13 B c	9.78 ± 0.20 A b	6.16 ± 0.05 C c	11.26 ± 0.35 D b	0.67
LSD	0.65	0.52	0.44	0.64	0.74	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.05
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.05

3-3-2-4 التغيرات في معدل مستويات هرمون الشحمون الخصوي Testosterone (mIU/ml)

يلاحظ من الجدول (4-19) وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل مستويات هومون الشحمون الخصوي في المجموعة التي حقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض طول فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

كما سجلت النتائج وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل مستويات هومون الشحمون الخصوي في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب والمعرضة لفرط الحديد G3 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 كما يلاحظ وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل مستويات هرمون الشحمون الخصوي في المجموعة التي حقنت تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين والمحقونة عضليا ب 20 ملغم /كغم من دكستران الحديد G4 بعد الاسبوع الثاني والرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1، يشير الجدول وجود فروق معنوية (P<0.05) في معدل مستويات هرمون الشحمون الخصوي بين المجاميع G2 وG3 و G4 وبينها وبين مجموعة السيطرة G1.

ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب مع الحقن العضلي ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد اضافة الى الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين في المجموعة G5 ادى الى وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل مستويات هومون الشحمون الخصوي في الاسبوع الثاني واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

جدول (4-19) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون الشحمون الخصوي (mIU/ml) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	10.02 ±0.12 A a	10.06 ± 0.13 A a	10.04 ± 0.25 A a	9.94 ± 0.14 A a	9.96 ± 0.27 A a	0.57
بعد اسبوعين	10.16 ± 0.19 A a	7.90 ± 0.16 B b	9.78 ± 0.20 C ab	8.46 ± 0.32 D b	10.26 ± 0.17 E ab	0.43
بعد اربعة اسابيع	10.08 ± 0.15 A a	2.90 ± 0.24 B c	9.08 ± 0.19 C b	6.54 ± 0.19 D c	10.80 ± 0.18 E b	0.56
LSD	0.41	0.49	0.60	0.43	0.65	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.05
الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.05

4-3-2-4 التغيرات في معدل تركيز الهرمون المحفز للدرقية TSH (mIU/ml)

يشير الجدول (4-20) الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون TSH في المجموعة المعرضة لفرط الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية الاسبوع الرابع من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

كما تشير النتائج ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب في المجموعة G3 ادى الى عدم وجود فروق معنوية في معدل تركيز هرمون TSH بعد الاسبوع الثاني في حين سجل الارتفاع المعنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون TSH بعد نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1، كما لوحظ وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون TSH في المجموعة التي حقنت تحت الجلد بالديسفروكسامين والمعرضة لفرط الحديد G4 في الاسبوع الثاني والرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1، يشير الجدول الى وجود فروق معنوية بين المجموعتين G2 وG4 وبينها وبين مجموعة السيطرة في الاسبوع الثاني والرابع .

سجلت النتائج انخفاض غير معنوي في معدل مستويات هرمون TSH في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (0.5 مل / كغم) من زيت بذور العنب والمحقونة عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين G5 طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-20) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون TSH (mIU/ml) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	0.84 ± 0.02 a A	0.80 ± 0.01 a BA	0.81 ± 0.02 a BA	0.79 ± 0.02 a B	0.81 ± 0.02 a BA	0.05
بعد اسبوعين	0.85 ± 0.01 a DA	1.66 ± 0.05 b B	0.93 ± 0.02 b A	1.42 ± 0.07 b C	0.78 ± 0.02 a D	0.13
بعد اربعة اسابيع	0.78 ± 0.03 b A	2.24 ± 0.12 c B	1.03 ± 0.01 c C	2.02 ± 0.09 c D	0.75 ± 0.02 a A	0.20
LSD	0.06	0.22	0.054	0.21	0.06	

المعدل± الخطا القياسي ، n=5/مجموعة . الحروف الكبيرة تدل على مستوى احتمال افقيا تحت مستوى احتمال 0.05 ، الحروف الصغيرة تدل على فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال 0.05

5-3-2-4 التغيرات في معدل تركيز هرمون الثايرونين ثلاثي اليود T3 (ng/ml)

يلاحظ من الجدول (4-21) وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل تركيز هرمون (T3) في المجموعة المحقونة عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (0.5 مل/ كغم) من زيت بذور العنب والمحقونة 20ملغم / كغم من دكستران الحديد في المجموعة G3 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في معدل مستويات تركيز هرمون (T3) على مدى فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

ان الحقن تحت الجلد بمادة الديسفروكسامين في المجموعة G4 ادى الى حدوث انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل مستويات تركيز هرمون (T3) في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1، و يشير الجدول الى وجود فروق معنوية (P<0.05) في معدل مستويات تركيز هرمون (T3) بين المجموعتين G2 و G4 في الاسبوع الثاني والرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب مع الحقن العضلي ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد اضافة الى الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين في المجموعة G5 ادى الى ارتفاع غير معنوي في معدل مستويات تركيز هرمون (T3) في الاسبوع الثاني لكن وصل الى حد المعنوية بعد نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

جدول (4-21) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون T3 (ng/ml) في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	a 1.060 ± 0.010 A	a 1.040 ± 0.010 A	a 1.056 ± 0.010 A	a 1.050 ± 0.013 A	a 1.066 ± 0.008 A	0.03
بعد اسبوعين	a 1.048 ± 0.011 A	b 0.62 ± 0.037 B	b 1.034 ± 0.005 A	b 0.860 ± 0.060 C	a 1.086 ± 0.013 A	0.10
بعد اربعة اسابيع	a 1.054 ± 0.008 A	c 0.200 ±0.031 B	c 1.010 ± 0.004 A	c 0.480 ± 0.037 C	b 1.158 ± 0.020 D	0.07
LSD	0.03	0.09	0.02	0.12	0.04	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة .

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

4-2-3-6التغيرات في معدل تركيز هرمون الثايروكسين T_4 (µg/100 ml)

يلاحظ من الجدول (4-22) وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل مستويات هرمون (T4) في المجموعة التي حقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد G2 في الاسبوع الثاني واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

كما لم تلاحظ وجود فروق معنوية في معدل تركيز هرمون (T4) في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (0.5 مل / كغم) من زيت بذور العنب والمعرضة لفرط الحديد G3 طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، في حين لوحظ وجود انخفاض معنوي P<0.05 في المجموعة G4 التي حقنت ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين في الاسبوع الثاني والرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، ويشير الجدول الى وجود فروق معنوية بين المجموعتين G2 وG4 وبينها وبين مجموعة السيطرة G1 في الاسبوع الثاني والرابع .

اشارت النتائج الى وجود ارتفاع غير معنوي في معدل مستويات هرمون (T4) في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من زيت بذور العنب والمحقونة عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد اضافة الى الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين في المجموعة G5 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

جدول (4-22) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب والديسفروكسامين على معدل تركيز هرمون T_4 في مصل ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد (µg/100 ml)

المجاميع / المدة	السيطرة (G1)	20ملغم/كغم دكستران الحديد (G2)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 0.5 مل / كغم زيت بذور العنب (G3)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد+ 10 ملغم / كغم ديسفروكسامين (G4)	20 ملغم/كغم دكستران الحديد + 10 ملغم/كغم ديسفروكسامين + 0.5 مل/كغم زيت بذور العنب (G5)	LSD
قبل المعاملة	a 1.090 0.012± A	a 1.080 0.012 ± A	a 1.074 0.010 ± A	a 1.088 0.016 ± A	a 1.086 0.020 ± A	0.04
بعد اسبوعين	a 1.088 0.015 ± DA	b 0.700 0.031 ± B	bc 1.042 0.011 ± A	b 0.922 0.038 ± C	ab 1.122 0.019 ± D	0.08
بعد اربعة اسابيع	a 1.094 0.025 ± DA	c 0.280 0.037 ± B	c 1.026 0.008 ± A	c 0.440 0.074 ± C	b 1.172 0.017 ± D	0.11
LSD	0.05	0.09	0.03	0.15	0.06	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =5/ مجموعة

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

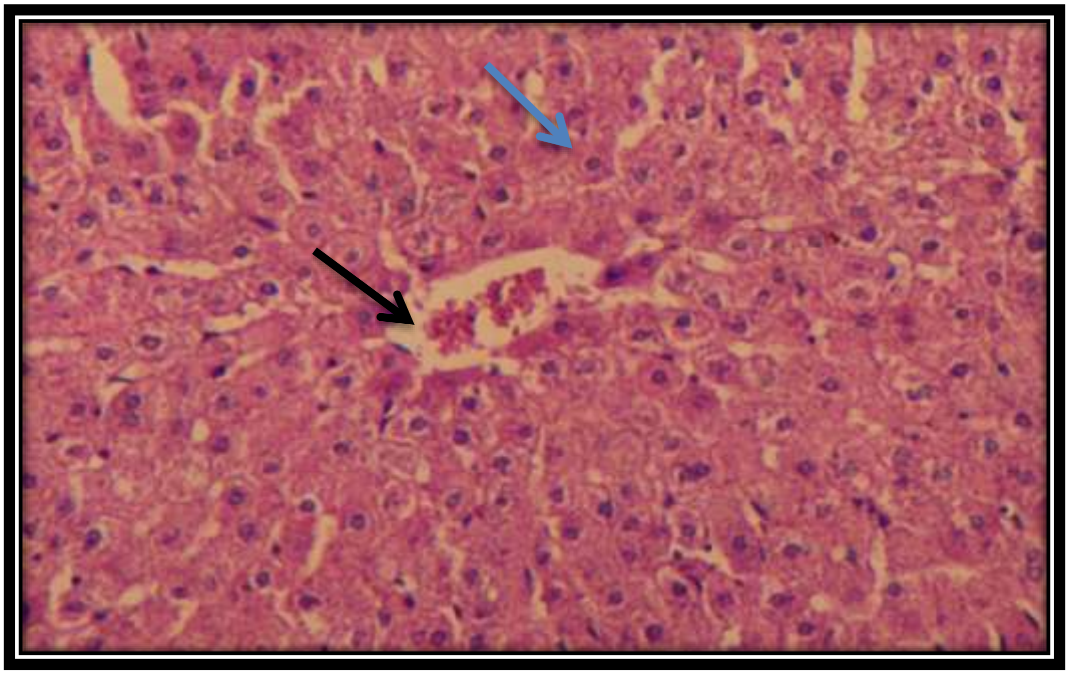
4-2-4 التغيرات النسيجية

4-2-4-1تاثير فرط الحديد على نسيج الكبد

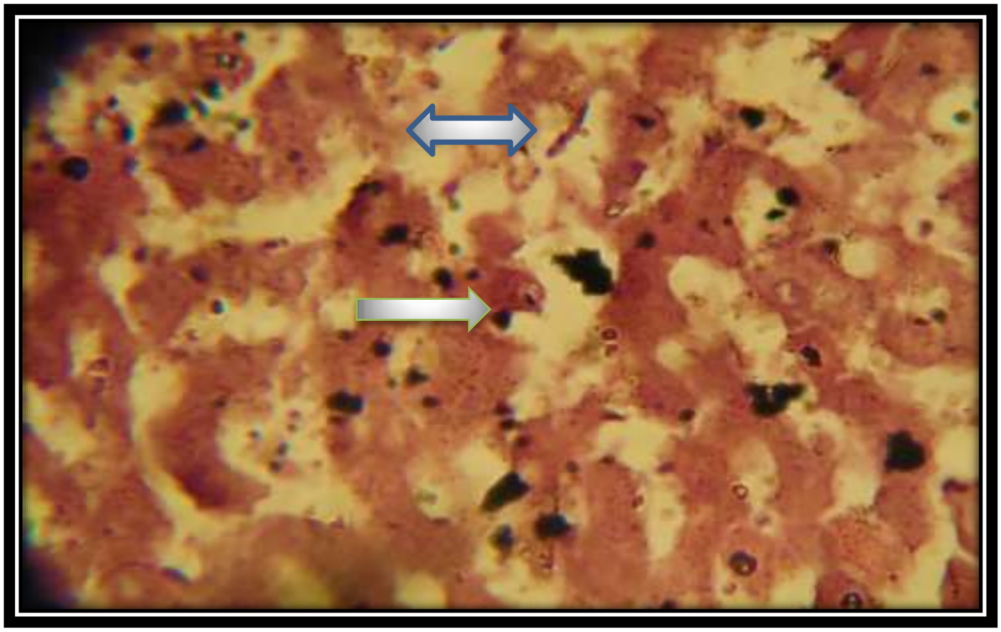
يلاحظ من الصورة (4-2) تاثير الحقن العضلي ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد ولمدة اربعة اسابيع ، اذ يلاحظ ترسب الحديد بشكل هيموسدرين Hemosiderin في الخلايا الكبدية مع حدوث تغيرات تنكسية مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4-1) .

4-2-4-2 تاثير المعالجة بزيت بذور العنب والديسفروكسامين على نسيج الكبد

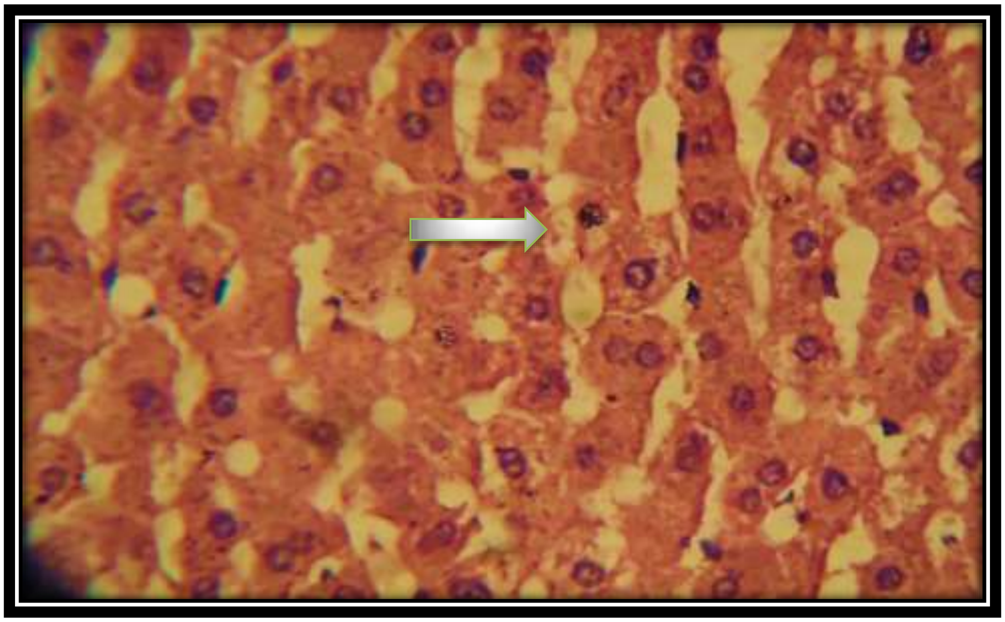
يلاحظ اختفاء الهيموسدرين في المجموعة المجرعة فمويا بالجرعة المؤثرة (0.5 مل / كغم) من زيت بذور العنب المعاملة ب20 ملغم /كغم من دكستران الحديدIron dextran ويلاحظ تركيب الخلايا الكبدية يكاد يكون طبيعي صورة (4-3)، بينما يلاحظ تغيرات تنكسية و ترسب كميات قليلة من الهيموسدرين في المجموعة المعاملة ب 20 ملغم /كغم من دكستران الحديدIron dextran + 10 ملغم / كغم من الديسفروكسامين ، صورة (4-4) . اما المجموعة الاخيرة والتي تمثل مجموعة ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد والتي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب وحقنت تحت الجلد بمادة الديسفروكسامين يلاحظ فيها انعدام ترسب الهيموسدرين مع حدوث تكثف لانوية الخلايا الكبدية ، صورة (4-5).



