جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء – كلية التربية

بعض التغيرات الوظيفية والنسجية المتسببة عن فرط الحديد في ذكور الأرانب

رسالة مقدمة

إلى مجلس كلية التربية – جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في علوم الحياة / علم الحيوان

من قبل

حيدر بخيت عباس الكريطي

بإشراف

أ.م.د وفاق جبوري البازي

م.د هيام عبد الرضا العواد

1432 هـ

2011 م

بِسْمِ اللّهِ الـرَّحْمَنِ
الـرَّحِيمِ
قَـالُـواْ سُبْحَـانَـكَ لاَ عِلْمَ
لَـنَـا إِلاَّ مَـا عَلَّمْتَـنَـا
إِنَّـكَ أَنـتَ الْـعَلِيمُ
الْـحَكِيمُ #
صدق الله العلي العظيم

(سورة البقرة : الآية 32)

قرار لجنة المناقشة

نشـــهد نحـــن أعضـــاء لجنـــة التقـــويم و المناقشـــة ، قـــد اطلعنـــا علـــى الرســـالة الموســـومة (**بعـــض التغيـــرات الوظيفيـــة والنســـجية المتســـببة عـــن فـــرط الحديـــد فـــي ذكـــور الأرانـــب**) وقـــد ناقشـــنا الطالـــب (**حيـــدر بخيـــت عبـــاس**) فـــي محتوياتهـــا وفيمـــا لـــه علاقـــة بهـــا ، ونعتقـــد أنهـــا جـــديرة بالقبول بتقدير (امتياز) لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة فرع الحيوان .

التوقيع
الأستاذ المساعد الدكتور
خالصة كاظم خضير
كلية الطب البيطري – جامعة بغداد / رئيساً

التوقيع
الأستاذ المساعد الدكتور
عدنان وحيد البديري
كلية الطب – جامعة القادسية / عضواً

التوقيع
الأستاذ المساعد
حسين علي عبد اللطيف
كلية التربية – جامعة كربلاء/ عضواً

التوقيع
المدرس الدكتور
هيام عبد الرضا كريم
كلية التربية – جامعة كربلاء/ مشرفاً

التوقيع
الأستاذ المساعد الدكتور
وفاق جبوري محمد البازي
كلية التربية – جامعة كربلاء/ مشرفاً

التوقيع
الأستاذ المساعد الدكتور
حسين كاظم القطب
عميد كلية التربية
التاريخ ٢٠/ ٥ /٢٠١١

إقرار المشرفين

نشهد بأن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافنا في جامعة كربلاء- كلية التربية/قسم علوم الحياة، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/علم الحيوان .

اسم المشرف: د. وفاق جبوري البازي
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية التربية/جامعة كربلاء
التوقيع:
التاريخ: ٢٠/ ٢/ ٢٠١١

اسم المشرف: د.هيام عبد الرضا العواد
المرتبة العلمية: مدرس
العنوان: كلية التربية/جامعة كربلاء
التوقيع:
التاريخ: ٢٣/ ٢/ ٢٠١١

توصية السيـــــــد رئيس القســـــــم

استنادا إلى التوصيات المقدمة من الأستاذين المشرفين، أرشح هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع :
رئيس القسم : د. قيس حسين السماك
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
الكلية والجامعة : كلية التربية - جامعة كربلاء
التاريخ : ٢٠ / ٢ / ٢٠١١

إقرار المقوم اللغوي

إني (احمد صبيح محيسن) المقوم اللغوي لرسالة طالب الماجستير (حيدر بخيت عباس الكريطي) الموسومة ب (بعض التغيرات الوظيفية والنسجية المتسببة عن فرط الحديد في ذكور الأرانب) أقر وأؤيد سلامتها اللغوية وصلاحيتها للمناقشة لاستيفائها متطلبات هذا الجانب .

التوقيع :

اسم المقوم اللغوي:

م. احمد صبيح محيسن

التاريخ : ١٧ / ١٢ / 2011

الإهداء

إلى من بعثه الله رحمة للعالمين أبي القاسم محمد عليه وعلى آله أفضل الصلاة وأتم التسليم.

إلى والدي العزيز.....رحمه الله

إلى والدتي العزيزة.....رعاها الله

إلى التي شاركتني الهم والعناء.....زوجتي

إلى أطفالي الأعزاء.....

إلى كل من همه أمري.....

أهدي هذا الجهد المتواضع.....

حيدر

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد المرسلين محمد واله وصحبه المنتجبين إلى يوم الدين أما بعد...

فيطيب لي وأنا انهي دراستي ان أتقدم بخالص الشكر والامتنان إلى الاستاذين المشرفين الدكتورة وفاق جبوري البازي والدكتورة هيام عبد الرضا العواد لما قامتا به من جهود كبيرة اثناء تنفيذ العمل البحثي ولمتابعتهما المستمرة في اعداد الرسالة وإظهارها بالشكل العلمي اللائق، فجزاهما الله عني أفضل الجزاء.

كما أتقدم بالشكر والامتنان الى رئاسة جامعة كربلاء وعمادة كليةالتربية ورئاسة قسم علوم الحياة لما قدموه من مساعدة في تسهيل إكمال دراستي.

ويسعدني ان اتقدم بجزيل الشكر ووافر الامتنان الى الدكتور عبد الأمير عودة الكريطي -عميد كلية الطب البيطري- جامعة كربلاء لما قدمه من مساعدة كبيرة في تشخيص المقاطع النسجية.

وأتوجه بالشكر إلى كل من قدم لي المساعدة من أفراد عائلتي وزملائي من طلبة الماجستير واخص بالذكر الأخ فائزأمير وأقدم شكري وتقديري إلى السيد احسان الطالقاني لما أبداه من مساعدة في أجراء التحليل الإحصائي .

واخيرآ أتقدم بالشكر والتقدير الى كل من ابدى لي النصيحة القيمة والتوجيه نحو الطريق الاصح في البحث العلمي والله ولي التوفيق .

الخلاصة

تهدف الدراسة إلى معرفة تأثيرالإجهاد التأكسدي المستحث من فرط الحديد في ذكور الأرانب المحلية و الدور الوقائي لفيتامين E ضد ضرر الأكسدة .

أذ أجريت الدراسة في البيت الحيواني التابع لقسم علوم الحياة في كلية التربية /جامعة كربلاء , و تم استخدام 15حيوان من ذكور الأرانب البالغة والتي قسمت عشوائيا على ثلاث مجاميع (خمسة حيوانات/مجموعة) حيث حقنت المجموعة الأولى 0.5 مل من المحلول الفسيولوجي وعدت كمجموعة سيطرةT1, أما المجموعة الثانيةT2 فقد عوملت ب15ملغم/كغم بالحقن العضلي دكستران الحديد Iron dextranثلاث مرات أسبوعيا,في حين عوملت المجموعة الثالثة T3 ب15ملغم/كغم دكستران الحديد ثلاثة مرات أسبوعيا مع التجريع الفموي لفيتامين E 20ملغم/كغم يوميا وعلى طول فترة التجربة البالغة تسعة أسابيع.

جمعت عينات الدم في الأسبوع الثالث و السادس والتاسع لقياس المعايير الآتية:-عدد كريات الدم الحمر Red blood corpuscles (RBC), حجم مكداس الدم Packed cell (PCV) volume, تركيز الهيموكلوبين Hemoglobin(Hb) , تركيز الكولسترول الكلي في الدم Total cholesterol (TC) والدهون الثلاثية Triglycerides (TG) وتركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة(HDL-C) High density lipoproteins والشحوم البروتينية واطئة الكثافة Low density lipoproteins (LDL-C) و الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا low density Very lipoproteins (VLDL-C)و فعالية إنزيمات وظائف الكبد Alanine transaminase (ALT), Aspartate transaminase (AST) و تركيز الحديد الحر Free iron وسعة ارتباط الحديد الكلية Total iron banding capacity (TIBC) والنسبة المئوية لإشباع البروتين الناقل (الترانسفرين) Transferrin, حساب معامل البلعمةPhagocytic index, بالإضافة إلى ذلك اخذ مقاطع نسجية للكبد والطحال لغرض دراسة التغيرات النسجية المرضية .

أظهرت نتائج المجموعة المعاملة بالحقن العضلي لدكستران الحديد حدوث انخفاض معنوي $P<0.05$ في أعداد كريات الدم الحُمر ومكداس الدم وتركيز الهيموكلوبين وتركيز الكولسترول الكلي TC و الكولسترول في الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C و معامل البلعمة, فيما لوحظ ارتفاع معنوي $P<0.05$ في مستويات فعالية الأنزيمين الناقلين لمجموعة الأمين AST, ALT وتركيز الحديد الحر في الدم وسعة ارتباط الحديد الكلية ونسبة إشباع الترانسفرين.

في حين لم يلاحظ أية فروق معنوية في وتركيز الدهون الثلاثيةTG و الكولسترول في الشحوم البروتينية واطئة الكثافة واطئة الكثافة جدا VLDL-C,LDL-C بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

كذلك لوحظ ترسب الحديد بشكل هيموسدرين في نسيجي الكبد, والطحال مع حدوث التهابات وتغيرات تنكسيه بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

فيما أظهرت المجموعة المعاملة بفيتامين E و المعرضة لفرط الحديد عن طريق الحديد Iron dextran انخفاض معنوي P<0.05 في مستويات الكولسترول الكلي TC وانخفاض معنوي0.05>P في الشحوم البروتينية عالية الكثافة مستويات HDL-C في الأسبوعين الثالث والسادس في الوقت الذي لم يلاحظ فروق معنوية في الأسبوع التاسع بالمقارنة مع السيطرة وارتفاع معنوي P<0.05 في تركيز الحديد الحر ونسبة إشباع الترانسفرين Transferrin ولم يلاحظ أية فروق معنوية في أعداد كريات الدم الحمر , حجم مكداس الدم و تركيز الهيموكلوبين و مستويات الدهون الثلاثية TG والشحوم البروتينية واطئة الكثافة وواطئة الكثافة جدا VLDL-C, LDL-C, و مستويات فعالية الإنزيمين الناقلين لمجموعة الأمين ALT,AST و معامل البلعمة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وسعة ارتباط الحديد الكلية TIBC, كذلك لوحظ تغيرات تنكسية وارتشاح للخلايا الالتهابية في نسيجي الكبد والطحال مع عدم ملاحظة ترسب الهيموسدرين .

يستنتج من الدراسة أن لفيتامين E دوراً مهما في خفض تأثيرالإجهاد التأكسدي في الأرانب المعرضة لفرط الحديد .

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
	الفصل الأول	
1	**المقدمة**	**2-1**
	الفصل الثاني	
2	**استعراض المراجع**	**19-3**
1.2	**الحديد**	**3**
2.2	**مصادر الحديد في الغذاء**	**3**
3.2	**الأهمية الحيوية للحديد**	**4**
4.2	**توزيع الحديد في الجسم**	**5**
5.2	**تمثيل الحديد في الجسم**	**6**
6.2	**نواقل الحديد**	**8**
1.6.2	**الترانسفرين**	**8**
2.6.2	**الفرتين**	**8**
7.2	**فرط الحديد**	**9**
8.2	**دكستران الحديد Iron dextran**	**10**
9.2	**علاقة فرط الحديد ببعض الإمراض**	**12**
1.9.2	**اصطباغ الدم الوراثي**	**12**
2.9.2	**الثلاسيميا**	**12**
3.9.2	**تأثير فرط الحديد على الجهاز العصبي**	**13**
4.9.2	**تأثير فرط الحديد على الجهاز الوعائي**	**13**
5.9.2	**تأثير فرط الحديد على الجهاز المناعي**	**14**
6.9.2	**فرط الحديد والسرطان**	**15**
7.9.2	**تأثير فرط الحديد على الكبد**	**16**
8.9.2	**تأثير فرط الحديد على الطحال**	**16**

10.2	الإجهاد التاكسدي	17
11.2	مضادات الأكسدة	18
12.2	فيتامين E	18
16.2	الأهمية الحيوية لفيتامين E	19
الفصل الثالث		
3	المواد وطرائق العمل	34-20
1.3	المواد	20
1.1.3	الأجهزة	20
2.1.3	المواد الكيمائية	22
2.3	طرائق العمل	23
1.2.3	الحيوانات المستخدمة في الدراسة	23
2.2.3	تصميم التجربة	23
3.2.3	جمع العينات	24
4.2.3	الفحوص الدموية	24
1.4.2.3	قياس الهيموكلوبين (Hb)	24
2.4.2.3	قياس حجم الخلايا المرصوصة (PCV)	24
3.4.2.3	عدد كريات الدم الحمر	24
5.2.3	الاختبارات الكيموحيوية	25
1.5.2.3	تقدير فعالية الإنزيمين الناقلين لمجموعة الأمين في المصل AST و ALT	25
2.5.2.3	تقدير تركيز الكولسترول الكلي في مصل الدم	26
3.5.2.3	تقدير تركيز الكليسيريدات الثلاثية في المصل	27
4.5.2.3	تقدير مستوى الشحوم البروتينية عالية الكثافة في المصل	27
5.5.2.3	حساب مستوى الشحوم البروتينية واطئة الكثافة للكولسترول	28
6.5.2.3	حساب مستوى الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جداً للكولسترول	28

7.5.2.3	تقدير تركيز الحديد في المصل	29
8.5.2.3	تقدير سعة ارتباط الحديد الكلية في المصل	30
9.5.2.3	حساب النسبة المئوية لإشباع ناقل الحديد الترانسفرين	31
6.2.3	اختبار كفاءة البلعمة	32
1.6.2.3	المحاليل المستخدمة في التجربة	32
1.1.6.2.3	تحضير محلول واطئ التوتر(كلوريد البوتاسيوم)	32
2.1.6.2.3	تحضير محلول سورن سن	32
3.1.6.2.3	تحضير محلول التثبيت	32
4.1.6.2.3	تحضير صبغة كمزا	32
2.6.2.3	طريقة العمل	32
7.2.3	تحضير المقاطع النسجية	33
1.7.2.3	التقطيع النسجي	34
3.3	التصوير ألمجهري	34
4.3	التحليل الإحصائي	34
الفصل الرابع		
4	النتائج	35-52
1.4	التغيرات في المعايير الدموية و الكيموحيوية	35
1.1.4	التغيرات في معدل تراكيز الهيموكلوبين (غرام/100مل دم)	35
2.1.4	التغيرات في معدل مستويات حجم مكداس الدم(%)	36
3.1.4	التغيرات في معدل مستويات أعداد كريات الدم الحمر 10^6 /mm^3	37
4.1.4	التغيرات في معدل مستويات فعالية إنزيم الناقل لمجموعة الأمين ALT IU/L	38
5.1.4	التغيرات في معدل مستويات فعالية إنزيم الناقل لمجموعة الأمين AST IU/L	39
6.1.4	التغيرات في معدل مستويات تركيز الكولسترول الكلي TC (ملغم/ديسي لتر)	40

7.1.4	التغيرات في معدل مستويات تركيز الكليسيرول الثلاثي TG (ملغم/ديسي لتر)	41
8.1.4	التغيرات في معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C (ملغم/ديسي لتر)	42
9.1.4	التغيرات في معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C (ملغم/ديسي لتر)	43
10.1.4	التغيرات في معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جداً للكولسترول VLDL-C (ملغم/ديسي لتر)	44
11.1.4	التغيرات في معدل مستويات الحديد (مايكروغرام/100مل دم) في المصل	45
12.1.4	التغيرات في معدل مستويات سعة ارتباط الحديد الكليةTIBC (مايكروغرام/100مل دم) في المصل	46
13.1.4	التغيرات في معدلات إشباع Transferrin%	47
14.1.4	التغيرات في معامل البلعمة	48
2.4	التغيرات النسجية	49
1.2.4	تأثير فرط الحديد في نسيجي الكبد والطحال	49
2.2.4	تأثير إضافة فيتامين E في نسيجي كبد وطحال الحيوانات المعرضة لفرط الحديد	49
الفصل الخامس		
5	المناقشة	53-62
1.5	تأثير فرط الحديد على المعايير الدمية(أعداد كريات الدم الحمر و حجم مكداس الدم وتركيز الهيموكلوبين)	53
2.5	تأثير إضافة فيتامين E و فرط الحديد على المعايير الدمية(أعداد كريات الدم الحمر و حجم مكداس الدم وتركيز الهيموكلوبين)	54
3.5	تأثير فرط الحديد على فعالية إنزيمات الكبد(ALT وAST)	55
4.5	تأثير إضافة فيتامين E و فرط الحديد على فعالية إنزيمات	55

	الكبد (ALT وAST)	
5.5	تأثير فرط الحديد على مستويات الكولسترول والشحوم البروتينية	56
6.5	تأثير إضافة فيتامين E على مستويات الكولسترول والشحوم البروتينية:	57
7.5	تأثير فرط الحديد على معايير الحديد(حديد المصل والسعة الكلية لارتباط الحديدTIBC ونسبة إشباع ناقل الحديد (الترانسفرين) Transferrin)	58
8.5	تأثير إضافة فيتامين E و فرط الحديد على معايير الحديد(حديد المصل والسعة الكلية لارتباط الحديد TIBCونسبة المئوية لإشباع الترانسفرين Transferrin)	59
9.5	تأثير فرط الحديد على معامل البلعمة	60
10.5	تأثير إضافة فيتامين E و فرط الحديد على معامل البلعمة	60
11.5	تأثير فرط الحديد على الأنسجة:	61
12.5	تأثير إضافة فيتامين E و فرط الحديد على الأنسجة	62
الاستنتاجات و التوصيات		
	الاستنتاجات و التوصيات	63
المصادر		64-86
	المصادر العربية	64
	المصادر الأجنبية	65-86

قائمة الجداول

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1.3	الأجهزة المستخدمة والمنشأ والشركة	20
2.3	الأدوات الزجاجية والبلاستيكية والمنشأ والشركة	21
3.3	المواد الكيمائية والمنشأ والشركة	23
1.4	تأثير فيتامين E على مستويات معدل تراكيز الهيموكلوبين Hb(غرام/100مل دم) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	35
2.4	تأثير فيتامينE على معدل مستويات حجم مكداس الدم (%) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	36
3.4	تأثير فيتامين E على معدل مستويات أعداد كريات الدم الحمر 10^6 /mm^3 في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	37
4.4	تأثير فيتامين E على معدل مستويات فعالية إنزيم ALT IU/Lفي مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	38
5.4	تأثير فيتامين Eعلى مستوى فعالية إنزيم AST IU/lفي مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	39
6.4	تأثير فيتامين E على معدل مستويات الكولسترول الكلي (ملغم/ديسي لتر) في المصل لذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	40
7.4	تأثير فيتامينE على معدل مستويات تركيز الكليسيرول الثلاثي TG Triglyceride(ملغم/ديسي لتر) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	41
8.4	تأثير فيتامين E على معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C (ملغم/ديسي لتر) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	42
9.4	تأثير فيتامين E على معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C (ملغم/ديسي لتر) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	43

10.4	تأثير فيتامين E على معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL-C (ملغم/ديسي لتر) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	44
12.4	تأثير فيتامينE على معدل مستويات الحديد (مايكرو غرام/100مل) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	45
13.4	تأثير فيتامين E على معدل مستويات سعة ارتباط الحديد الكليةTIBC(مايكرو غرام/100مل) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	46
14.4	تأثير فيتامين E في معدل مستويات إشباع Transferrin % (مايكرو غرام/100مل دم) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع	47
15.4	تأثير فيتامين E على معدل معامل البلعمة في ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد في نهاية التجربة	48

قائمة الصور

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1.4	مقطع نسجي كبد حيوان (السيطرة)	49
2.4	مقطع نسجي كبد حيوان معامل بالحقن العضلي15ملغم/كغم دكستران الحديد	50
3.4	مقطع نسجي كبد حيوان معامل بالحقن العضلي15ملغم/ دكستران الحديد +التجريع الفموي 20ملغم/كغم فيتامين E	50
4.4	مقطع نسجي طحال حيوان (السيطرة)	51
5.4	مقطع نسجي لطحال حيوان معامل بالحقن العضلي 15ملغم/ دكستران الحديد	51
6.4	مقطع نسجي طحال حيوان معامل بالحقن العضلي15ملغم/كغم دكستران الحديد + التجريع الفموي ل20ملغم/كغم فيتامين E	52

قائمة المختصرات

المختصرات	المصطلحات
Hydroxyl Radical	$O^{\bullet}H$
Superoxide Anion Radical	$(O_2^{\bullet-})$
Alanine Transaminase	ALT
Acute Myocardial Infarction	AMI
Acute Myeloid Leukemia	AML
Aspartate Transaminase	AST
Coronary Heart Disease	CHD
Divalent Metal Transporter 1	DMT1
Deoxy Ribonucleic Acid	DNA
Ferrous Ion	Fe^{+2}
Ferric Ion	Fe^{+3}
Glutathione Reduced	GSH
Hydrogen Peroxide	H_2O_2
Hemoglobin	Hb
High Density Lipoproteins-Cholesterol	HDL-C
Hereditary Hemochromatosis	HHC
Low Density Lipoproteins-Cholesterol	LDL-C
Malondyaldehyde	MAD
Natural killer Cells	NK cells
Rheumatoid Arthritis	RA
Alkyl hydro Peroxide	ROO-
Reactive Oxygen Species	ROS
Total Cholesterol	TC
Transferrin	Tf
Triglycerol	TG
Total Iron Binding Capacity	TIBC
Transferrin %	Tsat%
Unsaturated Fatty Acid	UFA
Unsaturated Iron Binding Capacity	UIBC
Very Low Density Lipoproteins-Cholesterol	VLDL-C
World Health Organization	WHO

الفصل الأول

المقدمة

الفصل الأول

المقدمة Introduction

أن للعناصر النزرة Trace elements دوراً رئيسيا في أكثر الوظائف الحيوية, وهي تشكل جزءا اساسيآ لعمل الإنزيمات والهرمونات التي تشترك في تنظيم الأيض أذ يحتاجها الجسم بكميات محدودة وأي تغير في مستوياتها يؤثر سلبا على الصحة العامة (Hentze *et al*., 2004) ويعد الحديد من أهم هذه العناصر أذ يلعب دوراً حيوياً في العديد من العمليات الخلوية مثل تحرير الطاقة, ونقل الأوكسجين, وكذلك في بناء إلحامض النووي منقوص الأوكسجين Deoxy ribonucleic acid (DNA) (Beard, 2001), أذ يوجد بشكل حر في الجسم بكميات ضئيلة فيما يكون اغلبه مرتبط مع بروتين الهيموكلوبينHemoglobin والترانسفرين Transferrin اومخزون في الخلايا بشكل الفرتين Ferritin اوالهيموسدرين Hemosiderin (Franchini *et al*.,2008) .

يتواجد الحديد في الغذاء بشكلين رئيسين هما الحديد الهيمي haem والحديد غير الهيمي non haem ومن أهم مصادره لحوم الدواجن ,الأسماك,الكبد,الفاصوليا,الثمار الجافة واغلب الخضروات ذات الأوراق الداكنة (Conrad *et al*., 1999), بالإضافة إلى فوائده الكثيرة فإن الفائض منه يكون ساماً بسبب قدرته على تحفيز تفاعلات Fenton وتكوين الجذور الحرة Free radicalsوالتي يمكن أن تهاجم الجزيئات الحيوية الكبيرة Macromolecules التي تكون واضحة في أمراض حمل الحديد كما في اصطباغ الدم الوراثيHereditary hemochromatosis HHC (Porto&DeSousa, 2007), و الثلاسيمياThalassemia (Ghone *et al*., 2008) والاضطرابات العصبية Neurogenerative disorders (Napier *et al*., 2005). كذلك يعد الحديد من العوامل المسببة للإمراض القلبية التاجية Coronary heart disease (CHD), لاسيما الاحتشاء القلبي الحاد Acute myocardial infarction(AMI) أذ لوحظ أن زيادة مخازن الحديد في الجسم تزيد من احتمالية الموت نتيجة الإصابة بهذه الإمراض (Turoczi,2003; Ahmad *et al*., 2009) كما أن تجمع الحديد في الأنسجة يؤدي إلى خلل في الدماغ (Zecca *et al*., 2004) والكبد (Park *et al*., 2001) والكلية (Deicher, 2003) والمفاصل(Takatoku *et al*., 2007) .

نظرا لقلة الدراسات العلمية المتعلقة بتأثيرات حمل الحديد والمستحثة بالحقن العضلي لدكستران الحديدIron dextran ولأهمية مضادات الأكسدة في حماية الأنسجة من ضرر الإجهاد التاكسدي والتي من أهمها فيتامين E والذي يعد من الفيتامينات الذائبة في الدهون إذ له دوراً رئيسا في حماية أغشية الخلايا من ضرر الأكسدة بسبب قدرته على التغلب على التفاعلات الوسطية للأكسدة(Krone *et al.*, 2004; Kanter *et al*, 2009), لذلك تم اقتراح هذه الدراسة والتي تهدف إلى معرفة تأثيرالإجهاد التأكسدي المستحث من فرط الحديد في ذكور الأرانب المحلية و الدور الوقائي لفيتامين E ضد ضرر الأكسدة .

الـفـصـل الـثـانــي

إستعراض المراجع

الفصل الثاني

2. استعراض المراجع

1.2 الحديد Iron

الحديد فلز انتقالي يتميز بلون ابيض أو رمادي عدده الذري 26 ووزنه الجزيئي55.85 دالتون يكون مرتبطآ بالعديد من العناصر وتقريبا في كل أنواع الترب والمياه المعدنية (KeYa, 2006) أذ يكون مستقراً في الهواء الجاف لكن سرعان ما يتأكسد في الهواء الرطب ليكون هيدروكسيدات الحديد، يكون الحديد بشكله الحر نادر الوجود في الطبيعة إذ يوجد بشكل ايونات ثنائية وثلاثية مرتبطة مع الأوكسجين أوالمركبات المحتوية على الكبريت مكون عادة اكاسيد أو هيدروكسيدات أو كبريتات (Elinder, 1986).

