استخدام فيتامين "C" كمضاد للأكسدة للتقليل من أثار التصلب العصيدي المستحدث تجريبيا ببيرو كسيد الهيدروجين في الأرانب

دينا سعدون ذياب *باسم شابا توما *خالصة كاظم خضير

*فرع الفسلجة والأدوية – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد

الخلاصة

صممت هذه الدراسة لمعرفة التأثير الوقائي لفيتامين C في الحد من آفات التصلب العصيدي المستحدث تجريبيا بإعطاء (0.5 %) بيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب في ذكور الأرانب البالغة. استخدم أربعة وعشرين أرنبا قسمت عشوائيا إلى أربع مجاميع متساوية كالأتي:- السيطرة (س): أعطيت الماء الاعتيادي، المعاملة الأولى ($م_1$): أعطيت بيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) بماء الشرب لمدة 19 اسبوعاً، المعاملة الثانية ($م_2$) أعطيت بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) بماء الشرب مع فيتامين C بجرعة (100 ملغم / كغم / يوم) لمدة 19 أسبوعا، المعاملة الثالثة ($م_3$): أعطيت ماء الشرب الحاوي على بيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) وبعد التأكد من حدوث التصلب العصيدي (بعد ثلاثة عشر أسبوعا) عوملت بفيتامين C وبجرعة (100 ملغم /كغم / يوم) ولمدة ستة أسابيع. قدم العلف المركز والجت لجميع الحيوانات بشكل طليق. تم اخذ عينات الدم في الأسابيع 5 و13 و16 و19 من مدة التجربة لقياس تركيز الكوليسترول الكلي، وتركيزه في (LDL-C وVLDL-C وHDL-C) والكليسريدات الثلاثية وأخذت عينات من الابهر لدراسة التغييرات النسيجية المرضية.

أظهرت النتائج أن بيروكسيد الهيدروجين أدى إلى ارتفاع تركيز كل من الكوليسترول الكلي والكليسريدات الثلاثية وVLDL-C وLDL-C مع انخفاض HDL-C في بلازما الدم. كما اظهر الفحص النسيجي للأبهر حدوث آفات التصلب العصيدي متمثلا بوجود الآفات الدهنية والخلايا الرغوية. أن المعاملة بفيتامين C أدت إلى انخفاض معنوي في مستوى كل من الكوليسترول الكلي والكليسريدات الثلاثية وVLDL-C وLDL-C مع ارتفاع HDL-C في بلازما الدم. كما أدت إلى تخفيف ملحوظ مجهريا بشدة الآفات النسيجية في الأبهر. يستنتج أن بيروكسيد الهيدروجين يلعب دورا مهما في نشوء التصلب العصيدي في الأرانب وان المعاملة بفيتامين C لها فعالية ايجابية في التخفيف من شدة الآفات، ومن الجدير بالذكر إن هذه الدراسة الأولى من نوعها في استخدام فيتامين C كمضاد للأكسدة للتخفيف من آثار التصلب العصيدي المستحدث تجريبيا ببيروكسيد الهيدروجين.

The use of vitamin "C" as antioxidant to decrease lesions of atherosclerosis that induced experimentally by hydrogen peroxide in rabbits.

D.S.Diab *B.S.Toma *K.K.Khudiar
*Department of physiology and pharmacology , college of Veterinary Medicine ,
University of Baghdad