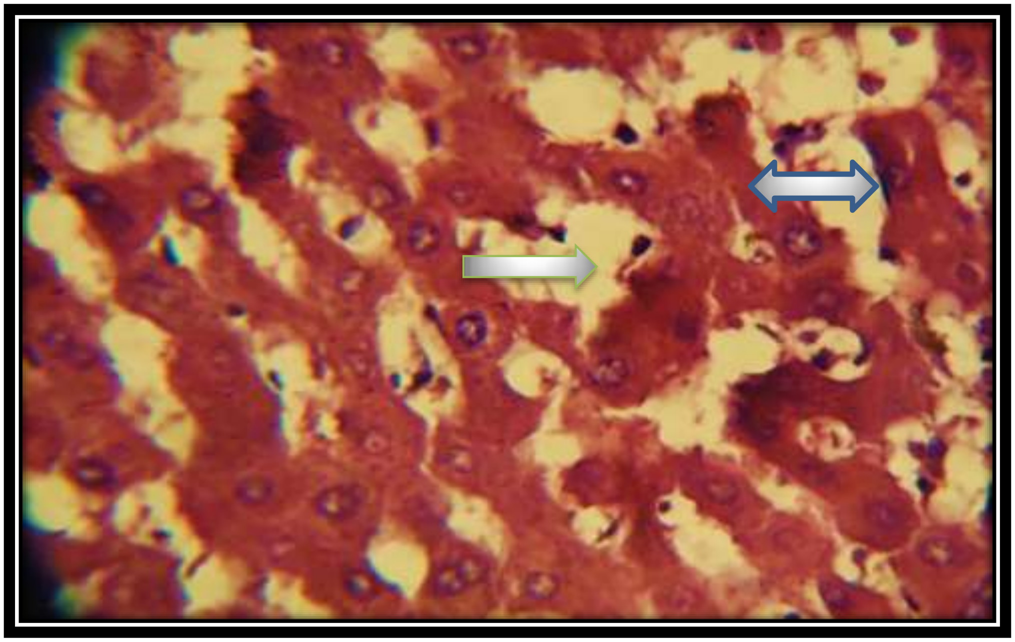
صورة (4-1) تبين مقطع نسيجي لكبد حيوان (مجموعة السيطرة) يلاحظ فيها تراكيب الكبد الطبيعية ، الوريد المركزي (سهم أسود) ، الخلايا الكبدية (سهم أزرق) (H&E 400X)



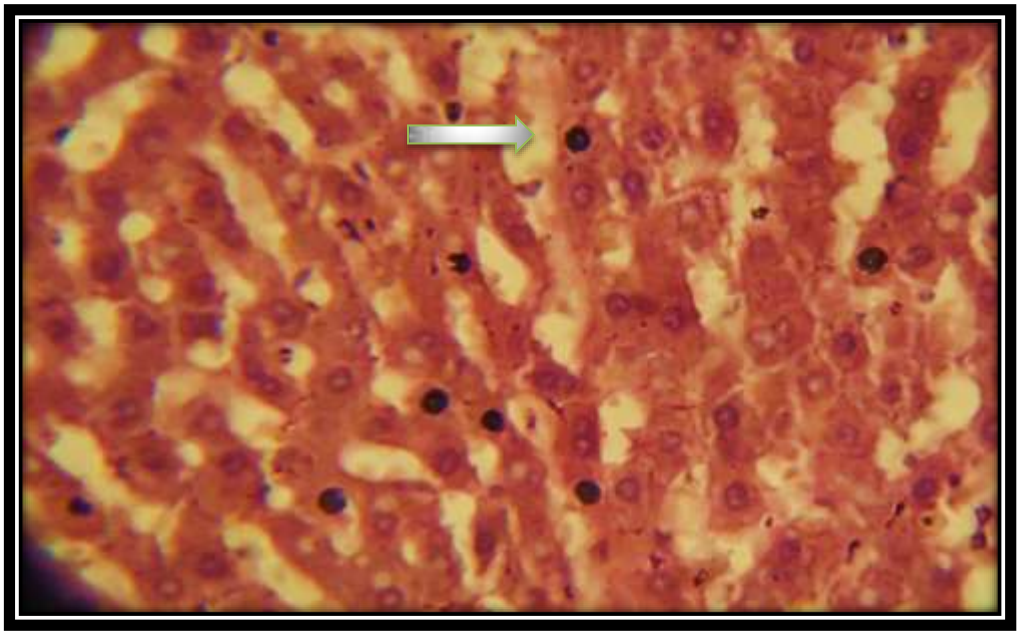
صورة (4-2) تبين مقطع نسيجي لكبد حيوان في مجموعة ذكور الارانب التي حقنت عضليا ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد يلاحظ ترسب مادة الهيموسدرين ⇨ مع تغيرات تنكسية للخلايا الكبدية ⇔ (H&E 400X)



صورة(4-3) تبين مقطع نسيجي لكبد حيوان في مجموعة ذكور الارانب التي حقنت عضليا ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد والمجرعة فمويا بالجرعة المؤثرة (0.5 مل / كغم) من زيت بذور العنب يلاحظ فيها تكثف انوية الخلايا الكبدية ⇨ (H&E 400X)



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



صورة (4-5) تبين مقطع نسيجي لكبد حيوان في مجموعة ذكور الارانب التي حقنت عضليا ب20 ملغم / كغم من دكستران الحديد وجرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (0.5 مل / كغم) من زيت بذور العنب مع حقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين يلاحظ فيها تكثف النواة للخلايا الكبدية → (H&E 400X)

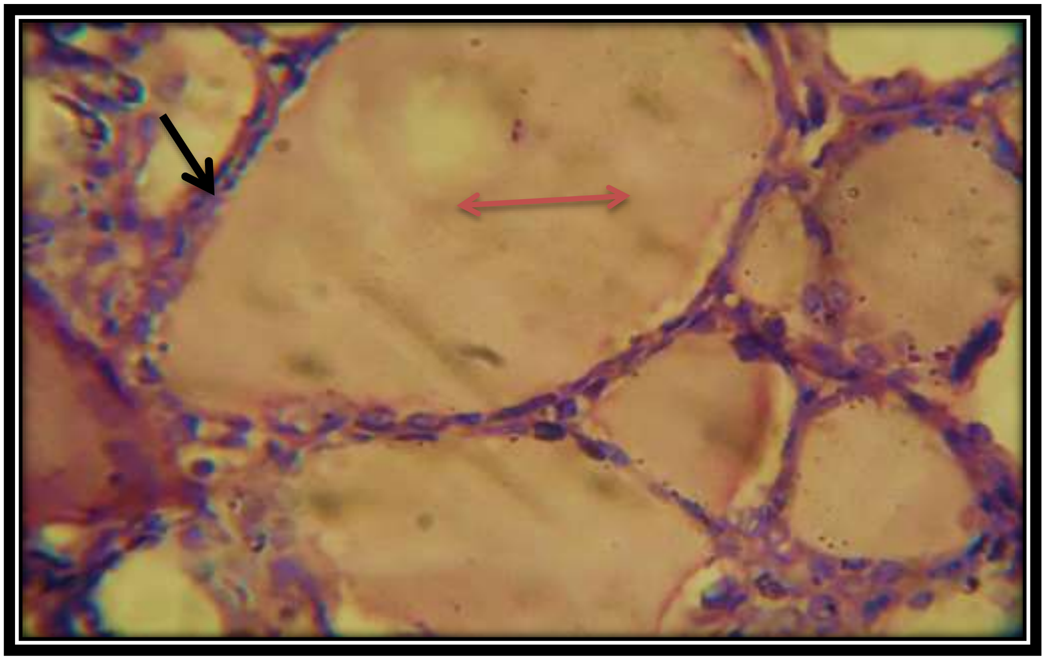
3-4-2-4 تاثير فرط الحديد على الغدة الدرقية

يلاحظ من الصورة (4-7) تاثير فرط الحديد على نسيج الغدة الدرقية اذ لوحظ انعدم المادة الغروانية colloid في جريبات الغدة الدرقية اضافة الى صغر حجم الخلايا الدرقية وزيادة عددها atrophy مقارنة مع مجموعة السيطرة صورة (4-6).

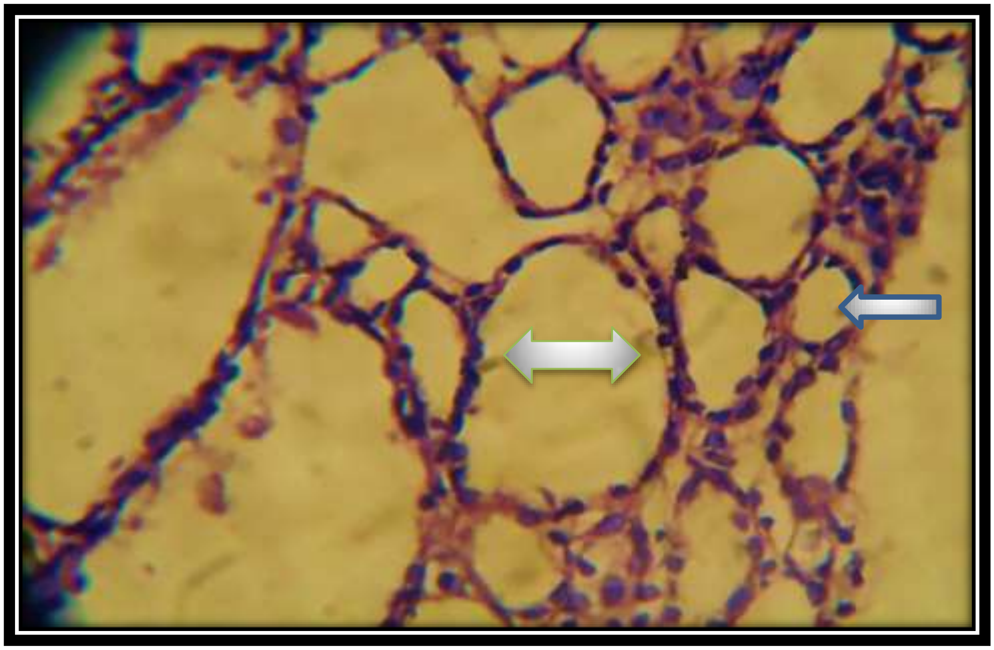
4-4-2-4 تاثير المعالجة بزيت بذور العنب والديسفروكسامين على الغدة الدرقية

تبين الصورة (4-8) تاثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 لزيت بذور العنب لمجوعة ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد اذ يلاحظ الحجم الطبيعي للخلايا الدرقية كما يلاحظ وجود المادة الغروانية في جريبات الغدة الدرقية بشكل طبيعي .

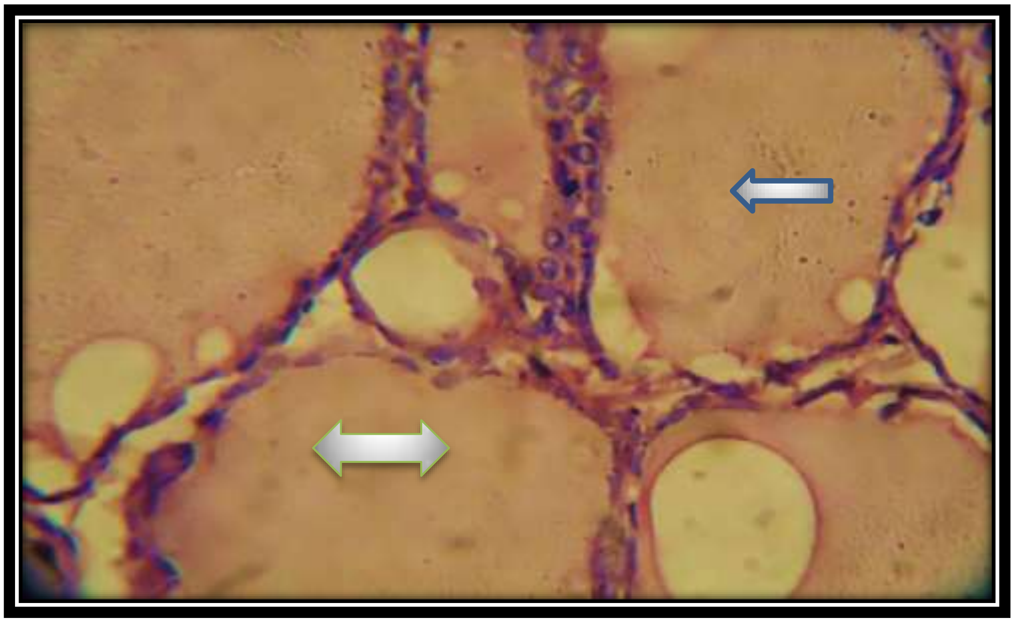
يلاحظ من الصورة (4-9) نقصان كمية المادة الغروية colloid مع صغر حجم الخلايا الدرقية بعد الحقن تحت الجلد ب10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين في مجموعة ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد ، اما مجموعة الحيوانات المعرضة لفرط الحديد والتي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (0.5 مل/ كغم) من زيت بذور العنب و حقنت بمادة الديسفروكسامين فيلاحظ وجود المادة الغروانية في جريبات الغدة الدرقية بالكمية الطبيعية كما يلاحظ الحجم الطبيعي للخلايا الدرقية ، صورة (4-10).



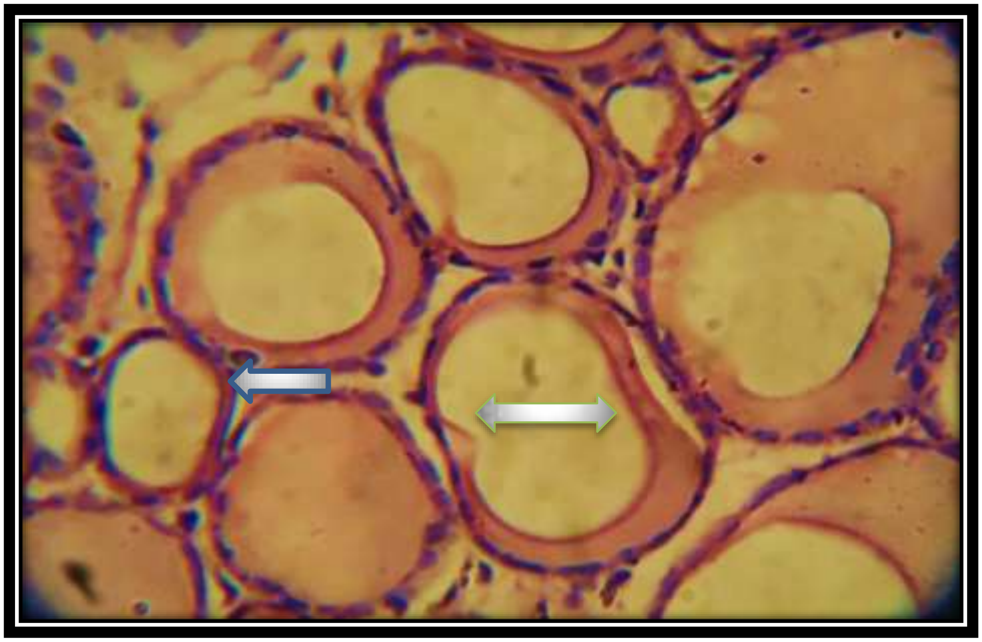
صورة (4-6) تبين مقطع نسيجي في الغدة الدرقية لذكور الارانب (مجموعة السيطرة) اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للخلايا الجريبية ⟶ والمادة الغروانية ⟷ (H&E 400X)



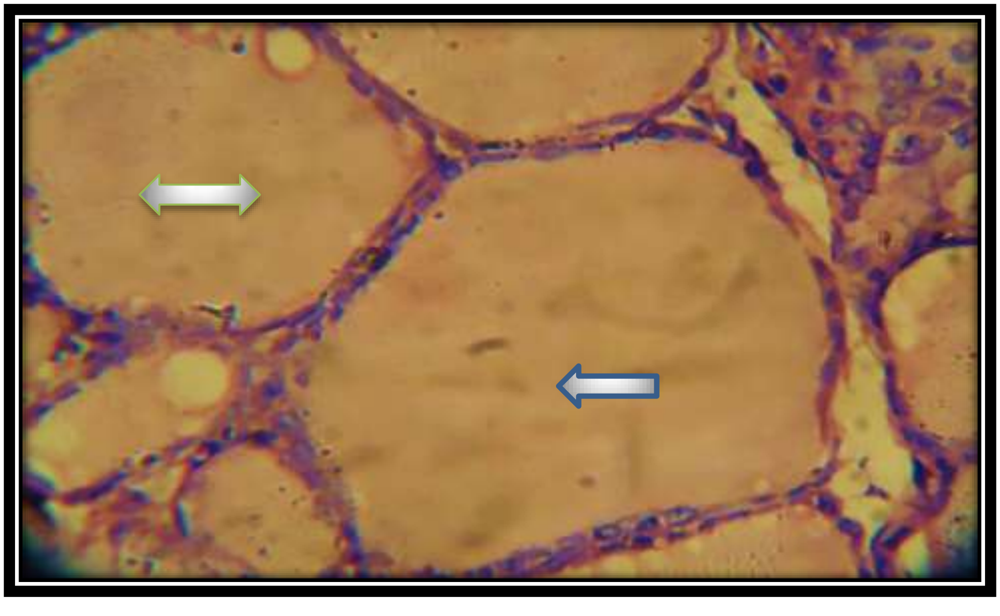
صورة (4-7) تبين مقطع نسيجي للغدة الدرقية لذكور الارانب التي حقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد ولمدة اربعة اسابيع اذ يلاحظ صغر في حجم الجريبات وانعدام المادة الغروانية (H&E 400X)



صورة (4-8) تبين مقطع نسيجي للغدة الدرقية لذكور الارانب التي حقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد و جرعت فمويا ب 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب لمدة اربعة اسابيع اذ يلاحظ الحجم الطبيعي للجريبات والكمية الطبيعية من المادة الغروانية (H&E 400X)



صورة (4-9) تبين مقطع نسيجي للغدة الدرقية لذكور الارانب التي حقنت عضليا ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد و مع حقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين لمدة اربعة اسابيع اذ يلاحظ نقصان في كمية المادة الغروية ⟺ مع صغر حجم الجريبات ⟸ (H&E 400X)