يعد الحديد من العناصر الغذائية الأساسية لكل الكائنات الحية أذ يلعب دورآ حيوياً في نشاط الخلايا إذ يقوم بوظيفة Co-factor في نقل الأوكسجين في بروتين الهيموكلوبين Hemoglobin والمايوكلوبين Myoglobin وكذلك في إنزيمات السلسلة التنفسية وفي بناء الحامض النووي المنقوص الأوكسجين DNA (Orino *et al*., 2001).

أن وجود الحديد بصورته الحرة في جسم الإنسان يعد مادة سامة, وعادة يكون بكميات ضئيلة أو غير محسوسة عند الأشخاص الأصحاء إذ يكون في اغلب حالاته مرتبط بجهاز الدوران عن طريق بروتين ناقل للحديد الترانسفرينTransferrin ومخزون في الخلايا بشكل فرتين Ferritin أو هيموسدرينHemosiderin (Franchini *et al*., 2008).

2.2 مصادر الحديد في الغذاء Iron sources in food

إن من أهم وأفضل مصادر الحديد الغذائية هي الكبد, الدواجن, البيض, السمك, المحار, الفاصوليا, التمر, التين,الجوز ,الثمار الجافة واغلب الخضروات ذات الأوراق الداكنة مثل السبانخ فالحديد يوجد بشكلين رئيسين هما الحديد الهيمي haemوغير الهيمي non haem فالأول يكون مصدر للهيموكلوبين والمايكلوبين أما مصادره فهي لحوم الدواجن والأسماك, في حين حديد غير الهيمي الذي يتكون بصورة رئيسة من أملاح الحديد المشتقة من النبات ومنتجات الألبان والذي معظمه يوجد بشكل حديد ثلاثي ferric (Conrad *et al*., 1999).

أذ يمتص حديد الهيمي حوالي 2-3 مرات أكثر من حديد غير الهيمي (Yip & Dallman, 1996). إن المصادر الغذائية الأخرى للحديد هي الأغذية المدعمة بالحديد إذ يضاف الحديد إلى الأطعمة بمقدار 5-15 ملغم يوميا إلى طحين الحنطة, السكر, الملح, الرز, السمك.وهو أمر شائع في البلدان المتطورة عندما يكون نقص الحديد واسع الانتشار وتعد طريقة ذات كلفة مادية منخفضة نسبيا بالمقارنة مع إضافة الحديد بشكل عقاقير أو ملاحق في حين تكون إضافة عقاقير الحديد عندما ينخفض تركيز الهيموكلوبين إلى اقل من 100غم/لتر (Schumann *et al*., 1998), إذ يعطى العقار بشكل فموي أو بالحقن العضلي أو الوريدي (Macdougall, 1999), فيما يوجد الحديد بشكل ملاحق غذائية على هيئة حديد ثنائي مرتبط مع الكبريتات والكلوكونايت والكلوريدات والفيومارايت والسكسكنايت (Bonkovsky *et al*., 1996).

3.2 الأهمية الحيوية للحديد Biological importance of Iron

الحديد ضروري في كل أشكال الحياة فهو مهم لنقل الأوكسجين وفي تفاعلات نقل الالكترونات وفي تنظيم الجينات وكذلك في نمو وتمايز الخلايا (Anderws,1999;Beard,2001) وأنّ اعتماد الحياة يكون على تحول هذا المعدن بين شكليه الحديدوز Fe^{+2} والحديديك Fe^{+3} أذ تكمن وظيفته الحقيقية في كونه يقوم كعامل مساعد Co-factor ضمن المواقع الفعالة للأنزيمات التي تشترك في المسارات الحيوية الحرجة(Richardson, 2002) .

يعد حديد الهيمي haem احد المكونات الأساسية لجزيئة الهيموكلوبين الذي يوفر الأوكسجين ويخزنه في العضلات من خلال احتوائه على Cytochromes a,b,c بعملية تعرف بالفسفرة التاكسدية أما الحديد غير الهيمي Iron sulphur و Metallo-flavoproteins في المايتوكندريا يساعد بعض الأنزيمات مثل NADH dehydrogenase و Succinyl dehydrogenase و Xanthine oxidase على القيام بوظائفها بشكل جيد وبالتالي فإن انخفاض الحديد يعمل على انخفاض فعاليتها (Danielson,2004),كما يعّد الحديد واحداً من أهم مكونات أنزيم الـ Ribonucleotide reductase الذي له أثر كبير في عمليات تكوين الـ DNA من خلال دوره كمرافق أنزيمي (Kolsteren,1996), وهذا يعني أنّ القدرة على تجديد الخلايا تتأثر بشكل كبير عند انخفاضه، وعلى هذا النحو فأن ضمور الأنسجة المخاطية في الفم واللسان وقشرة الرأس وهشاشة الأظافر تكون ناتجة عن هذا الانخفاض كما أن للحديد دوراً مهماً

في نمو وتكامل أنسجة الدماغ عند الأطفال, ونقصه يؤدي إلى انخفاض في نسبة الذكاء(Beghetti *et al.*,1993).

من جانب آخر يعد نقص الحديد من مشاكل نقص التغذية الشائعة التي تؤثر على ملايين الناس يكون أكثرها انتشارا عند الأطفال والشباب والنساء في مرحلة الحمل, وما بعد الولادة بسبب المتطلبات العالية, و الخسائر الحاصلة للحديد لغرض النمو والحمل (Garcı´a-Casala *et al.*,2003).

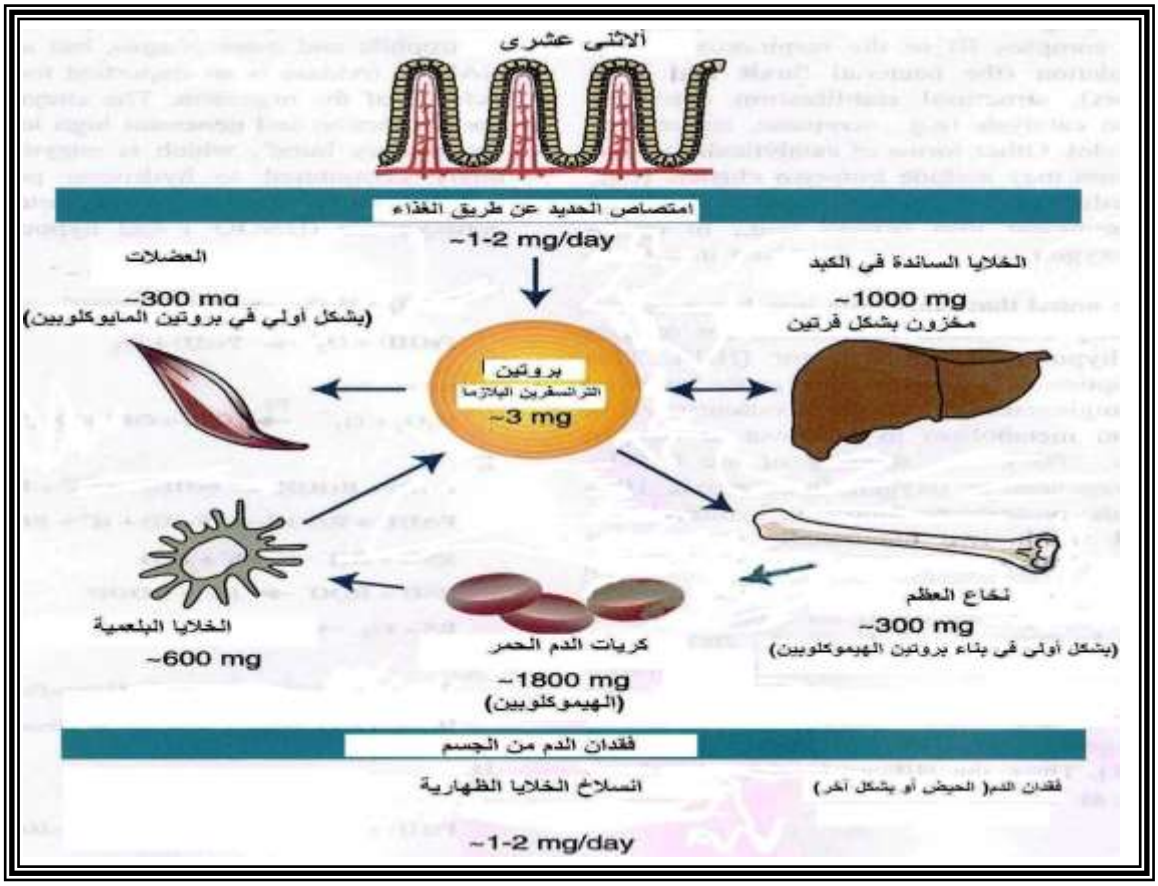
فقد ذكر Hallberg وجماعته (1966) أَنّ فقر الدم عند النساء يحصل نتيجة الخسائر الكبيرة للحديد بسبب فقدان الدم خلال فترة الحيض والتي قد تصل إلى(80) مل , بينما سجل Ziegler وجماعته (1990)حالات لنقصه عند الأطفال والشباب وعزى ذلك لزيادة متطلبات النمو أو نتيجة الإصابة ببعض الطفيليات المعوية كالإصابة بديدان الانكلوستوما أو الحساسية لبعض المنتجات الغذائية.

ففي دراسة من قبلBerger وجماعته (1992) ذكران انخفاض الحديد يؤدي إلى انخفاض في أداء الخلايا اللمفاوية T-lymphocytes بمقدار 20% عند الأطفال أكثر من الذين يعانون من الأنفلونزا أو إصابة في الأمعاء الدقيقة . كما أن أنزيم Thyroperoxidase الذي يوجد في الغدة الدرقية يتطلب وجود الحديد ليقوم بوظائفه، وأن انخفاض الحديد يسبب ضعف في تمثيل الغدة الدرقية فضلاً عن العجز في السيطرة على درجة حرارة الجسم ,Hurrel (1997), في حين لاحظ كل من Baynen و Bothwell (1990) إن انخفاض الحديد في إثناء الرضاعة يمكن أن يخفض من وزن الرضيع, كما أن انخفاضه لدى الحوامل قد يؤدي إلى ولادات في غير أوانها (Scholl *et al.*, 1992).

4.2 توزيع الحديد في الجسم Distribution of iron in body

يحتوي جسم الإنسان 3–5غم من الحديد إي حوالي 45–55 ملغم/كغم من وزن الجسم في النساء و الرجال البالغين وأن ثلثي هذه الكمية مرتبط ضمن الهيموكلوبين في كريات الدم الحمر (Andrews,1999) وفي الأعضاء الأخرى الغنية بالحديد كالكبد والعضلات أذ حوالي 20–30 %من حديد الجسم مخزون في خلايا الكبدية hepatocytes والخلايا البلعمية macrophages في الجهاز البلعمي وحيدة النواة Mononuclear phagocytic system بشكل فرتين ferritin ومؤيضه الهيموسدرين hemosiderin (Wienk& Beynen,1996).

أما حديد الجسم المتبقي فهو يتموضع ابتداء في السايتوكروم والمايكلوبين والإنزيمات المحتوية على الحديد (Papanikolaou& Pantopoulos,2005), معظم الحديد الذي يحتاجه الجسم في عمليات الأيض ناتج من إعادة دورة الحديد المتحرر من تهدم كريات الدم الحمر عند نهاية عمرها. ويمثل الحديد الممتص يمثل 10% فقط من احتياجات الجسم للحديد, فهو ينتقل إلى جهاز الدوران و يرتبط مع بروتين الناقل للحديد (الترانسفرين) الذي يقوم بنقله من مواقع امتصاصه إلى مواقع خزنه والاستفادة منه (Anttila&Siimes,1996) إذ يوصله إلى طلائع كريات الدم الحمر في نخاع العظم ومن ثم يستعمل في تخليق الهيموكلوبين بينما تكون أقصى خسارة للحديد في الإمراض غير الوراثية أو عمليات النزف وتبلغ حوالي1−2 ملغم (Papanikolaou&Pantopoulos,2005) ولهذا فحديد الجسم يبقى متوازن في مستوى الامتصاص أذ إن سوء الامتصاص يؤدي إلى نقصه أو فرطه (Andrews, 1999).



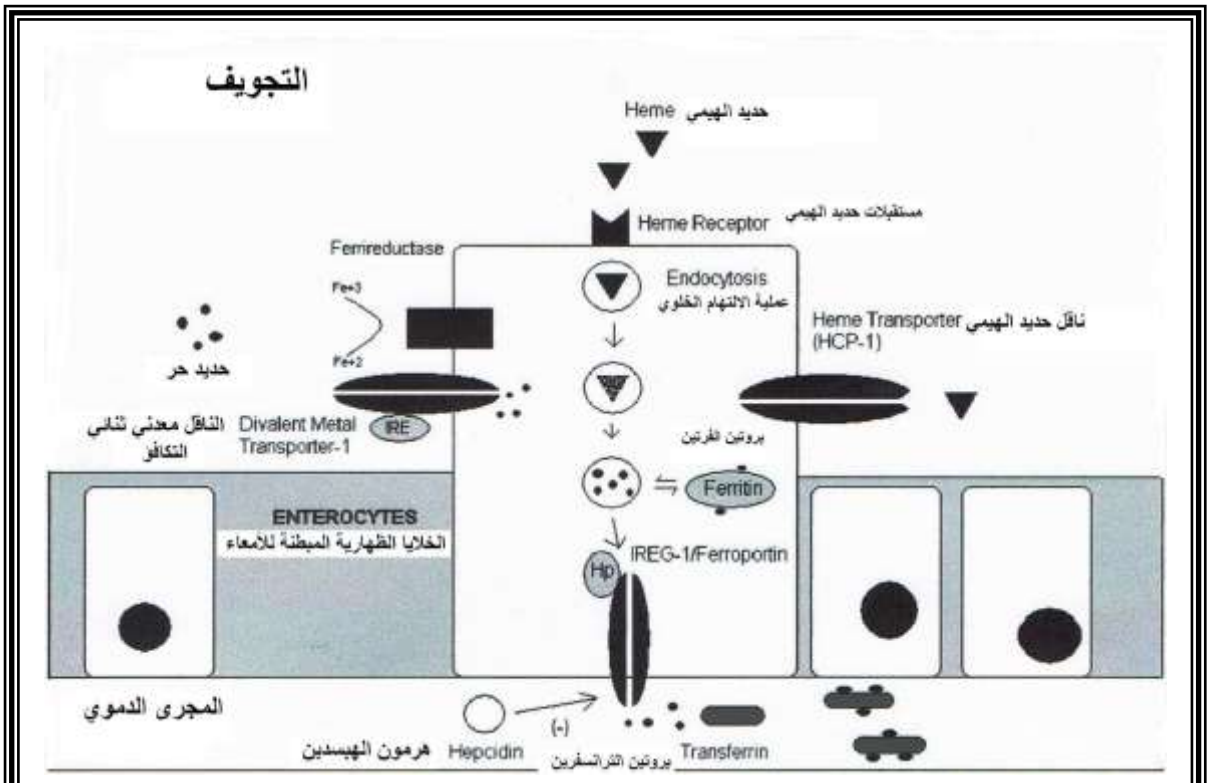
الشكل (1−1) توزيع الحديد في جسم الإنسان البالغ (Papanikolaou& Pantopoulos,2005)

5.2 ايض الحديد في الجسم Metabolism of Iron in the body

بصورة عامة يحصل امتصاص الحديد في كل أجزاء القناة الهضمية تقريبا لكن معظم

الحديد الممتص يكون في ألاثني عشري Duodenum والجزء العلوي من الأمعاء الدقيقة (Markel *et al*., 2007) يحدث الامتصاص في ميكانيكية أولية تنظم حسب مستويات الحديد في الجسم واعتماد على مخازن الجسم وعملية تكوين كريات الدم Erythropoiesis وحالة الالتهابات والحمل (Napier *et al*., 2005; Frazer & Anderson, 2005) وينتقل الحديد غير العضوي non organic iron عبر أغشية الخلايا الظهارية المبطنة للأمعاء عن طريق ناقل معدني ثنائي التكافؤ Divalent metal ion transporter 1 (DMT1) والذي يعرف بالناقل ألايوني ثنائي التكافؤ (Gunshin *et al*.,1997), اغلب الحديد غير العضوي يوجد بشكل معقدات ثلاثية فالحديد يجب أن يتحول إلى الشكل الثنائي قبل امتصاصه من قبل الخلايا الظهارية في ألاثني عشري(Mckie *et al*., 2001;Hentze *et al*., 2004) وبعد وصوله إلى السايتوبلازم أما يخزن بشكل فرتين أو يتحول بوساطة الغشاء الجانبي القاعدي basolateral ليصدر بوساطة Ferroprotein ثم يتأكسد إلى حديد ثلاثي بوساطة Ferroxidase hephestin ويدخل جهاز الدوران ليرتبط إلى الترانسفرين(Cook&Reusser,1983) .

أما الحديد العضوي organic iron فيمتص بشكل أكثر كفاءة من الحديدغير العضوي non organic iron بوساطة عملية الالتهام الخلوي Endocytosis لمعقد iron– protoporphyrin complex من قبل الحافة المخططة Striated border للخلايا المبطنة للأمعاء ثم يتحرر نصف الهيم بوساطة عمل إنزيم haem oxygenase ويدخل خزين الحديد داخل خلوي (Kawabata *et al*., 1999), ثم ينتقل إلى الكبد والطحال وقد يذهب إلى نخاع العظم لتصنيع كريات دم جديدة عند الحاجة وذلك لتلبية احتياجات النمو .(Frazer&Anderson, 2005)



6.2 نواقل الحديد

1.6.2 الترانسفرين Transferrin Tf

من أهم بروتينات البلازما المنظمة كنواقل لحركة للحديد (De Jong *et al.*, 1990) وهو عبارة عن بروتين سكري يتكون من سلسلة مفردة وزنه الجزيئي 80.000 دالتون وعمر النصف له من8–10 يوم (Richardson, 2002). يمتلك هذا البروتين القدرة على الارتباط بشكل عكسي مع ايونين من الحديد الثلاثي مع ألفة عالية في الأس الهيدروجيني الطبيعي وتقل هذه الألفة عند الأس الهيدروجيني 4.5 (Sargent *et al.*, 2005). يصنع الترانسفرين في الكبد وفي بعض الأنسجة التي يكون فيها احتياج محدود له بوساطة البلازما مثل الدماغ والخصيتين ,عادة يكون إشباع الترانسفرين بين20-50 % أذ يمنع تكوين جذور الهايدروكسيل بارتباطه مع ايونات الحديد وبالتالي يمنع حدوث أكسدة للدهون (جواد,2005 ;Baker & Morgan, 1994) .

أن الجزء الأكبر من الحديد المنقول في الدم يتجه إلى الترانسفرين والى السيدروفلين siderophilin حيث أكثر من 30ملغم من الحديد ينقل بوساطة هذا المسار يوميا وهو يمثل فقط 3 ملغم تقريبا من حديد الجسم (Hoen,1999), في مرضى الثلاسيميا الإنتاج المسرف وغير الفعال لكريات الدم الحمر يحفز امتصاص الحديد لكن اغلب الحديد المتحرر إلى جهاز الدوران ينتج من ايض كريات الدم الحمر وهذه الزيادة الايضية تتجاوز قابلية الترانسفرين للارتباط (Hershko *et al.*, 1998) كذلك لاحظ Knekt وجماعته (1994) أَنّ نقل الدم المتكرر إلى مرضى الثلاسيميا يزيد من تحميل الحديد في البلازما بحيث تتجاوز قدرة الارتباط الترانسفرين لإزالة الحديد الحر (Grootveld *et al.* 1989) أما قدرة الحديد الكليةTIBC على الارتباط الترانسفرين فتمثل ثلث حديد البلازما (Ponka, 1999) .

2.6.2 الفرتين Ferritin

بروتين خازن للحديد في الأنسجة وبكميات اقل في المصل (Hoffbrand *et al.*, 2003) وهو عبارة عن معقد بروتين الحديد الذائب في الماء يتكون من صدفة بروتينية apofferritin تحيط بذرات من الحديد التي تكون على شكل Ferric

hydroxy phosphate ،الذي يتكون من 24 وحدة متماثلة تستوعب حوالي 4300–4500 ذرة حديد في الجزيئة الواحدة (Mathotra &Argawa, 1985).

ويعد apoferritin العامل المسيطر على كمية الحديد المخزونة في الجسم يخزن الحديد في الجسم بصورة رئيسة في الكبد والطحال ونخاع العظم فيما ينتج الهيموسدرين من ترسب الحديد الفائض بشكل حبيبات من اوكسيد الحديديك تحتوي على الأقل 0.1 % من الحديد (Silverman *et al*., 1986). يكون للفرتين و الهيموسدرين أهمية كبيرة في حماية الجسم من التأثيرات السامة لايون الحديديك الحر (Ledingham & David, 2000) ففي دراسة من قبل Ghone وجماعته((2008) وجد أنّ هناك ارتباط كبير بين مخازن الحديد في الكبد ومستويات الفرتين في البلازما في مرضى الثلاسيميا.

في حين وجد الباحث Fargion وجماعته(1982) أن أطفال مرضى الثلاسيميا الذين يعانون من عمليات نقل دم لديهم حمل للحديد بدليل ارتفاع مستويات الفرتين في المصل ولاحظ إن هناك علاقة بين تركيز الفرتين في المصل وكمية الدم المنقولة,فيما أشار Herbertوجماعته (1997) إلى أنّ المستويات العالية للفرتين في المصل مصحوبة عادة بالمستويات العالية لإشباع الترانسفرين والذي يشير إلى حمل الحديد.

7 .2 فرط الحديد Iron over load

ينتج فرط الحديد من زيادة امتصاصه من الغذاء أو من الإضافة غير المعوية والتي تكون إما بأخذ الحديد بشكل علاج أو بعمليات نقل الدم المتكررة أو الجمع بين العاملين, وبصورة عامة لاتؤدي زيادة جرعات الحديد العلاجية المأخوذة عن طريق الفم إلى حمل فائض مالم يكون الحديد قد امتص بكميات كبيرة أو يرافقه عيب وراثي مرتبط في زيادة الامتصاص (Pippard, 1994).

لقد سجلت اختلافات واسعة في سمية الحديد بين مختلف أملاح الحديد في النماذج الحيوانية (WHO, 1996), فقد سجلت الجرعة القاتلة للإنسان LD_{50} بحدود 200-250 ملغم /كغم لكن الموت المفاجئ حدث بعد اخذ جرعة منخفضة 40 ملغم/كغم (National Research Council,1979) في حين سجلت الجرعة الفمويةLD_{50} لأملاح الحديد للفئران حوالي 300-600ملغم/كغم بينما تصل إلى 800-2000ملغم/كغم في الجرذان(Fishbane,2007) , حيث أن التأثيرات السامة لجرع الحديد تتضمن انخفاض في

ضغط الدم وتسارع, ثم تباطىء في معدل التنفس وطعم معدني و غثيان و إسهال و سوء هضم و إغماء وتوقف القلب.

تحدث التأثيرات السمية للحديد كونه يحفز تكوين جذور الأوكسجين الفعالة Reactive oxygen species(ROS) وبالتالي تكوين جذور الهايدروكسيل $O^{\bullet}H$ والتي تنتج بوساطة تفاعلات Fenton أو معادلة Haber-Weiss وكما يلي:-

$$Fe^{3+} + O_2^{\bullet} \longrightarrow Fe^{2+} + O_2 \quad .....1$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^- + O^{\bullet}H \quad .....2$$

$$Net \quad O_2^{\bullet -} + H_2O_2 \longrightarrow O_2 + OH^- + O^{\bullet}H \quad .....3$$

معادلة Haber-Weiss (Halliwell &Gutteridge ,1999)

أذ يظهر أَنّ القدرة التحفيزية له تكمن في نشاطه التأكسدي والذي يستطيع التحول بين شكلين غير مستقرين Fe^{2+} , Fe^{3+} والذي يسمح له كواهب أو مستقبل للإلكترون (Lieu *et al*., 2001). وهذه التفاعلات يمكن أن تؤدي إلى موت الخلايا والتي تبدأ بسلسلة من التفاعلات الكيميائية مع العديد من الجزيئات الحيوية المهمة مؤديا إلى أكسدة إلDNA ودهون الأغشية الخلوية (Bergeron *et al*.,2003) فضلا عن أن زيادة الحديد الحر Free iron يستطيع التفاعل مع الدهون غير المشبعة(UFA) Unsaturated fatty acids لينتج جذور alkoxyl(RO-) و peroxyl (ROO-) وهذه التفاعلات تؤدي إلى ضعف في الوظائف الخلوية ومن ثم تضرر الأنسجة أو الأعضاء والتي تكون واضحة في إمراض حمل الحديد (Lieu *et al*.,2001;Wong &Richardson,2003) .

8.2 دكستران الحديد Iron dextran

يتكون دكستران الحديد من معقد هايدروكسي متعدد النوى للحديد الثلاثي مع سكر الدكستران Dextran(polyisomaltose) أو مع Dextren (polymaltose) وهو احد مركبات الحديد ذات الشكل الثابت والمستقر إذ يمتلك وزن جزيئي يصل إلى 100.000دالتون وبسبب وزنه الجزيئي العالي فأن Iron dextran لايمتص مباشرة من موقع الحقن إلى مجرى الدم لكنه يدخل إلى مجرى اللمف(Geisser& Burckhardt., 2011) .