Summary

This study was designed to investigate the effect of vitamin C in alleviating the changes in lipid profile and the atherosclerotic lesions induced experimentally by (0.5%) H_2O_2 in drinking water. Twenty four adult males rabbits were divided randomly into four equal (a control and 3 treated "T") groups for 19 weeks: 1- **The Control group**: Which was given normal drinking water. 2- **Group (T_1)**: was given 0.5% H_2O_2 in drinking water. 3- **Group (T_2)**: which was handled as T_1, in addition to vitamin C (100 mg /kg/day) along the experiment. **4- Group (T_3)**: was treated as T_1 till the atherosclerotic lesions were established at the week 13, then the animals received 100 mg/kg of vitamin C daily for 6 weeks. Blood samples were taken at the weeks 5, 13, 16 and 19 of the experimental period to measure the levels of total cholesterol (TC), triglycerid (TG), HDL-C, LDL-C and VLDL-C in plasma. Samples of aortic tissue were taken to study the histopatholpgical changes. The results showed that H_2O_2 caused an increase in TC, TG, LDL, VLDL-C and a decrease in HDL-C concentration in plasma. The histopathological sections showed lesions of atherosclerosis in the aorta as fatty streaks and foam cells. Moreover, results showed that treatment with vitamin C caused a dereased in the VLDL-C, LDL-C, TG and TC levels and an increase in the HDL-C concentration in plasma. and regression of atherosclerotic lesions. Results of the present study suggest that the oxidative stress (produced by 0.5% H_2O_2) has an important role in pathogenesis of atherosclerosis in the rabbits and vitamin C has an important effect in reducing and preventing some of the oxidative stress changes in lipid profile and atherosclerotic lesions of the aorta. It is worthed to report that this is the first study undertaken in using vitamin C as an antioxidant to minimize the oxidative stress effects of H_2O_2 in rabbits as a model for atherosclerosis in mammals.

المقدمة

يعد التصلب العصيدي من أكثر الأسباب شيوعا لحدوث الوفيات بين سكان العالم ولاسيما الدول المتقدمة صناعيا[1]. يصيب المرض الشرايين التاجية منها والدماغية على وجه الخصوص حيث تترسب المواد الدهنية والكوليسترول ومخلفات النواتج الخلوية والصفيحات الدموية على الجدار الداخلي للوعاء

مكونة ما يدعى بالخثرة (Plaque)، التي قد تغلق الوعاء الدموي وتمنع تغذية القلب أو العضو المتزود بذلك الشريان محدثة الجلطة الدموية عند انفجارها[2].

تشير العديد من الدراسات الحديثة إلى الدور الكبير الذي تلعبه الجذور الحرة والمواد المؤكسدة بإمراضية التصلب. فقد أشار [3] في تجربته المجراة في الزجاج إلى أن التحور التأكسدي للشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة (LDL) يؤدي إلى تحرير جذور الأوكسجين الحرة التي تعد محفزا قويا لنشوء العصيدة وبالتالي أمراض القلب التاجية. و قد أكدت الكناني [4] في دراستها على الدجاج و Khudiar [5] في دراستها على الجرذان إلى دور المواد المؤكسدة في توليد الجذور الحرة وأحداث التصلب العصيدي.

يعتبر بيروكسيد الهيدروكسيد (H_2O_2) من المواد المؤكسدة التي يسبب تواجدها بتركيز عالي في النسيج إلى تحرير كميات كبيرة من الجذور الحرة التي تسبب حالة بيروكسيدة الدهن (Lipid peroxidation) من الأغشية الخلوية والدهون الحرة والبروتينات مؤدية إلى حالة الكرب التأكسدي الذي يؤدي إلى تحطيم وسمية النسيج الخلوي وتعطل وظيفته [6 و7]. ومن جهة أخرى تلعب موانع الأكسدة الطبيعية كالفيتامينات دورا كبيرا في منع تخليق الجذور الحرة وبالتالي التقليل من آثارها التخريبية، ويعد فيتامين C من الفيتامينات المضادة للأكسدة والتي تلعب دورا كبيرا في تحصين مناعة الجسم وتقليل شدة آفات القلب والأوعية الدموية عن طريق تقليله مستوى الكوليسترول في بلازما الدم وفي الجدار الشرياني [8] وان فيتامين C بصفته مانع للأكسدة يعمل على زيادة تكوين الكلوتاثايون (بروتين كاسح للجذور الحرة) فضلا عن تقليله إنتاج المالوندالديهايد الذي هو نوع من النواتج الايضية السمية في عملية بيروكسيدة الدهن [9] . كما يعمل فيتامين C على زيادة تكوين موانع الأكسدة الداخلية [10]، بالإضافة إلى تثبيطه الجذور الحرة المتكونة في السايتوبلازم [11، 12] والتي تعتبر مهمة في إحداث التصلب العصيدي. ومن خلال استعراض المراجع المنشورة أتضح أن الدراسات المتعلقة باستحداث التصلب العصيدي في الأرانب باستخدام بيروكسيد الهيدروجين نادرة، كما لم تلاحظ دراسات تتعلق باستخدام فيتامين C بصفته مانع للأكسدة كوسيلة للتقليل من آثار التصلب العصيدي المستحدث باستخدام بيروكسيد الهيدروجين. وعليه فقد ثم تصميم هذه التجربة لدراسة إمكانية استخدام فيتامين C في التقليل من آثار التصلب العصيدي المستحدث تجريبيا في الأرانب.