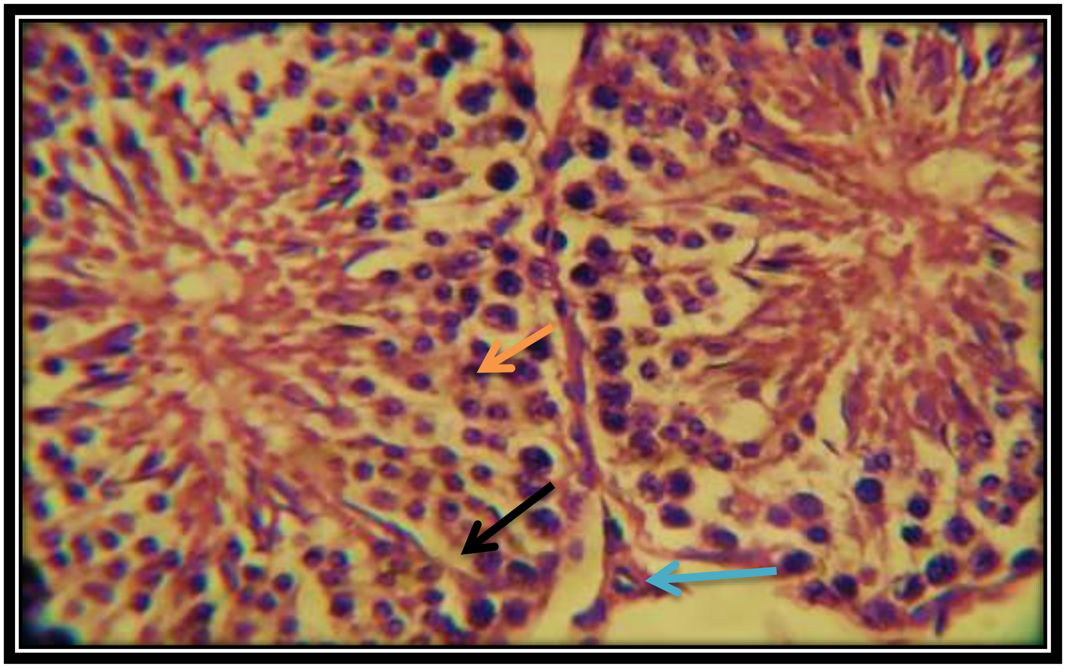
صورة (4-10) تبين مقطع نسيجي للغدة الدرقية لذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد والتي حقنت ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين مع التجريع الفموي ب 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب لمدة اربعة اسابيع اذ يلاحظ حجم الجريبات الطبيعي ⟸ مع ملاحظة وجود المادة الغروانية بكميات طبيعية ⟺ (H&E 400X)

5-4-2-4 تاثير فرط الحديد على نسيج الخصى

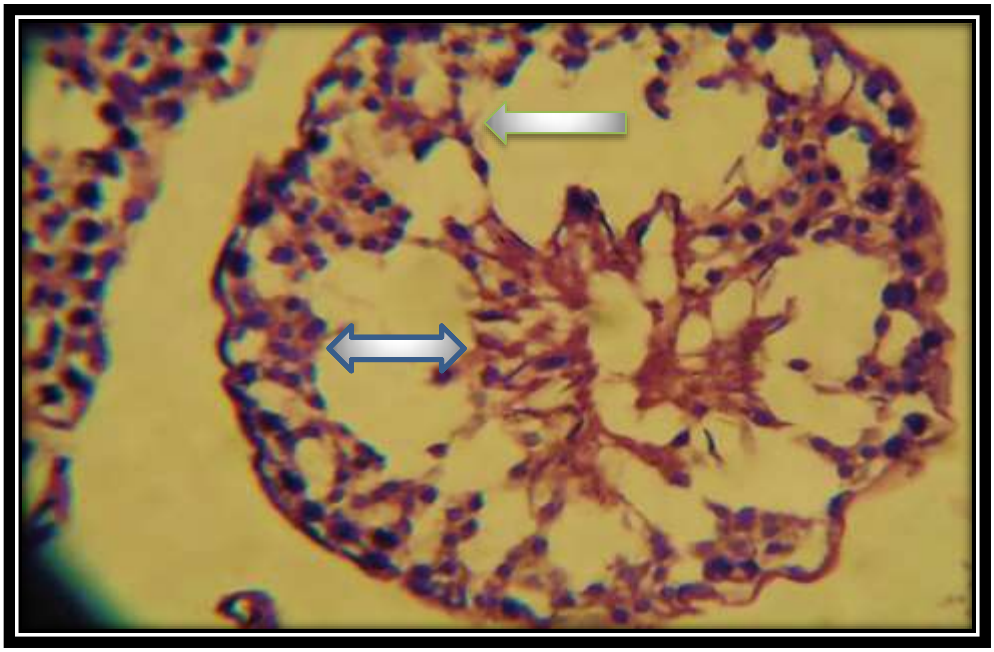
يلاحظ من الصورة (4-12) تاثير الحقن العضلي لدكستران الحديد على نسيج الخصية ولمدة اربعة اسابيع اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسية في الخلايا الجرثومية وخلايا سرتولي للنبيبات المنوية والتي تؤثر على عملية تكوين النطف spermatogenesis مقارنة مع مجموعة السيطرة، (صورة 4-11).

6-4-2-4 تاثير المعالجة بزيت بذور العنب والديسفروكسامين على نسيج الخصى

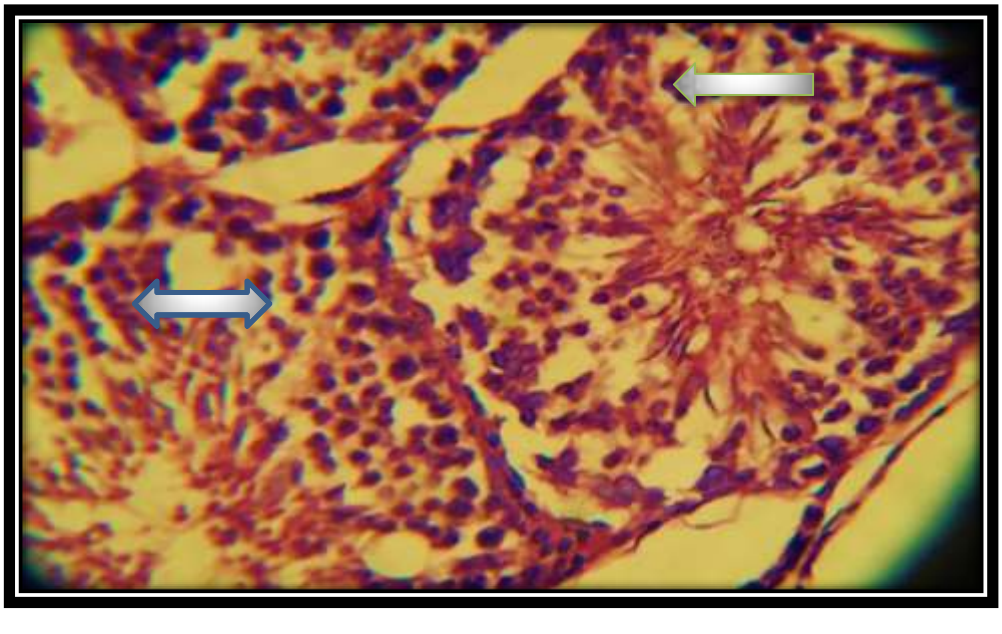
يلاحظ من الصورة (4-13) وجود تاثيرات ايجابية على النبيبات المنوية في المجموعة المعرضة لفرط الحديد والمعاملة بالجرعة المؤثرة (0.5 مل / كغم) لزيت بذور العنب ولمدة اربعة اسابيع اذ تكاد تكون النبيبات المنوية مماثلة لمجموعة السيطرة صورة (4-11) ، اما بالنسبة لمجموعة ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد والمعاملة ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين فيلاحظ تنكس في الخلايا الجرثومية للنبيبات المنوية صورة (4-14) ، بينما يلاحظ في مجموعة ذكور الارانب المعرضة لفرط الحديد والتي حقنت تحت الجلد بمادة الديسفروكسامين وجرعت فمويا بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب وجود الخلايا الجرثومية وخلايا سرتولي بشكل واضح ووجود الحيامن داخل تجويف النبيب المنوي صورة (4-15).



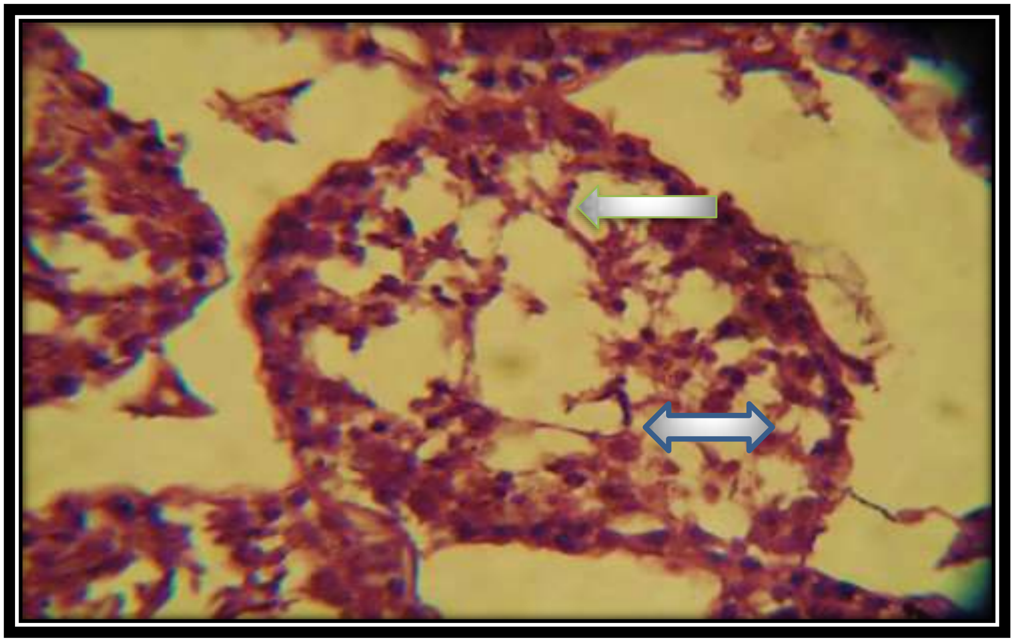
صورة (4-11) تبين مقطع نسيجي للخصية في ذكور الارانب لمجموعة السيطرة اذ يلاحظ المظهر الطبيعي للخلايا الجرثومية ← و خلايا سرتولي ← وخلايا لايدك ← (H&E 400X)



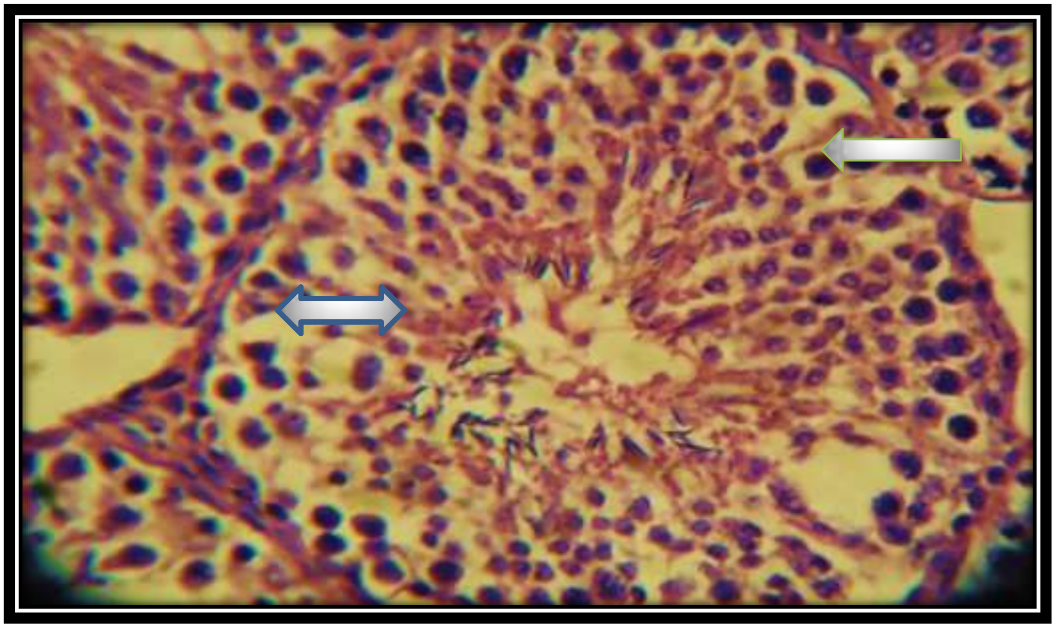
صورة (4-12) تبين مقطع نسيجي للخصية في ذكور الارانب لمجموعة ذكور الارانب التي حقنت ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد اذ يلاحظ حدوث تنكس في الخلايا الجرثومية ⟺ وخلايا سرتولي ⟸ (H&E 400X)



صورة (4-13) تبين مقطع نسيجي للخصية في ذكور الارانب لمجموعة ذكور الارانب التي حقنت ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع التجريع الفموي ب 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب اذ يلاحظ مظهر الخلايا الجرثومية ⟺ وخلايا سرتولي ⟸ يكاد يكون طبيعي (H&E 400X)



صورة (4-14) تبين مقطع نسيجي للخصية في ذكور الارانب لمجموعة ذكور الارانب التي حقنت ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع الحقن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين اذ يلاحظ تغيرات تنكسية في الخلايا الجرثومية وخلايا سرتولي (H&E 400X)



صورة (4-15) تبين مقطع نسيجي للخصية في ذكور الارانب لمجموعة ذكور الارانب التي حقنت ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد مع القن تحت الجلد ب 10 ملغم / كغم من مادة الديسفروكسامين والمجرعة فمويا ب 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب يلاحظ فيها المظهر الطبيعي للخلايا الجرثومية وخلايا سرتولي (H&E 400X)

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

المناقشة

Discussion

1-5 تـأثير فرط الحديد على بعض المعايير الدمية والقياسية (MCV, RBC ,Hb, PCV , WBC, MCHC , MCH)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستويات اعداد كريات الدم الحمر RBC وحجم مكداس الدم PCV والهيموكلوبينHb بعد الحقن العضلي بمادة دكستران الحديد Iron dextran مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع (Henry *et al* , 1961 ; Dabbagh *et al* , 1997 ; Hentze , 2004 ; Widad *et al* , 2003 ; Kohgo *et al* , 2008) .

ان الانخفاض المعنوي في المعايير الدمية والتي اشارت اليها الدراسة الحالية قد يعود بسبب الحقن العضلي بدكستران الحديد الذي ادى الى توليد عدد من الجذور الحرة والتي تتولد من الارتفاع المعنوي للحديد الحر في الجسم حسب تفاعل الفنتون وبشكل اساسي جذر الهيدروكسيل (Barham *et al* , 2004) اذ يعمل جذر الهيدروكسيل على مهاجمة الانزيم المختزل للمتهيموكلوبين Methemoglobin reductase الموجود في كرية الدم الحمراء والذي يعتبر الانزيم المسؤول عن تحول المتهيموكلوبين MetHb الى الاوكسيهيموكلوبينOxyHb ،اذ ان كريات الدم الحمر ليس لها القدرة على اعادة توليد هذا الانزيم نتيجة لافتقادها الى النواة ونتيجة لاستنفاذ هذا الانزيم لذلك تكون كرية الدم الحمراء اكثر عرضة للاضرار التاكسدية ولتكون اجسام هينز HzB وعندها تصبح اكثر عرضة للتكسر في جيوب الطحال الضيقة (Hasegawa *et al* , 1993) وبالتالي حصول انخفاض في معدل اعداد كريات الدم الحمر RBC وحجم مكداس الدم PCV والهيموكلوبينHb ، اذ توجد علاقة طردية بين نسبة الهيموكلوبين HB وحجم كريات الدم المرصوصة PCV وهذا يؤكد ما اشار اليه (Breazil *et al* , 1971) في وجود علاقة طردية بين الهيموكلوبين وحجم خلايا الدم المرصوصة ، او تكون كريات الدم الحمر التي وصلت الى الدم المحيطي تحمل كمية اضافية من α- globin الذي يعمل على زيادة تكون اجسام هينز وزيادة مستوى ROS الذي بدوره يؤدي الى تحطم كريات الدم الحمر(Olivieri , 1999 ;Bank , 2005).

ان تكرار الحقن العضلي بمادة دكستران الحديد Iron dextran ادى الى اشباع الترانسفرين وزيادة مستوى الحديديك Fe^{+3} وكما اصبح معروف ان ايونات الحديديك ليس لها القدرة على نقل الاوكسجين في الدم وبالتالي تقل كمية الاوكسجين المجهزة لها مما يزيد من احتمال تكسرها لعدم حصولها على الاوكسجين الكافي لادامة حياتها وهذا يتفق مع ماجاء به (Kaneto *et al* , 1997) .

بينت النتائج وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى MCV, MCH , MCHC بعد الحقن العضلي بمادة دكستران الحديد Iron dextran مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع عدة دراسات (Akar and Gokge , 2002 ; Meral *et al* , 2000) التي بينت ان نقصان اعداد كريات الدم الحمر ونقصان حجم كريات الدم المرصوصة يعمل على تقليل حجم كرية الدم الحمراء MCV وكذلك نسبة الهيموكلوبينMCH وتركيز الهيموكلوبين MCHC مما يشير الى حصول حالة فقر الدم من نوع Microcytic anemia.

تشير النتائج الى وجود ارتفاع معنوي($P<0.05$) في اعداد خلايا الدم البيضاء WBC بعد الحقن العضلي بمادة دكستران الحديد Iron dextran وهذا يتفق مع ما جاء به(Cohen *et al* ,2003; Hodge *et al* , 1999) اذ يتضح ان زيادة نسبة جذور الحديد الحرة ممكن ان تؤدي الى تلف في نسيج الطحال الذي بدوره يؤدي الى ارتفاع نسبة مستوى اعداد كريات الدم البيضاء WBC ، اضافة الى تضرر نخاع العظم والجهاز اللمفاوي بفعل الجذور الحرة وهذه الاسباب كانت مسؤولة عن ارتفاع نسبة كريات الدم البيضاء (Piga *et al* , 2005) .