ولذلك بعد 3-4 ساعة من الحقن العضلي intramuscular إلعميق إلى عضلات الفخذين فأن محتوى الحديد يزداد وبشكل طبيعي في العقد اللمفاوية الحرقفية ,أن معقدات الحديد تنتقل عن طريق الأوعية اللمفاوية إلى العقد اللمفاوية وبشكل أكثر إلى عموم جهاز الدوران أذ يؤخذ دكستران الحديد بوساطة الخلايا البلعمية Macrophages والتي تقوم بفصل الحديد وأعاده إدخاله إلى البلازما حتى يصل إلى نخاع العظم بشكل حديد مرتبط ببروتين الترانسفرين والذي يستخدم فيما بعد في بناء الهيموكلوبين, أما Dextran فهو مركب متعدد الكلوكوز إما يمتص أو يطرح (Smith,1997; Danielson,2004; Geisser,2007) .

ففي دراسة من قبل Svoboda و Drabek (2007) وجد أن المدة المستغرقة لامتصاص دكستران الحديد بشكل كامل من موقع الحقن تحتاج إلى 7 أيام والتي كان مقدارها 150 ملغم/كغم في خنازير غينيا في حين ذكر Svoboda وجماعته(2006) أن دكستران الحديد يحتاج إلى 13 يوم للامتصاص الكامل.

من جانب آخر الحديد المأخوذ فمويا orally يمتص بوساطة الغشاء المخاطي mucosa membrane للأمعاء الدقيقة وبعدها ينتقل الحديد من الخلايا الظهارية المبطنة للأمعاء إلى مجرى الدم (Geisser,2007) , وفي حالة حصول زيادة للحديد في خلايا الغشاء المخاطي للأمعاء يحدث تحفيز لبناء الفرتين وبعدها يترسب الحديد فيه لكي يمنع حصول عمليات أكسدة للحديد (Smith,1997), فيما سجل Macdougall (1999) أن دكستران الحديد يمتص بشكل بطيء في الأنسجة الدهنية.

أن سرعة التعامل مع دكستران الحديد عامل مهم في تصنيع كريات الدم الحمر في المرحلة المبكرة من حياة صغار الخنازير إذ سجل إن المعالجة ب 200 ملغم/كغم دكستران الحديد لصغار الخنازير بعمر 7 يوم يزيد في تركيز الهيموكلوبين وبقية المعايير الدموبية (Iben ,1998) وكذلك حصل Zimmerman(1992) على نتائج مماثلة في الجرذان الوليدة كما حصل Ku وجماعته(1983)على زيادة في تركيز ferritin والعناصر الأثرية .

وعلى النقيض من ذلك ذكر كل من Svoboda و Drabek (2007) حدوث حالات للتسمم بالحديد بعد الحقن العضلي لدكستران الحديد لصغار الخنازير بعمر يوم واحد وكذلك وجدHeinritzi و Plonait(1997) أن حقنه في العضلات أليي gluteal muscles يمكن أن يتسبب باضرارفي التشابك العصبيsynapses nervous ويسبب ضعف في نقل الإيعاز العصبي عند الخنازير ,في حين اقترح Foulkes وجماعته (1991) أن الحديد المتحرر من

دكستران الحديد ينشط تكوين الجذور الحرة والتي تبدأ بأكسدة الدهون مما يؤدي إلى التهاب العضلات المتعدد polymyositis وتحلل العضلات المخططةRhabdomyolysis.

فيما سجل Lloyd و Williams (1970) أن حقنه يثير أعراض روماتيزمية والتهاب مفاصل(RA)Rheumatoid arthritis , وهذه الإعراض تتفاوت حدتها بين المرضى وذلك قد يكون بسبب فرط الحساسية hypersensitivity للمركب أو بسبب تأثيره السام ضمن الغشاء الزلالي Synovial membrane (الغشاء المبطن للمفاصل) ومن الممكن بسبب تكوين الجذور السامة الحرة وبالتالي تكوين بيرو كسيدات الدهونlipid peroxides, فيما ذكر Jonesو Mowat (1972) إن دكستران الحديد يسبب عرقلة في وظيفة خلايا الشبكة الاندوبلازمية.

9.2 علاقة فرط الحديد ببعض الإمراض

1.9.2 اصطباغ الدم الوراثي Hereditary hemochromatosis (HHC)

هو احد أمراض حمل الحديد الأولية وهو اضطراب وراثي يتصف بزيادة امتصاص الحديد وترسبه في خلايا الأنسجة الحشوية parenchymal cell وبدرجات متفاوتة في بقية الأعضاءإذ يترسب الحديد في الكبد والبنكرياس والقلب ويمكن أن يؤدي إلى ضرر دائمي (Horwitz& Rosenthal ,1999) ويعد هذا الخلل الجيني هو الأكثر شيوعا في الشعوب ذات الأصول الأوربية أذ سجلت إصابة واحدة لكل 250 شخص في الشعوب القوقازية (Lucotte, 1998) ويتصف مرضى اصطباغ الدم الوراثي بزيادة تركيز الحديد في البلازما وزيادة نسبة إشباع الترانسفرين وارتفاع مستويات الفرتين مما يؤدي إلى ارتفاع مخازن الحديد في الجسم (Moore *et al.*, 1995) أما العلامات السريرية للمرض تتضمن تضخم الكبد والذي يرتبط مع الم بطني تصاحبه إمراض مثل داء السكري, التهاب المفاصل وضعف في الوظيفة الجنسية واصطباغ الجلد (Fodinger & Sunder-Plassmann, 1999) .

2.9.2 الثلاسيميا Thalassemia

تعد الثلاسيميا حالة نموذجية للحمل الثانوي للحديد وهو مرض وراثي شائع يتصف بفقر الدم الحاد والمزمن أذ هنالك أكثر من 100 طفرة في الجين المنتج لبروتين *B*-globin يمكن أن تؤدي إلى خلل في إنتاج سلسلة البروتين (Dover&Valle,1994) وعلى الرغم من الاختلافات في شدة الاضطرابات فأنّ اغلب المرضى يعتمدون على عمليات نقل الدم لتعويض تحلل خلايا

الدم (Eldor *et al.*, 2002) إذ أَنّ كميات كبيرة من الحديد تنقل عبر عملية نقل الدم وكميات أخرى ناتجة من عمليات التحلل hemolysis بالإضافة إلى الحديد الغذائي والذي يمتص بشكل عالي مما يؤدي إلى تراكم الحديد في الغالب كبروتين الفرتين أو الهيموسدرين (Horwitz & Rosenthal, 1999), وقد أشار Afroditi (2006) أن عمليات نقل الدم المتكررة تؤدي إلى تراكم الحديد الفائض ابتداء في النظام الشبكي البطاني ثم بعد ذلك في كل الأعضاء الحشوية parenchymal tissue لاسيما في القلب والغدة النخامية والبنكرياس وأعضاء التناسل.

في حين ذكر Das وجماعته (2004) أَنّ أعراض هذا المرض فقر الدم anemia واليرقان jaundice وتضخم الطحالsplenomegaly وتوسع في فراغات نخاع العظم وترسب الحديد في القلب وعادة تظهر بعد 3–4 شهر من عمر الطفل فيما بين Afroditi (2006) أَنّ حمل الحديد عند هؤلاء المرضى بسبب تكوين جذور حرة التي تكون قادرة على التسبب بضرر الأكسدة لكريات الدم الحمر وفي دراسة من قبلWood وجماعته(2005) بين أَنّ سمية الحديد تكون احد الأسباب المؤدية إلى الموت للمصابين بهذا المرض.

3.9.2 تأثير فرط الحديد على الجهاز العصبي Effect of iron load on the nervous system

أي خلل في توازن الحديد في الدماغ يؤدي إلى عرقلة في عمل الخلايا العصبية فقد عدّ أَنّ الحديد الفائض عامل مسبب لكثير من الإمراض العصبية ومن ضمنها Alzheimer ومرض باركنسن Parkinson وترنح فريدريك Friedreich ataxia (Pinero &Connor, 2000) وتتميز اضطرابات هذه الإمراض في فقدان التناسق العقلي وتأثيره في الذاكرة ، وضعف في الاتصال العصبي بين الخلايا والارتعاش وتصلب الأنسجة وبطيء في أداء الحركة (Berg *et al*.1999).

9.4.2 تأثير فرط الحديد على الجهاز الوعائي Effect of iron load on the cardiovascular system

أن تكوين الجذور الحرة هو ناتج لأي دور للحديد في العمليات الباثولوجية (Weinberg,1990; Crawford, 1995) فقد وجدت أدلة تربط بين الإجهاد التأكسدي Oxidative stress وتطور مرض تصلب الشرايينatherosclerosis وعلاقته بإمراض القلب الوعائية Cardiovascular disease (Lichtentsein,1996) ولحدوث مرض تصلب الشرايين يستلزم ترسيب الدهون على

الجدران الداخلية للشرايين وما يتبعه من التهابات وجروح (Turbino-Ribero *et al.*, 2003) , فقد ذكر Lichtentsein (1996) أن الدهن المترسب يتكون بشكل أساس من كولسترول والذي يرتبط بخلايا الرغوة Foam cells والخلايا البلعمية Macrophages على جدران الشرايين , إذ لاحظت الدراسات التجريبية أن هنالك ارتباط بين حصول مرض تصلب الشرايين وارتفاع مستويات الكولسترول في البلازما وتعد الدهون البروتينية واطئة الكثافة LDL من مسببات حصول تصلب الشرايين والتي تصبح كجزء من الدهن المترسب بعد تعرضها لعمليات الأكسدة(Turoczi,2003; Ahmad *et al*.,2009) .

فقد ذكر Leake و Rankin (1990) و Hoeschen (1997) أن الحديد والنحاس ضروريان لأكسدة الدهون البروتينية في الخلايا الطلائية والبلعمية في التجارب التي أجريت خارج جسم الكائن الحي *in vitro* , فيما أشار Dabbagh وجماعته(1994) أن الحديد عامل مؤكسد per oxidation للشحوم البروتينية واطئة الكثافة من خلال اختزال مستويات مضادات الأكسدة في البلازما, إذ اقترح Sullivan (1981) أنّ الزيادة المعتدلة للحديد قد تهيئ لإمراض القلب بسبب قدرة الحديد على أن يستحث تكوين جذور حرة بالتالي أكسدة الدهون lipid per oxidation مستند على ملاحظات أن الرجال يصابون بالإمراض القلبية Cardiovascular disease أكثر من النساء قبل سن اليأسPremenopausal فيما بيَنّ Zurlo وجماعته(1989) أن حمل الحديد يسبب اغلب الوفيات في مرضى الثلاسيميا نتيجة عجز القلب والموت المفاجئ .

ففي دراسة أجريت من قبل Araujo وجماعته (1995) وجد أَنّ زيادة حمل الحديد في الأرانب المغذاة بعليقه عالية الكولسترول له تأثيرات أمراضية للقلب. وكذلك وجد Schwartz وجماعته(1993) في دراسة أجريت على خنازير غينياأَنّ هنالك ارتباط بين جرع الحديد العالية وتطور الضعف القلبي فيما أشار Salonen وجماعته (1992) وجود علاقة بين زيادة تناول الحديد الغذائي و الإصابة بالاحتشاء القلبي (MI) بالرغم من أَنّ باحثين آخرين لم يجدوا مثل هذه العلاقة (Liao *et al*., 1994; Moore *et al*., 1995) فقد بحثت العديد من الدراسات الوبائية epidemiological في العلاقة المحتملة بين وضع الحديد في الجسم وحدوث الإمراض القلبية الوعائية فقد ذكر Salonenوجماعته (1992) أَنّ ارتفاع مستوى الفرتين يعد من عوامل الإصابة بالاحتشاء القلبي فيما وجدMorrison وجماعته (1994) زيادة معنوية بين الاحتشاء القلبي وارتفاع تركيز الحديد في المصل في المرضى الذين لديهم كولسترول مرتفع.

5.9.2 تأثير فرط الحديد على الجهاز المناعي Effect of iron load on the immune system

الحديد مهم للعديد من الوظائف المناعية ونقصه قد يكون مضعفا لهذه الوظائف ويهيئ لحدوث الخمج Infection ومن المحتمل أن زيادة تواجده أيضا تؤدي للإصابة كون زيادته توفر بيئة لاستيطان كائنات مجهريه ممرضة , أذ تمتلك العديد من الكائنات الحية المجهريه آليات تمكنها من انتزاع الحديد المضيف كامتلاكها لجزيئات تستطيع إزالة الحديد من الأنسجة مثل جزيئات Siderophores التي تستطيع إزالة الحديد من جزيئة الترانسفرين وحديد non haem من بروتينات المضيف(O'Brien &Gibson, 1970) , كذلك تبدي بعض أنواع البكتيريا مستقبلات إلى الترانسفرين أو اللاكتوفرين lactoferrin تمكنها من استحصال الحديد مباشرة من بروتين المضيف , بينما في أنواع أخرى تستطيع استحصال حديدhaem والذي يكون موجود في البلازما بمستويات عالية خلال إمراض تحلل الدمhemolytic diseases (Otto *et al*., 1992) وفي دراسة أجريت من قبل Ozkalay وجماعته (2006) وجدت أن حمل الحديد نتيجة عمليات نقل الدم المتكررة في مرضى الثلاسيميا تؤدي إلى تطور العدوى infection والإصابة بالإحياء المجهريه microorganisms فيما بينّ Hershko وجماعته(1998) أنّ حمل الحديد نتيجة الإضافة غير المعوية يرتبط بزيادة نمو البكتيريا ويسهل تكاثر الفيروسات بينما سجل Murray وجماعته (1987) إن نقص الحديد عند بدو الصومال يقلل من حدوث العدوى مقارنة مع السيطرة ذو المستوى الطبيعي للحديد كذلك ذكر Brock (1994) إن إضافة 900 ملغم/كغم من كبريتات الحديد لمدة شهر كامل يرتبط بزيادة العدوى لاسيما الملاريا والذي اقترح أن سبب ذلك المستوى الواطئ للترانسفرين والارتفاع الكبير للحديد في المصل , فيما ارتبطت المستويات العالية للحديد بزيادة الإصابة Morbidity وحدوث الوفيات Mortality كما في الحقن العضلي دكستران الحديد إلى المواليد الجدد أذ أدت إلى زيادة الإصابة بالبكتيريا السالبة بصبغة كرامbacteria negative gram (Barry&Reeve,1977) كذلك وجد أن هنالك ضعف في وظيفة الخلايا البلعميةPhagocytic cell في مرضى الثلاسيميا إذ لوحظ لديهم نقصان في الخلايا القاتلة(NK) Natural killer cell واختزال في الواسمات السطحية CD_8 ونقصان في خلايا اللمفاوية T-cell الذي يؤدي إلى زيادة التأثر بالإصابة (Hoen, 1999).

6.9.2 فرط الحديد والسرطان Iron over load and cancer

أن الحديد لايمتلك صفات مسرطنة بالمقارنة مع المعادن الأخرى كالزرنيخ والكروم والنيكل على الرغم من أن حمل الحديد يرتبط بشكل واضح بالمستويات العالية للمسرطناتCarcinogenesis (Huang, 2003) وهذا واضح من حقيقة الاضطرابات الشائعة في مرضى اصطباغ الدم الوراثي (Deugnier&Turlin,2001) والذي يؤثر بنسبة 30 %من المرضى متصاحبا مع ترسب الحديد في أنسجة الجسم,وهناك أشكال أخرى للسرطان لوحظت في هؤلاء المرضى مثل سرطان المريءEsophageal cancer وسرطان الجلد melanoma Skin وابيضاض الدم الحاد Acute myeloid leukemia (AML) (Papanikolaou &Pantopoulos,2005) المعلومات حول الإلية التي يستحث فيها الحديد لتكوين ورم neoplastic محدودة ومن الواضح إن حمل الحديد يعرقل التوازن في تفاعلات الأكسدة والاختزال redox في داخل الخلية ويولد جهد أكسدة مزمن الذي يولد شبكة من الإشارات تتعلق بتكوين السرطان Malignant (Benhar *et al*., 2002).

قد يؤدي الإجهاد التاكسدي في كبد الإنسان لموت الخلية المبرمج apoptosis لخلايا الكبد hepatocytes وينشط خلايا النجمية stellate لإنتاج بروتين النسيج خارج خلوية وبذلك يبدأ لتكوين fibrogenesis, ويعتقد إن حمل الحديد المزمن يستحث لإحداث طفرة في ألجين المسؤول عن إصلاح إلDNA (Pietrangelo *et al*., 1995).

9.7.2 تأثير فرط الحديد على الكبد Effect of iron load on the liver

أن الكبد من اكبر الأهداف الرئيسة المستهدفة للضرر المستحث من حمل الحديد فهو يعد من اكبر الأعضاء الخازنة للحديد في الجسم كما أن سمية الكبد Hepatoxicity تحدث نتيجة تحميل الجسم للحديد (Gabutti& Borgna ,1994) فالضرر المستحث من تحميل الحديد للكبد يمكن أن يؤدي إلى تليف كبديHepatic fibrosis وتشمع في الكبد Cirrhosis وفي حالات متقدمة سرطان الكبد Hepatocellular carcinoma (Ramm&Ruddell,2005), فالحديد غير المعوي اوالمتناول فمويا يتوقع أن يترسب في الكبد ويعد ساماً, بالرغم من أن امتصاص الحديد من قبل الأمعاء في مرضى اصطباغ الدم الوراثي يؤدي إلى ترسبه ابتداء في الأنسجة الحشوية parenchymal tissue بينما حقن الحديد في العضلة أو في الغشاء البريتوني يؤدي إلى تراكمه في الخلايا البلعمية Macrophages أو في خلايا كفر Kupffer cells (Cornejo *et al*., 2005) فقد ذكر Carthew وجماعته(1991) إن الإضافة غير المعوية لدكستران الحديد تؤدي إلى ترسب الحديد في الأنسجة الحشوية

per sinusoidal لكن لم يلاحظ ترسبه في ما قبل الجيبانيات Parenchymal tissue spaces اويسبب التليفfibrosis بينما بينت نتائج Gualdi وجماعته (1994)انه بغض النظر عن فرط الحديد الكلي للكبد فان نقطة التأثير له هي خلايا الحشوية .

9.8.2 تأثير فرط الحديد على الطحال Effect of iron load on the spleen

يعد الطحال من أهم مرشحات الدم أذ يزيل كريات الدم الحمر الشاذة والتالفة وله دور مناعي بسبب احتوائه على عدد كبير من الخلايا البلعمية Phagocyte والخلايا اللمفية(Vander *et al.*, 2001 ; Ganong, 2005) فقد أشار Fiorelli وجماعته(1990) أَنّ الطحال يلعب دوراً مركزياً في تنظيم الحديد, فهو يتحمل عبء كبيراً عند مرضى فقر الدم المنجلي Sickle cell anemia إذ يكون متضخما لكن بعد5–6 سنة يتغير بشدة ويفقد قابليته على الكشف عن كريات الدم المتضررة(Smith-Whitley,2003) ففي دراسة من قبلMurry وجماعته (1984) وجد إن الطحال في مرضى Haemodiaslysis يكون متضخم و فيه درجات مختلفة من ترسب الحديد وكذلك لاحظ إن الطحال المزال من هؤلاء المرضى والذين كانوا يعانون من عمليات نقل الدم المتكررة يحتوي على حديد مترسب ووجد علاقة بين حمل الحديد في الجسم وكمية الحديد المضافة, في حين ذكرKhan وجماعته (1999) إن الجرذان المغذاة بغذاء يحتوي على Carbonyl-iron %3 لمدة شهر يحصل لها زيادة في حديد الطحال بالمقارنة مع حيوانات السيطرة.

10.2 الإجهاد التأكسدي Oxidative Stress

يعرف الإجهاد التأكسدي بأنه عدم التوازن بين المؤكسدات oxidants ومضادات الأكسدة Antioxidants لمصلحة المؤكسدات مما يسبب ضرراً في الجزيئات الحيوية الكبيرة(De Zwart *et al*.,1999; Koyu *et al*., 2005) فالجذور الحرة Free radicals والمؤكسدات Oxidants تتولد وبشكل مستمر ضمن خلايا اللبائن لكنها تتوازن وبشكل طبيعي من خلال ايض مضادات الأكسدة الطبيعية

ففي الظروف الطبيعية يتعرض الكائن الحي إلى المؤكسدات إذ هنالك مصادر ذاتية داخلية كالعمليات الايضية الأساسية الطبيعية الموجودة في جسم الكائنات الحية الهوائية كما في تفاعلات إنزيمات السلسلة التنفسية وفي عملية البلعمة أو نتيجة التعرض للأشعة المؤينة أو ملوثات الهواء والكيميائيات الصناعية أو نتيجة العدوى أو الجروح كجزء من آليات الدفاع

(Bagchi &Puri, 1998; Rottkamp *et al*.,2001) .تتصف الأنواع الاوكسجينية الفعالةROS بقابليتها على أكسدة الدهون والأحماض الامينية والكاربوهيدرات بالإضافة إلى إحداث الطفرات في الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA . أذ لوحظ أن وجود جذر السوبر اوكسيد السالب (O_2^{-}) بتراكيز عالية يكون ساماً جداً للخلية فضلا عن العديد من التأثيرات الضارة فانه يهاجم سلاسل الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) بقوة ويؤكسدها بعملية تسمى بيروكسيدية الدهون Lipid peroxidation (Halliwell, 1994). وقد اثبت أن عملية أكسدة الدهون من المسببات الرئيسة للعديد من الحالات المرضية في الإنسان وتطورها يؤدي إلى حدوث مضاعفات حادة (Rimm *et al*., 1993) .

فيما اكتشف Chung وجماعته(2005) أن المعالجة مع الحديد تؤدي إلى اختزال مستويات مضادات الأكسدة وزيادة في أكسدة الدهون البروتينية واطئة الكثافة .

وقد أشارت الدراسة التي قام بها Oide وجماعته (2006)أن سمية الحديد تحدث بسبب قدرة ايوناته على تحفيز الجذور الحرة التي تسهل تحويل بيروكسيد الهيدروجين إلى جذور الهايدروكسيل والذي يعتقد انهما من أكثر البوادئ المهمة لأكسدة الدهون, كما أن زيادة الحديد ونقصان الكلوتاثايون يعتقد إنهما يشتركان في جهد الأكسدة Oxidative stress أذ سجل أن جهد الأكسدة يقلل من تركيز Glutathione peroxidase في حالات حمل الحديد في الكبد والقلب(Sochaski *et al*., 2002; Day *et al*., 2003; Cornejo *et al*., 2005) .

11.2 مضادات الأكسدة Antioxidants

تنتج مضادات الأكسدة في الجسم بتراكيز واطئة جداً مقارنة بالمواد القابلة للأكسدة Oxidizable substrate ، كما ويمكن الحصول عليها من مصادر الغذاء كما في فيتامين E وحامض الاسكوربيك (Koyu *et al*., 2005) .هنالك العديد من مضادات الأكسدة في الجسم تعمل بأشكال مختلفة فمنها أنزيمية Enzymatic antioxidant مثل Super oxide dismutase و Catalase و Glutathione peroxidase ، و Glutathione reductase و مضادات الأكسدة غير الأنزيمية Non – enzymatic antioxidants مثل حامض الاسكوربيك و اليورات والبيتا كاروتين β- carotene (Sanocko &Kurpisz, 2004) هذه العوامل المضادة للأكسدة غير معزولة عن بعضها البعض ، بل هنالك نوع من التداخل في العمل لكل منها ، فقد أشارت الدراسة التي أجريت على الأنظمة الماسخة للبروتين Protein-

denaturing systems إلى دور وحامض الاسكوربيك في تجديد فيتامين E بآلية غير أنزيمية (Karanth *et al*.,2003).

12.2 فيتامين E Vitamin E

اكتشف الفيتامين عام 1922 كمادة مضادة للأكسدة ذائبة في الدهون تمنع حصول العقم عند الفئران،ويعمل على منع أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة خارج وداخل الجسم وان نقصه يؤدي إلى كثير من الإمراض (Zubay, 2001) أن فيتامين E هو مجموعة من المركبات التي تسمى إلفا توكوفيرول ويتمثل الفيتامين بعائلتين هما التوكوفيرولات والتوكوترينولات وكل منهما يحوي على أربعة أشكال تركيبيةStereoisomer ، إلفا ، بيتا ، كاما ودلتا ، ويتواجد بالطبيعة أما بشكل حر d-form أو على شكل أملاح أو أسترات مثل خلات التوكوفيرول Tocopherolacetate وغيرها (Lee & Liu, 1998) ، فيما يتواجد فيتامين E بشكل كبير في محاصيل الحبوب كالحنطة والذرة ،الزيتون ، الجوز ، ومعظم الزيوت النباتية. أما المنتجات الحيوانية فتعد مصدراً فقيراً لفيتامين E إذ أن كميته فيها تعتمد على مستوى الفيتامين في العليقة المتناولة (Hatfield *et al.*, 2000), كما أن الكميات النموذجية لفيتامين E للإنسان تقارب 10ملغم/يوم (Emmert& Kirchner, 1999).

13.2 الأهمية الحيوية لفيتامين E Biological importance of Vitamin E

يعد فيتامين E من اكبر المساهمات غير الإنزيمية في التقليل من جهد الأكسدة (Halliwell.1989; Rikans *et al*., 1991) إذ يمنع إنتاج دهون مؤكسدة من خلال إزالة الجذور الحرة في الأغشية الخلوية (Kanter *et al*, 2009) .