المواد و طرائق العمل

استخدم في هذه التجربة 24 من ذكور الأرانب المحلية البالغة، تراوحت أوزانها ما بين (1500 – 2000 غم). تم إيوائها في ظروف بيئية مناسبة وقدم لها العليقة المركزة (Pellet) والعلف الأخضر (الجت) والماء بشكل حر طيلة مدة الدراسة.

قسمت الحيوانات عشوائيا إلى أربع مجاميع (6/ مجموعة) على النحو التالي: مجموعة السيطرة (س) أعطيت ماء الشرب الاعتيادي. مجموعة المعاملة الأولى (م1) أعطيت بيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب بتركيز 0.5%، مجموعة المعاملة الثانية (م2) أعطيت بيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب بتركيز 0.5% فضلا عن تجريعها فيتامين C (100 ملغم/كغم من وزن الجسم/يوم) ولمدة 19 أسبوعا أما مجموعة المعاملة الثالثة (م3) أعطيت بيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب (0.5%) وبعد مرور 13 أسبوعا تم التأكد من حدوث التصلب العصيدي من خلال الفحص النسيجي للابهر وبعد ذلك، عولجت الحيوانات باعطاءها فيتامين C .بجرعة مقدارها (100 ملغم/ كغم من وزن الجسم / يوم) ولمدة 6 أسابيع.

تم قياس تركيز فيتامين C المستخدم في العلاج للتأكد من صلاحيته وكفاءته حسب الطريقة الموصوفة من قبل الدلالي(13).

تم جمع عينات الدم من القلب مباشرة ووضعت في أنابيب حاوية على سترات الصوديوم وتم عزل البلازما وحفظ في درجة (18°C-) لحين إجراء الفحوصات الكيموحيوية التالية:-

1- تم قياس تركيز كل من الكوليسترول الكلي (TC)، الكليسريدات الثلاثية (TG) وكوليسترول الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية (High Density Lipoprotein Cholesterol- HDLC) باستخدام عدة جاهزة من إنتاج شركة LINEAR الأسبانية.

2- قياس تركيز كوليسترول الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة (Low Density Lipoprotein Cholesterol-LDLC) وكوليسترول الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جدا (Very Low Density Lipoprotein Cholesterol - VLDLC) باستخدام المعادلة التي جاء بها Freidwalde وجماعته(14).

بعد مرور ثلاثة عشر أسبوعا من التجربة تم التضحية بأرنب واحد من المجموعة (م1) وأخذت نماذج من الأبهر لدراسة التغيرات النسيجية فيه للتأكد من حدوث التصلب العصيدي في الأبهر. عند انتهاء التجربة تمت التضحية بحيوانات التجربة وأخذت نماذج من الأبهر لدراسة التغيرات النسيجية المرضية (15).

التحليل الإحصائي:-

أخضعت النتائج للتحليل الإحصائي باستخدام اختباري تحليل التباين الثنائي Two – way analysis of variance والفرق المعنوي الأصغر Least significant difference لمقارنة معدلات المعايير بين المجاميع وضمن كل مجموعة بمرور الزمن واعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى 5% (16).

النتائج

يظهر من الجدول (1) وجود زيادة معنوية ($P< 0.05$) في معدلات تركيز الكوليستيرول الكلي (TC) لبلازما الدم في الأسابيع 5 – 19 من التجربة في مجموعة م1 (المعطاة بيروكسيد الهيدروجين) وفي الأسابيع 5 – 16 في مجموعة م3 (المعطاة فيتامين C بعد التأكد من حدوث التصلب العصيدي) مقارنة مع مجموعتي السيطرة و م2 التي أعطيت البيروكسيد وفيتامين C منذ بداية التجربة.