2-5 الدورالوقائي لزيت بذورالعنب Grape seeds oil والديسفروكسامين Desferrioxamine على المعايير بعض المعايير الدمية والقياسية (Hb, PCV ,RBC, MCV , MCH , MCHC , ,WBC)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من زيت بذور العنب قلل وبشكل كبير من تاثيرات الحديد على مستويات اعداد كريات الدم الحمر RBC وحجم مكداس الدم PCV والهيموكلوبين Hb والذي قد يعود السبب في ذلك الى دور الفيتامينات الموجودة في زيت بذور العنب وبشكل اساسي فيتامين C والثايامين B2 التي تعمل على كسح الجذور الحرة وبذلك فهي تعمل على حماية

كريات الدم الحمر من التحطم وقد يكون ذلك من خلال دور فيتامين C المباشر في التخلص من أنواع الأوكسجين والنيتروجين التفاعلية ومنع الأضرار التأكسدية التي قد تسببها هذه المواد المؤكسدة على الكريات الحُمر وبالتالي حماية هذه الكريات وتقليل نسبة تكسرها، وهذا ما أكده الباحثون(Jame *et al* ,2000; Nguyen *et al* , 2001 ; Bagchi et al , 2003; Chien *et al* ,2004 ; Tesoriere *et al* , 2004) او نتيجة لدور الفيتامين غير المباشر في حماية كريات الدم الحمر من التكسر بفعل الأضرار التأكسدية سابقة الذكر وذلك عن طريق إعادة تنشيط فيتامين E المتواجد في أغشية هذه الكريات والمسؤول عن حماية الأغشية من الأضرار التأكسديه وبالتالي تقليل نسبة تكسر كريات الدم الحمر، وهذا ما أكده الباحثون (Jacob, 1995 ; May *et al* , 1998) كما يكون للفيتامين دوراً غير مباشر أيضاً في التقليل من نسبة تكسر الكريات الحُمر وذلك بزيادة نسبة الطاقة ATP في داخل الكريات وهذا ماأكده الباحث Lonsdale وجماعته، (1999)، فزيادة خزين الطاقة في داخلها يعمل على المحافظة على شكلها القرصي مقعر الوجهين Biconcave disk عن طريق إدامة عملية الانتقال الفعال Active transport بين داخل وخارج الكريه، وان هذا الشكل يساعدها في مقاومة عملية التكسر خاصة عند إنضغاطها خلال عبورها الأوعية الدموية الشعرية الضيقة، وهذا ما أكده الباحثون (Guyton and Hall , 2000 ; 1998 Kuchel and Fackerell ,1999; Robertson) اضافة الى دور المركبات الفينولية مثل Proanthocyanidins في المحافظة على سلامة اغشية كريات الدم الحمر من التحطم بفعل الجذور الحرة (Sangeetha *et al* , 2005).

كما بينت نتائج الدراسة الحالية ان الحقن تحت الجلد بمادة الديسفروكسامين قلل من تاثيرات فرط الحديد على مستويات اعداد كريات الدم الحمر وحجم مكداس الدم والهيموكلوبين وهذه النتائج تتفق مع عدة بحوث منها (Bergeron *et al*, 2004 ; Aouad *et al* , 2002 , Brittenham , 2003) اذ تعمل مادة الديسفروكسامين على التقاط ايونات الحديد الحرة بشكل مؤكسد وفعال وازالتها من الجسم عن طريق الادرار او البراز وبذلك فهي تقلل من تاثير جذور الاوكسجين الفعالة ROS على مجاميع السلفا في السلسلة الببتيدية للهيموكلوبين وتقلل من تكوين المتهيموكلوبين Methemoglobin (Hershko *et al* , 1998).

اشارت النتائج الى عدم وجود فروق معنوية في مستوى MCV, MCH , MCHC بعد الحقن بمادة الديسفروكسامين وكذلك بعد التجريع الفموي بزيت بذور العنب نتيجة للانخفاض غير المعنوي في مستويات اعداد كريات الدم الحمر وحجم مكداس الدم والهيموكلوبين ، كما تشير الى وجود ارتفاع معنوي

(P<0.05) في اعداد خلايا الدم البيض WBC نتيجة لانخفاض التاثيرات السمية للجذور الحديد الحرة (Salsaa and Zoumbos,1997) .

3-5 تأثير فرط الحديد على الكوليستيرول والشحوم البروتينية (HDL-C, TAG ,TC , LDL-C , VLDL-C)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل تركيز الكوليستيرول TC والشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C وانخفاض معنوي (P<0.05) في معدل تركيز HDL-C بعد الحقن العضلي بدكستران الحديد Iron dextran وهذا يتفق مع (Burea , *et al* , 1998 ; Michael , 2007).

ان التجمع المفرط للحديد في الخلايا الكبدية قد يؤدي الى حدوث خلل في عملية توازن الدهون Lipid homeostasis مما يؤدي الى تغيير فعالية انزيم Hydroxyle 3- methylglutary- Co enzyme A (HMG-Co A) reductase الذي يؤدي الى حدوث اضطرابات لاسترات الكوليستيرول Cholesterol esters وهبوط فعالية انزيم Lipoprotin lipase وبالتالي زيادة نسبة الاحماض الدهنية الحرة Free fatty acids في الدم (Choie *et al* , 2001; Mateo-Gallepo , 2010) ، كما ان زيادة نسبة الحديد في الكبد قد يؤدي الى زيادة نسبة السايتوكاينينات الكبدية مثل tumar necrosis factors (TNF-α) و interleukin (IL-1β) التي تعمل على زيادة مستويات Cholesterogenic enzyme مثل HMG-Co A reductase وانخفاض تركيز انزيم Cholesterol7 α-Hydroxylase المسؤول عن عملية تقويض الكوليستيرول في الكبد (Kojima *et al* , 2004) ، فضلا عن اهمية ما ذكرة (Dabbagh *et al* , 1997) حول تحسس مستقبلات LDL- receptors المتواجدة في جدران الاوعية الدموية لتجمع البروتينات الدهنية في البلازما مما يؤدي الى ارتفاع نسبة LDL-C في المصل ، ان تجمع LDL في المصل يكون له القابلية على اكسدة جزيئات LDL الى ox-LDL وهذا بدوره ينتج العديد من الاوكسي ستيرول Oxysterol التي لها القابلية على تثبيط فعالية مستقبلات LDL وتحفيز فعالية انزيم Cholesterol acyl transferase مؤديا الى زيادة تكوين استرات الكوليستيرول (Turbiono- Ribeiro *et al,*2003) .

ان مستويات تركيز HDL-C في المصل ترتبط بعلاقة عكسية مع مستويات تركيز LDL-C اذ يكون لل LDL دور في النقل العكسي للكوليستيرول اذ ينقلة من الانسجة المحيطية الى الكبد لذلك فان زيادة LDL-C تسبب نقصان HDL-C (Pischon *et al* , 2005 ; Denke , 2005).

كما اظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في مستويات الدهون الثلاثية TAG و VLDL-C التي جاءت متفقة مع الكريطي (2011) الذي بين ان الحقن العضلي لدكستران الحديد لايؤثر على مستويات TAG و VLDL.

4-5. الدور الوقائي لزيت بذورالعنبGrape seeds oil والديسفروكسامين Desferrioxamine على الكوليستيرول والشحوم البروتينية (TC, TAG, HDL-C, LDL-C , VLDL-C)

اظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في تركيز الكوليستيرول والشحوم البروتينية (TC , LDL , VLDL , HDL , TAG) بعد التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع (Nash *et al* , 1993) الذي بين دور زيت بذور العنب في تقليل مستويات الكوليستيرول في دم الفئران بعد معاملتها برباعي كلوريد الكاربون CCL4، ان مضادات الاكسدة التي يحتويها زيت بذور العنب تعمل على تقليل ROS (Maheswari , 2005) وبالتالي تقلل من كمية الحديد المترسب في الكبد التي تؤثرعلى الانزيمات الكبدية وبالتالي خفض نسبة الاحماض الدهنية الحرة ، قد يعود السبب الى ان زيت بذور العنب يعمل على زيادة انزيم Cholesterol 7α-hydroxylase الذي يزيد من تقويض الكوليستيرول في الكبد ويعزز فعالية مستقبلات LDL وبالتالي خفض نسبة LDL –C في المصل(Nash, 1993 ; Natella *et al* , 2002) ، اضافة الى دور الاحماض الدهنية غير المشبعة التي يحتويها زيت بذور العنب مثل Omega -3 وOmega -6 في خفض مستويات الكوليسترول اذ تعمل هذه الاحماض الدهنية على خفض مستويات الكولسترول الكلي TC وLDL ، TAG وزيادة مستويات HDL عن طريق دورها في تقليل انزيمات Cholesterogenic enzyme وزيادة فعالية انزيم Lipoprotin lipase وبالتالي خفض نسبة الاحماض الدهنية الحرة فضلا عن دورها في تغير طبيعة مستقبلات LDL في اغشية الخلايا الجريبية للكبد ، كما تعمل Omega -3 على خفض نسبة

السايتوكاينينات الكبدية (TNF-α) و(IL-1β) وبالتالي زيادة مستوى انزيم Cholesterol 7 α-Hydroxylase (Artemis , 2008) او من خلال دورها في اكسدة الكوليسترول الى احماض الصفراء Bile acids وبالتالي خفض نسبة الكولسترول في الدم(Bhathena *et al* , 2003 ; Morgado *et al* , 2005) .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية في معدل تركيز الكوليستيرول TC و TAG وVLDL-C بعد الحقن بمادة الديسفروكسامين مع وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز LDL-C وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز HDL-C ان هذه النتيجة تتفق مع (جاسم ، 2008 ; Piga *et al*, 2003) الذي قد يعود السبب الى دور مادة الديسفروكسامين في تقليل مستويات الكوليستيرول في الدم .

ان زيادة مستويات LDL-C وانخفاض HDL-C الذي حدث بعد الاسبوع الرابع قد يكون نتيجة لترسب الحديد في الكبد بسبب زيادة جرعات الحديد التي تجاوزت قدرة الديسفروكسامين على التقاطها اذ تبقى كمية من الحديد مترسبة في الكبد بشكل هيموسدرين والتي تؤثر بدورها على الانزيمات الكبدية مثل Lipoprotin Lipase مؤدية الى حدوث اضطرابات في العمليات الايضية لاسترات الكوليستيرول Cholesterol esters وزيادة نسبة الاحماض الدهنية الحرة (Borgan-Pignatti *et al* , 2004) .

5-5 تاثير فرط الحديد على معايير الحديد(Transferrin, Ferritin, TIBC , Iron)

اظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز الحديد الحر ومعدل الفرتين Ferritin ونسبة اشباع الترانسفرين Transferrin بعد الحقن العضلي بدكستران الحديد وهذه النتائج تتفق مع (Argyropouou *et al* , 2000 ;Meral *et al* , 2000 ; Mahachoklertwattana *et al* , 2003) .

ان الحقن المستمر لدكستران الحديد Iron dextran يؤدي الى تراكم نسبة عالية من الحديد في المصل ونتيجة لعدم وجود مسار حيوي لاخراج الحديد من الجسم فان نسبته تكون مرتفعة (يكن ، 2007) وربما يعود هذا الارتفاع الى استنزاف مضادات الاكسدة الموجودة في الجسم نتيجة للجذور الحرة المتحررة من الحديد الفائض (جواد ، 2005) ،كما ان زيادة الحديد في البلازما يحفز الخلايا الكبدية على

انتاج الترانسفرين والفرتين للتخلص من الحديد الفائض مما يبين سبب ارتفاع نسبة الترانسفرين والفرتين في المصل(Hershko *et al* , 1998 ; Meral *et al* , 2000; Lieu *et al* , 2001).

بينت النتائج وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في السعة الكلية لارتباط الحديد TIBC وهذه النتائج متفقة مع (Herbert *et al* , 1997 ; Argyropouou *et al* , 2000 ;Meral *et al* , 2000 ; Mahachoklertwattana *et al* , 2003) وتتفق ايضا مع يكن (2007) لكنها مخالفة لما ذكره (جواد ، 2007 ; الكريطي 2011) اللذان بينا ان زيادة الحديد الحر تؤدي الى ارتفاع معنوي في نسبة ارتفاع TIBC.

6-5 الدور الوقائي لزيت بذورالعنبGrape seeds oil والديسفروكسامين Desferrioxamine على معايير الحديد (Transferrin, Ferritin, TIBC , Iron

اظهرت النتائج ارتفاع معنوي(P<0.05) في معدل مستويات الحديد Iron ومعدل الفرتين Ferritin ونسبة اشباع الترانسفرين Transferrin وانخفاض معنوي(P<0.05) في السعة الكلية لارتباط الحديد TIBC بعد التجريع الفموي بزيت بذور العنب وهي نتائج متفقة مع (Chen *et al* , 2004 ; Asare *et al* , 2009) التي بينت عدم تاثير اضافة مضادات الاكسدة على مستويات معايير الحديد المجرعة بمركبات الحديد.

كما بينت النتائج ارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل مستويات الحديد Iron ومعدل الفرتين Ferritin ونسبة اشباع الترانسفرين Transferrin وانخفاض معنوي (P<0.05) في السعة الكلية لارتباط الحديد TIBC بعد الحقن بمادة الديسفروكسامين وهذه النتائج متفقة مع (Bergeron *et al*, 2003 ; Aouad *et al* , 2002 , Brittenham , 2003) اذ يبدو ان جرعات الحديد قد تجاوزت قدرة الديسفروكسامين على التقاط ايونات الحديد الحرة من الدم مما ادى الى ارتفاع نسبة الحديد والفرتين والترانسفرين في المصل (جاسم ، 2008) ،

7-5 تاثير فرط الحديد على الهرمونات المغذية للقند (المناسل) (FSH ,LH) وهرمون الشحمون الخصوي Testosterone والهرمون المحفز للدرقية TSH والهرمونات الدرقية (T_3 , T_4)

اظهرت النتائج انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل مستويات هرمون T_3 و T_4 وارتفاع معنوي (P<0.05) في معدل مستويات هرمون TSHبعد الحقن العضلي بدكستران الحديد Iron dextran لمدة اربعة اسابيع وهي نتائج متفقة مع (Agarwal *et al* , 1991 ; Fica *et al* , 2005 ; Shalitin *et al* , 2005; Pirinccioglu *et al* , 2011).

تكون كمية الدم المزودة للغدة الدرقية قياسية مقارنة مع باقي انسجة الجسم ولهذا فهي تستلم كمية اضافية من الدم المحمل بالحديد الفائض وبالتالي المزيد من الجذور الحرة التي تهاجم الخلايا الدرقية وتؤثر على عملية بناء هرمونات T_3 و T_4 ، وقد يكون الانخفاض في تركيز الهرمونات الدرقية نتيجة لفعل الجذور الاوكسجينية الفعالة ROS التي تعمل على تثبيط الية اقتناص اليوديد الموجود بالدم من الخلايا الجريبية ومن ثم تثبيط فعالية انزيم البيروكسيدير (TPO) (Cooper , 1984)،اضافة الى التاثيرات السلبية للاجهاد التاكسدي Oxidive stress على الغدة الدرقية اذ يعمل على تثبيط افراز انزيم 5،deiodnase ويثبط فعالية مستقبلات T_3 ويعمل على تحطيم البروتينات المسؤولة عن نقل الهرمونات الدرقية (Thyorxin Binding Globin (TBG) (Hedberg , 2009) او قد يكون الانخفاض نتيجة تاثير الجذور الحرة على اغشية الخلايا الدرقية ، ومن جهة اخرى وجد هنالك ارتفاعاً معنوياً(P<0.05) في معدل مستويات هرمون TSH وقد فسر هذا الارتفاع (Bartalena ; Zervas *et al* , 2002 ; *et al* , 1995) الى زيادة ترسب الحديد في الغدة النخامية الذي ادى الى خلل في افرازات هذه الغدة .

كما اظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في معدل مستويات الهرمون اللوتيني والهرمون الجريبي وهرمون الشحمون الخصوي بعد الحقن العضلي بدكستران الحديد Iron dextran وهذه النتائج تتفق مع (يكن ، 2007 ; Yazigi *et al* , 2002) اذ قد يكون الانخفاض في معدل مستوى هرمون الشحمون الخصوي نتيجة لترسب الحديد في انسجة الخصى وتحرر الجذور الحرة التي تعمل على مهاجمة و تحطيم خلايا لايدك المسؤولة عن تصنيع هذا الهرمون مما يؤدي الى انخفاض مستويات هرمون الشحمون الخصوي في المصل ، كما ان الضرر الذي لحق بالغدة النخامية نتيجة لفعل الجذور الحرة يكون مسؤول عن الانخفاض في مستوى هرمون FSH في المصل ، فيما بين (Perera

(*et al* , 2002 ; Karamifar *et al* , 2005) حيث ان انخفاض هرمونات LH وFSH ربما تكون نتيجة لترسب الحديد في الغدة النخامية او تحت المهاد اوكلاهما .