أذ لوحظ أن فيتامين E المأخوذ عن طريق الغذاء يقلل من جهد الأكسدة في المرضى hyperlipoproteinemia وفي الأرانب التي غذيت بعليقه عالية الكولسترول (Szczeklik *et al*., 1985; Wen *et al*., 1999; Upston *et al*., 2001). كذلك له أهمية وظيفية للإنسان إذ انه يمنع حدوث حالات التنسج الليفي لعدسة العين وزيادة الضغط الرئوي والاضطرابات العصبية والاضطراب في وظيفة الأقراص الدموية (Bendich, 1990) . إذ وجد كلا من Piesova وجماعته (1991) وCarney وجماعته (2000) أن لفيتامين E القدرة على منع المواد المسرطنة مثل رابع كلورايد الكربون(CCL_4)من

تحطيم الكروموسومات ,كما يعمل أيضا في المحافظة على غشاء الخلية ويؤثر في بناء DNA (Azzi *et al*., 2000) فيما سجل Sue (1995) إن فيتامين E يزيد من قابلية الجهاز المناعي على مقاومة الإصابات الفيروسية والبكتيرية وأمراض الحساسية عندما يؤخذ بكميات كافية مع الغذاء , كما إن نقصه يؤدي إلى العديد من الحالات المرضية للحيوان كما في مرض العضلة البيضاء White muscle disease في الأغنام والعجول (Stanford *et al*.,1997), وتنخر الكبد Liver necrosis ومرض اعتلال العضلة القلبية Cardiomyo pathy ومرض القلب الأرجواني الداكن في الخنازير Mulberry heart disease (EL-Neweehy *et al*., 2000) , ومرض لين الدماغ Encephalomalecia في الدجاج (Whanger, 1996) .

الـفـصل الـثـالـث

المواد وطرائق العمل

1.3المواد Materials

1.1.3 الأجهزة

جدول(3-1) الأجهزة المستخدمة والمنشأ والشركة

التسلسل	الأجهزة	المنشأ	الشركة
.1	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	Germany	Hermile
.2	جهاز الطرد المركزي لمكداس الدم Hematocrit centrifuge	Germany	Heraeus Christ
.3	جهاز سالي Sahli	Japan	CrisTA Hawksley
.4	جهاز عد كريات الدمHemocytometer	Germany	Superoior
.5	حاضنة Digital incubator	Korea	Daihan Labtech
.6	حمام مائي Digital water bath	Korea	Daihan Labtech
.7	صفيحة حارة Hot plate	Germany	Mettler
.8	كاميرا رقمية Camera Digital	Germany	Mettler
.9	مازج Vortex	Italy	Roma
.10	مايكرو توم دوار Rotary Microtome	U.S.A	Unico,TM
.11	مجهر ضوئي Light microscope	Germany	Human scope
.12	محرك مغناطيسي Magnetic Stirrer	England	Galleon Kamp
.13	مطياف ضوئيspectrophotometer	Japan	Apple 203
.14	ميزان حساس Sensitive balance	Germany	Sartorius

جدول(3-2) الأدوات الزجاجية والبلاستيكية والمنشأ والشركة

التسلسل	الأدوات الزجاجية والبلاستيكية	المنشأ	الشركة
.1	أدوات بلاستيكية مختلفة الإحجام	Denmark	Nunclon
.2	أنابيب شعرية	china	China Mheco
.3	أنابيب مانعة للتخثر EDTA tubes	Jordan	Gold star
.4	زجاجيات مختلفة الإحجام Pyrex	England	Volac
.5	شرائح زجاجية Slides	china	China Mheco
.6	عدة تشريح Dissecting Set	--	--
.7	ماصات- باستور Pasteur-pipette	--	--
.8	محاقن نبيذة Disposable syringes	S.A.R	Medical ject

2-1-3 المواد الكيميائية Chemical materials

جدول(3–3) المواد الكيميائية والمنشأ والشركة

التسلسل	المادة	المنشأ	الشركة
.1	عدة تقدير الكولسترولTCوالدهون الثلاثية TG و الشحوم البروتينية عالية الكثافةHDL-C	Spain	linear
.2	عدة تقدير فعالية إنزيماتALT وAST	England	Randox
.3	عدة تقدير الحديد الحر Free iron وسعة ارتباط الحديد الكليةTIBC	Spain	linear
.4	حامض ألخليك الثلجي Glacial Aceti Acid	Germany	Riedel-dttean
.5	دكستران الحديد Iron dextran	Germany	ELITE medical GMBH
.6	زايلين Xylene	England	BDH
.7	شمع البرافين Paraffin Wax	Germany	Merck
.8	صبغة الايويسين eosin	England	BDH
.9	صبغة كمزا Giemsa stain	England	BDH
.10	صبغة هيماتوكسلين Hemotoxyline	England	BDH
.11	فورمالين	England	BDH
.12	فوسفات البوتاسيوم الهيدروجينيةKH_2PO_4	England	BDH
.13	فوسفات الصوديوم الهيدروجينيةNa_2HPO_4	England	BDH
.14	فيتامين E Alfa-tocopherol	India	Mission pharma. limited
.15	كحول اثيلي Ethanol	England	BDH
.16	كحول مثيلي Methanol	England	BDH
.17	كلوروفورم Chloroform	England	BDH

.18	كلوريد البوتاسيوم Potassium Chloride	England	BDH
.19	كندا بلسم	England	BDH
.20	محلول هايمس Haymes solution	--	--

2.3 طرائق العمل Methods

1.2.3 الحيوانات المستخدمة في الدراسة Experimental animals

استخدمت في الدراسة 15 حيوان من ذكور الأرانب المحلية معدل أوزانها 1.450 كيلو غرام , تم شرائها من الأسواق المحلية و إيوائها في أقفاص معدة لهذا الغرض, ووضعت في البيت الحيواني التابع لقسم علوم الحياة في كلية التربية /جامعة كربلاء في أقفاص مصنوعة من الألمنيوم بإبعاد (100× 70×46) سنتمتر وتم توفير الماء والعلف بصورة حرة وتركت لمدة أسبوعين حتى تتأقلم مع ظروف المختبر .

2.2.3 تصميم التجربة Experimental design

استخدم 15حيوان وقسمت عشوائيا على ثلاثة مجاميع ولمدة تسعة أسابيع وتم أتباع طريقة ومدة الحقن حسب (Dabbagh *et al*., 1997) وكانت المجاميع:

1. مجموعة السيطرة T1 وعوملت 0.5 مل بالحقن العضلي من المحلول الفسيولوجي ثلاث مرات أسبوعيا ولمدة تسعة أسابيع .
2. المجموعة الثانية T2 وعوملت 15ملغم/كغم بالحقن العضلي من دكستران الحديد ثلاث مرات أسبوعيا ولمدة تسعة أسابيع .
3. المجموعة الثالثة T3 وعوملت 15ملغم/كغم بالحقن العضلي من دكستران الحديد ثلاث مرات أسبوعيا +التجريع الفموي يوميا20ملغم/كغم لفيتامين E (Giacosa *et al*.,1997) ولمدة تسعة أسابيع ومن ثم أخذت المعايير التالية:-

1. أعداد كريات الدم الحُمر RBC و مكداس الدم PCV وتركيز الهيموكلوبين Hb .
2. فعالية الإنزيمين الناقلين لمجموعة الأمين ALT و AST .
3. تركيز الكولسترول الكلي TC والدهون الثلاثية TG و الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C والشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C والشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL-C في مصل الدم .
4. تركيز الحديد الحر Free Iron وسعة ارتباط الحديد الكلية TIBC و النسبة المئوية لإشباع البروتين الناقل للحديد(الترانسفرين) Transferrin في مصل الدم.

5. معرفة تأثير الاستجابة المناعية لفرط الحديد عن طريق اختبار كفاءة البلعمة.
6. اخذ مقاطع نسجية للكبد والطحال .

3.2.3 جمع العينات Samples collection

تـم سـحب5 مـل مـن الـدم مـن الوريـد الحـافي الاذنـي marginal ear vein للأرانب بعد فترة صيام 12 ساعة وبعد 48 ساعة من أخر حقن للحديد بوساطة محقنه نبيذه معقمة (كل ثلاثة أسابيع) على طول مدة التجربةالبالغة تسعة أسابيع ووضع الدم في أنابيب اختبار نظيفة ومن ثم وضع في جهاز الطرد المركزي وبسرعة 3000 دورة لمدة نصف ساعة لفصل المصل ومن ثم نقل المصل إلى أنابيب اختبار نظيفة وحفظ في المجمدة لحين إجراء التحاليل.

4.2.3 الفحوص الدموية:

1.4.2.3 قياس الهيموكلوبين (Hb) :

تـم قيـاس الهيموكلـوبين باسـتخدام طريقـة سـالي Sahli ، وأسـاس هـذه الطريقـة هـي تحـول خضـاب الـدم إلـى هيمـاتين حامضـي ، والنـاتج مـن تفاعـل حـامض الهيدروكلوريك 1% المضـاف ، وبعـد تخفيـف هـذا المـزيج بالمـاء المقطـر يقـارن مـع اللـون القياسي للجهاز وتحسب القيمة بالغرام / 100 مل من الدم (Jain, 1986) .

2.4.2.3 قياس حجم الخلايا المرصوصة (PCV) :

اسـتخدمت طريقـة المكـداس الدقيقـة (Microhaematocrit) باسـتعمال الأنابيـب الشـعرية (Capillary tubes) واسـتخدم جهـاز المنبـذة الخـاص لحجـم الخلايـا المرصوصـة Microhaematocrit centrifuge، ثـم قـرأت النتيجـة بوسـاطة المسـطرة الخاصـة PCV reader ، وحسـبت النتيجـة بالنسـبة المئويـة (%) (Coles, 1986; Jain, 1986) .

3.4.2.3 عدد كريات الدم الحمر :

اسـتخدمت طريقـة الـ (Haemocytometer) بحسـب مـا ورد فـي (Gregg,2000) إذ تـم حسـاب عـدد الكريـات الدمويـة الحمـراء لكـل مليمتـر مكعـب واحـد من الدم .

5.2.3 الاختبارات الكيموحيوية

1.5.2.3 تقدير فعالية الإنزيمين الناقلين لمجموعة الأمين في المصل

Determination of alanine transaminase activity(ALT) ALTو AST &aspartate transaminase activity (AST)

تم قياس مستوى فعالية إنزيمي AST, ALT في مصل الدم باستخدام عدة التقدير الجاهزة Kit المذكورة في الجدول (3-3) وعلى أساس التفاعلين الآتين:-

$$\alpha\text{-oxoglutarate} + \text{L-alanine} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-glutamate} + \text{Pyruvate}$$

$$\alpha\text{-oxoglutarate} + \text{L-aspartate} \xrightarrow{\text{AST}} \text{L-glutamate} + \text{Oxaloacetate}$$

إذ يعتمد تقدير فعالية الإنزيم ALT على البايروفيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة تفاعل الأنزيم مع ثنائي فنيل الهايدرازين

وكذلك تم تقدير فعالية الإنزيمAST من الاوكزالوأسيتيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة الأنزيم مع ثنائي فنيل الهايدرازين,

وأجريت التجربة كما يأتي (جميع الحجوم محسوبة بالملي لتر) .

المحلول	أنبوبة الفحص	أنبوبة الكفء
العينة (المصل)	0.1	–
محلول الفوسفات الدارئ	0.5	0.5
مزجت محتويات الأنابيب جيداً وحضنت لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 37 م°		
محلول ثنائي فنيل الهايدرازين	0.5	0.5
العينة (المصل)	–	0.1

مزجت محتويات الأنابيب وحضنت لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة20–25 م°		
محلول هيدروكسيد الصوديوم	5.0	5.0

بعد مزج محتويات الأنابيب جيداً, تم قياس الامتصاص لها عند الطول ألموجي 550 نانوميتر.

واستخدمت المحاليل في التجربة وتشمل :

1-المحلول الفوسفات الدارئ:

أ -لإنزيم ALTويتكون من الالنين (200 mM) والفاكيتوكلوتاريت (2.0 mM) المذابان في محلول الفوسفات الدارئ (pH 7.4).

ب- لإنزيم AST ويتكون من حامض الاسبارتيك (100 mM) والفاكيتوكلوتاريت (2.0 mM) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (pH 7.4).

2 - محلول 4.2 ثنائي نايتروفنيل هيدرازين (2.0 mM) .

3 - محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.4 N): تم تخفيف هذا المحلول عشر مرات بوساطة الماء المقطر قبل استعماله.

4 - محلول البايروفيت القياسي (2.0 mM).

2.5.2.3 تقدير تركيز الكولسترول الكلي في مصل الدم:- Determination of total cholesterol concentration in serum

قيس مستوى الكولسترول في مصل الدم باستخدام عدة التقدير الجاهزة Kit المذكورة في الجدول (3–3) وحسب أساس التفاعل التالي :

$$\text{Cholesterol esters} \xrightarrow{\textbf{Cholesterol esterase}} \text{Cholesterol + Free fatty acids}$$

$$\text{Cholesterol} + O_2 \xrightarrow{\textbf{Cholesterol oxidase}} \text{Cholesten. 4one}_3 + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{Phenol} + 4\text{ aminoantipyrine} \xrightarrow{\textbf{Peroxidase}} \text{Quinoneimine} + 4H_2O$$

إن المعقد Quinoneimine يعطي لون وردي /احمر تختلف شدته بحسب تركيز الكولسترول في الدم بعدها تمت قراءة النماذج عند طول موجي قدره 500

نـــانوميتر مقابـــل محلـــول الكـــفـــء Blank بوســـاطة جهـــاز مقيـــاس الطيـــف الضـــوئي ومن ثم تم حساب تركيز الكولسترول وفق الصيغة الآتية :

تركيز الكولسترول الكلي (ملغم/ديسي لتر)=

$$\frac{\text{الامتصاص الضوئي لعينة المصل}}{\text{الامتصاص الضوئي المحلول القياسي للكولسترول}} \times \text{تركيز المحلول القياسي (200ملغرام/100مل دم)}$$

3.5.2.3 تقدير تركيز الكليسيريدات الثلاثية في المصل :- Determination of triglyceride concentration in serum

تم قياس مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم باستخدام عدة التقدير الجاهزة Kit المذكورة في الجدول (3−3) , أساس هذه الطريقة تحليل الكليسيريدات الثلاثية إنزيميا إلى الكليسيرول وفقاً للتفاعلات الآتية :

$$\text{Triglycerides+3H2O} \xrightarrow{\textbf{Lipoprotein lipase}} \text{Glycerol + Free fatty acids}$$

$$\text{Glycerol + ATP} \xrightarrow{\textbf{Glycerol kinase}} \text{Glycerol-3-P + ADP}$$

$$\text{Glycerol-3-P + } O_2 \xrightarrow{\textbf{Glycerol 3-P- oxidase}} \text{DHAP + } H_2O_2$$

$$\text{4-amino antipyrine + 4-phenol} \xrightarrow{\textbf{Peroxidase}} H_2O + \text{Quinonimine}$$

بعـدها تمـت قـراءة النمـاذج عنـد طـول مـوجي قـدره (500) نـانوميتر باسـتخدام جهـاز مقيـاس الطيـف الضـوئي فـي الجـدول (3−1)وتـم حسـاب الكليسـيريدات الثلاثيـة وفقـاً للصيغة الآتية :

تركيز الكليسيريدات الثلاثية (ملغم/ديسي لتر)=

$$\frac{\text{الامتصاص الضوئي لعينة المصل}}{\text{الامتصاص الضوئي للمحلول القياسي}} \times \textbf{تركيز المحلول القياسي (200ملغرام/100مل دم)}$$

4.5.2.3 تقدير مستوى الشحوم البروتينية عالية الكثافة في المصل:- Determination of serum high density lipoproteins HDL-C

استخدم في تقدير مستوى الشحوم البروتينية عالية الكثافة في مصل الدم العدة الجاهزة Kit جدول (3-3)وتعتمد هذه الطريقة على أساس إن الكايلومايكرونات الشحوم البروتينية واطئة الكثافة و الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جداً تترسب مع حامض الفوسفوتنكستيك phosphotungistic acid بوجود أيونات المغنيسيوم . وان الشحوم البروتينية عالية الكثافة تبقى ذائبة في السائل الرائق العلوي وعليه يمكن قياس تركيزه في هذا المحلول وذلك بأخذ 50 مايكروليتر من كل من مصل الدم ، المحلول القياسي والماء المقطر الكفء Blank في ثلاثة أنابيب جافة ونظيفة وأضيف إلى كل أنبوبة 1 مل من محلول العمل cholesterol enzymatic solution رجت ثم وضعت في حمام مائي عند درجة حرارة 37م° ولمدة 5 دقائق وتمت قراءة الامتصاص عند طول موجي قدره 500 نانوميتر باستخدام مقياس الطيف الضوئي وتم حساب تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة وفقاً للصيغة الآتية :

تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة (ملغم/ديسي لتر)=

$$\frac{\text{الامتصاص الضوئي لعينة المصل}}{\text{الامتصاص الضوئي للمحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي (55ملغرام/100مل)}$$

5.5.2.3 حساب مستوى الشحوم البروتينية واطئة الكثافة للكولسترول:- Determination of serum low density lipoproteins LDL-C

تم قياس تركيز مستوى الشحوم البروتينية واطئة الكثافة للكولسترول باستخدام الصيغة الآتية : (Friedwald *et al*., 1972) .

الشحوم البروتينية واطئة الكثافة (ملغم/ديسي لتر)= الكوليستيرول الكلي – (الشحوم البروتينية عالية الكثافة للكولسترول + الكليسيريدات الثلاثية/5)

6.5.2.3 حســـاب مســـتوى الشـــحوم البروتينيـــة واطئـــة الكثافـــة جـــداً للكولسـترول:- Determination of serum very low density lipoproteins VLDL-C

قـدرت مسـتويات الشـحوم البروتينيـة واطئـة الكثافـة جـداً للكولسـترول وفـق الصـيغة الآتية (Friedwald *et al*., 1972) :

$$\text{الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جداً} = \frac{\text{تركيز الكليسيريدات الثلاثية}}{5}$$

7.5.2.3 تقـدير تركيـز الحديـد فـي المصـل:- Determination of concentration iron in serum

تم قياس تركيز الحديد في مصل الدم باستخدام عدة التقدير الجاهزة Kit المذكورة في الجدول (3-3) وحسب المبدأ التالي:-

الحديدFe^{+3} المرتبط مع بروتينferritin في المصل ينفصل في الوسط الحامضي الضعيف بمساعدة Teepol & guanidium chlorid ثم يختزل بواسطة hydroxylamine إلى الحديدFe^{+2} مكون ايون الحديد الثنائي كمعقد لوني نسبيا مع ferrozine والذي من خلاله نستطيع تحديد تركيز الحديد في النموذج حسب المعادلات الآتية :-

$$\text{Transferrin - } Fe^{+3} \xrightarrow[\text{Teepol}]{pH<5} \text{Apotransferrin + } Fe^{+3}$$

$$Fe^{+2} + \text{Hydroxylamine} \longrightarrow Fe^{+3}$$

$$Fe^{+2} + \text{ferrozine} \longrightarrow Fe^{+3}\ (\text{Ferrozine})_3^{+2}\ \text{Complex}$$

وأجريت التجربة كما يأتي:-

الأنابيب	كفؤ الكاشف Reagent blank	كفؤ النموذج Serum blank	العينة Sample	أنبوبة القياسي Standard

ماء مقطر Distal water	200µl	-	–	–
النموذج Sample	–	200µl	200µl	–
محلول القياسي Standard	–	–	–	200µl
الكاشف المستخدم R1	–	1.0 ml	–	–
خليط الكواشف R1+R2	1.0ml	–	1.0 ml	1.0 ml

ملاحظة:- يحضر خليط الكواشف أنيا من مزج(4احجام من R1+1حجم من R2)

بعد مزج محتويات الأنابيب جيداً, تركت لمدة 5 دقائق ثم تؤخذ الامتصاصية لها عند الطول ألموجي 560 نانومتر. إذ تتم قراءة الامتصاصية لمحلول كفؤ النموذج مقابل امتصاصية أنبوبة الماء المقطر ثم تقرأ امتصاصية أنابيب العينة وأنبوبة المحلول القياسي مقابل أنبوبة محلول كفؤ الكاشف .

ويتم حساب تركيز الحديد وفقاً للصيغة الآتية :

تركيز الحديد مايكروغرام/100مل =

$$\frac{\text{الامتصاص الضوئي لعينة المصل - الامتصاص الضوئي لعينة محلول الكفؤ}}{\text{الامتصاص الضوئي للمحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$

8.5.2.3 تقدير سعة ارتباط الحديد الكلية في المصل:- Determination of total iron banding capacity (TIBC) in serum

تم تحديد تركيز TIBC في المصل باستخدام عدة الجاهزة Kit جدول (3-3) وحسب المبدأ التالي:-

حديد المصل المرتبط مع Transferrin يكون مشبع فقط لثلث مناطق ارتباط الحديد بالبروتين و هناك مناطق غير مشبعة بالحديد(UIBC) لها القابلية على الارتباط عند توفر الحديد .

يقاس TIBC أولا بواسطة اشباع Transferrin من خلال تزويده بالحديد Fe^{+3} وما يتبقى من الحديد يمتص مع كربونات المغنسيوم وعند اكتمال عملية الربط والالتحام يزال بواسطة عملية الطرد المركزي,ونقيس إشباع الحديد المتكون في المحلول .

الكواشف:-

أ. **R1** محلول الحديد (500مايكروغرام/مل دم)

ب. **R2** مسحوق كربونات المغنسيوم

طريقة العمل:-

العينة Sample	0.5 ml	النسبة = العينة / كاشف *R1* = 1/2
كاشف R1	1.0 ml	معامل التخفيف =3

أ. تمزج الأنابيب جيدا وتترك لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة .

ب. نضيف ملعقة واحدة من كاشف R2 "حوالي 100ملغم" لكل أنبوبة وتترك لمدة 30 دقيقة .

ج. تمزج الأنابيب بجهاز المازج Vortex بشدة بفترات منتظمة كل 5 دقائق ولمدة 30 دقيقة .

د. توضع الأنابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق وبسرعة 3000دورة/دقيقة .

تقاس الامتصاصية للسائل الطافي على طول ألموجي 560 نانوميتر .

الحسابات :-

سعة ارتباط الحديد الكلية

$$\text{TIBC (مايكرو غرام/100مل)} = \frac{\text{الامتصاصية للعينة} \times \text{تركيز محلول القياسي}}{\text{الامتصاصية للمحلول القياسي}} \times \text{معامل التخفيف}$$

9.5.2.3 حساب النسبة المئوية لإشباع ناقل الحديد الترانسفرين Transferrin (%)

قدرت النسبة المئوية لإشباع ناقل الحديد (الترانسفرين) وفق الصيغة الآتية (Young, 2000):

$$\text{النسبة المئوية للإشباع \%} = \frac{\text{تركيز الحديد في المصل} \times 100}{\text{TIBC}}$$

6.2.3 اختبار كفاءة البلعمة Phagocytic index :

1.6.2.3المحاليل المستخدمة في التجربة

1.1.6.2.3تحضير محلول واطئ التوتر(كلوريد البوتاسيوم) Hypertonic solution

حضر هذا المحلول بحسب طريقة (Allen *et al.*, 1977) بإذابة 5.75 غم من كلوريد البوتاسيوم KCl في 500 سم^3 ماء مقطر ثم أكمل الحجم إلى 1000 سم^3 ، قسم المحلول إلى إحجام متساوية وعقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة بدرجة 4 مْ .

2.1.6.2.3 تحضير محلول سورنسن Sorenson buffer solution

حضر هذا المحلول بحسب طريقة (Allen *et al.*, 1977) بإذابة 6.74 غم من فوسفات البوتاسيوم KH2PO4 و7.08 غم من فوسفات الصوديوم الهيدروجينية Na2HpO4 في 100مل ماء مقطر ويحفظ في درجة 4 مْ يستعمل إثناء التصبيغ.

3.1.6.2.3 تحضير محلول التثبيت Fixative solution

حضـر هـذا المحلـول بحسـب طريقـة (Allen *et al.*, 1977) مـن مـزج ثلاثـة حجـوم مـن الكحـول ألمثيلـي المطلـق مـع حجـم واحـد مـن حـامض ألخليـك الثلجـي . كـان التحضير أنيا وقبل الاستعمال بنصف ساعة وحفظ بدرجة حرارة 4 مْ في الثلاجة.

4.1.6.2.3 تحضير صبغة كمزا

حضـــرت صـــبغة كمـــزا حســـب طريقـــة (Luna,1968) بإذابـــة 3 غـــم مـــن مسحوق الصـبغة فـي 100مـل مـن كحـول المثيلـي المطلـق فـي قنينـة معقمـة ومـزج جيـدا بواسـطة جهـاز محـرك مغناطيسـي Magnetic stirrer لمـدة سـاعتين علـى الأقـل مـع التسـخين وتـرك لمـدة يـومين ثـم رشـح باسـتخدام ورق الترشـيح ويعـد هـذا المحلـول (Stock solution) وحفظ في قنينة معقمة .

عنـد الاسـتخدام يمـزج 1 مـل مـن المحلـول ليضـاف إليـه 4 مـل مـن محلـول سـور نسن الدافئ كي يستخدم آنيا في تصبيغ الشرائح الزجاجية .