لقد أدى إعطاء فيتامين C بعد حدوث التصلب العصيدي في مجموعة م3 إلى حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدلات تركيز TC في الأسبوع 19 من التجربة مقارنة مع م1، وأصبح مستواه مقاربا لما هو عليه في مجموعتي السيطرة و م2. وفيما يخص تأثير الفترة الزمنية على معدلات تركيز TC فقد أدت المعاملة بفيتامين C إلى انخفاض معنوي في تركيزه في حيوانات م3 في الأسابيع 16 و19 مقارنة مع الأسبوع 13 من التجربة ($P<0.05$).

تشير نتائج الجدول (2) إلى وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في معدلات تركيز LDL-C في مجموعتي م1 و م3 ابتدءا من الأسبوع الخامس حتى الأسبوع الثالث عشر من التجربة مقارنة مع السيطرة وم2. كما أدت المعاملة بفيتامين C في مجموعة م3 (بعد حدوث التصلب) إلى حدوث انخفاض معنوي ($P< 0.05$) في مستوى LDL-C في الأسبوعين 16 و19 مقارنة مع م1. كما يلاحظ من الجدول (2) عدم وجود فروقات معنوية ($P< 0.05$) في معدلات تركيز الكوليستيرول (LDL-C) في أرانب مجموعة م3 للأسابيع 16 و19 عند مقارنتها مع مجموعتي السيطرة و م2.

يتضح من الجدول (3) إن إعطاء فيتامين C لحيوانات مجموعة م3 قد تسبب في حدوث ارتفاع معنوي ($P< 0.05$) في معدلات تركيز كولستيرول الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية HDL-C في الأسابيع 16 و19 من التجربة مقارنة مع س و م1 و م2.وبمرور الزمن ارتفع تركيز الكولسترول HDL-C في م3 معنويا في الأسابيع 16 و19 مقارنة مع الأسبوعين الخامس والثالث عشر من التجربة ($P<0.05$).

يلاحظ وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في معدلات تركيز كل من VLDL-C و TG في مجموعتي م1 و م3 في الأسبوع الثالث عشر من التجربة مقارنة مع حيوانات مجموعتي السيطرة و م2 (جدول 4 و5). في حين أدت المعاملة بفيتامين C إلى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدلات تركيز كلا المعيارين في حيوانات مجموعة م3 في الأسبوع 19 من التجربة مقارنة مع م1 ، بحيث أصبح تركيز كل من VLDL-C وT.G في م3 مقاربا لما هو عليه في مجموعتي السيطرة و م2 . وفيما يخص تأثير الفترة الزمنية، أظهرت المجموعة م3 انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدلات تركيز كلا المعيارين أعلاه في الأسبوع 19 مقارنة مع الأسبوع 13 من التجربة.

الصفة التشريحية:-

أظهرت الصفة التشريحية في ذكور الأرانب المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (م1 و م3) عن وجود تغيرات مرضية نسيجية في الأبهر عند الأسبوع الثالث عشر من التجربة (شكل1) مقارنة مع مجموعة السيطرة (شكل 2). حيث تميزت التغييرات المحدثة تجريبيا عن وجود العديد من الفجوات الدهنية داخل وخارج خلايا البطانة الوعائية مع عدم انتظام البطانة والخلايا العضلية الملساء بعد التأكد من حدوث التصلب العصيدي في مجموعة م3 وعلاجها بعد ذلك بفيتامين C، اظهر الفحص النسيجي لأبهر تلك المجموعة إلى حدوث قلة في الخلايا الغراوية والفجوات الدهنية وتقليل حدة آثار التصلب العصيدي كما هو موضح في (الشكل 3) مقارنة مع مجموعة السيطرة. ويظهر (الشكل 4) مقطع لأبهر حيوانات مجموعة (م2) المعطاة البيروكسيد وفيتامين C معا منذ بداية التجربة والتي تميزت بانتظام الخلايا البطانية وعدم وجود الفجوات الدهنية فيها مما يشير إلى الدور الوقائي لفيتامين C.