8-5 تاثير فرط الحديد على الهرمونات المغذية للقند (المناسل) (FSH ,LH) وهرمون الشحمون الخصوي Testosterone والهرمون المحفز للدرقية TSH والهرمونات الدرقية (T_3 , T_4)

بينت النتائج عدم وجود فروق معنوية في قيمة الهرمونات TSH و T_3 و T_4 و LH و FSH و Testosterone بعد التجريع الفموي بزيت بذور العنب مقارنة مع مجموعة السيطرة ، يبدو ان مضادات الاكسدة والفيتامينات التي يحتويها زيت بذور العنب وبشكل اساسي فيتامين C تمكنت من كسح نسبة عالية من جذور الحديد الحرة مما ادى الى تقليل تاثيرها على الغدة الدرقية والخصى وبالتالي المحافظة على مستويات الهرمونات المفرزة من تلك الغدد (Bagchi *et al* , 2003 ; Choi and Lee . 2008 ;) ، اذ أن فيتامين C له تأثيرات معنويه في زيادة إفراز الغدة الدرقية لهرمون الدرقين Thyroxin ، اضافة الى دور الاحماض الدهنية غير المشبعة مثل omega-6 وomega-3 التي تعتبر من الاحماض الدهنية الاساسية في عملية بناء الهرمونات الدرقية وان نقصها يسبب حالة نقص الدرقية Hypothyroidism (Paoletti , 2008).

كما بينت النتائج وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى الهرمونات T_3 و T_4 و LH وFSH و Testosterone وارتفاع معنوي($P<0.05$) في مستوى هرمون TSH بعد الحقن بمادة الديسفروكسامين وهذا يتفق مع (Aouad *et al* , 2002 , Brittenham , 2003). ان هذا الانخفاض يكون نتيجة لتجمع الحديد في الغدة الدرقية والخصى بسبب مستويات الحديد المرتفعة في المصل والتي تتجاوز قدرة مادة الديسفروكسامين على التقاطها مما يسبب انخفاض في تركيز الهرمونات الدرقية والمنسلية (يكن ، 2008).

5-9 تاثير فرط الحديد على الانسجة

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ترسب الحديد بشكل هيموسدرين Hemosiderin مع حدوث تغيرات تنكسية في الخلايا الكبدية في انسجة الحيوانات المعاملة ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد Iron dextran مقارنة مع مجموعة السيطرة وهي نتائج متفقة مع (Ozguner and Sayin , 2002 ; Khan *et al* , 1999)، ان سبب زيادة ترسب الهيموسدرين Hemosiderin في انسجة الكبد قد يكون نتيجة لفرط الحديد الذي ادى الى تحفيز الخلايا الكبدية على تكوين الفرتين والهيموسدرين وتراكمها في الكبد (الكريطي ، 2011 ; Ramm and Ruddell , 2005) كما ان تلف الخلايا الكبدية قد يكون نتيجة لتاثير الجذور الاوكسجينية الفعالة في زيادة عملية اكسدة الدهون Lipid peroxidation لاغشية الخلايا الكبدية وقدرتها على التفاعل مع الدهون غير المشبعة poly unsaturated fatty acids التي تؤدي الى تضرر الانسجة والاعضاء(Lieu *et al* , 2001 ; Richardson , 2003) .

كما بينت نتائج الدراسة النسيجية حدوث حالات نقص الدرقية Hypothyrodism التي شخصت من خلال انخفاض نسبة الغروان Colloid وزيادة عدد الخلايا الدرقية مع صغر حجمها وهي نتائج متفقة مع (يكن ، 2007) الذي بين ان زيادة ترسب الحديد في الغدة الدرقية يؤدي الى ظهور حالة نقص الدرقية Hypothyrodism في مرضى الثلاسيميا نتيجة لتاثيرجذور الحديد الحرة على الخلايا الدرقية ، كما بينت النتائج حدوث تلف في خلايا لايدك وخلايا سرتولي في النبيبات المنوية للخصى التي ادت الى توقف عملية تكوين النطف Spermatogenesis وهي نتائج متفقة مع (Fica *et al* , 2005) الذي بين ان جذور الاوكسجين الفعالة ROS الناتجة عن فرط الحديد تودي الى حدوث تلف في النبيات المنوية وبالتالي تطور حالة Hypogonadism .

5-10 الدور الوقائي لزيت بذورالعنب Grape seeds oil والديسفروكسامين Desferrioxamine على الانسجة

اظهرت نتائج التقطيع النسيجي لانسجة الحيوانات المعاملة ب20 ملغم من دكستران الحديد والمجرعة يوميا ب 0.5 مل / كغم من زيت بذور العنب الى انعدام ترسب الهيموسدرين في نسيج الكبد والمظهر الطبيعي للنبيبات المنوية في الخصى ولم يلاحظ وجود تغيرات في نسيج الغدة الدرقية مقارنة مع

مجموعة السيطرة ويرجع السبب في ذلك الى النسبة العالية من مضادات الاكسدة التي يحتويها زيت بذور العنب التي تمكنت من التقاط نسبة عالية من جذور الحديد الحرة مما ادى الى تقليل تاثيرها على انسجة الكبد والخصى والغدة الدرقية (Kim *et al* ,2006 ; Choi and Lee . 2008) ، اضافة الى ذلك فان زيت بذور العنب غني بفيتامين E الذي يعد من احسن مضادات الاكسدة الذائبة في الدهون الذي له دور رئيسي في المحافظة على سلامة اغشية الخلايا والتقليل من حدة الالتهابات من خلال تقليل انتاج البروستوكلاندين (Wen *et al* , 1999) كما انه يعمل على تقليل تاثير الجذور الحرة والعوامل المؤكسدة ويوقف عملية بيروكسدة الدهون Lipid peroxidation ، اضافة الى دور المركبات الفينولية بضمنها Proanthocyanidins وanthocyanin في المحافضة على اغشية الخلايا وتاثيرها في كسح الجذور الحرة وتقليل تاثيرها على الانسجة.(Bagchi *et al* , 2003; Bozan *et al* , 2008) .

اظهرت نتائج الدراسة النسيجية ترسب كميات قليلة من الحديد بشكل هيموسدرين في نسيج الكبد بعد الحقن بمادة الديسفروكسامين مع حدوث تغيرات تنكسية في الخلايا الكبدية وهي نتائج متفقة مع Rigol وجماعته 2008 الذين وجدوا حدوث حالات ترسب الهيموسدرين في الكبد على الرغم من استخدام الديسفروكسامين كلواقط لايونات الحديد وان سبب ذلك هو ان هذه المادة تعمل على التقاط نسبة محدودة من ايونات الحديد الحرة ومع زيادة جرعات الحديد سوف تترسب كميات من الحديد في مختلف اعضاء الجسم بما في ذلك الكبد ،كما بينت نتائج التقطيع النسيجي للغدة الدرقية انخفاض في نسبة الغروان مع صغر نسبي في حجم الخلايا الدرقية وهي نتائج متفقة مع (Bhagwandin, 2009) التي تبين حدوث حالات تلف في الغدة الدرقية حتى بعد استخدام الديسفروكسامين نتيجة لفعل جذور الحديد الحرة التي تعمل على مهاجمة اغشية الخلايا الدرقية والجريبات وبالتالي تؤثر على كمية المادة الغروانية ، كما وجد حدوث تلف في خلايا لايدك وخلايا سرتولي للخصية بعد الحقن بمادة الديسفروكسامين تكون هذه التغيرات نتيجة لتاثيرات جذور الحديد الحرة الناتجة من فرط الحديد على نسيج الخصية (Gamberini *et al* , 2008 ; Brittenham *et al* , 2003) .

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Concolusion & Recommendation

الاستنتاجات

استنتج من الدراسة الحالية:

1- بعد استخلاص زيت بذور العنب الاسود *Vitis vinifera* وجد ان الجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب بلغت 0.5 مل / كغم في ذكور الارانب.

2- ان الحقن العضلي ب 20 ملغم / كغم من دكستران الحديد ادى الى :

a- انخفاض معنوي ($P<0.05$) في اعداد كريات الدم الحمر RBC ومكداس الدم PCV وتركيز الهيموكلوبين Hb وحجم كرية الدم الحمراء MCV ومحتوى هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCH وتركيز هيموكلوبين كرية الدم الحمراء MCHC .

b- ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في اعداد كريات الدم البيض وحصول حالة Microcytic anemia

c- ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز الكوليستيرول TC والشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C وانخفاض معنوي في معدل تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C .

d- لم تلاحظ فروق معنوية في تركيز الدهون الثلاثية TAG والشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL-C في المجموعة المعرضة لفرط الحديد .

e- ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز الحديد الحر والفرتين والترانسفرين وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في السعة الكلية لارتباط الحديد TIBC .

f- انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز هرمون T_3 و T_4 و LH ، FSH و Testosterone وارتفاع معنوي ($P<0.05$) معدل تركيز هرمون TSH.

g- ترسب الحديد بشكل هيموسدرين Hemosiderin في نسيج الكبد وانعدام الغروان في جريبات الغدة الدرقية مع حدوث تلف في النبيبات المنوية للخصى بعد الحقن العضلي لدكستران الحديد.

3- ان المعاملة بالجرعة المؤثرة لزيت بذور العنب لمدة اربعة اسابيع في المجموعة المعرضة لفرط الحديد قلل وبشكل كبير التلف في الكبد والخصى والغدة الدرقية (وظيفيا وتركيبيا).

4- على الرغم من ان استخدام زيت بذور العنب كان اكثر فعالية من الديسفروكسامين في جميع المعايير التي تم قياسها ، لكن وجد ان استخدام المادتين معا تؤدي في عودة المعايير الى وضعها الطبيعي .

التوصيات

1- التوصية باعطاء زيت بذور العنب كمادة وقائية للتقليل من اضرار فرط الحديد في امراض تحلل الدم

2- اجراء دراسة نسيجية ووظيفية على تاثير فرط الحديد في الجهاز البولي للحيوانات المختبرية .

3- اجراء دراسة نسيجية باستخدام المجهر الاعتيادي والالكتروني لبيان تاثير فرط الحديد على الجهاز العصبي للحيوانات المختبرية .

4- اجراء دراسة مناعية لتاثير فرط الحديد على الحيوانات المختبرية .

5- اجراء دراسة وظيفية ونسيجية عن تاثير زيت بذور العنب لدى مرضى السكري .

المصادر

References

المصـــــادر العربيـــة

الكريطي ، حيدر بخيت عباس.(2011) . بعض التغيرات الوظيفية والنسيجية المتسببة عن فرط الحديد . رسالة ماجستير ،كلية التربية ،جامعة كربلاء .

جاسم ، اميرة محمد علي .(2008) . تاثير عقار الديسفيرال ونبات الشاي الاخضر على بعض المتغيرات البايوكيميائية في الارانب المستحث فيها داء السكري وفرط الحديد . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة بابل .

جواد ، علاء حسين . (2005). دراسة لبعض المتغيرات الكيموحيوية عند مرضى الثلاسيميا (فقر دم البحر الابيض المتوسط) . اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة بغداد .

عشير، عبد الرحيم و العلوجي، صباح ناصر (1989). علم الغدد الصم و التكاثر، الطبعة الاولى ، جامعة بغداد .

محي الدين، خير الدين و يوسف ،وليد حميد و توحلة ،سعد حسين (1990) . فسلجة الغدد الصم والتكاثر في الثديات و الطيور. دار الحكمة للطباعة والنشر. جامعة الموصل.

يكن ، سرباز ابراهيم محمد .(2007) حالة الحديد كدليل لتاخر النمو والنضج الجنسي لدى الاكراد المصابين بفقر الدم البحري الكبرى . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ,جامعة بابل .

المصـــــادر الاجنبيـــــــة

Abboud, S. and Hail, D. J. (2000). A novel mammalian iron regulated protein involved intracellular iron metabolism. J. Biol. Chem., 275 :19906-19912.

Abdelrazik , N. and Ghanem , H.(2007). Failure of puberty in Egyptian Beta- thalassemic patients :experience in north east region –Dakahlia province. Hematology,1:50-54.

Abdennebi,L.; Chu, E.Y.; Jammes, H.; Wei, D. and Remy, J.J. (2003). Maintenance of sexual immaturity in male mice and Bucks by immunization agaist N-Terminal peptides of the follicle stimulating Hormone receptor. Biology of reproduction ,68: 323-327.

Afroditi, H.(2006). Correlative study of iron accumulation in liver ,myocardium and pituitary assessed with MRI in young thalassemic patients , prediatorHematol . Oncol.,28(5):311-315.

Agarwal ,M.B. ;Shah, S. ;Vishwanathan, C. ; Rajadhyaksha, G.; Bhave, A.A. ; Dube, S.R.; Billa, V.;Malkan, G. and Bajan, K. (1992). Thyroid Dysfunction In Multi-transfused Iron Loaded Thalassemia Patients. Indian pediatr. , 29(8): 997-1002.

Ahmad,M. ; Khan, M.A. and Khan ,A.(2009).Oxidtive Stress and level of iron indices in coronary heart disease patients . J.Ayub .Med . Coll. Abbottabad. , 21(2):56-59.

Aitken, R.J. and Baker ,M. A. (2004) . Oxidative stress and male reproductive biology .Vertebrata Reproductive science and technology ., 16(5):581-588.

Akar, N. and Gokge, H. (2002). Red Blood Cell Indexes In Patients With Hereditary Spherocytosis and β-thalassemia Combination: Pediatric hematology and oncology .,19:569-573.

Allani. (1974).Measurement of cholesterol. Clin. Chem. ,20:470-475.

AL–Zamely,O. M. Y. (2001). Ischemic Heart Disease Via Oxidative Hypothesis . (Thesis), PH.D. ,Iraq ,University of AL-Mustansiriya.

Anandy, S.; Losee-dson, S.;Turek, F.W. and Horton, T.H. (2002). Differentialregulation of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone inmale Siberian hamster by exposure to females and photoperiod.Endocrinology. ,143(6): 2178-2188.

Anderson ,G. J. ;Darshan ,D. and Wilkins , S. J. (2007). Regulation of systemic iron homeostasis : How the body responds to changes in iron demand.Biometals. , 20:665-674.

Anderson, R.A. and Baird, D.T. (2002).Male contraception. Endocrine review. ,23(6): 735-762.

Andrews, N. C. (1999). Disorder of iron metabolism. N. Engl. J. Med., 341 :1986-1995.

Andrews, N.C. (2000). Disorder of Iron metabolism .New England of Medicine., 342 (17) : 1293-1294.

Aouad , F. ; Florence , A. ; Zhang , Y. ; Collins , F. ; Henry , C. ; Ward, R. J. and Crichton , R. R. (2002) . Evaluation of new iron chelators and TheirTherapeutic potential .Inorg .Chem .Acta. , 339:470-480 .

Argyropoulou, M.I. ;Metafratzi, Z. ; Kiortsis, D.N. ; Bitsis, S. ;Tsatsoulis, A. and Efremidis, S. (2000). T_2 Relaxation Rate as an Index of Pituitary Iron Overload in Patients with β-thalassemia Major. AJR. ,175: 1567-1569.

Artemis ,P. (2008) . The omega-6 / omega-3 fatty acid ratio , genetic variation , and cardiovascular disease . Asia Pac Clin Nutr. , 17(1):131-134 .

Asare,G. A. ;Kew,M. C. ; Kensese,S. ; Mossanda, K. S. A.;Paterson ,A. C. ;Siziba, K. and Christiana,P. K. (2009). Effects of Exogenousd antioxidants on Dietary Iron overload . J. Clin . Biochem. Nutr., 44:85-94.

Assia ,N. ;Goldenberg –Cohen , N. ;Rechari, G. ; Amariglio, N. and Cohen ,Y. (2010). Mutationanalysis of ferritin L-Chain gene in age-related cataract . Molecular vision , 16:2487- 2493.

Bagchi, D. ; Ray , S. D. ; Bagchi , M. ; Preuss , H. G. and Stohs . S. J. (2002a) . Mechanistic pathways of antioxidant cytoprotection by a novel 1 H 636 grape seed proanthocyanidinextract .Indian . J. Exp .Biol. ,6:717-726.

Bagchi , D.; Sen ,C. K. and Ray ,S. D. (2003) . Molecular mechanisms of cardioprotection by anovel grape seed proan the cyaniding extract. Mutat.Res. ,523:87-97.

Bagchi ,K. and Puri ,S.(1998) . Free radical and antioxidants in Health and disease . La Revue , 4(2) : 350-360 : (Review).

Bagchi ,D. ; Bagchi ,M. and Stohs ,S. (2002b) . Cellular protection with proanthocyanidinsdrivedfrom grape seeds .Ann N. Y. Acad Sci. ,957:260-270.

Bank, A. (2005). Understanding Globin Regulation in β-thalassemia: it`s as Simple as α, β, γ and δ. J. Clin.Investigation , 115 (6): 1470-1473.

Baker, E. and Morgan, E. H. (1994). Iron transport in, Brock JH, Halliday Jw, Pippard MJ, Powell LW, (Ed). Iron metabolism in Health and disease. Philadelphia : WB Saunders, 63-95.

Banerjee , B . and Bagchi , D. (2001) . Benifical effects of novel grape seed proanThocyanidinextract in The Treatment of chronic pancreatitis . Digestion , 63(3) : 203-206 .

Barham, K. j. ; Masters, C. L. and Bush, A. L. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress. Nat-Rev. Drug.Discov. , 3:205-214.

Bartosikova, L.; Necas, J.; Kubinova, R.; Iliek, J.; saplachate, J.; Florian, T.; Frydruch, M.; Frana, P.; Frana, L. and Dzurova, J. (2003). Atioxidative effect of Morine in Ischemia reperfusion of Kidney in the laboratory rate. Acta Vet. Br. ,72 : 87-94

Barkat ,N. ; Millecamps , S. and Abrioux ,P. (2001). Over expression of glutathione peroxidase increase The rosistance of neural cells to a beta – mediated neurotoxcity . J. Neurochem , 75:1438-1446.