2.6.2.3 طريقة العمل

اتبعـــت الطريقـــة الموصـــوفة مـــن قبـــل (Mackie&Mcartney,1995) وبحســـب الخطوات التالية :

1. وضـعت 7–9 قطـرات مـن الـدم المسـحوب مـن الحيـوان فـي أنبوبـة ثـم وضـعت فوقهـا قطـرة مـن الـزرع البكتيـريbroth مـن نـوع بكتيريـا *Escherichia coli* .
2. حضنت في الحاضنة لمدة ساعة بدرجة 37 مْ .
3. بعــد الحضــن مزجــت الكتلــة واضــيف لهــا محلــول كلوريــد البوتاســيوم KCl تركيز 95 % بمقدار 3 مل مع التحريك المستمر .
4. وضعت في الحاضنة لمدة 8–10 دقائق فقط بدرجة حرارة 37 مْ .
5. طردت مركزيا لمدة 10 دقائق في 1500 دورة /دقيقة.
6. أزيل الرائق ويبقى 1 مل من الراسب.
7. أضـيف المثبـت الأول المكـون من(ميثانول+حـامض ألخليـك الثلجـي بنسـبة 3–1) والذي يحضر أنيا بمقدار 5 مل مع التحريك .
8. طرد مركزيا لمدة 10 دقائق بسرعة 2000 دورة بالدقيقة.
9. أزيـل الرائـق ويبقـى الراسـب وأضـيف المثبـت الثـاني مـع المـزج إلـى أن يصـبح اللون رائقآ جدآ.
10. حضرت الشرائح الزجاجية بطريقة القطرة الساقطة .

11. بعـد تجفيـف الشـرائح صـبغت بصـبغة كمـزا Giemsa بنسـبة (4:1 صبغة – محلول سورنسن) لمدة 20 دقيقة .
12. غسلت الشرائح بمحلول سور نسن أيضا.

فحصـت الشـرائح الزجاجيـة علـى قـوة× 100 ويـتم تحديـد عـدد الخلايـا المتبلعمـة وغيـر المتبلعمة حسب المعادلة التالية (Metcalf, 1986):-

$$\text{معامل البلعمة} = \frac{\text{عدد البكتيريا المتبلعمة}}{\text{العدد الكلي للخلايا}} \times 100$$

7.2.3 تحضـير المقـاطع النسـجية Histological preparation section

اتبعـت الطريقـة الموصـوفة مـن قبـل (Luna,1968) فـي تحضـير المقـاطع النسـجية أذ أجريـت عمليـة الانكـاز Dehydration والترويـق Clearing وصـب العينات في قوالب شمعية .

1.7.2.3 التقطيع النسجي Histological Sectioning

قطعـت العينـات المحفوظـة فـي قوالـب شـمعية المقـاطع نسـجية بواسـطة جهـاز المـايكرو تـوم الـدوار Rotary Microtome وتـم تحميلهـا علـى شـرائح زجاجيـة ممسـوحة بطبقـة رقيقـة مـن آح مـاير مضـاف إليهـا قطـرات مـن مـاء المقطـر ووضـعت علـى صـفيحة سـاخنة Hot plate بدرجـة حـرارة 37-40 مْ لحـين الجفـاف ومـن ثـم صـبغت الشـرائح النسـيجية وفـق إلطريقـة الموصـوفة فـي (Luna,1968) وحملـت بواسـطة كنـدا بلسـم المذاب بالزايلين وتركت على الصفيحة الساخنة لتجف .

3-3 التصوير ألمجهري

تـم تصـوير المقـاطع النسـجية باسـتخدام كـاميرا رقميـة Digital Camera Eyepiece(DCE-pw1) عالية الدقة موصولة إلى جهاز حاسوب .

3-4 التحليل الإحصائي

تم الاستعانة بالبرنامج الجاهز SPSS لغرض تحليل التباين لتجربة عاملية 3*3*5 وفق التصميم العشوائي الكامل كما تم اختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات باستخدام اختبار اقل فرق معنوي LSD(Steel & Torries,1980) .

الفصل الرابع

النتائج

الفصل الرابع

4. النتائج

1.4 التغيرات في المعايير الدموية و الكيموحيوية :-

1.1.4 التغيرات في معدل تراكيز الهيموكلوبين (غرام/100مل دم) :

يلاحظ من الجدول(4-1) وجود انخفاض معنوي $P < 0.05$ في معدل تراكيز الهيموكلوبين Hbفي المجموعة T2 المعاملةب15ملغم/كغم دكستران الحديد في الأسبوع الثالث بالمقارنة مع مجموعة السيطرة و استمر هذا الانخفاض طول مدة التجربة.

ويشير الجدول إلى إن التجريع الفموي لفيتامين E أدى إلى عدم وجود فروق معنوية في معدل تراكيز الهيموكلوبين Hb في المجموعة T3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

جدول(4-1)تأثير فيتامين E على مستويات معدل تراكيز الهيموكلوبينHb (غرام/100مل دم) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغمiron dextran	T3 15 ملغم/كغمiron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	13.25 ±0.27 A a	11.93 ±0.32 B a	13.41 ±0.36 A a	0.93
الأسبوع السادس	13.31 ±0.21 A a	11.71 ±0.3 B a	13.69 ±0.32 A a	0.83
الأسبوع التاسع	12.96 ±0.33 A a	11.02 ±0.38 B a	12.23 ±0.37 A a	1.04
L.S.D	0.81	0.91	1.02	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

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

2.1.4 التغيرات في معدل مستويات حجم مكداس الدم(%) :-

يلاحظ من الجدول (4–2) وجود انخفاض معنوي P<0.05 في معدل مستويات حجم مكداس الدم (%) في المجموعة المعرضة لفرط الحديد T2 في الأسبوع الثالث وأستمر هذا التغير طول مدة التجربة كما يشير الجدول إلى عدم وجود تأثير معنوي للمدة الزمنية.

كما يشير الجدول إلى إن التجريع الفموي فيتامين E أدى إلى عدم وجود فروق معنوية في معدل مستويات حجم مكداس الدم (%) في المجموعة T3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

جدول(4–2) تأثير فيتامين E على معدل مستويات حجم مكداس الدم (%) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغم iron dextran	T3 15 ملغم/كغم iron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	42 ±0.96 A a	39 ±0.66 B a	41.88 ±0.78 A a	1.98
الأسبوع السادس	41.5 ±0.21 A a	38.7 ±0.3 B a	41.70 ±0.48 A a	1.17
الأسبوع التاسع	41.37 ±0.53 A a	39.15 ±0.78 B a	41.02 ±0.53 A a	1.51
L.S.D	1.75	1.5	1.48	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

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

3.1.4 التغيرات في معدل مستويات أعداد كريات الدم الحمر $/mm^3$ 10^6:

يلاحظ من الجدول (4−3) وجود انخفاض معنوي $P<0.05$ في معدل مستويات أعداد كريات الدم في الأسبوع السادس والتاسع في المجموعة المعرضة لفرط الحديد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

كما يشير الجدول إلى أن التجريع الفموي فيتامين E أدى إلى عدم وجود فروق معنوية في معدل مستويات أعداد كريات الدم الحمرفي المجموعة T3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

جدول (4−3) تأثير فيتامين E على معدل مستويات أعداد كريات الدم الحمر $/mm^3$ 10^6 كرية في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغم iron dextran	T3 15 ملغم/كغم iron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	6.08 ± 0.13 A a	5.6 ± 0.41 A a	5.8 ±0.15 A a	0.4
الأسبوع السادس	6.15 ±0.18 A a	5.42 ±0.15 B a	5.55 ±0.16 A a	0.39
الأسبوع التاسع	6.11 ±0.16 A a	5.27 ±0.18 B b	5.76 ±0.19 A a	0.44
L.S.D	0.37	0.43	0.36	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

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

4.1.4 التغيـــرات فـــي معـــدل مســـتويات فعاليـــة إنـــزيم الناقـــل لمجموعـــة الأمين IU/L ALT :

يلاحـظ مـن الجـدول (4-4) ارتفـاع معنـوي P<0.05 فـي معـدل مسـتويات فعاليـة الإنـزيم الناقـل لمجموعـة الأمـين IU/L ALT فـي الأسـبوع السـادس و التاسـع فـي المجموعـة التـي حقنـت بالعضـل ب15ملغم/كغـم دكسـتران الحديـد إذ كانـت القـيم (IU/L 31.4 و IU/L 33.4) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

كمـا يشـير الجـدول إلـى إن التجريـع الفمـوي فيتـامين E وبجرعـة20ملغم/كغـم أدى إلـى انخفـاض معنـوي P<0.05 فـي معـدل مسـتويات فعاليـة إنـزيم ALT فـي المجموعـة T3 بالمقارنة مع المجموعة المحقونة 15 ملغم/كغم دكستران الحديد T2 .

جدول(4-4) تأثير فيتامين E على معدل مستويات فعالية إنزيم IU/L ALTفي مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغم iron dextran	T3 15 ملغم/كغم iron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	18.60 ±1.29 A a	21.2 ±2.44 A a	19.0 ±2.43 A a	5.17
الأسبوع السادس	19.6 ±1.86 A a	31.40 ±1.54 B b	21.60 ±1.81 A a	4.24
الأسبوع التاسع	20.0 ±1.58 A a	33.40 ±1.21 B b	22.20 ±2.37 A a	4.3
L.S.D	3.8	4.39	5.4	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

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

5.1.4 التغيـرات فـي معـدل مسـتويات فعاليــة إنــزيم الناقـل لمجموعـة الأمــين AST IU/L :

فـي الجـدول (4-5) يلاحـظ ارتفاعـا معنويـا P<0.05 فـي معـدل مسـتويات إنـزيم الناقـل لمجموعــة الأمــين AST فــي المجموعــة T2 والتــي حقنــت ب15ملغم/كغــم بدكسـتران الحديـد فـي الأسـبوع السـادس و التاسـع مـن التجربـة إذ كانـت القـيم (23.0 IU/L, 30.0 IU/L) بالمقارنــة مــع مجموعــة الســيطرة T1, فيمــا لــم يلاحـظ فـروق معنويـة فـي الأسـبوع الثالـث.كمـا لـوحظ أن مجموعـة الحيوانـات التـي جرعـت ب20ملغم/كغـم مـن فيتـامين E والمعرضــة لفـرط الحديـد قـد سـبب انخفـاض معنـوي P<0.05 فــي معـدل مســتويات فعاليــة الإنــزيم AST فــي الأســبوع التاســع بالمقارنــة مــع مجموعــة T2 المحقونــةب15ملغم/كغم dextran iron فقـط ويلاحـظ أن للمـدة الزمنيـة لهـا تـأثير معنـوي خلال التسعة أسابيع .

جدول(4-5) تأثير فيتامين Eعلى مستوى فعالية إنزيم AST IU/lفي مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغم iron dextran	T3 15 ملغم/كغم iron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	16.0 ±1.58 A a	21.8 ±3.0 A a	15.4 ±2.92 A a	6.21
الأسبوع السادس	14.8 ±1.2 A a	23.0 ±3.96 B b	18.2 ±2.96 A a	7.17
الأسبوع التاسع	15.40 ±1.81 A a	30.0 ±2.82 B a	21.8 ±3.83 A a	7.15
L.S.D	3.79	8.03	7.93	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

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

6.1.4 التغيــرات فــي معــدل مســتويات تركيــز الكولســترول الكلــي TC (ملغم/ديسي لتر):

يشير الجدول إلى وجود انخفاض معنوي P<0.05 في معدل مستويات تركيز الكولسترول TC في المجموعة T2و T3 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة في الأسبوع الثالث من التجربة, فيما وجد انخفاض في مستوى الكولسترول في الأسبوع السادس والتاسع إلا انه لم يصل إلى مستوى المعنوية في المجموعة T2 وT3 مقارنة مع مجموعة السيطرة T1 .

جدول(4-6) تأثير فيتامين E على معدل مستويات الكولسترول الكلي (ملغم/ديسي لتر) في المصل لذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغم iron dextran	T3 15 ملغم/كغم iron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	137.0 ±4.66 A a	113.20 ±7.27 B a	120.20 ±9.43 B a	17.94
الأسبوع السادس	141.20 ± 5.65 A a	125.40 ±12.35 A a	126.60 ± 3.74 A a	19.8
الأسبوع التاسع	139.0 ±13.13 A a	124.80 ±13.49 A a	129.0 ±5.37 A a	27.56
L.S.D	21.18	27.7	16.04	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

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

7.1.4 التغيـــرات فـــي معـــدل مســـتويات تركيـــز الكليســـيرول الثلاثـــي TG (ملغم/ديسي لتر):

يشــير الجــدول (4−7) إلــى عــدم وجــود فــروق معنويــة فــي معــدل مســتويات الكليســيرول الثلاثــي فــي المجموعــة المعرضــة لفــرط الحديــد T2 والمجموعــة المحقونــة ب15ملم/كغـم دكسـتران الحديـد مـع التجريـع الفمـوي20ملغم/كغـم لفيتـامين E T3 بالمقارنـة مع مجموعة السيطرةT1 وعلى طول مدة التجربة .

جدول(4-7) تأثير فيتامينE على معدل مستويات تركيز الكليسيرول الثلاثي Triglyceride TG (ملغم/ديسي لتر) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغم iron dextran	T3 15 ملغم/كغم irondextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	139.80 ±5.02 A a	136.60 ±11.16 A a	137.0 ±4.46 A a	18.33
الأسبوع السادس	140.0 ±6.02 A a	139.20 ±5.89 A a	138.20 ±5.44 A a	14.11
الأسبوع التاسع	139.6 ±6.17 A a	136.0 ±4.57 A a	138.0 ±5.17 A a	13.04
L.S.D	14.04	18.8	12.28	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

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

8.1.4 التغيــرات فــي معــدل مســتويات تركيــز الشــحوم البروتينيــة عالية الكثافة HDL-C (ملغم/ديسي لتر):

لــوحظ وجــود انخفــاض معنــوي P<0.05 فــي معــدل مســتويات HDL-C فــي المجموعــة T2 المحقونــة ب15ملغم/كغـم دكسـتران الحديـد مقارنــة مــع مجموعــة السـيطرة T1 فـي الأسـبوع الثالـث بالمقارنــة مـع مجموعــة السـيطرة واسـتمر الانخفـاض طـول مـدة التجربــة الجـدول (4–8).كمـا يشـير الجـدول إلـى وجـود انخفـاض معنـوي P<0.05 فـي معـدل مسـتويات HDL-C فـي المجموعـةT3 و التـي جرعـت ب20ملغم/كغـم فيتـامين E والمعرضــة لفـرط الحديـد فـي الأسـبوعين الثالـث والسـادس بالمقارنــة مــع مجموعــة السيطرة, إلا انـه لـم يصـل إلـى مستوى المعنويـة فـي الأسـبوع التاسـع إذ يبـدو أن الفيتـامين اثـر بشـكل ايجـابي فـي تركيـز إل HDL-C إذ كانـت القيمـة (38.8) ملغم/ديسـي لتـر بالمقارنة مع مجموعة السيطرة إذ كانت قيمتها (44.8) ملغم/ديسي لتر .

جدول(4-8) تأثير فيتامين E على معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C (ملغم/ديسي لتر) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغم iron dextran	T3 15 ملغم/كغم iron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	44.60 ±2.93 A a	30.40 ±2.04 B a	33.60 ±2.89 B a	6.45
الأسبوع السادس	46.20 ±4.35 A a	34.80 ±1.75 B a	34.80 ±0.58 B a	6.64
الأسبوع التاسع	44.80 ±3.76 A a	34.60 ± 1.66 B a	38.8 ±1.43 A a	6.03
L.S.D	9.07	3.27	4.48	

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

9.1.4 التغيـرات فـي معـدل مسـتويات تركيـز الشـحوم البروتينيـة واطئـة الكثافة LDL-C (ملغم/ديسي لتر):

يشـير الجـدول(4–9) إلـى وجـود انخفـاض غيـر معنـوي فـي معـدل مسـتويات تركيـز الشـحوم البروتينيـة واطئـة الكثافـة LDL-C فـي المجموعـة T2 المحملـة بفـرط الحديـد بالمقارنـة مـع مجموعـة السـيطرة T1 كمـا لـم يكـن الارتفـاع معنـوي فـي معـدل مسـتويات LDL-C فـي مجموعـة الحيوانـات T3 المعرضـة لفـرط الحديـد والمجرعـة بالفيتـامين بالمقارنـة مـع المجموعـة T2 , كمـا لـم تلاحـظ فـروق معنويـة بـين المـدة الزمنيـة على طول مدة التجربة .

جدول(4-9) تأثير فيتامين E على معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL-C (ملغم/ديسي لتر) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغم iron dextran	T3 15 ملغم/كغم iron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	64.44 ±8.07 A a	55.48 ±6.10 A a	59.20 ±9.72 A a	19.45
الأسبوع السادس	67.0 ±10.0 A a	63.16 ±11.71 A a	64.16 ±3.27 A a	22.16
الأسبوع التاسع	66.28 ±16.12 A a	63.0 ±12.15 A a	64.20 ±3.99 A a	28.9
L.S.D	29.03	25.27	15.49	

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

10.1.4 التغيرات في معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جداً للكولسترول VLDL-C (ملغم/ديسي لتر):

تشير النتائج إلى عدم وجود فروق معنوية في معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL-C في الحيوانات المعرضة لفرط الحديد T2 بالمقارنة مع مجموعة السيطرةT1 ,وكذلك تشير إلى عدم وجود فروق معنوية في مجموعة الحيوانات المجرعة بفيتامين E T3و المعرضة لفرط الحديد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة جدول(4-10) . ولم يكن للمدة الزمنية تأثير معنوي وعلى طول فترة التجربة .

جدول(4-10) تأثير فيتامين E على معدل مستويات تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا VLDL-C (ملغم/ديسي لتر) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 iron dextran15ملغم/كغم	T3 irondextran 15 ملغم/كغم +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	27.96 ±0.98 A a	27.32 ±2.29 A a	27.40 ±0.89 A a	3.72
الأسبوع السادس	28.0 ±1.20 A a	27.84 ±1.17 A a	27.64 ±1.09 A a	2.81
الأسبوع التاسع	27.92 ±1.23 A a	27.20 ±0.91 A a	27.6 ±1.04 A a	2.58
L.S.D	1.77	3.84	2.44	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

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

11.1.4 التغيـرات فـي معـدل مسـتويات الحديـد (مـايكروغرام/100مـل) فـي المصـل :

لـوحظ وجـود ارتفـاع معنـوي P<0.05 فـي مسـتوى تركيـز الحديـد فـي المجموعـة T2 المحقونة ب15ملغم/كغم دكستران الحديد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة T1 في الأسبوع الثالث واستمر هذا الارتفاع على طول مدة التجربة, كذلك يبين الجدول ارتفاع معنوي في مستوى الحديد الحر في المصل في مجموعة الحيوانات المجرعة ب20ملغم/كغم فيتامين E والمعرضة لفرط الحديد كما يشير الجدول إلى عدم وجود تأثير معنوي للمدة الزمنية.

جدول(4-11) تأثير فيتامينE على معدل مستويات الحديد (مايكروغرام/100مل) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغمiron dextran	T3 15 ملغم/كغمiron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	116.8 ±13.12 A a	271.40 ± 28.63 B a	264.67 ±45.38 B a	77.7
الأسبوع السادس	112.0 ±13.94 A a	312.60 ±25.56 B a	278.60 ±23.1 B a	52.2
الأسبوع التاسع	115.80 ±13.52 A a	351.58 ±46.78 B a	281.40 ±45.56 B a	93.8
L.S.D	32.9	85.2	96.8	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

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

12.1.4 التغيـرات فـي معـدل مسـتويات سـعة ارتبـاط الحديـد الكليـةTIBC (مايكروغرام/100مل) في المصل :

يشـير الجـدول إلـى وجـود ارتفـاع معنـوي P<0.05 معـدل مسـتويات سـعة ارتبـاط الحديـد الكليـةTIBC فـي المجموعـة T2 والمحقونـة ب15ملغم/كغـم دكسـتران الحديـد بالمقارنـة مـع مجموعـة السيطرة T1 فـي الأسـبوع الثالـث, واسـتمر هـذا الارتفـاع طـول مـدة التجربة.

كـذلك يشـير الجـدول إلـى وجـود ارتفـاع معنـوي فـي معـدل مسـتويات سـعة ارتبـاط الحديـد الكليـة فـي المجموعـة المجرعـة ب20ملغم/كغـم فيتـامين E والمعرضـة لفـرط الحديـد في الأسبوعين السادس و التاسع بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

جدول(4-12) تأثير فيتامين E على معدل مستويات سعة ارتباط الحديد الكليةTIBC(مايكروغرام/100مل) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغم iron dextran	T3 15 ملغم/كغم iron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	261.40 ±39.89 A a	430.60 ±53.37 B a	376.42 ±55.11 B a	131.6
الأسبوع السادس	248.80 ±23.35 A a	415.6 ±44.73 B a	392.20 17.18 B a	81.4
الأسبوع التاسع	254.0 ±45.49 A a	442.60 ±32.11 B a	408.0 ±70.82 B a	126.7
L.S.D	96.6	107.9	128.6	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

13.1.4 التغيرات في معدلات إشباع Transferrin% :

يشير الجدول إلى وجود ارتفاع معنوي P<0.05 في معدل مستويات نسبة إشباع الترانسفرين في المجموعة T2 والمحقونة ب15ملغم/كغم دكستران الحديد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة T1 في الأسبوع الثالث, واستمر هذا الارتفاع طول مدة التجربة.

كذلك يشير الجدول إلى وجود ارتفاع معنوي P<0.05 في معدل مستويات إشباع الترانسفرين في الحيوانات المجرعة ب20ملغم/كغم فيتامين E والمعرضة لفرط الحديد T3 خلال مدة التجربة إذ كانت القيم 70.3و71.04و 68.97 مايكروغرام/100مل دم وعلى التوالي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة T1.

جدول(4-13) تأثير فيتامين E في معدل مستويات إشباع Transferrin % (مايكروغرام/100مل دم) في مصل ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد ولمدة تسعة أسابيع

المجاميع / المدة (الأسبوع)	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغم iron dextran	T3 15 ملغم/كغم iron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
الأسبوع الثالث	44.68 ± 5.57 A a	63.02 ±4.4 B a	70.30 ±3.41 B a	11.09
الأسبوع السادس	45.02 ±4.12 A a	75.21 ±4.85 B a	71.04 ±4.27 B a	10.78
الأسبوع التاسع	45.59 ±5.24 A a	79.49 ±5.43 B a	68.97 ±5.81 B a	16.1
L.S.D	12.2	11.9	14.3	

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة

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

14.1.4 التغيرات في معامل البلعمة Phagocytic Index :-

يشير الجدول (4-14) إلى وجود انخفاض معنوي P<0.05 في معدل معامل البلعمة في المجموعة T2المعاملة ب15ملغم/كغم دكستران الحديد إذ كانت القيم 6.10 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة T1 إذ كانت القيمة7.68.

كذلك يبين الجدول وجود فروق معنوية بين مجموعة الحيواناتT3 المجرعة ب20ملغم/كغم فيتامين E والمعرضة لفرط الحديد إذ كانت القيم 7.05بالمقارنة مع مجموعة المعرضة لفرط الحديد إذ كانت القيمة 6.10 .

جدول (4-14) تأثير فيتامين E على معدل معامل البلعمة في ذكور الأرانب المعرضة لفرط الحديد في نهاية التجربة

المجاميع	T1 السيطرة	T2 15ملغم/كغمiron dextran	T3 15 ملغم/كغمiron dextran +20 ملغم/كغم فيتامين E	L.S.D
معامل البلعمة	7.68 ± 0.17 A	6.10 ± 0.31 B	7.05 ± 0.23 A	0.7

المعدل ± الخطأ القياسي, n =5/مجموعة
الحروف تدل على وجود فروق معنوية تحت مستوى P<0.05

2.4 التغيرات النسجية

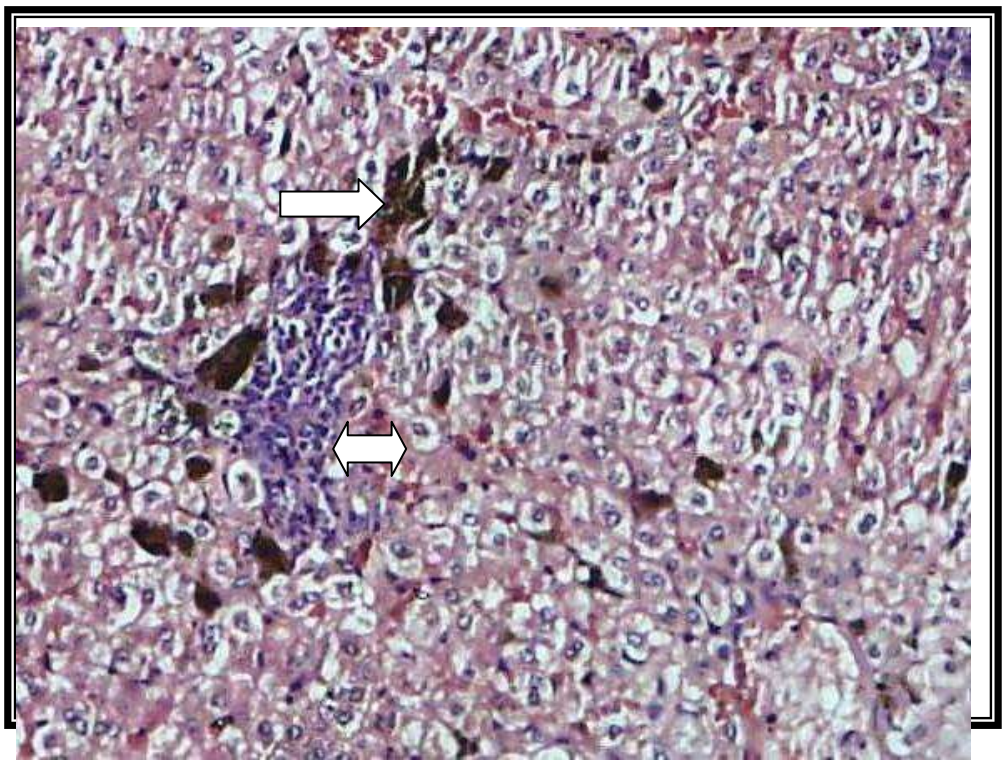
1.2.4 تأثير فرط الحديد في نسيجي الكبد والطحال:

لوحظ ترسب الحديد بشكل الهيموسدرين في الخلايا البلعمية macrophage وارتشاح الخلايا الالتهابية في كبد وطحال حيوانات المجموعة T2 المعامل بالحقن العضلي15ملغم/كغم دكستران الحديد صورة (4−2و4−5) مقارنة مع مجموعة السيطرة (4−1و4−4) .