جدول (1) تأثير فيتامين C في مستوى تركيز الكولستيرول الكلي في بلازما الدم في الأرانب المستحدث فيها التصلب العصيدي تجريبيا باستخدام بيروكسيد الهيدروجين (0.5%)

الأسابيع / المجاميع	الكولسترول الكلي (ملغم / دسلتر)			
	5	13	16	19
س	150.0 ± 18.6 A a	160.0 ± 19.0 A a	160.0 ± 19.0 A a	160.0 ± 19.0 A a
م1	246.0 ± 8.2 B a	294.0 ± 5.9 B a	302.0 ± 9.8 B a	312.0 ± 7.7 B a
م2	169.0 ± 8.5 A a	170.6 ± 9.8 A a	146.4 ± 7.5 A a	130.6 ± 7.1 A a
م3	312.0 ± 7.7 B ab	358.6 ± 11.5 B a	236.0 ± 10.2 AB b	170.0 ± 9.6 A b

- الأرقام تمثل المعدل ±، الخطأ القياسي (عدد الحيوانات= 6/ مجموعة).
- الأحرف الكبيرة المختلفة ترمز إلى وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.
- الأحرف الصغيرة المختلفة ترمز إلى وجود فرق معنوي ($P< 0.05$) ضمن المجموعة الواحدة.
- س= سيطرة، م1= المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين. م2= المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين+ فيتامينC 100 ملغم/كغم/يوم منذ بداية التجربة، م3 = المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وبعد مرور 13 أسبوع عوملت بالجرعة نفسها من فيتامينC.

جدول (2) تأثير فيتامينC في مستوى تركيز كوليستيرول الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة (LDL-C) في الأرانب المستحدث فيها التصلب العصيدي تجريبيا باستخدام ببروكسيد الهيدروجين (0.5%)

الأسابيع / المجاميع	كولستيرول الشحوم البروتينية الواطئة LDL-C (ملغم / دسليتر)			
	5	13	16	19
س	80.7 ± 19.0 A a	80.02 ± 19.0 A a	80.7 ± 18.3 A a	81.04 ± 18.5 A a
م1	157.1 ± 11.6 B a	200.5 ± 15.0 B a	216.0 ± 17.0 B a	225.0 ± 17.0 B a
م2	115.3 ± 34.0 AB a	111.5 ± 25.8 A a	85.7 ± 22.3 A a	82.0 ± 24.6 A a
م3	156.2 ± 11.6 B a	236.0 ± 18.0 B b	127.0 ± 18.5 A ac	70.98 ± 19.5 A c

- الأرقام تمثل المعدل ±، الخطأ القياسي (عدد الحيوانات= 6/ مجموعة).
- الأحرف الكبيرة المختلفة ترمز إلى وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.
- الأحرف الصغيرة المختلفة ترمز إلى وجود فرق معنوي ($P< 0.05$) ضمن المجموعة الواحدة.
- س= سيطرة، م1= المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين. م2= المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين+ فيتامينC 100 ملغم/كغم/يوم منذ بداية التجربة، م3 = المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وبعد مرور 13 أسبوع عوملت بالجرعة نفسها من فيتامينC.

جدول (3) تأثير فيتامين C في مستوى تركيز كولستيرول الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية (HDL-C) في الأرانب المستحدث فيها التصلب العصيدي تجريبيا باستخدام ببروكسيد الهيدروجين (0.5%)

الأسابيع / المجاميع	كوليستيرول الشحوم البروتينية العالية HDL (ملغم / دسليتر)			
	5	13	16	19
س	**55.06 ± 1.2** **A a**	**55.05 ± 1.0** **A a**	**55.5 ± 1.0** **A a**	**55.4 ± 1.0** **A a**
م1	**56.8 ± 1.5** **A a**	**57.7 ±1.0** **B a**	**51.16 ± 0.3** **A a**	**51.8 ± 0.1** **A a**
م2	**60.6 ± 1.8** **A a**	**57.7 ± 1.0** **A a**	**56.7 ± 0.5** **A a**	**56.5 ± 0.5** **A a**
م3	**55.6 ± 1.0** **A a**	**56.7 ± 1.0** **A a**	**76.0 ± 0.7** **B b**	**75.5 ± 0.5** **B b**

- الأرقام تمثل المعدل ±، الخطأ القياسي (عدد الحيوانات= 6/ مجموعة).
- الأحرف الكبيرة المختلفة ترمز إلى وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين المجاميع.
- الأحرف الصغيرة المختلفة ترمز إلى وجود فرق معنوي ($P< 0.05$) ضمن المجموعة الواحدة.