Bartalena, L.; Brogioni, S.;Grasso, L. and Martino, E.(1995) Interleukin-6 and the Thyroid: European J. Endocrinology, 132: 386-393. (Cited by Alexandrides*et al.,* 2000).

Baustad, B. M. (1974). Preventaltion of anaemia by oral administration of dextran to newbord Pigs .Bull . Epizoot .Dis .Afr. ,22:145-147.

Bayuen, R. D. and Bothwell, T. H. (1990). Iron Deficiency. Annu. Rev. Neutr., 10 : 133-148.

Beghetti, M.; Mermitled, B. and Halperin, D. S. (1993). Blue scleare : A sign of iron deficiencyanemia in children pediatrics, 91 : 1195-1196.

Bergeron, J.; Schneider, D.; Dyck, J. L.; Josheph, A. ; Apologan, A. ; Galan, P. and Hercberg, S. (1992). Iron deficiency, cell-mediated immunity and infection among 3-36 month old children living in rural togo.Nut. Res., 12 : 39-49 .

Bergeron, R.J. ;Wiegand, J. ; Weimar, W. R. ; McManis, J. S.; Smith, R. E. and Abboud, K. A. (2003). Iron chelation promoted by desazadesferrithiocin analog. Chirality , 15 : 593-599.

Bergeron , R.J. ; Wiegand , J. ; Weimar , W.R. ; Momanis , J. S. ; Smith , R.E. and Buss , J.L. ; Greene , B.T.;Turner , J. ; Torti , F. M. andTorti , S.V. (2004) . Iron chelators in cancer chemo therapy . Curr .Top .Med .Chem. , 4:1623-1635 .

Beshlawy , A. ; Mohtar , G.; Abd El Ghafar , E; Abd El Dayem , S; El Sayed, M.; Aly , A.A. and Farok , M.(2008). Assessment of puberty in relation to L- carnitine and Hormonal Replacement therapy in β-thalassemicpatients . Journal of Tropical Pediatrics , 54(6):375-381.

Bhagwadin , C. A. (2009) . Formulation and in vivo evaluation of a novel drug delivery system containing achelating agent for the treatment of iron overload. (MSC thesis) , University of West Indies.

Bhathena , J . ; Ali , A. ; Christian , H. ; Patricia , L. ; Tedine , R.; Ali , I.; Mohamed ,C ; Hansen , T. and Velasquez , T. (2003) . Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hyper triglyceridemia and steatosis of liver in an animal model of obesity . Journal of American college of Nutrition , 22 (2) : 157-164 .

Blache, D.; Chagas, L.M.; Blackberrg, M.A.; Vercoe, P.E. and Martin, G.B. (2000).Matabolic factors affecting the reproductive axis in male shepp.Journal of Reproduction and Fertility, 120: 1-11.

Blasko, I. ;Verhuis , R. ; Stampfer ,M. and Saurwein ,N.(2003) .Costimulatory effecs on interferon gamma and inter lukin – beta or tumor necrosis factor alpha on Syn Thesis of Abetal -40

and Abetal – 24 by Human as trocytes . Neuro . Biol .Dis. , 7:682-689.

Blatt , J. and Stitely , S. (1987) . Antineuroblastoma activity of desferoxaminein human cell lines Cancer .Res., 47:1749-1750.

Bodnar ,L. M. ; Cogswell, M.E. and Scanlon ,K.S. (2002). Low income postpartum women and at risk of iron deficiency . J .Nutr. ,132:2298-2302.

Bonkousky, H. L.; Ponka, P. and Bacon, B. R. (1996). An update on Iron metabolism : Summaryof fifth international conference on disorder of Iron metabolism .Hepatology , 24:718-729.

Borgna-Pignatti, C. ;Rugolotto, S. ; De Stefano, P. ; Zhao,H. ; Cappellini, M. D. ;Del Vecchio G. C. ; Romeo, M. A. ;Forni, G. L. ; Gambirini, M. R. ;Ghilardi, R. ; Piga, A. and Cnaan, A. (2004). Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. Haematologica , 89:1187-1193.

Bozan, B. ;Tosun , G. and Ozcam , D. (2008) . Stady of polyphenoliccompounds from red grape marce for use as food lipid an tioxidants . Food Chemistry , 66(2) : 209-215 .

Breazile, J.H. ;Beames, C.G. ; Cardielhac, P. T. and New Comer ,W. S. (1971) . Text book of veterinary physiology .Lea and febiger Philadelphia ,250.

Brittenham , G. M. (2003) . Iron chelators and Toxicity .Alcohol ,30:151-158.

Brittenham, G. M.; Cohen, A. R.; Mclaren, C. E. ; Martin, M. B. ; Griffith, P. M. ; Nienhnis, A. W. ; Young, N. S. ; Allen, C. J. ; Frarrel, D. E. and Harris, J. W. (1993). Hepatic iron stores and plasma ferritin concentration in patients with sickle cell anemia andThalassemia Major. AM. J. Hematol , 42(1) : 81-85.

Britton, R. S.; Tavill, A. S. and Bacon, B. R. (2004).Mechanism of iron toxicity.In : Iron Mechanism in Health and disease by Brock JH, Halliday, J.W.; Pippard, M.J.and Powell, L.M. (Eds). Inc. London : 311-351.

Burea, I.; Lewis, C. S. and Fields, M. (1998). Effect of hepatic Iron on hypercholesterolemia and Hypertriglyceridemia in copper-deficient fructose fed rats. Nutrition, 14:366-371.

Burstein, M. J. (1970). Measurement of HDL. Lipid Res. , 11:583.

Buss,J.L.; Greene, B. T. ;Turner,J.;Torti, F.M. and Torti, S. V. (2004 a).Iron chelators in cancer chemotherapy. Curr. Top. Med. Chem. ,4:1623-1635.

Buss, J.L. ;Neuzil , J. and Ponka , P.(2004 b) . Oxidative stress mediates texicity of pyndoxal isomcotinoyl hydrazone analogs . Arch . Biochem .Biophys. , 421:1-9 .

Cachia , O. ; Benna, J. ; Pedrazzi , E. ; Descomps ,B. ; Gougerot-pocidalo,M. and Leyer ,C. (1998) .Alphatocopherol inhibits the respiratory burst in human moncytes . J. Biochem., 273(49):32801-32805 .

Cao ,X. and Ito, Y. (2003) . Supercritical fluid extraction of grape seed oil and separation of freefatty acids by high –speed counter –current chromatography . J –Chroma ,1021(2):117-124.

Chen, H.; Attieh, Z. k. ; Su, T. ; Syed, B. A. ; Gao, H. ; Alaeddine, R. M. ; Fox, T. C. ;Usta, J. Naylor, C. E. and Evans, R. W. (2004). Hephaestin is a ferroxidase that maintains partialactivity in sex-linked anemia mice. Blood, 103 : 3933-3939.

Cheng, Y.; Zak, O. ;Aisen, P. ; Harrison, S.C. and Walz, T. (2004). Structure of the Human transferring receptor-transferrin complex. Cell, 166 :565-576.

Chien, C.T.; Chang, W.T.; Chen, H.W.; Wang, T.D., Liou, S.Y.; Chen, T.J.; Chang , Y.L. ; Lee, Y.T. and Hsu , S.M. (2004):

AscorbateSupplement Reduces Oxidative Stress in Dyslipidemic Patients Undergoing Aphaeresis Arterioscleroses. Thromb.Vasc. Biol., 24(6): 1111–1117.

Choie, J. W. ; Kim, S. K. and Pai, S. H. (2001). Changes in serum lipid concentration during Iron depleting and after iron supplementation Annals of clinical andliboratory science, 31(2) : 151-157.

Choi, Y. and Lee,J.(2008) .Antioxidant vitamins reduce acute meal-induced memory deficits in adults with type 2 diabetes. Nutrition Research , 28(7):423-429.

Chotkowska, E.; Kurjata, P. and Kupsc, W. (2001). Evaluation of the precision of the friedewalds nsformula for the calculuation of LDL-c concentration in serum . Pol- Merkuriusz- Lek. , 11(64): 348-51.

Chui , T. T. and Green wood , C. E. (2008) . Antioxidant vitamins reduce with type 2- diabestes. Nut .Res. , 28(7):423-429.

Clarke, I.J. and Henry, B.A. (1999).Leptin and reproduction. Journal of Reprodduction and Fertility ,4: 48-55.

Cohen, A.R.; Galanello, R. and Piga, A. (2003). Safety and Effectiveness of Long-TermTherapy with the Oral Iron ChelatorDeferiprone: Blood, 102:1583–1587. (Cited by Piga*et al.,* 2005)

Conrad, M. E. and Umbriet, J. N. (2002).Pathways of Iron absorption. Blood Cell Mol Dis., 29 : 336-355 .

Conrad, M. E.; Umbriet, J. N. and Moore, E. G. (1999). Iron absorption and transport. AM. J. Med. Sci., 18 : 213-229.

Cooper , D.S. (1984). Antithyroiddrugs.NewEngl.J.Med., 311:1353 – 1362.

Cornejo ,P. ;Varela ,P. ;Videla ,L. A. and Fernandez ,V. (2005). Chronic iron overload enhances inducible nitric oxide synthase expression in rat liver –Nitric oxide ,13:54-61.

Dabbagh , A. J. ; Shwaery , G. T. ; Keaney ,J. F. and Frei , B. (1997). Effect of iron overload and deficiency on atherosclerosis in the hyper cholesterolemicrabbit .Arterioscler .Thromb .Vasc .Biol .,17:2638-2645.

Dabbagh, A. J. ;Shawaery, G. T; Keaney, J. F. and Frei, B. (1997). Effects of iron overload and iron defieciency on a Therosclerosis in the hyperchoterolemic rabbit. Arterioscler.Thromb-vase. Boil. , 17:2638-2645.

Dacie, V. and Lewis, S.M. (1995).Practical Hematology. 2nd.ed. Philadelphia, Tokyo., 352-354.

D'Antonio, M.; Borrelli, F.; Datola, A.; Bucci, R.; Mascia, M.; Polletta, P.;Piscitelli, D. and Papoian, R. (1999).Biological characterization of recombinant human follicle stimulating hormone isoforms. Human Reproduction,14 (5): 1160-1167.

Denke, M. (2005). Weighing in before the fight: Low density lipoprotein cholesterol and non –high – density lipoprotein cholesterolversus apolipoprotein B as the best predictor for coranory heart disease and the best measure of therapy . Atheroscler. Thro. Vas. Biol., 112:3368-3377.

Djeha ,A. and Brock ,J. H. (1992). Uptake and intra cellular Handling of iron from trans ferrin and iron chelates by mitogen stimulated mouse lymphocytes .Biochim Biophys Acta. , 113(2):147-152.

Donfrancesko , A. ;Deb , G. ; Dominici , C. ; Pilegyi , D. ; Castello, M. A. and Helson , L.(1990) . Effects of single course of desferoxamine in neuroblastomapatients .Cancer .Res. , 50:4920-4930 .

Duncan, P. and Mahaffey. (1994). Erythrocytes. Veterinary Laboratory Medicine, 3rd ed. Ames, Iowa State University Press, 21-34.

Eldor,A and Rachmilewitz,E.A.(2002) . The hyper coagulablestute in Thalassemia .Blood , 99:36-43.

Englebrecht , A. M. ; Mattheyes,M. ; Ellis , B. ; Loos , B. ; Thomas , M. and Smith ,R. (2007) . Proanthocyanidin from grape seeds inactivates The PI3 – Kinase /PKB pathway and induces apoptosis in colon cancer cell line . Cancer Letters , 258(1) : 144-153 .

Eroschenko,V.P.(2005). Difiore's atlas of histology with functional correlations ,10thed .Lippincott williams and Wilkins,Philadelphia ,339-340 .

Esapa, C.T. and Hariss, P.E. (1999) .Mutation analysis of protein kinase a catalytic subunit in thyroid adenomas and Pituitary tumors. Eur. J. Endocr ., 141 (4): 409-12.

Fan ,P. and Lou , H. (2004) .Effects of phenols from grape seed on oxidative damage to cellular DNA molecular and cellular Biochemistry , 267: 67-74.

Fassati, P. and Principe ,L. (1982). Measurement of Triglyceride. Clin. Chem. , 28:2077.

Feder , J.N.; Gnirke, A.;Thomas ,W.;Tsuchihashi ,Z.; Ruddy, D.A.; Basava, A.; Dormishian , F.; Domingo, J.R.; Ellis, M.C.;Fullan ,A. and Hinton, L.M.(1996). A novel MHC class I-like gene is mutated in patient with hereditary haemochromatosis .Nat . Gent.,13:399-408.

Ferrari, C. K. B. (2000) . Free radicals ,Lipidperoxidation and oxidants in uppoptosis: implications in cancer , cardio vascular and neurological disease .Biologia .Cel. Mol . , 55:581-590.

Fica ,S. ; Alice , A. ; Florentina ,V. ; Carmen .B. ;Roxana ,B. ;Larisa ,N. and Daniela ,M. (2005) .Endocrine disorders inβ-thalassemia major : cross-sectional data –Acta.Endocrinologica , 1(2):201-212.

Fishbane, S. (2007). Iron management in nondialysis-dependent CKD . Am J Kidney Dis. ,49:736-743.

Fleming, D. M.; Trenor, C. C.; Su, A. M. and Foernzler, D. (1997). Microcytic anemia Mice have amulation in Nramp2., a Candidate iron transporter gene. Nat Gent., 16 : 383-386.

Fleming ,R.E. and Sly , W.S.(2002). Mechanism of iron accumulation in Hereditary Hemchrmatosis.Annu . Rev physiol. , 64:663_680 .

Foulkes, W. D. ;Sewry, C. ; Calam, J. and Hodgson, H. J. (1991), Rhabdomyolysis after intramuscular iron-dextran in malabsorption Ann. Rheum. Dis., 50:184-186.

Franchini, M.; Targher, G.; Montagnana, M. and Lippi, M. (2008).Iron and Thrombosis. Ann. Hematol., 87:167-173.

Frary , C. D. ; Johnson , R. K. and Wang , M. Q. (2004) . Children and adolescents choice of foods and beverages high in added sugars are associated with intakes of key nutrients and food groups .J.Adolesc .Health , 34:56-63.

Friedewald, W. T. ; Levy, R. I. and Fredrickson, D. S. (1972). Clin . Chem. , 18:199.

Gamberini, M. R. ; De Sanctis, V. and Gilli, G. (2008). Hypogonadism, diabetes mellitus, hypothyroidism, hypoparathyroidism : incidence and prevalence related to iron overload and chelation therapy in patients with thalassaemia major followed from 1980 to 2007 in the ferrara centre. Pediatr Endocrinol Rev. , 1:158-169.

Ganong, W.F. (2003). The gonads – development and function of the reproductive system , The thyroid gland In : Review of medical

physiology, 21th ed . Alange medical books McGraw – Hill, New York ,320-451 .

Ganz, T. (2003).Hepacidin.A key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. Blood, 102 : 783-788.

Geisser, P. and Burckhardt, S. (2011). The pharmacokinetics and pharmacodynamics of Iron preparations. J. Pharm., 3 : 12-33.

Geisser, P. (2007). Safety and efficacy of iron (III) hydroxide polymaltose complex –Drug- Res., 57:439-452.

Goswami , K. ; Ghosh ,S. ; Bandyopadhyay,M. and Mukherjee , K.L. (2005) .Iron store and free radical in thalassemia Indian Journal of clinical Biochemistry , 20(2): 192-194.

Griffin ,J. E. and Ojeda ,S. R. (2000) . Text book of endocrine physiology (4thed). New York ,N. Y.:Oxford University press.

Grover, A.; Sairam, M.R.; Smith, C.E. and Hermo, L. (2004). Structural andfunctional modification of sertoli cells in the testis of Adult folliclestimulating Hormone receptor knockout Mice. Biology of Reproduction,71: 117-129.

Guo , C. ; Yang , J. ; Wei , J. ; Li , Y. ; Xu ,J. and Jiang , Y. (2003) . Antioxidant activities of peel and seed fractions of common fruits as determinate by FRAP assay .Nutrition .Reserch ,23 :1714-1726 .

Guyton, A.C. and Hall, J.E., (2000). Text book of medical physiology. 6th, ed., Saunders Comp., London, U.K., 307-320.

Hall, J.E. and Adair, T.A. (1998). Review physiology. Lippincott Raven. Publishers.Philadelphia, NewYork ,241-244.

Hasegawa, S.; Rodgers, G.P.; Shio, H.; Schechter, A.N. and Uyesaka, N. (1993). Impaired deformability of Heinz body-forming red cells. Bio.hemato., 30: 275-286.

Haywood, M.; Tymchenko, N.; Spaliviero, J.; Koch, A.; Joimenez, M.; Gromoll, J.; Simoni, M.; Nordhoff, V.; Hundelsman, D.J. and Allan, C.M. (2002). An Activated Humah Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Receptor stimulates FSH-link activity in gonadotropin-deficient transgenic Mice. Molecular Endocrinology ,16(11):2582-2591.

Hedberg ,N.(2009).Understanding thyroid imbalances,Part2. Hawthorn University Live Webinar, 120-127.

Henry ,W. E. ;Miller, E. R. and Bratzler , L. J. (1961) . Myoglobin concentration and color of semimembranosus Hemoglobin and Hematocrit upon tha iron and effect of repeated injections of iron-dextran . Blood J. Anim .Sci. ,20:180-182.