2.2.4 تأثير إضافة فيتامينE في نسيجي الكبد والطحال الحيوانات المعرضة لفرط الحديد:

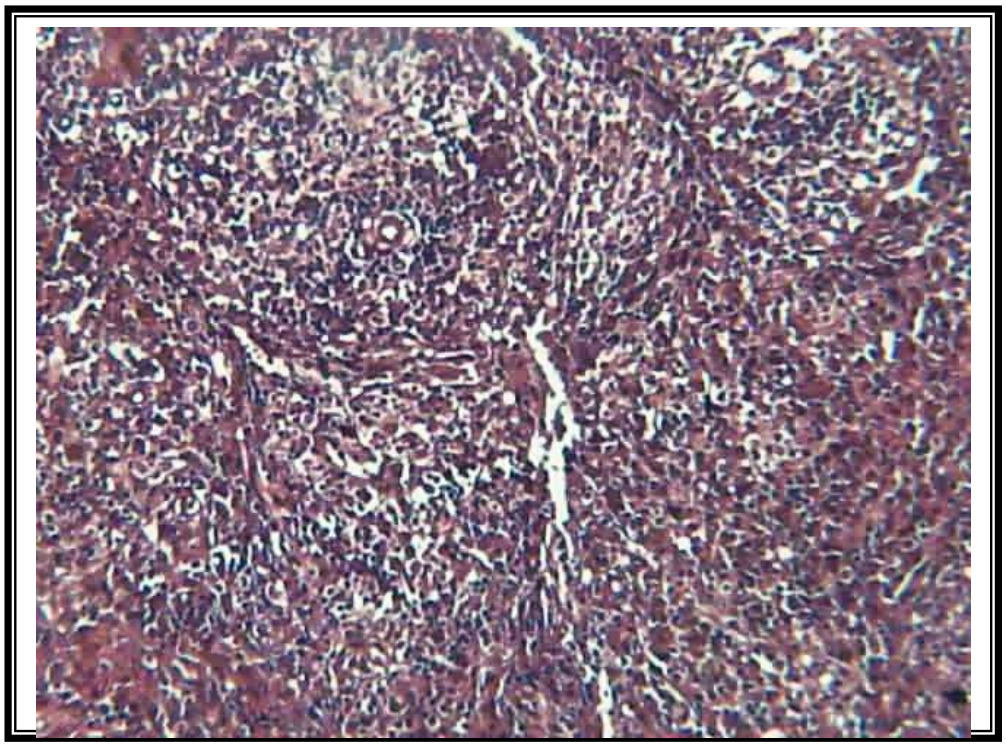
لوحظ تغيرات تنكسيه مع احتقان الأوعية الدموية وارتشاح الخلايا الالتهابية في كبد و طحال حيوان المجموعة T3المعامل بالحقن العضلي15ملغم/كغم دكستران الحديد +التجريع الفموي20 ملغم/كغم فيتامين E صورة (4−3و4−6) مقارنة مع مجموعة السيطرة (4−1و4−4) .

صورة (4-1) مقطع نسجي لكبد حيوان (السيطرة) ملاحظة تراكيب الكبد طبيعية(H&E 10)

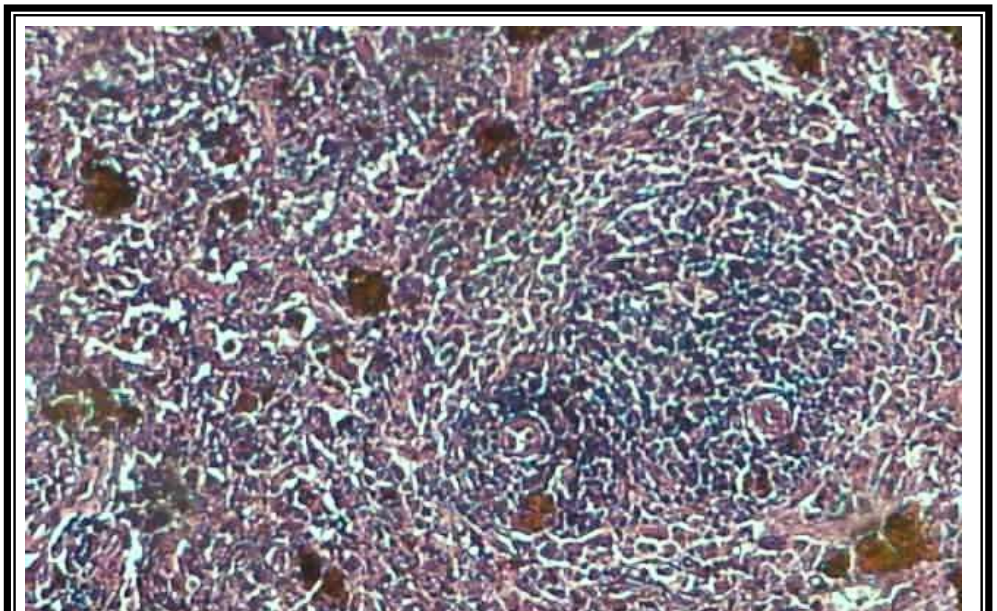


صورة (4-2) مقطع نسجي لكبد حيوان معامل بالحقن العضلي15ملغم/كغم دكستران الحديد(⇨)
يشير إلى ترسب Hemosiderin السهم (⇔)يشير إلى ارتشاح الخلايا الالتهابية(H&E× 10)

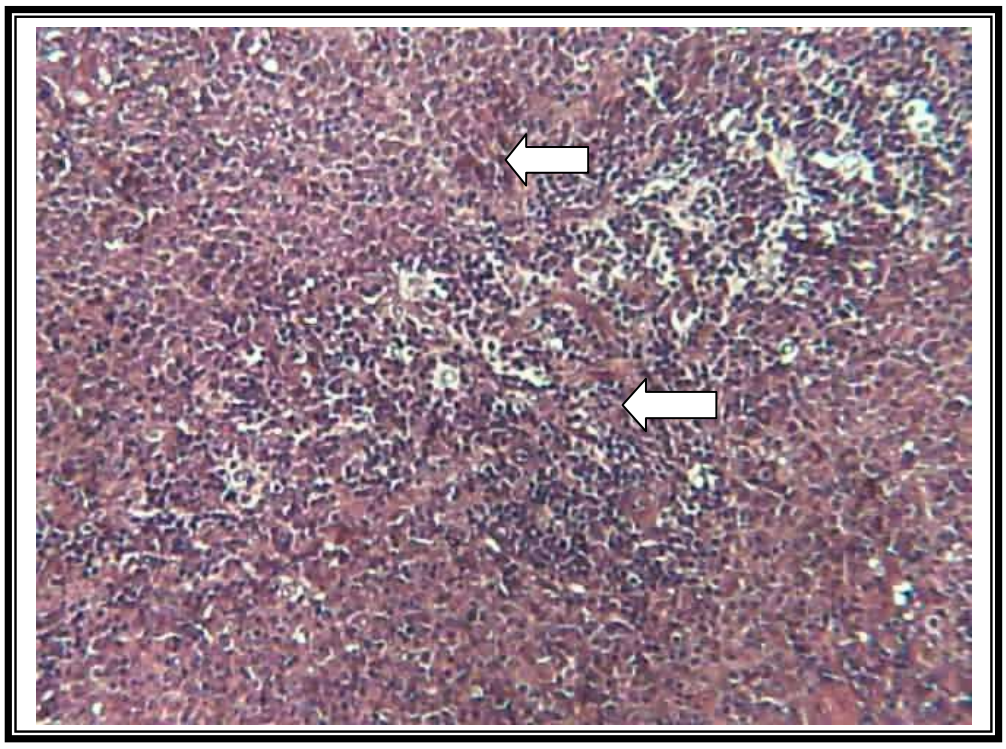
صورة (4–3) مقطع نسجي لكبد حيوان معامل بالحقن العضلي15ملغم/كغم دكستران الحديد+التجريع الفموي 20ملغم/كغم فيتامين E السهم(⟺) يشير إلى تغيرات تنكسيه السهم (⟹)يشير إلى ارتشاح الخلايا الالتهابيةمع احتقان الأوعية الدموية (H&E 10)



صورة (4–4) مقطع نسجي لطحال حيوان (السيطرة) ملاحظة تراكيب الطحال طبيعية(H&E ×10)



صورة(4-5) مقطع نسجي لطحال حيوان معامل بالحقن العضلي 15ملغم/كغم دكستران الحديد السهم ( ) يشير إلى ترسب الحديد بشكل الهيموسدرين (H&E×10)



صورة (4-6) مقطع نسجي لطحال حيوان معامل بالحقن العضلي15ملغم/كغم irondextran+ التجريع الفموي ل20ملغم/كغم فيتامين E ( ) يشير إلى ارتشاح الخلايا الالتهابية مع بعض التغيرات التنكسية(H&E× 10)

الفصل الخامس

المناقشة

الفصل الخامس

5. المناقشة Discussion

5. 1 تـأثير فـرط الحديـد علـى المعـايير الدميـة(أعـداد كريـات الـدم الحمـر و حجـم مكداس الدم وتركيز الهيموكلوبين):

لقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي في أعداد كريات الدم الحُمر (RBC) بعد الحقن العضلي بدكستران الحديد مقارنة بمجموعة السيطرة ، أما بالنسبة لمكداس الدم وتركيز الهيموكلوبين فقد لوحظ أيضا انخفاض في قيمها وهي تتفق مع الدراسات التي أجريت من قبل(Henry *et al.*,1961; Dabbagh *et al.*,1997; Afroditi, 2006).

يبدو أن مخازن الحديد في كريات الدم (الهيموكلوبين) قد أشبعت منذ بداية الحقن بدكستران الحديد وان تكرار الحقن يؤدي إلى إضرار معاكسة في كريات الدم الحمر نتيجة تحرير الجذور الحرة والتي تؤثر على أغشية كريات الدم الحمر مما يؤدي إلى تكسرها وتحللها في مجرى الدم وبالتالي انخفاض في معدلات إعداد كريات الدم وحجم المكداس ونسبة الهيموكلوبين إذ أن هناك علاقة طردية بين الهيموكلوبين وحجم خلايا الدم المرصوصة وهذا يؤكد ما أشار إليه Cornejoوجماعته (2005) من أن هناك علاقة طردية بين معدل مستويات الهيموكلوبين وحجم خلايا الدم المرصوصة وأن كلاً منهما يؤكد الآخر في مستوياتهما في الدم, وربما يعود هذا الانخفاض إلى إشباع الترانسفرين إذ تحدث زيادة في الحديد الثلاثي والذي يتحرر في المصل نتيجة الحقن المستمر بدكستران الحديد ويشترك في تفاعلات غير مسيطر عليها (غير منتظمة) إذ أن ايون الحديديك ليس له القابلية على نقل الأوكسجين لذلك ستحدث قلة في معدلات الأوكسجين المنقولة ، الأمر الذي يؤدي بدوره إلى تقليل معدلات بقاء survival rate كريات الدم الحُمر التي تدور في مجرى الدم وهذا يتفق مع ما ذكره Kanekoوجماعته (1997) ، وعليه فأن النقص في إعداد كريات الدم الحُمر يسبب فقداناً للدم ومن ثم تخفيفه وبالتالي تقليل قيم PCV .

من جهة أخرى لاحظ كل من Demir وÖner (1995) إن الانخفاض في إعداد كريات الدم الحمر وحجم خلايا الدم المرصوصة ومستوى الهيموكلوبين يحصل

نتيجـة تهشـم جـدار كريـة الـدم الحمـراء مـن خـلال تـأثير العناصـر الثقيلـة علـى الـدهون والبروتينات المكونة للجدار وكذلك التأثير على نفاذية الغشاء .

فيمـا أشـارت بعـض المصـادر إلـى دور فـرط الحديـد فـي تحريـر الجـذور الحـرة والتـي تـؤدي إلـى تثبـيط الكلوتاثـايون المتحـرر مـن الكبـد وهـذه المـادة تعمـل علـى الحفـاظ علـى مسـتوى الهيموكلـوبين فـي داخـل كريـه الـدم الحمـراء وكمـا يعمـل علـى تثبـيط إنـزيم Glutathione peroxidase المهـم فـي إزالـة بيـرو كسـيد الهيـدروجين H_2O_2 لـذا فـان تثبيط هذا الإنـزيم يعمل على التقليل من عمر الكريـه وهذا اتفق مع (Vander *et al.* , 2001; Fair, 2003).

أو أن تكـرار الحقـن يـؤدي إلـى فـرط للحديـد Iron overload وهـذا الحديـد يتجمـع فـي خلايـا الشـبكية البطانيـة Reticuloendothelial cells والخلايـا الحشـوية parenchymal cells لنخـاع العظـم ممـا يسـبب ضـرر نسـجي لـه مـن خـلال تكـوين الجـذور الحـرة وتحطـيم العضـيات داخـل خلويـة وال DNA والأغشـية الخلويـة (Ng *et al.*, 2001).

2.5 تأثير إضافة فيتامين E و فرط الحديد على المعايير الدمية(أعداد كريات الدم الحمر و حجم مكداس الدم وتركيز الهيموكلوبين):

أظهـرت نتـائج الدراسـة الحاليـة أن فيتـامين E قلـل مـن تـأثيرات حمـل الحديـد علـى أعـداد كريـات الـدم الحمـر وحجـم مكـداس الـدم و تركيـز الهيموكلـوبين , وهـي نتـائج تتفـق مـع (Diplock *et al.*, 1998;Koyu,2005) اللـذان بينـا إن لإضـافة فيتـامين E دور فـي التخفيـف مـن ضـرر الأكسـدة فـي كريـات الـدم الحمـر إذ يسـتطيع فيتـامين E مـن حمايـة الأحمـاض الدهنيـة مـن ضـرر الأكسـدة إذ لـوحظ إن الجزيئـة الواحـدة مـن التوكـوفيرول تسـتطيع حمايـة مـا يقـارب 10^7 جزيئـة مـن الأحمـاض الدهنيـة غيـر المشـبعة فـي مسـتويات البيروكسـيد المنخفضـة , فيمـا تصـل نسـبة التوكـوفيرول إلـى حـامض الاركوادونيـك Arachidonic acid فـي أغشـية كريـات الـدم الحمـر مـن 500:1 وهـي نسـبة كافيـة لقطـع التفـاعلات المتسلسـلة للجـذور الحـرة التـي يحررهـا فـرط الحديـد , وهـذا دليـل علـى أن فيتـامين E لـه دور فـي المحافظـة علـى مسـتوى الهيموكلـوبين وهـذا يؤكـد مـا أشارا إليه (Hales&Fawcett,1993) .

3.5 تأثير فرط الحديد على فعالية إنزيمات الكبد(ALT وAST):

إنـزيم ALT يتركـز وجـوده فـي الكبـد وبشـكل اقـل فـي الأعضــاء الأخـرى أمـا إنـزيم AST ينتشـر عمومـا فـي الكبـد والقلـب والكليـة وكريـات الـدم الحمـر وأن أي ضـرر فـي هذه الأعضاء قد يتسبب في ارتفاع مستويات هذين الإنزيمين في الدم (جواد, 2005).

أظهـرت نتـائج الدراسـة الحاليـة ارتفاعـا معنويـا P<0.05 فـي مسـتويات ALT وAST فـي حيوانـات التجربـة بالمقارنـة مـع مجموعـة السـيطرة جـدول (4−5 و4−6). وهـي نتـائج متفقـة مـع Stal وجماعتـه (1996) و Olynyk وجماعتـه(1995) إذ قـام الأول بتجريــع الجــرذان carbonyl-iron فلاحــظ زيــادة فــي حديــد الكبــد وارتفــاع فــي مسـتويات ASTوALT, أمــا الثــاني فلاحــظ إنّ ســمية الكبــد المســتحثة بغــذاء الحديــد الفــائض مــع الكحــول والمغــذاة بغــذاء 1250−1500ملغم/كغـمcarbonyl-iron لمـدة 9 أســبوع أدى إلــى زيــادة فــي فعاليــة ASTوALT وزيــادة فــي مســتويات Malondyaldehyde .

قـد تعـود زيـادة ALT وAST إلـى تضـرر أنسـجة و أعضــاء الجسـم ونضـوح الإنزيمـات مـن الخلايـا علـى اعتبـار أن الكبـد والطحـال مـن الأعضـاء المسـتهدفة لحمـل الحديــد بســبب ترســب الحديــد فــي خلايــا hepatocyte و macrophage وبالتــالي يـؤدي إلـى حـدوث تنخـر وتليـف فـي الأنسـجة أو نتيجـة تحطـم كريـات الـدم الحمـر فـي مجرى الـدم بسـبب جهـد الأكسـدة للحديـد وهـي متفقـة مـع نتـائج بحـوث (Ku *et al.*, 1983; Bonkovsky, 1996) الذين لاحظوا أن عملية نقل الدم في مرضـى الثلاسـيميا تـؤدي إلـى خـزن الحديـد فـي خلايـا كفـر kupffer والبلعميـة وبالتـالي تضـرر الخلايا.

4.5 تـأثير إضـافة فيتـامين E و فـرط الحديـد علـى فعاليـة إنزيمـات الكبـد (ALTوAST):

أظهـرت نتـائج الدراسـة الحاليـة أن فيتـامين E قلـل مـن تـأثيرات حمـل الحديـد علـى نضـوح إنزيمـات ALT وAST جـدول (4−5و4-6). وهـي نتـائج متفقـة مـع (Ibrahim, *et al.*, 1997; Hill, *et al* ., 1999)الذين بينوا أن إضـافة فيتـامين E

عـن طريـق الفـم يمكـن أن تمنـع التـأثيرات السـامة للإضـافة الفموية لكبريتـات أو فيوماريـت الحديد (ferrous sulfate or fumarate) .

ولـم تتفـق نتـائج الدراسـة الحاليـة مـعAsare وجماعتـه (2009)الـذي عـزا السـبب أن تـأثير الفيتامين يكون محدد ضمن فترة زمنية محدودة.

إن فيتـامين E محصـور فـي الأغشـية يحمـي السـايتوبلازم والأغشـية مـن ضـرر جـذور الأوكسـجين الحـرة ROS حيـث يوقـف نقـل الالكترونـات المشـتركة فـي البـدء بأكسـدة الـدهون(Olson *et al.*, 2000)حيـث يلعـب فيتـامين E دوراً مهمـاً كمضـاد الأكسـدة ذلـك عـن طريـق التقليـل مـن الأوكسـجين الحـر أو الجـذور الحـرة عـن طريـق الانـدماج معـه أو الإحـلال محلـه (Dimascio *et al.*, 1989) إذ ينـتج عـن طريـق هـذا التفاعـل جـذر التوكوفيروكسـيل الـذي تكـون فعاليتـه قليلـة باتجـاه الأحمـاض الدهنيـة المتعـددة غيـر المشـبعة (PUFAS) فـي أغشـية الخلايـا, وبالتـالي فـإن جـذر التوكوفيروكسـيل ينتقـل إلـى سـطح غشـاء الخليـة إذ يختزلـه أنـزيم الكلوتاثـايون بيروكسـيديز GSHPX ويعـود إلـى التوكـوفيرول مـرة أخـرى (Lee & Liu, 1998 ; Diplock *et al.*, 1998) .

5.5 تأثير فرط الحديد على مستويات الكولسترول والشحوم البروتينية :

أظهـرت نتـائج الدراسـة الحاليـة انخفاضـا معنويـا P<0.05 فـي مسـتويات تركيـز الكولسـترول فـي الأسـبوع الثالـث مـن التجربـة فيمـا سـجل الأسـبوعين السـادس والتاسـع انخفاض إلا انه لم يصل إلى مستوى المعنوية جدول (4−6).

وهـذه النتـائج متفقـة مـع مـا وصـل إليـه (Dabbagh *et al.*,1997; Chen *et al.*,2000; Hartman *et al.*,2002; Turbino-Ribrro *et al.*, 2003)الذين لاحظـوا انخفـاض معنـوي فـي مسـتويات الكولسـترول والـدهون فـي البلازمـا فـي الحيوانـات المحملة بالحديد .

كمـا تشـير نتـائج الدراسـة الحاليـة إلـى عدم وجـود فروق معنويـة فـي مستويات الـدهون الثلاثية TG جدول (4−7) , التي جاءت متفقة معTurbino-Ribrro وجماعته (2003)الذي بينّ أن حمل الحديد للجرذان المغذاة بالكولسترول لايؤثر على مستويات الدهون الثلاثية ويسبب انخفاض في الكولسترول .

فيما أظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاض معنوي P<0.05 في مستويات الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C جدول (4-8) ، وهي نتائج متفقة لما حصل عليه (Dabbagh *et al.*, 1997; Turbino-Ribrro *et al.*, 2003).

أن الانخفاض في مستويات الكولسترول والدهون البروتينية ربما تعود إلى حمل الحديد الذي قد يؤدي إلى أكسدة دهون الأغشية وأكسدة الكلوتاثايون وبالتالي نقصان ATP وNADH والذي يسبب عرقلة في بناء و نقل الدهون (Turbino-Ribrro *et al.*,2003), أو يرجع السبب إلى أن أكسدة دهون الأغشية قد يغير من نشاط أو فعالية إنزيمات الكبد والذي يشمل ايض الكولسترول وتكوين Lipoprotein مما يؤدي إلى انخفاض التركيز الكلي للكولسترول في المصل أي يخفض من3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA-reductase ونقصان في إنزيم Cholesterol-7α-hydroxylase وزيادة في Acyl-CoA وزيادة في فعالية cholesterol acyltransferase التي لوحظت في الجرذان المعاملة بالحديد (Brunet *et al.*, 1999). أو يعود انخفاض الكولسترول إلى تأثير الدكستران dextran الذي له وزن جزيئي عالي مما يؤدي إلى زيادة في حجم البلازما ويكون هذا الانخفاض مؤقت حيث يتعلق بمقدار حجم جزيئة الدكستران الكبير ولا يتعلق بالية قد يسببها الدكستران على نواقل أو الإنزيمات المنظمة لعمل الكولسترول (Tavill *et al.*, 1990) .

6.5 تأثير إضافة فيتامين E على مستويات الكولسترول والشحوم البروتينية:

يعد فيتامين E من اكبر المساهمات غير الإنزيمية في التقليل من الإجهاد التاكسدي (Halliwell.1989; Rikans *et al.*, 1991) إذ يمنع إنتاج دهون مؤكسدة من خلال إزالة الجذور الحرة في الأغشية الخلوية (Kanter *et al*, 2009)

إذ أظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاض معنوي P<0.05 في مستويات الكولسترول في الأسبوع الثالث من التجربة فيما سجل الأسبوعين السادس والتاسع انخفاض إلا انه لم يصل إلى مستوى المعنوية في الحيوانات المجرعة ب20ملغم/كغم فيتامين E والمعرضة لحمل الحديد جدول (4-6), إذ يبدو أن الفيتامين اثر بشكل ايجابي على مستويات الكولسترول.

كـذلك كـان لفيتـامين E تـأثير ايجـابي علــى مسـتويات الشـحوم البروتينيــة عاليــة الكثافــة HDL-C فــي الحيوانــات المجرعــة فــي الأسـبوع الأخيـر مـن التجربــة جـدول (4–8) , وهـي نتـائج تتفق مـع الدراسـات التي أجريت من قبل (Wen *et al*., 1999; Upston *et al*., 2001; Koyu *et al*., 2005) التي بينت أن فيتامين E المـأخوذ عـن طريـق الغذاء يقلـل مـن جهـد الأكسـدة فـي المرضـى الـذين لـديهم مسـتويات عاليــة مــن الشــحوم البروتينيــة hyperlipoproteinemia وفــي الحيوانــات التــي غــذيت بعليقـه عاليـة الكولسـترول, فقـد أشـار Hill وجماعتـه (1999) إلـى أن إضـافة فيتـامين E عــن طريــق الغــذاء يكــون ضــروري لمنــع حــدوث الهلاكــات mortality فــي الجــرذان المحقونة بدكستران الحديد.

كـذلك أظهـرت نتـائج الدراسـة الحاليـة عـدم وجـود فـروق معنويــة فـي مسـتويات الـــدهون الثلاثيـــة TG جـــدول (4–7) وهـــي جـــاءت متفقـــة مـــع Chen و جماعتـــه (2000)الـذي بـين أن التجريـع الفمـوي لفيتـامين C يـؤدي إلـى المحافظـة علـى مسـتويات الدهون الثلاثية في خنازير غينيا المحملة بالحديد .

يبدو أن لفيتامين E دور مهم في التقليل من جهد الأكسدة المستحث من قبل حمل الحديد إذ لوحظ أن فيتامين E يستطيع أن يثبط من تحرير الجذور الحرة Free Radicals المتحررة من الحديد ويتفاعل مباشرة مع البيروكسيد peroxides وينجز وظيفة مهمة في إعادة تجديد الكلوتاثايون (Moumen & Abdennour,2008) .