- س= سيطرة، م1= المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين. م2= المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين+ فيتامينC 100 ملغم /كغم /يوم منذ بداية التجربة، م3 = المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وبعد مرور 13 أسبوع عوملت بالجرعة نفسها من فيتامينC.

جدول (4) تأثير فيتامين C في مستوى تركيز كولستيرول الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جدا (VLDL-C) في الأرانب المستحدث فيها التصلب العصيدي تجريبيا باستخدام ببروكسيد الهيدروجين (0.5%)

الأسابيع / المجاميع	كولسترول الشحوم البروتينية الواطئة جداVLDL (ملغم/دسلتر)			
	5	13	16	19
س	**24.12 ±0.4** **A a**	**24.4 ± 0.2** **A a**	**24.7 ± 0.2** **A a**	**24.6 ± 0.2** **A a**
م1	**32.09 ± 0.5** **A a**	**35.6 ±1.2** **B a**	**34.4 ± 1.0** **B a**	**34.8 ± 0.7** **B a**
م2	**25.8 ± 0.6** **A a**	**25.0 ± 0.4** **A a**	**24.6 ± 0.2** **A a**	**24.6 ±0.2** **A a**
م3	**33.5 ± 0.2** **A ab**	**36.7 ± 1.05** **B a**	**32.92 ± 1.47** **AB ab**	**25.52 ± 0.18** **A b**

- الأرقام تمثل المعدل ±، الخطأ القياسي (عدد الحيوانات= 6/ مجموعة).
- الأحرف الكبيرة المختلفة ترمز إلى وجود فرق معنوي (P<0.05) بين المجاميع.
- الأحرف الصغيرة المختلفة ترمز إلى وجود فرق معنوي (P< 0.05) ضمن المجموعة الواحدة.
- س= سيطرة، م1= المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين. م2= المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين+ فيتامينC 100 ملغم/كغم/يوم منذ بداية التجربة، م3 = المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وبعد مرور 13 أسبوع عوملت بالجرعة نفسها من فيتامينC.

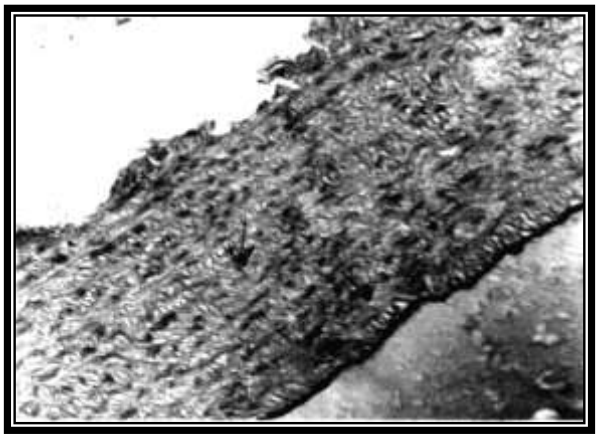
جدول (5) تأثير فيتامين C في مستوى تركيز الكليسيريدات الثلاثية في الأرانب المستحدث فيها التصلب العصيدي تجريبيا باستخدام ببروكسيد الهيدروجين (0.5%)

الأسابيع / المجاميع	الكليسريدات الثلاثية (ملغم/دسلتر)			
	5	13	16	19
س	**121.1 ±2.4** **A a**	**122.6 ± 1.6** **A a**	**123.6 ± 1.4** **A a**	**123.6 ± 1.4** **A a**
م1	**161.1 ± 2.5** **A a**	**180.0 ±6.0** **B a**	**174.1 ± 5.0** **B a**	**176.0 ± 4.1** **B a**
م2	**129.3 ± 3.4** **A a**	**125.1 ±2.4** **A a**	**123.4 ± 1.4** **A a**	**123.7 ±1.5** **A a**
م3	**167.1 ± 2.1** **A ab**	**184.0 ± 5.1** **B b**	**164.8 ± 2.0** **AB ab**	**128.5 ± 1.0** **A a**