Hentze ,M. W. ; Muckenthaler , M. U. and Andrews ,N. C. (2004). Balancing acts :Molecular control of mammalian iron metabolism .Cell ,117:285-297.

Herbert, V.; Jayatilleke, E.; Shaw, S.; Rosman, A.S.; Giardina, P.; Grady, R.W.; Bowman, B. and Gunter, E.W. (1997). Serum Ferritin Iron, a New Test, Measures Human Body Iron Stores Unconfounded by Inflammation. Stem cells ,15:4:291-296.

Hershko , C. ; Abrahamov , A. ; Konijn , A. M. ; Breuer , W. ; Cabantchik , I. Z. ; Pootrakul , P. and Link , G. (2003) . Objectives and methods of iron chelation theraby .Bioinory .Chem .Appl ., 1:151-168 .

Hershko, C. ;konijn, A. M. and Link, G. (1998). Iron chelatores for Thalassaemia. Br. j. Hematol., 101 : 399-406.

Higuchi ,Y. (2004) . Glutathion depletion-induced chromosomal DNA fragmentation associated with apoptosis and Necrosis- J. Cell. Mol. , 8(4):455-464.

Hillman, R. S. and Ault, K. A. (2002).Haematology in clinical practice.3rd ed., McGraw-Hill.Companies, New York.

Hipler, U.C.; Gornig, M.; Hipler, B.; Romer, W. and Schreiber, G. (2000).Stimulation and scavestrogen-induced inhibition of reactive oxygen species generated by rat sertoli cells. Arch. Androl , 44:147-154.

Hodge, G.; Lloyd, J.V.; Hodge, S.; Story, C. and Han, P. (1999). Immunopheno types observed in thalasaemia and haemophilia patients receiving current blood product prepration . Br. J. Haematol .; 155 (3) :817-825 .

Hoffman ,S. ; Rezigalinska ,B. and Willoughby ,K.(2000) . Astrocytes generate on protenase in Neurotrauma , 17:415-420 .

Holdcraft, R.W. and Braun, R.E. (2004).Hormonal regulation of spermatogenesi . International Journal of Andrology ,27: 335-342.

Hung , L. M. ; Chen , J. K. and Huang , S. S. (2000) . Cardioprotective effect of reveratrol ,anatural antioxidant drived from Grapes . Cardiovas .Res. , 47 (3) : 544- 555.

Hurell, R. F. (1997). Bioavailability of iodine-Eur. j. clin-Nutr., 51(1) : 9-12.Henz, M. W. ;Muckenthater, M. U. and Andrews, Nstress. (2004). Molecular control of mammal iron metabolism. Cell, 177 : 285-297.

Iacopini, P. ; Baldi ,M. ; Storchi , P. and Sebastiani , L. (2008) .Catechin ,epicatechin , quercetin , rutin and reseveutol in red grape : content in vitro antioxidant activity and interactions . J. Food . Com .Ana., 21:589-598 .

Jacob, R.A., (1995): Vitamin C. Modern Nutrition in Health and Disease. 9th ed. Baltimore, MD: William and Wilkins, 467-483.

Jame, M.; May, Z.; .Qu, L.X. and Charles, E., (2000): Cobb Nitrite uptake and metabolism and oxidant stress in human erythrocytes.Am. J. Physiol. Cell Physiol., 279: 1946-1954.

Jiang , R. ; Ma , J. ;Ascherio , A. ; Stampferc , M. J. ; Willett , W. C. and Hu , F. B. (2004) .Dietary iron intake and blood donation in relation to risk of type 2-diabetes in man . Am. J. Clin – Nutv . ,70:70-75 .

Junqueira, L.C. and Carneiro , J. (2003). Basic histology , 10th ed. Lange medical books McGraw- Hill ,New York . 423 - 456 .

Juranek , J. and Bezek ,S. (2005) . Controversy of the free radical Hypothesis : reactive oxygen species-Causes or consequence of tissue injury – Gen physiol Biophys , 24(3):263-278.

Karamifar, H.; Shahriari, M. and Amirhakimi, G.H. (2005).Failure of Puberty and Linear Growth in Beta-thalassemia Major.Turk J. Haematol.,22(2):65-69.

Karthikeyan , K. ; Sarala , B. R. and Niranjali , S. (2007). Grape seed proanthocyanidins ameliorates isoproterenol – induced myocardial injury in rats by stabilizing mitochondrial and lysomalenzymes . Life science , 81:23-24 .

Kaneto, J. J. ;Harrey , J. W. and Bruss, M. L. (1997). Clinical Biochemistryof domestic animals . 5thend . Academic press-London , 932.

Kerksick , C. and Willoughby . D.(2005) . The antioxidant vole of glutathione and N – Acetyl –Cysteine Supplements and exercise – Induced oxidative strees . J. Int .Soc. Sports .Nutr. , 2(2) : 38-44.

KeYa . (2006). Iron metabolism and disorders. Asian Journal of pharmocodynamies and pharmaco-kinetics, 6(1) : 5-8.

Khan, M. F. ; Wu, X. and Alcock, N. W. (1999). Iron exacerbates aniline-associated splenic toxicity. J. Toxicol., Environ. Health , 57:173-184.

Kim ,R.B. ;David ,M.F. ;Sarah ,J.W. ;Jeanett , L. D. ;David ,M. P. and Darell, H. G. (2003) . Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochormatosis and the liver as regulator of Body iron homeostasis –Copyright ,361:669-973.

Kim , S. ; Jeong , S. ; Park , W. ; Nam , K. C. ; Ahn , D. and Lee, S. (2006) . Effect of heating conditions of grape seeds on The oxidant activity of grape seed extract . Food Chemistry .97 : 472-479 .

Kirk, E. A.; Heinicke, J. W. and Leboeuf, R. C. (2001). Iron overload diminish a Therosclerosis in a poEdificient mice-J clinical invest., 107 (12) : 1545-1553.

Kohgo, Y. ;Ikuta, K.; Ohtake, T.; Torimoto, Y. and Koto, J. (2008). Body iron metabolism and pathology of iron overload, int. J. Hematol., 88(1) : 7-15.

Kojima, M.;Masui, T.; Nemoto, K. and Degawa, M. (2004) Lead nitrate induced development of hypercholesterolemia in rats: sterol independent gene regulation of hepatic enzymes responsible for cholesterol homeostasis.Toxicol Lett.,154:35-44.

Konijin ,M.(2004) . Proten Overlood .FADEB .J. 16(10) :1298 .

Kuchel, P.W. and Fackerell, E.D., (1999): Parametric-equation Representation of biconcave erythrocytes. Bull. Math. Biol., 61: 209-220.

Lafka , T. ; Sinanoglou , V. and Lazos , E. S. (2007) . On The extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes . Food Chemistry , 104 (3) : 1206-1214 .

Larade , K. and Storey, K. B. (2004) . Accumulation and transulation of ferritin heary chain transcriptis following anoxia exposure in marine invertebrate . Journal of Experimental Biology ,207(8):1353.

Li, M. ; Viravaidya , C. and Mann , S.(2007).Polymer-Mediated Synthesis of Ferritin-Encapsulated Inorganic Nanoparticles . Small , 3(9):1477.

Lieu, P. T.; Heiskala, M.; Peterson, P. A. and Yang, Y. (2001).The roles of iron in Health and disease.Mol Aspect Med., 22 : 1-87.

Lim, C. S. and Vaziri, N. D. (2004). The effect of Iron dextrin on The oxidative stress in Cardio vascular tissue of rats with chronic renal failure. Kidney International J., 65 : 1802-1809.

Liu, Z.D. and Hider , R.C. (2002). Design of iron chelators with The rapeuticapplication .Courd .Chem . Rev.,232:151-171.

Lloyd, K. N. and Williams, P. (1970).Reactions to total dose infusion of iron dextran in rheumatoid arthritis. Br. Med. J. ,11:323-325.

Livingestone , C. and Davis, J.(2007) . Review : Targeting Therapeutics against glutaThion depletion in diabetes and its Complications , The British Journal of Diabetes and Vascular disease , 7(6) : 258-265.

Lonsdale, D.; Shamberger, R.J.; Stahl, J.P. and Evans, R., (1999): Evaluation of the Biochemical Effects of Administration of Intravenous Nutrients using Erythrocyte ATP/ADP Ratios. Alternative Medicine Review, 4(1): 37-44.

Luque –Rodriguez ,J. M.; Luque de Castro, M. D. and Perez-Juan, P. (2005).Extraction of acids from grape seed by superheated hexane . J. Science Direct ,68:126-130.

Macdougall, I. C. (1999). Strategies for iron supplementation : oral versus intravenous. Kidney international., 69 : 61-66.

Mahachoklertwattana, P.; Sirikulchayanonta, V.; Chuansumrit, A. ; Karnsombat, P.; Choubtum, L.; Sriphrapradang, A.; Domrongkitchaiporn, S.; Sirisriro, R. and Rajatanavin, R. (2003). Bone Histomorphometry in Children and Adolescents

with β thalassemia Disease: Iron Associated Focal Osteomalacia.J.Clin.Endocrinol Metab. ,88(8):3966-3972.

Maheswari, M. U. and Rao, P. G. M. (2005). Antihepatotoxic effect of grape seed oil in rat . Indian J. Pharmacol ,37(3):179-182.

Maier ,I. ; Schieber , A. ; Kammerer ,D. R. and Carle , R. (2009) . Residues of grape (*Vitis vinifera L.)* Seed oil production as valuable resorce of phenol antioxidant . Food Chemistry , 112:551-559 .

Majumdar, S.S.; Winters, S.J. and Plant, T.M. (1997). A study of the relative roles of follicle stimulating Hormone and luteinzingHorme in the regulation of testicular inhibin secretion in the Rhesus Monkey (*Macaca mulatto*).Endocrinology ,138(4): 1363-1373.

Marshall, W.J. (1992). Clinical chemistry.Second edition. Cower MedicalPublishing, London, New York,157-158.

Mateo-Galleqo,R. ;Solanas-Barca,M. ; Burillo,E. ;Cenarro,A. and Civeira, M.(2010). Iron deposits and dietary patterns in familial combined hyperlipidemia and familial hyper triglyceridemia.J. Physiol. Biochem . , 3:36-45.

May, J.M.; Qu, Z.C. and Mendiratta, S. (1998): Protection and recycling of α-tocopherol in human erythrocytes by intracellular ascorbic acid. Arch. Biochem. Biophys., 349: 281-289.

Mazza , G. J. (2007) . Anthocyanins and heart health .Annali .Dell .istituto . Superior .Di Sanita , 43(4):369-374 .

Mckie, A. T.; Barrow, D.; Latunde-Dada, G.O.; Rolfs, A.; Sager, G.; Mudaly, M.; Richardson, C. and Bomford, A. (2001). An iron regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. Science, 291 : 1755-1759.

Meral, A.; Tuncel, P.; Surmen, E.;Ozbek, R.; Ozturk, E. and Gunay, U. (2000). Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in**β**-thalassemia: PediatricHematology and Oncology, 17:687- 693.

Michael, S. T. (2007). Iron overload cardiomyopathy Associated with Iron overload conditions. Health Journal, 11(3):1-6.

Moos ,T. and Morgan , E. H. (2004) . The metabolism of neuronal iron and its pathogenic role in neurological disease .Ann N. Y. Acad. Sci. ,10(12):14-26.

Morris, J. G., A. C. Wright, L. M. Simpson, P. K. Wood, D. E. Johnson, and J. D. Oliver.(1987). Virulence of *Vibrio vulnificus*: association with utilization of transferrin-bound iron, and lack of correlation with levels of cytotoxin or protease production. FEMS Microbiol. Lett. , 40:55–59.

Morgado , N. ; Attitio , R. and Valenzuela , A. (2005) . Comparative effect of fish oil feeding and other Dietary fatty acids on plasma lipoproteins , Biliary lipids and hepatic expression of proteins . Involved in Reverse cholesterol transport in the rat . Nutrition and metabolism , 49:397-406.

Morgan, E. H. (1981) ; transferring biochemistry. Mol. Aspects. Med., 4 : 1-123.

Muslih, B., Mizil Y. O. and Al-Nimer, M. S. (2001). Detection The level of peroxynitrite, and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction. National J. of Chemistry , (4):625-637.

Nash , D. T. (1993) . Grape seed olianatural agent which raises serum HDL levels , J. AM. Col .Cardiol ., 21:318- 320 .

Natella, F.; Belleli, F.; Gentili, V.; Ursini, F. and Scaccini, C. (2002). Grape sea proanthocyanidins prevent plasma postprondial oxidative stress in Humans. J. Agric food chem., 26:7720- 7725.

Neufeld, E. J. (2006). Oral chelators of desferasirox and deferiprone for transfusional iron overload in Thalassemia. Blood.J. , 107 : 3436-3441.

Nguyen, K.; Massy, Z.A. and Park, J.B. (2001): Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. Nephrol. Dial., 16: 335-40.

Okada, Y.; Murota-Kawano, A.; Kakar, S.S. and Winters, S.J. (2003). Evidencethat gonadotropin-releasing hormone (GnPH)II Stimulates Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone secretion from monkey pituitary cultures by activating the GnPH I receptor. Biology of Production ,69: 1356-1361.

Olivieri , N. F. and Brittenharm , G.M. (1997) . Iron – chelating Therapy and The treatment of Thalassemia . Blood, 89:739-761 .

Olivieri, N.F. (1999). The β-thalassemias.ThenewEngland J. of medicine , 34(2): 99-109.

Orino, K., Tsuji, Y.; Ayaki, H.; Torti, S. V. and Torti, F. M. (2001). Ferritin and the Response to Oxidative stress. Bioch. J., 357:241-247.

Ozguner ,M. and Sayin , N. (2002) . Histological changes in rat liver after chronic iron – sorbitol overload . Journal of Ankara medical school , 24(2):49-54.

Paoletti,J.(2008).Hypothyroidism,Functional Hypothyroidism, and Functional Metabolism. International Journal of Pharmaceutical Compounding ,12(6):489---97.

Papanikolaou, G. and Pantopoulos, K. (2005). Iron metabolism and toxicity-Toxicol. Appl.Pharmacol. , 202 : 199-211.

Park, S. E.; Twardowski Z. J.; Moore H. L.; Khanna, R. and Nolph, K. D. (1997). Chonic administration of iron dextran into pretonal cavity of rats. Peritoneal dialysis international , 17 : 174-185.

Park, T.R.; Lynch, G.R. and Tsai, P.S. (2001).Testosterone and Estrogen Act via differentpatheays to inhibit puberty in the male siberion Hamster (Phodopussungorus).Endocrinology ,142(8): 3309-3316.

Parry, J. ; Su ,L. ;Luther , M. ; Zhou, K. ; Yurawec ,Z. M. P. and Whittaker ,P. (2005) . Fatty aceid composition and antioxidant properities of cold –pressed marioberry ,Soysenbery , red raspberry and blue berry seed oils . J. Ary .Food.Chem . 53(3):566-573.

Perera, D.; Arnold, P.; Alastair, C.; Maurice, K.; John, P.; Mary P.; Irvine, D. S. and Chatterjee,R.(2002). Sperm DNA Damage in Potentially Fertile Homozygous β-thalassemia Patients with Iron Overload.Human Reproduction, 17(7): 1820-1825.

Piga, A. ;Roggero,S.; Vinciguerra,T.; Sacchetti,L.; Gallo,V. and Longo, F.(2005). Deferiprone: New Insight. Ann.N.Y. Acad. Sci., 1054: 169–174.

Piga, A.; Gaglioti, C. ;Forgliacco, E. and Tricta, F. (2003). Comparative effects of deferiprone and desferoxamine on survival and cardiac disease in patients with B-Thalassemia major.Hemodyica, 88:489-496.

Pippard, M. J. (1994).Secondary iron overload.In Brock JH, Halliday JW, pippard MJ, Powell LW, (Ed). Iron metabolism in Health and disease. Philadelphia : WB Saunders, 271-309.

Pirinccioglu, A. G. ;Deniz,T. ; Gokalp,D. ;Beyazit, N. ; Haspolat, K. and Soker, M.(2011). Assessment of thyroid function in children aged 1-13 years with beta – thalassemia major. Iran J. Pediatr ,21(1): 77-82.

Pischon , T. ; Girman, C.; Saks, F.; Rifai, N. and Rimm, E. (2005) **.**Non-high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the prediction of coronary heart disease in men . Circulation, 112:3375-3383.

Ponka, P. (1999). Cellular iron metabolism, kidney international, 55(69) : 2-11.

Porth , C.M. (1994). Control of thyroid function in patho physiology, 4thed. Lippincott, Philadelphia,912 – 914.

Prakash, S. and Joshi, Y.K. (2004). Assessment of micronutrient antioxidants. Total antioxidant capacity and lipid peroxidation level in liver cirrhosis. Asia. Pac. J. Clin. Nutr., 13: 110.

Presnell, J.K. and Schreibman, M.P. (1997).Humason's animal tissue techniques, 5thedn., John Hopkins Univ. Press, Balfimore, 546.

Ramm , G. A. and Ruddell , R. G. (2005). Hepatoxicity of iron overloed , mechanisms of iron induced hepatic fibrogenesis . Semin .Liver .Dis . , 25:433-449.

Ramm, G. A. ;Grawford, D. H. ; powell, L. W.; Walker, N. I ; Fletcher, L. M. and Halliday, J. W. (1997). Hepatic Stellate Cell Activation in Genetic Haemochromatosis. J. Hematol., 26(3) : 584-592.