7.5 تـأثير فـرط الحديـد علـى معـايير الحديـد(حديـد المصـل والسـعة الكليـة لارتبـاط الحديدTIBC ونسبة إشباع ناقل الحديد (الترانسفرين) (Transferrin):

نتـائج الدراسـة الحاليـة أظهـرت أن سـمية الحديـد حـدثت بعـد 3 أسـبوع مـن إجـراء التجربــة وهــي متفقــة مــع Oppenheimer (1998)الـذي بـين سـمية الحديـد hyperferraemia تحـدث عنـد المعالجـة بدكسـتران الحديـد نتيجـة الحقـن العضـلي خـلال مدة 3 أسابيع ولا تظهر إعراض السمية عند اخذ ملاحق الحديد فمويا خلال هذه المدة.

فقـد أظهـرت النتـائج ارتفاعـا معنويـا $P<0.05$ فـي معـدل مسـتويات الحديـد فـي المصـــل ونســبة إشــباع الترانســفرين وTIBC فــي حيوانــات التجربــة كمــا موضــح فــي الجـــداول (4–11و 4–12و 4–13). وهـــي نتـــائج متفقـــة مـــع جاســـم (2008) التـــي لاحظــت أن المعالجــة الفمويــة بـiron Carbonyl للأرانــب المحليــة أدى إلــى ارتفــاع

معنـوي P<0.05 فـي مسـتويات حديـد المصـل و إشـباع الترانسـفرين مـع حصـول زيـادة طفيفـة فـي الحديـد المـرتبط TIBC. وكـذلك اتفقـت مـع (Schwartzj *et al*., 1993; Turbino-Ribrro *et al*., 2003) .

إنّ الزيـادة فـي الحديـد الحـر قـد تعـود إلـى الجهـد التاكسـدي العـالي فـي الحيوانـات التـي يحـرر فيهـا الحديـد جـذور حـرة ممـا يـؤدي إلـى اسـتنزاف مـن احتيـاطي مضـادات الأكسـدة (جـواد,2005) إذ يتـراكم الحديـد نتيجـة الحقـن المسـتمر ونتيجـة لعـدم وجـود ممـر فسيولوجي رئـيس لطرحـه مـن الجسـم ممـا يـؤدي إلـى تجمـع هـذا العنصـر فـي كـل أعضـاء الجسـم لاسـيما فـي الكبـد والقلـب والطحـال (Bullen,1991). فيمـا تعـود الزيـادة فـي سـعة ارتبـاط الحديـد الكليـة TIBC بسـبب أن زيـادة مسـتويات الحديـد فـي البلازمـا يحفـز الكبـد علـى بنـاء بـروتين الناقـل للحديـد (الترانسـفرين) لأجـل الـتخلص مـن الحديـد أمـا الزيـادة فـي نسـبة إشـباع الترانسـفرين فهـو التغيـر الأول الـذي يـدل علـى تطـور حمـل الحديـد فـي الأنسـجة حيـث ذكـر جـواد (2005) إن مصـل الـدم فـي مرضـى الثلاسـيميا يمكـن إن يحتـوي حديـد غيـر مـرتبط بالترانسـفرين وهـذا الحديـد يمكـن إن يسـتحث Lipid peroxidation ولاحقا استهلاك مضادات الأكسدة .

8.5 تـأثير إضـافة فيتـامين E و فـرط الحديـد علـى معـايير الحديد(حديـد المصـل والسـعة الكليـة لارتبـاط الحديـدTIBC ونسـبة المئويـة لإشـباع الترانسـفرين Transferrin):

أظهـرت النتـائج الحاليـة ارتفاعـا معنويـا P<0.05 فـي معـدل مسـتويات الحديـد فـي المصـل ونسـبة إشـباع الترانسـفرين و معـدل مسـتويات سـعة ارتبـاط الحديـد الكليـة TIBC فـي الأرانـب المحملـة بالحديـد علـى الـرغم مـن إضـافة فيتـامين E كمـا موضـح فـي الجـداول (4−11و 4−12و 4−13). وهي نتائج متفقة مع(Chen *et al*., 2000; Asare *et al*., 2006, 2009) التـي لاحظـت عدم تـأثير إضـافة مضـادات الأكسدة علـى مستويات معايير الحديد في الحيوانات المجرعة بمركبات الحديد.

هـذه الزيـادة فـي معـايير الحديـد قـد تعـود إلـى الحقـن المسـتمر للحديـد iron dextran وهـذا الحديـد قـد يتجـاوز قـدرة مضـادات الأكسـدة (جـواد,2005) فقـد ذكـر

Asare وجماعتـه (2009) بـأن تـأثير الفيتامينـات يكـون محـدود فـي حمـل الحديـد ولفتـرة وجيزة وكلما طالت الفترة فان جرع الفيتامينات لاتستطيع التخفيف من ضرر الحديد.

9.5 تأثير فرط الحديد على معامل البلعمة :

يوجـد هنالـك توازنـا دقيقـا بـين مخـازن الحديـد والمناعـة فارتفـاع مسـتوى الحديـد فـي الجسـم يـوفر حديـد أكثـر سـهولة إلـى الجـراثيم ويزيـد مـن النمـو والفـوران الجرثـومي بينمـا انخفاضـه يـؤدي إلـى خلـل فـي المناعـة إذ لا تسـتطيع الخلايـا البلعميـة مـن تحفيـز الجـذور الحرة اللازمة لتحطيم الجراثيم (Markel *et al.*, 2007) .

أظهــرت نتــائج الدراســة الحاليــة انخفاضــا معنويــا $P<0.05$ فــي معامــل البلعمــة فــي المجموعــة المعاملــة بالحديــد إذ كــان معامــل البلعمــة (6.10) بالمقارنــة مــع مجموعــة السـيطرة (7.68). وهـي نتـائج متفقـة مـعBrock (1994) الـذي بـين أن المعالجـة الوقائيـة لمركبـات الحديـد dextran iron أو iron-sorbitol يزيـد مـن احتمـال الإصـابة بالملاريا والالتهاب الكلوي المزمن. وكذلك مع Porto وDe Sousa (2007) اللذان وجـدا أن حمـل الحديـد نتيجـة عمليـات نقـل الـدم المتكـررة إحـدى أسـباب تطـور العـدوى و الإصـابة بكائنـات حيـة مجهريـه , إذ لـوحظ فـي مرضـى الثلاسـيميا زيـادة تـأثرهم بالإصـابة مـع ظهـور طيـف واسـع مـن حـالات الشـذوذ فـي المناعـة والتـي تكـون علـى الأقـل مرتبطـة جزئيـا بحمـل الحديـد بضـمن ذلـك خلـل فـي عمليـة الجـذب الكيميـائي chemotaxis ونقصـان فـي فعاليـة البلعمـة فـي كـل مـن خلايـا العدلـة والبلعميـة وانخفـاض فـي عـدد الخلايا اللمفاوية T-cell .

قـد يعـود هـذا النقصـان فـي معامـل البلعمـة إلـى وجـود مركبـات الحديـد غيـر المسـتقرة labile والتـي تـؤدي إلـى ضـعف فـي وظيفـة الخلايـا البلعميـة واختـزال فـي نشـاط الخلايـا القاتلة وبالتالي يؤثر على كفاءة البلعمة (Markel *et al.*, 2007) .

10.5 تأثير إضافة فيتامين E و فرط الحديد على معامل البلعمة :

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن فيتامين E قلل من التأثيرات السامة للحديد على معامل البلعمـة إذ لا يوجد فروق معنويـة بين المجموعـة المعاملـة بالحديد و فيتـامين E إذ كـان معامـل البلعمة (7.05) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (7.68).

و نتـــائج الدراســـة الحاليـــة متفقـــة مـــع (ســـليمان,2003; Moller&Loft;2002 Politis, *et al.*, 1995) التـي بينـت أن فيتـامين E المضـاف إلـى عليقـه الحيوانـات المختبرية يزيد من عدد الخلايا وحيدة النوى في مجرى اللمف و يزيد من كفاءة الخلايا العدلة Neutrophils.

أن وجـود فيتـامين E فـي أغشـية الخلايـا ومـا تحتهـا يعـد الخـط الـدفاعي الأول للحمايـة مـن أكسـدة الـدهون المفسـفرة التـي تـؤدي إلـى إنتـاج الجـذور الحـرة المؤذيـة للخليـة وبالنتيجـــة يـــؤثر علـــى المناعـــة (Bendich, 1990) . إذ لاحـــظ Lee (2000) أن فيتـامين E يحفـز هجـرة الـبلاعم الكبيـرة وكـذلك هجـرة الخلايـا السـمية الخلويـة إلـى مواقـع الأورام فـي الجسـم , كمـا أن الفيتـامين يزيـد مـن لزوجـة أغشـية الخلايـا البلعميـة ممـا يحسـن عملية التهامها للمستضدات(الكرخي, 2002) .

11.5 تأثير فرط الحديد على الأنسجة:

أظهـرت نتـائج الدراسـة الحاليـة إلـى ترسـب الحديـد بشـكل hemosiderin فـي خلايـا الكبـد والطحـال مـع وجـود خلايـا التهابيـة فـي الأنسـجة فـي الحيوانـات المعاملـة ب15ملغم/كغم iron dextran مقارنة مع مجموعة السيطرة صورة(4−2و 4−5)

وهــــي نتــــائج متفقــــة مــــع (Olynyk, *et al.*, 1995; Khan *et al.*, 1999; Özgüner&Sayın, 2002) التـي وجـدت أن تغذيـة الجـرذان بـcarbonyl-iron يـؤدي إلـى زيـادة ترسـب الحديـد فـي اغلب أعضاء الجسم.

قـد تعـود نتـائج زيـادة الحديـد فـي الأنسـجة وترسـبه نتيجـة زيـادة فـي تكـوين الهيموسـدرين و الفـرتين الموجـودين بكميـات كبيـرة فـي الأنسـجة الحشـوية بسـبب الحقـن المسـتمر الـذي يـؤدي إلـى تراكمـه فـي الكبـد والطحـال وبقيـة أعضـاء الأنسـجة (Ramm&Ruddell,2005).

كمـا أن الحديـد الفـائض لـه تـأثيرات سـامة لكونـه يحفـز تكـوين أنـواع الأوكسـجين الفعالـة (ROS) Reactive Oxygen Species التـي يمكـن أن تبـدأ بسلسـلة مـن التفـاعلات الكيميائيـة فـي العديـد مـن الجزيئـات الحيويـة مثـل الـدهون والبروتينـات والـDNA وكـذلك يمكـن أن يـؤدي إلـى أكسـدة دهـون الأغشـية والتفاعـل مـع الـدهون غيـر

المشبعة Unsaturated fatty acids (Lieu *et al*., 2001) وهذه التفاعلات يمكن إن تـؤدي إلــى تضــرر الأنســجة أو الأعضــاء والتــي تكـون واضــحة فــي إمــراض حمــل الحديد (Wong &Richardson, 2003).

12.5 تأثير إضافة فيتامين E و فرط الحديد على الأنسجة :

أظهـرت نتـائج الدراسـة الحاليـة حـدوث تضـرر والتهـاب محـدود فـي نسـيجي الكبـد والطحــال فــي المجموعــة المجرعــة20ملغم/كغـم فيتــامين E والمعرضــة لحمــل الحديــد بالمقارنة مع مجموعة المعاملة بالحديد صورة(4−3و 4−6).

وهـي نتـائج متفقـة مـع Asare وجماعتـه(2009) الـذي لاحظـوا أن ترسـب الحديـد فـي كبـد الجـرذان المغـذاة بالحديـد +فيتـامين اقـل ضـررا بالمقارنـة مـع أكبـاد الجـرذان المغـذاة بحديـد− فيتامين.وكـذلك إلــىPietrangelo وجماعتــه(1995)الــذي لاحظــوا أن إضــافة فيتــامين E لــه تـأثير مفيـد فـي منـع حـدوث التليـف الكبـدي فـيgerbil (الجربـوع) بالحيوانـات المحملـة بالحديد والفيتامين مقارنة مع الحيوانات المحملة بالحديد فقط .

وكـذلك اتفقـت هـذه الدراسـة مـع الدراسـة التـي أجراهـا كـلا مـن Lucesoli و Fraga (1999) إذ سـجلا بـان الحديـد carbonyl-iron احـدث ضـرر أكسدة في خصى الجرذان ولاحظ إن إضافة فيتامين E منع جزئيا من هذا الضرر.

يعــد فيتــامين E مــن أحســن مضــادات الأكســدة الذائبــة فــي الــدهون إذ يمتلــك الإمكانيـــة لتحســـين تحميـــل إضـــافة الحديـــد ويمنـــع حـــدوث ضـــرر للأنســـجة (Upston *et al*., 2001). فقـد يعـزى السـبب إلـى أن الفيتـامين يلعـب ادوارآ وظيفيـة تركيبيـة مثـل الحفـاظ علـى سـلامة غشـاء الخليـة والتقليـل مـن حـدة الالتهابـات مـن خـلال تحديـــد إنتـــاج البروســـتوكلاندين والتقليـــل مـــن أكســـدة حـــامض الاركوادونيـــك Arachidonic acid (Olson *et al*., 2000; Neuzil *et al*., 2001).

كمـا أن فيتـامين E يعـد عامـل اسـتقرار Stabilizer agent للأغشـية مـن خـلال منــع أكسـدة الـدهون فــي الأغشـية الحيويـة عـن طريـق اختـزال الجـذور الحـرة والعوامـل المؤكســدة الأخــرى، ومنــع تكــوين بيــرو كســيدات الــدهونLipids peroxides (Karanth *et al*., 2003; Kanter *et al*, 2009).

الأستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

استنتجت هذه الدراسة ما يلي :

1. أن الحقن العضلي لدكستران الحديد أدى إلى حدوث جهد أكسدة مزمن في ذكور الأرانب مما أدى إلى انخفاض معنوي في أعداد كريات الدم الحُمرو مكداس الدم وتركيز الهيموكلوبين وكذلك في مستويات الكولسترول والشحوم البروتينية عالية الكثافة ودليل البلعمة .
2. كذلك لوحظ ارتفاع معنوي في مستويات فعالية الأنزيمين الناقلين لمجموعة الأمين ALT,AST وتركيز الحديد الحر في الدم وسعة ارتباط الحديد الكلية ونسبة إشباع الترانسفرين في المجموعة المعرضة لفرط الحديد مع ملاحظة ترسب الحديد بشكل هيموسدرين في نسيجي الكبد والطحال .
3. أن لفيتامين E دوراً مهماً في خفض تأثيرالإجهاد التأكسدي في الأرانب المعرضة لفرط الحديد .

التوصيات

1. التوصية بإعطاء فيتامين E كمادة وقائية للتقليل من ضرر الحديد في إمراض تحلل الدم .
2. قياس مستوى مضادات الأكسدة الداخلية ومنها (كلوتاثايون بيروكسيديز وحامض الاسكوربيك و حامض اليوريك) في أمراض حمل الحديد .
3. إجراء دراسة نسجية للقلب والأوعية الدموية لحالات حمل الحديد في النماذج الحيوانية .
4. إجراء دراسة لمعرفة دور العناصر الأثرية الأخرى مثل (الكروم6, الزئبق) كمواد مسببة للإجهاد التأكسدي في الأرانب .
5. إجراء دراسة لمعرفة ضرر الحديد على الجهاز المناعي من خلال قياس الكلوبيولينات المناعية والانترلوكينات .

المصادر

6. المصـــــــادر

1.6 المصادر العربية:

الكرخي ، راسمة مجيد حميد .(2002). تأثير فيتامين (هـ) والسيلينيوم على تمنيع الأغنام ضد التسمم المعوي. رسالة ماجستير, كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

جاسم ، أميرة محمد علي .(2008). تأثيرات عقار الديسفيرال ونبات الشاي الأخضر على بعض المتغيرات البايوكيميائية في الأرانب المستحث فيها داء السكري وفرط الحديد . أطروحة دكتوراه, كلية العلوم ، جامعة بابل .

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

سلمان ، محمد جهاد .(2003). تأثير استخدام فيتامين (هـ) في رفع الاستجابة المناعية لمرض جدري الأغنام وتأثيره في الكفاءة الإنتاجية. رسالة ماجستير, كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد .

2.6 المصادر الأجنبية:

Afroditi, H. (2006**).** Correlative study of iron accumulation in liver, myocardium, and pituitary assessed with MRI in young thalassemic patients. Pediatr .Hematol. Oncol .,***28*** (5).

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

Allen, J.W.; Shuler, C.F.; Mendes, R.W. & Latt, S.A. (1977). A simplified technique for *in vivo* analysis of sister-chromatid exchange using 5-bromodexyuridine tables. Cytogenet & Cell Genet., ***13***: 231-237

Andrews, N.C.(1999).Disorders of iron metabdism. N. Engl. J. Med., ***341*:**1986-1995.

Anttila, R. &Siimes, M.A. (1996). Serum transferrin and ferritin in pubertal boys: relation to body growth, pubertal stage, erythropoiesis, and iron deficiency. Am. J. Clin. Nutr., ***63***:179-183.

Araujo, J.; Romano, E.; Brito, B.; Parthe, V.; Romano, M.; Bracho, M.;Montano, R.& Cardier, J.(1995).Iron overload augments the development of atherosclerotic lesions in rabbits. Arterioscler. Thrombi. Biol., ***15***:1172–1180.

References

المصادر

Asare, G.A. ; Paterson,A.C., Kew, M.C. ; Khan, S. &Mossanda, K.S.(2006).Iron-free neoplastic nodules and hepatocellular carcinoma without cirrhosis in wistar rats fed a diet high in iron. J. Pathol., ***208***(1): 82–90 .

Asare,G.A. ; Kew, M.C. ; Kensese, S. ;Mossanda K.S. ;Paterson A.C. ; Siziba, K. & Christiana, P. K.(2009) .Effects of exogenous oxidants on dietary iron overload J. Clin. Bioc. Nutr., ***44***: 85–94.

Azzi, A.; Breyer, I.; Feher, M.; Pastori, M. ; Stocker, A.; Zimmer, S. & Zingg, J. M. (2000) .Specific cellular responses to alpha-tocopherol. J. Nut., ***130*:**1649-1652.

Bagchi, K. & Puri, S. (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease. La Revue desant de to Mediterranean., ***4*** (2): 350-360.

Baker, E.&Morgan, E.H. (1994). Iron transport. in, Brock J.H, Halliday J.W, Pippard M.J, Powell L.W, (eds). Iron metabolism in health and disease. Philadelphia: Wb Saunders. pp. 63-95

Barry, D. M. &Reeve, A. W. (1977). Increased incidence of gram-negative neonatal sepsis with intramuscular iron administration. Pediatrics., ***60*:**908–912.

Baynes, R.D& Bothwell, T.H. (1990). Iron Deficiency, Annu. Rev. Nutr., ***10***:133-148

Beard J.L. (2001).Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. J. Nutr .,***131***:568S–80S.

Beghetti, M.; Mermilled, B. & Halperin, D. (1993). Blue scalars: A sign of iron deficiency anemia in children. Pediatrics., ***91***: 1195-1196.

References

المصادر

Bendich, A. (1990).Antioxidant nutrient and immune functions. introduction advances in experimental medicine and biology., ***262*:**1-12.

Benhar, M. ; Engelberg, D.&Levitzki, A. (2002). ROS, stress-activated kinesis and stress signaling in cancer. EMBO. Rep., ***3***:420– 425.

Berg, D.; Grote, C.; Rausch, W.; Maurer, M.; Wesemann, W.; Riederer, P.& Becker, G.(1999). Iron accumulation in the substantiate Ingra in rats visualized by ultrasound. Ultrasound Med. Biol., ***25***: 901–904.

Berger, J.; Schneider, D.; Dyck, J.; Joseph, A.; Aplogan, A.; Galan, P. &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. ;Huang, G. ; Smith ,R. ;Bhart ,N. ;McManis, J. & Butler, A.(2003). Total synthesis and structure revision of pertrobactin .Tetahedron.,***59***: 2007-2014.

Bonkovsky, H.L.; Ponka, P. & Bacon, B.R. (1996). An update on iron metabolism: summary of the fifth international conference on disorders of iron metabolism. Hepa., ***24***:718-729.

Brock, J.H. (1994). Iron in infection, immunity, inflammation and neoplasia. In Brock J.H., Halliday, J.W., Pippard, M.J., Powell, L.W., eds. Iron Metabolism in Health and Disease. Philadelphia: WB Saunders.353-389.

References

المصادر

Brunet, S.; Thibault, L.; Delvin, E.;Yotov, W. ;Bendayan, M. & Levy, E. (1999). Dietary iron overload and induced lipid peroxidation are associated with impaired plasma lipid transport and hepatic sterol metabolism in rats. Hepatology., ***29***: 1809–1817.

Bullen, J.J.; Spaulding, P.B.; Ward, G.G & Cutteridge, J. M. (1991). Iron binding proteins in milk and resistance to *Escherichia coli* infection in infants Am. J. Clin. Nutr., (151): 1606-1609.

Carney, J. F.; Starke-eed, P. E.; Oliver, C. N.; Landum, R. W.; Cheng, M. S.; Wu, J. F. &Rfloyed, R. d. (1991). Reversal of agerelated increase in brain protin oxidation, decrease in enzyme activity and loss in temporal and spetial memory by chromic adminstration of the spin-trapping compound N-tert-butyl-alpha-phenylnitrone. Proc. Nati. Acad. Sci..USA. ***88***: 3633-3636.

Carthew,P.;Edwards,R.;Smith,A.;Dorman,B.&Francis,JE.(1991).Rapid induction of hepatic fibrosis in the gerbil after the parenteral administration of iron dextran complex. Hepatology**.,** ***13***:534-539.

Chen, K. ; Jung ,S. ; Anitra ,C. ; Jason ,D. ; John ,Z. &Balz,F. (2000).Vitamin C suppresses oxidative lipid damage *in vivo* even in the presence of iron overload. Am. J. Phy. End.Metab.,***279***: E1406–E1412 .

Chung, K.Y. ; Lee , S.J. ; Chung, S.M. ; Lee, M.Y. ; Bae, O.N.& Chung , J.H.(2005). Generation of free radicals by interaction of iron with thiols in human plasma and its possible significance. Throm. Res., ***116***:157-164.

References

المصادر

Coles, E. H. (1986). Veterinary Clinical Pathology. 4th (ed)., WB Saunders Co Philadelphia, London, Toronto. 408-436.

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

Cook, J.D& Reusser, M.E. (1983). Iron fortification on update. Am. J. Clin. Nutr., ***38*:** 648-659.

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

Crawford, R. D. (1995). Proposed role for a combination of citric acid and ascorbic acid in the production of dietary iron overload: a fundamental cause of disease. Biochem. Mol. Med., ***54***: 1–11.

Dabbagh, A. J. ; Shwaery, G. T. ; Keaney, J. F. & Frei, B. (1997).effect of iron overload and iron deficiency on atherosclerosis in the hypercholesterolemic rabbit. Arterioscle. Thrombi. Vasc. Biol., ***17***: 2638–2645.

Danielson, J.(2004) Structure, chemistry, and pharmacokinetics of intravenous iron agents. Am. Soc. Nephrol ., ***15***: S93-S98.

Das, N ; Chowdhury ,T.D& Chattopadhyay, A. (2004). Data Attenuation of oxidation stress - induced changes in thalassemic erythrocytes by Vitamin E. Pol. J .Pharm**.,** ***56*** : 85-96

References

المصادر

Day, S.M. ; Duquaine, D. ; Mundada, L.V. ; Menon, R.G. ; Khan, B.V. ; Rajagopalan, S.&Fay, W.P. (2003). Chronic iron administration increases vascular oxidative stress and accelerates arterial thrombosis. Circ., ***107***: 2601–2606.

De Jong ,G. ; Van Dijk, J.P. & Van Eijk, H.G. (1990). The biology of transferrin. Clin. Chim.Acta.,***190***(1-2): 41-46.

De Zwart, L.L;Meerman, J.H.;Commandeur, J.N. & Vermeulen, N.P. (1999).Biomarkers of free radical damage: applications in experimental animals and in humans. Free Radical Bio. Med., ***26*****:** 202–226.

Demir, S. & Öner, G. (1995). The effect of cadmium on the fragility of red blood cell.J. Aca. sci., ***8***(2). PP: 73-78.

Deugnier, Y.& Turlin, B. (2001). Iron and hepatocellular carcinoma. J. Gastroente. Hepatol., ***16***: 491– 494.

Dimascio, P.; Kaiser, S. & Sies, H. (1989). Inhibition of autoxidation of divine and insouramil by the combination of superoxide dismutase and reduced glutathione. Arch. Bioch. Biophy., ***271***:532-538.

Diplock, A. T.; Charleux, J. L.; Will, G.; Kok, F. T.; Evans, R.; Roberforid, M.; Stable, W. & Vina-Ribes, J. (1998). Functional food science and defense against reactive oxidative species. British J. Nutr., ***80.*** (Suppl.1): 570.

Dover, G.J.&Valle, D. (1994).Therapy for B-Thalassemia? a paradigm for the treatment of genetic disorders. N .Engl .J .Med.,***331***: 609–610.

Eldor, A.& Rachmilewitz, E.(2002). The hypercoagulable state in thalassemia. Blood.,***99***:36-43.

References

المصادر

Elinder ,C.G.(1986) .Iron. In: Friberg L, Nordberg G, Vouk V, (eds). Handbook on the toxicology of metals, Vol. II. Amsterdam, Elsevier.,:276-297.

El-Neweehy, T. K.; Al-Qarawi, A. A. & Abdel-Raman, H. A. (2000). Some studies on stiff lamb disease in Qarawi in Qassim region in Saudi Arabia. Enzymatic profile in free sub clinically and clinically affected lambs before and after treatment with vitamin E and selenium preparation,. Small Ruminant Res., ***35***(35): 219-223.

Emmert, D.H.& Kirchner, J.T. (1999). The role of vitamin E in the prevention of heart disease .Arch.Fam.Med.,***8***:537-542.

Fair, G. P. (2003) .Toxic effect of lead on hypothalamic-pituitary-axis. Circ. Res., ***92***: 124–129.

Fargion, S. ;Taddei, M.T.; Gabutti, V.; Piga, A.;Dipalma, A.; Capra, L.; Fontanelli, G., & Avanzini, A. (1982). Early Iron Overload in Beta-thalassemia Major: when to start chelation therapy. Child. Arch. Dis., ***57***(12): 929-933.

Fiorelli, G. ;Fargion, S.;Piperno, A.;Battajanaro,N.Cappellini, M.D. .(1990).Iron metabolism in Thalassemia intermedi. Hematologi., ***75***:89-95.

Fishbane, S. (2007) Iron management in no dialysis-dependent CKD. Am. J. Kidney Dis**.,** ***49*:**736-743.

Fodinger, M.& Sunder-Plassmann, G. (1999). Inherited disorders of iron metabolism. Kidney Int. Suppl. ***69***: S22-S34.

References

المصادر

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

Franchini ,M.; Targher, G.;Montagnana, M.; Lippi, G.(2008). Iron and Thrombosis. Ann. Hematol .,***87***:167–73.

Frazer, D.M.& Anderson, G.J. (2005).Iron imports. I. Intestinal iron absorption and its regulation. Am. J.Physiol. Gastrointest .Liver Physiol .,***289***:G631–G635.

Friedewald ,W.T.; Levy, R.I.&Fredrickson, D.S.(1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin. Chem .,***18***(6):499-502.

Gabutti ,V.&Borgna-Pignatti, C.(1994). Clinical manifestations and therapy of transfusion hemosidrosis. Baillieres Clin. Haematol.,***7***:919–940

Ganong, W.F (2005). Review of Medical Physiology.21th (ed). McGraw-Hill companies. Lange Medical Books/McGraw-Hill, Medical Publishing Division,: 699-708.

Garcı´a-Casala,M. N; Layrissea, M.& Pen˜a-Rosasb Jose, J.P´.(2003).Iron Absorption From Elemental Iron-Fortified Corn, Flakes In Humans. Role of Vitamins A and C. Nutr. Res.,***23*** : 451–463

Geisser, P.(2007). Safety and efficacy of iron (III)-hydroxide polymaltose complex / a review of over 25 years experience. Drug Res., ***57***:439-452.

Geisser,P.& Burckhardt's.(2011).The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Iron Preparations, J. Pharm **.,** (3): 12-33.

References

المصادر

Ghone,R.A.; Kumbar,K.M.; Suryakar,A.N.; Katkam ,R.V.& Joshi, N. G.(2008). Oxidative stress & disturbance in antioxidant balance in beta Thalassemia major Ind. J. Clin. Biochem.,***23*** (4) :337-340.

Giacosa, A.; Filiberti, R.; Hill, M. J. & Faivre, J. (1997) Vitamins and cancer chemoprevention. Eur. J. cancer Prev., ***6*** **:**547-554.

Gregg, L. V. (2000). Hematology Techniques And Concepts for Veterinary Techniques. 1st (ed). Iowa State Univ. Press. 97-100.

Grootveld, M.; Bell, J.D.& Halliwell, B. (1989). Non-transferrin-bound iron in plasma or serum from patients with idiopathic hemochromatosis. J. Biol.Chem., ***264***:4417-4422.

Gualdi, R.(1994). Excess iron into hepatocytes is required for activation of collagen type I gene during experimental siderosis. Gastroenterology., ***107***: 1118-1124.

Gunshin, H.; Mackenzie, B.;Berger, U.V.;Gunshin ,Y.;Romero, M.F.;Boron, W.F. ;Nussberger, S.; Gollan, J.L.; & Hediger, M.A.(1997).Cloning and characterization of a mammalian proton–coupled metal ion transporter.Nature(Lond). **388**:482-488.

Hales, J.R. & Fawcett, A.A. (1993). Wool production and blood supply to skin and other tissues in sheep. J. Anim. Sci., ***71***(2):422-429.

Hallberg, L.; Hogdahl, A. M.; Nilsson, L.&Rybo, G. (1966). Menstrual blood loss – a population study. Acta. Obstet. Gynaecol. Scand., ***45*****:** 320-351.

Halliwell, B. (1989) .Oxidants and the central nervous system: some fundamentalquestions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? ActaNeurol. Scand., ***126***:23-33.

Halliwell, B,&Gutteridge,J.(1999). "Free Radicals in Biology and Medicine".3rd (ed), Oxford university press.pp.1-543.

Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidant and disease: Curiosity, cause or sequence. ***344*:** 721-724.

Hartman ,C.;Tamary, H.;Tamir, A.;Shabad,E.;Levine, C.& Koren ,A. (2002).Hypocholesterolemia in children and adolescents with beta-Thalassemia intermedia. J Pediatr., ***141***(4):543-7.

Hatfield, P. G.; Daniels, J. T.; Kott, R. W.; Burgess, D. E. & Evans, T. J. (2000). Role of supplemental vitamin E in lamb survival and production. Proc. Am. Soc. Anim.; Sci., ***18***(2):76-79.

Heinritzi K.& Plonait, H. (1997): Blutkrankheiten. In lehrbuch der Scheinekrankheiten, 2nd (ed). H Plonait, K. Bickhardt, Parey. Buchverlag. Berlin, p.p.190.

Henry,W. E.; Miller, E. R.& Bratzler, L. J .(1961).Myoglobin concentration and color of the semimembranosus hemoglobin and hematocrit and upon the iron and effect of repeated injections of iron-dextran upon blood J. Anim. Sci.,***20***:180-182.

Hentze, M.W.; Muckenthaler, M.U. & 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.& 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, Cokonijn, A.M, & Link, G. (1998).Iron Cheaters for thalassaemia. Br. J. Haematol., ***101***:399-406.

Hill, G.M.; Link, J.E.; Meyer, L.&Fritsche K. L. (1999).Effect of vitamin E and selenium on iron utilization in neonatal pigs. J. Anim. Sci., ***77***:1762-1768.

Hoen, B. (1999) .Iron and infection: clinical experience. Am. J. kidney Dis. ***34***: S30–S34.

Hoeschen, R. J. (1997). Oxidative stress and cardiovascular disease. Can. J. Cardio., ***13***: 1021–1025.

Hoffbrand, A.V.;Pettit, J.E.& Moss, P.A.H. (2003). Hematology. 4^{th} (ed). Blackwell science. P 35.

Horwitz, L.D. & Rosenthal, E.A. (1999).Iron-mediated cardiovascular injury.Vasc. Medi., ***4***: 93–99.

Huang, X.(2003). Iron overload and its association with cancer risk in humans: evidence for iron as a carcinogenic metal. Mutat. Res., ***533***:153– 171.

Hurrell, R.F. (1997). Bioavailability of iodine. Eur. J. Clin. Nutr. 51. Suppl. ***1***:S9-S12.

Iben, B .(1998). Bedeutung der peroralen Eisengabe bei ferkeln in den ersten Lebensstunden. Tierärztl Prax .,***26***: (G).36-39.

References

المصادر

Ibrahim, W. ;Ung-Soo, L.;Che-Chung,Y.;Joseph S.; Geza, B.&Ching ,K. C.(1997).Oxidative stress and antioxidant status in mouse liver: effects of dietary lipid, vitamin E and iron. J. Nutr., ***127***: 1401–1406.

Jain, N. C. (1986). Schalm's Veterinary Hematology. 4th. (ed). Lea and Fibiger Philadelphia.

Jones, C .E. & Mowat, A .G.(1972).Total dose infusion of iron dextran in rheumatoid arthritis. Rheum. Phys. Med ., ***11***: 240-5.

Kaneko,J.J. ;Harvey,J.W. & Bruss,M.L.(1997). Clinical biochemistry of domestic animals. 5th (ed). Academic press. London. PP:932.

Kanter,M.; Burhan,A.; Akpolat,M.; Tarladacalisir,Y.T.; Aktas,C.&Uysal,H.(2009).Vitamin E protects against oxidative damage Caused by cadmium in the blood of rats. Eur. J. Gen. Med., ***6***(3): 154-160

Karanth, S.; Yu, W.H.; Mastronardi, C.A.& McCann, S.M. (2003) .Vitamin E stimulates Luteinizing hormone –realizing hormone and ascorbic acid release from medial basal hypothalamic of adult male rat..EXP.Biol.Med., ***228***:779-785.

Kawabata, H.;Yang, R.; Hirama ,T .(1999). Molecular cloning of transferrin receptor 2. J. Bio. Chem.***274***: 20826–20832.

Ke Ya.(2006).Iron metabolism iron and disorders: a hot topic of life science Asi. J. Phar. & Pharm., ***6***(1):5-8.

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

Knekt, P., Reunamen, A. & Takkunen, H. (1994). Body iron stores and risk of cancer. Int. J. Cancer, ***56:*** 379-382.

Kolsteren, P. (1996). The determinants of stunting: Can we regard the linear growth performance as a continuum of fetal development? Review Article. Asia Pacific. J. Clin. Nutr., ***5***: 59-69.

Koyu, A.; Ozguner, F.;Caliskan, S.& Karaca, H.(2005). Preventive effect of vitamin E on iron-induced oxidative damage in rabbit. Toxic. Ind. Health ., ***21***:239-242

Krone, C.; Ely.J. &Harms, L. (2004). Nutritional supplements: friend or FOE? Newz.Med.J.,***117*** (1196):1175-1179.

Ku, P. K.; Miller,,E. R. & Ullrey,D. E. (1983). Effect of parenteral iron on serum electrolytes of the baby pig. Anim. Sci., ***57*:** 638-644.

Leake, D. S. & Rankin, S. M. (1990) .The oxidative modification of low-density lipoproteins by macrophages. Biochem. J., ***270*:** 741–748.

Ledingham, G. & David ,W.(2000).Concise Oxford of textbook of medicine .oxford university Press,Ltd ., 220-224.

Lee, I. M. (2000) .Antioxidant vitamins in the prevention of cancer. Proc. Assoc. Am. Physicians., ***111* :**10-15.

Lee, Y. W. &Liu, J. F. (1998). Vitamin C supplementation restores the impaired vitamin E status of guinea pigs fed oxidized frying oil. Ame Nutr. Sci., ***32***(5):116-122.

Liao, Y.D.;Cooper, R.S.&Mcgee, D.L. (1994). Iron status and coronary heart disease:. Am. J. Epidemiol., ***139***: 704-712.

References

المصادر

Lichtentsein, A. H. (1996). Atherosclerosis. In: present knowledge in nutrition by Ziegler, E. & Filer, L. J., (ed) ILSI Press, Washington, DC .430–437.

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

Lioyd ,K. N.& Williams, P.(1970). Reactions to total dose infusion of iron dextran in rheumatoid arthritis. Br. Med. J., **ii**: 323-5.

Lucesoli, F.& Fraga.A. (1999). Oxidative stress in testes of rats subjected to chronic iron intoxication and alpha-tocopherol supplementation. Toxicology.,***132***:179-186.

Lucotte, G. (1998). Celtic origin of the C282Y mutation of hemochromatosis. Blood Cells Mol. Dis., ***24***: 433-438.

Luna,L.G.(1968).Manual of histological staining methods of the armed forces institates of pathology . 3th (ed) .Mc crow-Hill Book Company .New York.

Macdougall, I.C. (1999). Strategies for iron supplementation: oral versus intravenous. Kidney International (Suppl. 69)., S61-S66.

Mackie,M.&Mcartney ,C.(1995).Piratical medical microbiology.4th (ed).New York.USA.:650-651.

Markel , T.A.; Crisostomo , P.R.; Wang , M.; Herring, C.M.; Meldrum , K.K.;Lillemoe, K.D. &Meldru , D.R.(2007) The struggle for iron: gastrointestinal microbes modulate the host immune response during infection. J. Leukoc. Biol., ***81***: 393–400.

References

المصادر

Mathotra, V.K.& Argawal , D. S.(1985).Biochemistry for Students, Japes Brothers, 5th (ed) chap.

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

Metcalf, J.A.; Gallin, J.I.; Nauseef, W.M. & Root, R.K. (1986). Laboratory manual of neutrophils function. Rav. Press. New York, pp. 191.

Moller, P. & Loft, S. (2002).Oxidative DNA damage in human white blood cells in dietary antioxidant intervention studies. Am. J. Clin. Nutr., ***76***: 303-310.

Moore, M.; Folsom, A.R.; Barnes, R.W. & Eckfeldt, J.H. (1995). No association between serum ferritin and asymptomatic carotid atherosclerosis. The atherosclerosis risk in communities (ARIC) Study. Am. J. Epidemiol., ***141***: 719-723.

Morrison, H.I.;Semenciw, R.M.; Mao, Y.& Wigle, D.T. (1994). Serum iron and risk of fatal acute myocardial infarction. Epidemiology., ***5***: 243-246.

Moumen, Y. & Abdennour,C.(2008). Influence of vitamin C on testicular functions of domestic rabbit oryctolagus cubiculum under mercury Exposur. Euro. J., ***22***(2):197-204.

Murray, M.J.; Murray, A.B.; Murray, M.B. & Murray, C.J. (1987). The adverse effect of iron repletion on the course of certain infections. Brit. Med. J., ***2***: 1113-1115.

Napier, I.; ponka, P. & Richardson, DR. (2005). Iron trafficking in the mitochondrion: novel pathways revealed by disease. Blood., ***105***:1870-1874.

National Research Council. Iron. Baltimore, MD, University Park Press. 1979.

Neuzil, J.; Weber, C.&Kontush, A. (2001) .The role of vitamin E in atherogenesis: linking the chemical, biological and clinical aspects of the disease.Atheroscler., ***157***:257-83.

Ng, P.; Lam, C.;Lee, C.;To, K.; Fok, T.;Chan, I. & Wong, E . (2001). Hepatic iron storage in very low birth weight infants after multiple blood transfusions. Arch. Dis., (84): F101-F105.

O'Brien, I.G. & Gibson, F. (1970). The structure of enterochelin and related 2, 3- dihydroxy-N-benzylserine conjugates from *Escherichia coli*. Biochim. Biophys. Acta., ***215***: 393-402.

Oide , T.; Yoshida, K.; Kaneko, K.; Ohta, M.& Arima, K.(2006). Iron overload and antioxidative role of per vascular atrocities in aceruloplasminemia. Neuropathol. Appl. Neurobiol ., ***32***: 170-176.

Olson, J.A.; Duthie, L.G.G.& Shearer, M.J. (2000) .Fat-soluble vitamins, by Garrow JS, James WPT, Ralph A, (eds).in: Human nutrition and dietbetics. London. Churchill Livingstone.211-247.

Olynyk, J.; Cullen,D. ; Aquilia,S. ; Rossi,E. & Powell, L. (1995). A long term study of the interaction of iron and alcohol in an animal model of iron overload. J. Hep., ***22***: 671-676.

Oppenheimer, S. J. (1998) Iron and infection in the tropics: pediatric clinical correlates. Ann. Trop. Paediatr., ***18***: S81–S87.

Orino, K.; Lehman, L.; Tsuji, Y.; Ayaki, H.;Torti , S.V.&Torti, F.M.(2001) .Ferritin and the response to oxidative Stress. Bioch .J., ***357***:241–7.

Otto, B.R; Verweij-van Vugt, A.M.& MacLaren, D.M. (1992). Transferrin and heme-compounds as iron sources for pathogenic bacteria. Crit. Rev. Microbial., ***18***:217-233.

Özgüner , M.& Sayın , N.(2002).Histological changes in rat liver after chronic iron-sorbitol overload, j. An. Med. sch.,***24*** (2): 49-54.

Ozkalay,N.;Anil,M.;Agus,N.;Helvaci,M.&Sirti,S.(2006). Community acquired meningitis and sepsis caused by chryseobacterium meningosepticum in a patient diagnosed with thalassaemia major. J. Clin. Microbial., ***44***: 3037-3039.

Papanikolaou, G.& Pantopoulos, K.(2005). Iron metabolism and toxicity. Toxicol App.l Phar .,***202***:199-211.

Park, C. H.; Valore, E. V.; Waring, A. J. & Ganz, T. (2001). Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. J. Biol. Chem., ***276*:** 7806–7810

Piesova, E.; Milad, K. &Kovac. D. (2000). Effect of pretreatment with vitamin E and selenium on CCl4 induced micronuclei in sheep. Acta Vet. Beogr.,***50*** (2-3):169-176.

Pietrangelo, A.; R. Gualdi, G. Casalgrandi, G. Montosi, & Ventura, E. (1995). Vitamin E prevents hepatic cirrhosis due to iron overload. J. Clin. Invest., ***95***:1824-1831.

Pinero, DJ. & Connor, JR. (2000.) Alterations in the interaction between iron regulatory proteins and their iron responsive element in normal and Alzheimer's diseased brains. Cell Mol. Biol., ***46:***761–776.

Pippard, M.J. (1994). Secondary iron overload. In Iron Metabolism in Health and Disease, Brock J.H, Halliday J.W, PippardM.J, Powell L.W, (eds).. Philadelphia: WBSaunders. pp. 271-309.

Politis, I.; Hidiroglon, M.; Batra, T. R.; Gilmore, J. A.; Gorewit, R. C. & Scherf, H. (1995). Effects of vitamin E on immune function of dairy cows. Am. J. Vet. Res**.,** ***56***(2):179-184.

Ponka, P. (1999). Cellular iron metabolism. Kidney international, ***55*** (Suppl. 69), S2-S11.

Porto, G. & De Sousa, M. (2007) Iron overload and immunity. World J. Gastroenterol ., ***13***(35): 4707-4715.

Ramm, G.A. & Ruddell, R.G. (2005). Hepatotoxicity of iron overload: Mechanisms of iron induced hepatic fibrogenesis. Semin. Liver Dis., ***25***:433–449.

Richardson, DR.(2002). Iron chelators as therapeutic agents for the treatment of cancer.Crit. Rev. Onc. Hematol., ***42***:267-281.

Rikans , L.E,.;Moore, D.R.& Snowden, C.D.(1991).Sex-dependent differences in the effects of aging on antioxidant defense mechanisms of rat liver. Bioch.Biophysica .Acta., ***1074***: 195-200.

Rimm, E.B.; Stampfer, M.J.; Ascherio, A.N. & Willeth, W.C. (1993). Vitamine E consumption and the risk of coronary heart disease in men. N. Eng. J. Med., ***328***: 1450-1457.

Rottkamp, C.; Nunomura, A.; Raina, A.; Sayre, L.; Perry, G. & Smith M.(2001) .Oxidative stress, antioxidants, and alzheimer's disease. Alzheimer's disease and Associated Disorders., ***14:***S62-S66.

Salonen, J.R.,;Nyyssonen, K.; Korpela, H. (1992). High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern Finnish men. Cir., ***86***:803-811.

Sanocka, D. & Kurpisz, M. (2004). Reactive oxygen species and sperm cells.Reprod.Biol.End.,***2***:12.

Sargent, P.J.;Farnaud , S.&Evans , R.W. (2005). Structure/function overview of proteins involved in iron storage and transport. Curr .Med .Chem **.,*12***(23): 2683-2693.

Scholl, T.O.; Hediger, M.L.; Fischer, R.L. & Shearer, J.W. (1992). Anemia vs. iron deficiency increased risk of preterm delivery in a prospective study. Am. J. Clin. Nutr., ***55***: 985-988.

Schumann, K.; Elsenhans, B.; Ehtechami, C. & Forth, W. (1998). Iron supplementation. J. Trace Elem. Med. Biol., ***12***: 129-140.

Schwartzj, K.A.; Fisher, J.I. & Adams, E.T.(1993). Morphological investigations of the guinea pig model of iron overload. Toxic Pathol.,(21):311-20.

Silverman , L.M. ; Christenson , R. H & Grant , G.H. (1986) Amino acid and proteins in Tietz ,N.W(ed) . Textbook of clinical chemistry . W.B. saunders Co. Philadelphia., Chapter ***4***: 519.

Smith, J.E.(1997). Iron metabolism and its disorders. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. By: Kaneko, J., Harvey, J. W., Bruss, M. L. (eds.). Academic Press, pp. 223-239

Smith-Whitley S.K. (2003). Diagnosis and current management. Workshop material from the American society for clinical laboratory sciences national meeting, Philadelphia.

Sochaski, M.A.; Bartfay,W.J.; Thorpe, S.R.; Baynes, J.W.; Bartfay, E.; Lehotay, D.C.& Liu, P.P.(2002). Lipid peroxidation and protein modification in a mouse model of chronic iron overload. Metab. Clin. Exp., ***51***: 645–651.

Stal, P.; Johansson, I.&Ingelman-Sundberg , M. (1996). Hepatotoxicity induced by iron overload and alcohol. Studies on the role of chelatable iron, cytochromes P450 2E1 and lipid peroxidation. J. Hepatol., ***25***(4): 538-46.

Stanford, K.; Woloschuk, C..; Mcdell, L..; Jones, S. & Price, M. (1997). Comparison of objective external carcass measurement and subjective can formation score for predication of lamb carcass quality. Canadian. J. Anim. Sci**.,** ***77***(2): 217-223.

Steel,R. & Torries, J. (1980). Principles and Procedures Statistics a biometrical Approach . 2nd (ed) .Mc .Jan.44-48.

Sue, B. (1995) .Vitamin E needed by every cell. Inc .The bread beakers Nutri. News.pp. 1-2**.**

Sullivan, J.L. (1981). Iron and the sex difference in heart disease risk. Lancet. ***1***: 1293-1294.

Svoboda, M.:Drabek, J.; Polaskova, J.& Synkova, B.(2006).effect of a single oral administration iron fumarate on hematological indices and antioxidant status in Piglets Bull. Vet.Inst. Pulawy .,***50****: 543*-548.

Svoboda , M.& Drabek, J.(2007). Intramuscular versus subcutaneous administration of iron dextran in suckling piglets. Acta .Vet. Brno., ***76***: S11-S15.

Szczeklik, A.; Gryglewski , R.J.; Domagala, B.; Dworska , R.& Bassista, M.(1985).Dietary supplementation with vitamin E in hyperlipoproteinemia: effect on plasma lipid peroxides, antioxidant activity, prostacyclin generation and platelet agreeability. Thromb. Haemost., ***54***: 225.

Tavill, A.S.; Bipin, K.S. & Bacon, B.R. (1990) .Iron and the liver: genetic hemochromatosis and other hepatic iron overload disorders. Prog. Liver Dis., ***9:***281-305.

Turbino-Ribeiro, S.M.; Silva, M.E.;Chianca, D.A.;Depaula, H.;Cardoso, L.M.& Pedrosa, M.L.(2003).Iron overload in hypercholestolemic rats affects iron homeostasis and serum lipids but not blood pressure. J.Nutr., ***133***:15-20.

Turoczi, T.; Jun, L.; Cordis, G.; Morris, J. E.; Maulik, N.; Stevens, R. G. & Das, D. K. (2003). HFE mutation and dietary iron content interact to increase ischemia/reperfusion injury of the heart in mice. Circ. Res., ***92***: 1240–1246.

Upston, J.M.; Witting, P.K.; Brown, A.J.; Stocker, R. & Keaney, J.F. (2001). Effect of vitamin E on aortic lipid oxidation and intimal proliferation after arterial injury in cholesterol-fed rabbits.Free Rad. Biol. Med., ***31***(10):1245-53.

Vander, A.; Sherman, J.& Luciano, D. (2001). Human physiology; The mechanisms of body function. 8th (ed). McGraw-Hill Higher Education. pp 698.

Weinberg, E. D. (1990). Cellular iron metabolism in health and disease. Drug. Metab. Rev., ***22***: 531–579.

Wen, Y.; Killalea, S.; Norris, L.A.; Cooke, T. & Feely, J. (1999). Vitamin E supplementation in hyperlipidaemic patients: effect of increasing doses on *in vitro* and *in vivo* low-density lipoprotein oxidation. Eur. J. Clin. Invest., ***29***:1027-1034.

Whanger, P. D. (1996). Dietary interactions of selenium with organic compounds. Recent Res. Devel. Nutrition., ***1***:191-213.

WHO.(1996).Iron in Drinking-water,2nd (ed). Vol. 2.Geneva.

Wienk, K.J.H. & Beynen, A.C. (1996). Efficacy of iron repletion in anemic rats after the feeding of a purified or natural-ingredient diet with ferrous sulphate or carponyl iron. Nut. Res., ***16***: 615-626.

Wong, C. & Richardson, D.R.(2003).B-Thalassemia : emergence of new and improved iron chelators for treatment..Int. J. Bioch. cell Biol.,***35***:1144-1149.

Wood, J.C.; Enriquez, C.& Ghugre ,N.(2005). physiology and pathophsiology of iron cardiomypathy in thalassaemia. Ann. N.Y. Acad. Sci., ***1054***(1):386-395.

Yip, R.& Dallman, P.R. (1996). Iron. In Ziegler, E.E. & Filer, L.J. (eds). Present knowledge in nutrition ^{7th} (ed), ILSI Press, Washington DC. pp. 278-292.

Young, D.S.(2000).Effect of drug on clinical laboratory tests 5^{th} (ed) AACC press .

Ziegler, E.E.: Fomon, S.J.& Nelson, S.E. (1990). Cow milk feeding in infancy: further observations on blood loss from the gastrointestinal tract. J. Pediatr., ***116***: 11-18.

Zimmerman, D.(1992). Comparison of an oral iron treatment with injects able iron for suckling pigs. Swine research report, Iowa State Univ. Ames. p 2.

Zubay, G. (2001). Lipid soluble vitamins In: Biochemistry. 3^{rd} (ed) W.M.C. brown publishers oxford England .1:301.

Zurlo, M.G.; De Stefano, P.& Borna-Pignatti ,C.(1989).Survival and causes of death in thalassaemia major. Lancet. ii: 27–30.