Rees, T.J. (1993). The toxicology of male reproduction. M.Sc. Portsmouth university.

Reub , J.C.;Dreming , E.; Lambort, S.W. and Kvols, L. (1992). In vitro detection of somato statin receptors in human tumor .Metab., 41(9):104-10.

Richardson , D. R. (2003) . Friedreichsataxia : iron chelators . That target The mitochondrion as a Therapeutic strategy .Expert .OpinInvestig .Druys ., 12:235-245 .

Richardson, D. R. and Ponka, P. (1997). The molecular mechanisms of the metabolism and transport of iron in normal and neoplastic cells.Biochem.Biophys.Acta., 1331 : 1-40.

Richardson, D. R. (2002). Iron chelators as Therapeutic agents for the treatment of Cancer. J. Lab. Clin-Med., 137 : 324-329.

Richardson, D. R. (2004). Mysteries of the transferring-transferrin receptor 1 interaction uncovered. Cell, 116 : 483-489.

Rigol. M.; Solanes,N. ; Roque, M. ; Farre, J. ;Batlle, M. ;Roura, S. ; Bellera, N. ;Prat-Vidal, C. ; Sionis, A. ;Ramirez, J. ;Sitges, M. ; Sanz, G. ; Bayes-Genis, A. and Heras, M.(2008).Hemosiderin deposits confounds tracking of iron-oxide-labeled stem cells : an experimental study. Transplantation Proceeding , 40:3619-3622.

Ristic ,S;Lvrecic,L. and Brajenvic-Milic,B. (2005). Mutations in The Hemochromatosis gene (HFE) and multiple sclerosis .Neurosci .Lett., 383:301_304.

Robertson, J.E.; Christopher, M.M. and Rogers, Q.R. (1998): Heinz body formation in cats fed baby food containing onion powder. J. Am. Vet. Med. Assoc., 212: 1260-1266.

Robertson, K.M.; O'Donnell, L.; Jones, M.E.E.; Mechem, J.J.; Boon, W.C.; Fisher, C.R.; Graves, K.H.; Mclachlan, R.I. and Simpson, E.R. (1999). Impairment of spermatogenesis in mice lacking a functional aromatas (cypla)gene. Pro.Nath. Acad. Sci. ,96: 7986-7991.

Rodak, B. F. (1995).Diagnostic Haematology. W.B. Saunders Company .Philadelphia, London, Toronto , 182 .

Rodak, S. B. (2002). Hematological clinical principles and application. 2nd ed. ,WB . Saunders Company .Philadelphia, London, Toronto, 156.

Rottkamp , C. A. ;Nunomura , A.; Raina .A.K.; Sayre, L. M. ;Perry. G. and Smith M.A.(2001). Oxidative stress , antioxidants, and Alzheimers disease . Alzheimer Disease and Associated Disorders , 14:62-66.

Rubenstein, D. ;Wayne,D. and Bradley,J. (2003). Lecture notes on clinical medicine .6th ed . Blackwell science Ltd. ,765.

Rubio , J.P. ;Bahlo, M. and Tubridy , N. (2004) . Extended hapotype analysis in The HLA _ (282 Ymutatin in individuas with multiple Scerosis Hum Gent . 114:573_580.

Sangeetha,P.; Balu,M. ;Haripriya,D. and Panneerselvam,C.(2005).Age associated changes in erythro cyte membrome surface charge : modulatory role of grape seed proanthocyanidins . Experimental Gerontogy ,40(10):820-828.

Sanyeetha ,P. ; Balu, M. ; Haripriya , K. ; and Pannerrselvam , C. (2005) . Age assocated changes in erythrocyte membrane surface charg : modulatory Role of Grape seed proanthocyanidins .Experimental Geontogy , 369-374.

Sargent, P. J.; Farnaud, S. and Evans, R. W. (2005). Structure / function overview of proteins involved in iron storage and transport. Cur. Med. Chem., 12 (23) : 2683-2693.

Schmaier, A.H. and Petruzzelli, L.M. (2003).Hematology for the medical student.Lippincott Williams and Wilkins,259.

Scholl, T.O.; Hediger, M. L.; fischer, R. L. and Sheqrer, J. W. (1995). Iron deficiency increased risk of preterm delivery in prospective study. Am. Clin. Nutr., 55 : 985-988.

Schrier , S.L. ; Centis , F. ; Verneris , M. ; Ma , l. and Angelucci , E. (2003) . The role of oxidant injury in the pathophysiology of human thalassemia .Redox.Rep. , 8:241- 245.

Schubert, R.L.; Narayan, P. and Puett, D. (2003). Specificity of cognate Ligand Receptor Interactions: Fusion proteins of human chorionic gonadotropinand the heptahelical receptor for human luteinizing hormone, and Follicle Stimulating Hormone. Endocrinology, 144(1): 129-137.

Schulz, J. ;Linder ,J. and Seyfried, J. (2003) .Glutatheory,oxidative stress and neuro degeneration-Eur.J. Biochem., 267:4904-4911.

Schumann, K.; Elsenhans, B.; Ehtecham and Forth, C. W. (1998). Iron Supplementation. J. trace Elem Med. Biol., 12 : 129-140.

Seeley , R.R.; Stephens , T.D. and Tate , P. H. (1998). Thyroid gland In: anatomy and physiology , 4thed.WCB, McGraw- Hill ,New York , 550-555.

Severyn,C.J. ;Shinde, U. and Rotwein, P. (2009).Molecular biology ,genetics and biochemistry of the repulsive guidance molecule family .Biochem.J. ,422(3):393-403.

Shalitin, S.; Carmi, O.; Weintrob, N.; Phillip, M.; Miskin, H.; Kornreich, L.;Zilber, R.; Yaniv, I. ; and Tamary, H. (2005). Serum Ferritin Level as a Predictor of Impaired Growth and Puberty in Thalassemia Major Patients: Eur.J. Haematol., 74:32-43.

Salsaa, B. and Zoumbos, C. (1997). A Distinct Pattern of Cytokine Production from Blood Mononuclear Cells in Multi-transfused Patients with β-thalassemia. Clin Exp Immunol, 107:589-592.

Shamsian, B. S. ;Arzanian, M. T. ; Sham shiri, A.R. ; Alavi ,S. and Khojasteh ,O. (2008). Frequency of Rey Cell Alloimmunization in patients with β Mujor Thalassemia in an Iranian Referral Hospital. Iran J. prediator , 18(2):149-153.

Sharma ,S. D. and Kaliyar , S. K. (2006) . Diexary grape seed pro antho – cyanidin inhibition of ultraviolet B-induced immune

suppression is associated with induction of IL-12 Carcinogenesis , 27(1):95-102 .

Shih, C.; Wu, Y. and Lin, W. (2002). Antihyperglycaemic and antioxidant properties of anoectochilus formosanus in diabetic rats. J. Clin and Experimental Pharmacol and Physiol., 29 : 684-688.

Shochaski ,M. A. ;Bartfay ,W. J. ;Thorpe ,S. R. ; Baynes ,J. W. and Bartfay ,E. (2002) .Lipid peroxidation and protein modification in mouse model of chronic iron overload –Metabolism , 51:645-651.

Smith , W. L. (2007) . Nutritionally essential fatty acids on biologically indispensable cycloxygenase – Biochem –Science . 33(1):27-37.

Spivak , J.L. (2002) . Iron and anemia of chronic disease .Oncology , 16 : 25-33.

Spss .(1999). Statistical packages social sciences , Verion 10 .USA

Stuhlmeier, K.M.; Kao, J.J.; Wallbrandt, P.; Lindberg, M.; Hammarstrom , B.; Broell, H. and Paigen, B. (2003): Antioxidant protein 2 prevents methemoglobin formation in erythrocyte hemolysates. Eur.J. Biochem., 270(2): 334-341.

Svoboda ,M. and Drabek , J. (2007) . Intramuscular versus subcutaneous administration of Iron dextran in Suckling Pig lets .Actavet . BRNO. ,76:11-15.

Svoboda, M.; Drabek, J. ;Poloskova, J. and Synkova, B. (2006). Effect of a single oral administration iron fumarate on hematological indicesand oxidant status in piglets Bull. Vet. Inst. Pulaway ., 50:543-548.

Szkudlinski ,M.W.; Fremont , V.; Ronin, C. and Weintraub, B. D. (2002). Thyroid – stimulating hormone and thyroid stimulating hormone receptor structure – function relation ship. Physiol. Rev., 82 (2):473-502.

Tam , T. F. ;Leung-Toung , R. ; L .W.; Wung , K. , Karimin , K. and Spine , M. (2003) . Iron chelatorresenre h:past presen and future . Cur-Med . Chem., 10:983-995.

Tesoriere, L.; Butera, D.; Pintaudi, A.M.; Allegra, M. and Livrea, M.A. (2004): Supplementation with cactus pear (Opuntiaficus-indica) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. Am. J. Clinical. Nutrition , 80(2): 391-395.

Turbino_Ribeiro, S. M. L.; Silva, M. E. ; Chianca, D. A. ; De Paula, H.; Cardosa, L. M. and Colombari, E.(2003). Iron overload in Hyper cholesterolemic Rats Affects iron Homeostasis and Serum Lipid but not Blood pressure. J. Nutr., 133:15-20.

Ulloa-Aguirre, A.; Timossi, C. and Mendez, J.P. (2001). Is there any physiological role for gonadotrophin Oligosacchairde heterogeneity in human?, Human Reproduction ,16(4): 599-604.

Ulloa-Auirre, A. and Timossi, C. (1998).Structure-Function relationship of follicle-stimulating hormone and it'sreceplore. Human Reproduction Update , 4(3): 260-283.

Valko, M. ;Leibritz ,D. ; Moncol, J. ; Cronin, M. ; Mazur, M. and Telser, J. (2007) . Free radicals and anyloxidants in normal physiological functions and Human disease .Int. J.Biochem. Cell Biol. , 39(1):44-84.

Vulpe, C.D. ;Kuo, Y. M.; Murphy, T. L ; Cowley, L. ; Askwith, C. ; Libina, N.; Gistachier, J. and Anderson, G. j. (1999). Hephaestin, a

ceruloplasmin homolog implicated in intestinal iron transport, is defetive in sla mouse. Nat. Genet , 21 : 195-199.

Wen ,Y. ; Killales, S. ; Norris,L. A. ; Cooke, T. and Feely ,J. (1999). Vitamin E supplementaetion in hyperlipidaemic patients : effect of increasing doses on vitro and low –density lipoprotein oxidation . Eur. J. Clin . Invest., 29:1027-1034.

Widad ,N.M. ; Al-Naama , L . and Meaad . (2003) . Trace element in patients with B -Thalassemia Majr .Haem., 6 (3):376 - 383 .

Willis , G. ; Scott , D. G. ; Jennings B. A. ; Smith , K. ; Bukhari , M. and Wimpens , Z. (2002) . HFE mutations in an inflammatory arthritis population – Rheumatology , 41:176-179 .

Wolmsley, R. N. and White, G . H. (1988).Aguide to diagnostic clinical chemistry. 2 nd,ed.Blackwell Scientific Publications.Oxford, 78.

Wong , C. and Richardson, D. R. (2003) . B Thalassemia :emeryence of new and improved Iron chelators for treatment . Int .Biochem , Cell . Biol. , 35:1144-1149 .

Yazigi, A.; Maalout, G.; Khoriati, A.I.; Tamim, H.; and Saab, C.(2002). Bone Mineral Density in Beta-thalassemic Lebanese Children. J. Musculosked Neuron Interact , 2(5): 463-468.

Yip ,R. and Dallman ,P. R. (1996). Iron in :Zieyler ,E.E. ; Filer, L.J. (eds) .pre sent knowledge of nutrition(7thEd),ILSI press, Washington DC . ,278-292 .

Zern , T. L. ; West , K. L. and Fernandez ,M. L. (2003) . Grape poly phenols decrease plasma trilycerides and cholesterol accumulation in The aorta of ovariectomized guinea pigs . The Journal of Nutrition ,133 : 2268-2272 .

Zern , T.L. ; Wood , R. J. ; Greene , C. ; West ,K. L. ; Liu ,Y. ; Aggarwal , D. ; Schter , N. S. and Fernandez , M. L. (2005) . Grape poly phenols exert acardio-protective effect in pre and post menopausal

women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress . J. Nutration , 135:1911-1917 .

Zervas, A.; Katopodi, A.; Protonotariou, A. ; Livads, S.; Karagiorga, M.; Politis, C. and Tolis, G. (2002). Assessment of Thyroid Function in two HandredPatiets with β-thalassemia. Major , 12 (2):151-154.

Summary

This study was carried out to investigate the protective role of black grape seeds oil *Vitis vinifera* on hepatic , testes and thyroid damage induced by iron overload in male rabbits .

The Experiment 1 was aimed to chemicaly extracting of the oil from black grape seeds by using hexan as an organic solvent employing sexhlet apparatus .The effective dose (ED50) of black grape seeds oil was determined in second experiment by studying the dose response curve. Twenty five adult male rabbits were divided randomly into five equal groups (5/ group) and were intubated orally for four weeks with four successive increasing daily doses of black grape seeds oil (0.25, 0.50, 0.75 and 1 ml/ kg /B.W) . Fasting blood samples were collected at pretreated period and after the end of experiment to study the following parameters : a serum Malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), total cholesterol (TC), and High density lipoprotein (HDL) . The ED50 of black grape seeds oil was found to be equal to 0.5 ml/kg /B.W .

The third experiment was aimed to study the protective role of black grape seeds oil aganist the deleterious effect of iron overload on Liver , testes and thyroid functions . Twenty five adult male rabbits were divided into five groups (5/group) , the first group was injected with 20 ml/kg normal saline and served as control group (G1) . Rabbits in the second group were injected with 20 ml/kg iron dextran with one dose in the first week , two in the second week , three in the third week and four doses in the fourth week (G2). Rabbits in the third group (G3) were inject with 20 mg/kg iron dextran and intubated orally and daily with ED50 of black grape seeds oil which equal to 0.5 l/kg , while the rabbits in the fourth group (G4) were injected 20 mg/kg iron dextran coupled with SC injection 10 mg/kg desferrioxamine at one dose in the first week , two in the second week , three in the third week and four dose in the fourth week for each one . Rabbits of the last group(G5) were injected 20 mg/kg iron dextran, 10 mg/kg desferrioxamine and 0.5 ml/kg black seeds oil.

Fasting blood samples were collected from fasted rabbits at pretreated period , after two weeks and at the end of experiment to study the following parameters : PCV, Hb, RBC, MCV, MCH, MCHC, WBC; the concentration of lipid profile(TC, TAG, HDL, LDL and VLDL) ;the concentration of Free iron, TIBC, Ferritin, Transferrin; ; the concentration of some of gonadal hormones (FSH, LH and Testosterone) and the concentration of thyroid hormones (TSH ,T_3 and T_4).

The results revealed intramuscular injection of iron dextran caused significant decrease ($p<0.05$) in concentration of : PCV, Hb, RBC , MCV, MCH , MCHC , TIBC, FSH , LH ,testosterone T_3 and T_4 ; and significant increase ($p<0.05$) in concentration of : WBC, TC, LDL, Free iron , Ferritin, Transferrin and TSH, However no significant difference was observed in TAG and VLDL comparative with control group.

The group that treated with ED50 of black grape seeds oil and exposed to iron overload by iron dextran revealed significant increase ($p<0.05$) in iron and its transporter (ferritin and transferrin) and significant decrease ($p<0.05$) in TIBC and Testosterone , while no significant difference was observed in PCV, Hb, RBC, MCV, MCH, MCHC, TC, TAG, HDL, LDL, VLDL, FSH ,LH ,TSH ,T_3 and T_4 .

The group that was exposed to injection with desferrioxamine revealed significant increase ($p<0.05$) in concentrations of WBC , LDL, free iron, ferritin, transferrin and TSH ; and significant decrease ($p<0.05$) in PCV, Hb, RBC, HDL, TIBC, FSH, LH, Testosterone T_3 and T_4 , while no significant difference was observed in MCV, MCH, MCHC, TC, TAG and VLDL. The results also have showed that oral gavages of grape seeds oil with injection of desferrioxamine caused significant correction of the previous parameters manifested by significant elevation ($p<0.05$) in concentrations of : PCV, Hb, RBC, , FSH, LH, testosterone and T_3 ; and significant decrease ($p<0.05$) in serum LDL and ferritin while no significant difference was observed in concentrations of : MCV, MCH, MCHC, WBC, TC, TAG, HDL, VLDL, free iron, TIBC, transferrin, TSH and T_4.

Histological results from rabbits treated with iron overload have showed deposits of iron as hemosiderin in liver , damage of seminiferous tubules of testes and significant decrease of colloid in thyroid follicles, while the results showed absent deposits of Hemosiderin in the liver as well as normal feature of seminiferous tubules of testes and no significant difference was observed in thyroid tissue after oral gavages of ED50 grape seeds oil comparative with control group.

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

Ministry of Higher Education

And scientific Research

University of Kerbala-Education Collage

PROTECTIVE ROLE OF GRAPE SEEDS OIL (*Vitis vinifera*) ON SOME PHYSIOLOGICAL AND HORMONAL CHANGES INDUCED BY IRON OVERLOAD IN MALE RABBITS

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

BY

Heba Alwaan Abd-Alsalam Alsalame

Supervised by

Professor Dr.
Saad H. Abd-Altaf

Assist Professor Dr .
Wefak Gaborry Al-Bazii

2011 A.D **1432 A.H.**