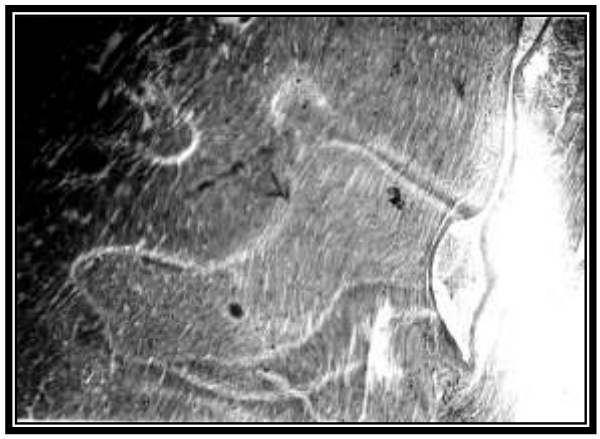
- الأرقام تمثل المعدل ±، الخطأ القياسي (عدد الحيوانات= 6/ مجموعة).
- الأحرف الكبيرة المختلفة ترمز إلى وجود فرق معنوي (P<0.05) بين المجاميع.

- الأحرف الصغيرة المختلفة ترمز إلى وجود فرق معنوي ($P< 0.05$) ضمن المجموعة الواحدة.
- س= سيطرة، م1= المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين. م2= المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين+ فيتامينC 100 ملغم/كغم/يوم منذ بداية التجربة، م3 = المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وبعد مرور 13 أسبوع عوملت بالجرعة نفسها من فيتامينC.

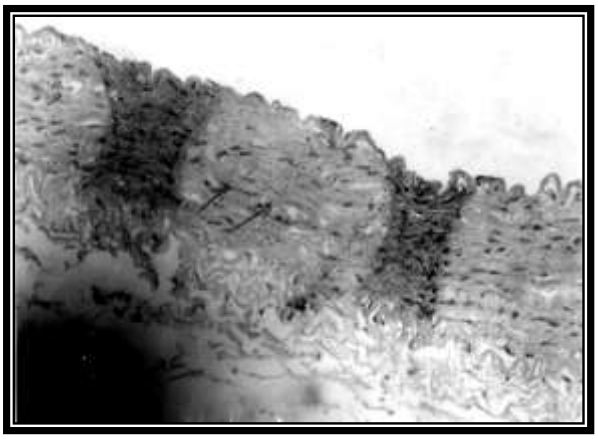
شكل (1): مقطع عرضي في الأبهر لذكر أرنب معامل ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) في ماء الشرب لمدة (13) أسبوع. يلاحظ الآفات الدهنية وانتشار الخلايا الرغوية وقطرات الدهن داخل وخارج الخلايا مع عدم انتظام البطانة والخلايا العضلية الملساء (H&E) (× 40).



شكل (2): مقطع في الأبهر لأرنب في مجموعة السيطرة. يلاحظ انتظام البطانة وشكل الخلايا. (H&E) (× 40).



شكل (3): مقطع عرضي في الأبهر لذكر أرنب معامل ببيروكسيد الهيدروجين ومعالج بفيتامين C. يلاحظ قلة الخلايا الرغوية وانتظام الخلايا (H&E) (× 40).



شكل (4): مقطع عرضي في الأبهر لذكر أرنب معامل بيروكسيد الهيدروجين وفيتامين C منذ بداية التجربة. يلاحظ قلة الخلايا الرغوية وشفاء النسيج من الآفات التي أحدثها البيروكسيد. (H&E) (× 40).

المناقشة

أظهرت نتائج هذه الدراسة إلى إن بيروكسيد الهيدروجين قد أدى إلى حصول زيادة في معدلات تركيز الكولستيرول الكلي و LDL-C وVLDL-C والكليسيريدات الثلاثية في مجموعتي م1 و م3 مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول رقم 1 و2 و4 و 5). ويعزى سبب هذا الارتفاع إلى حالة الكرب التاكسدي وبيروكسدة الدهن المستحدثة نتيجة إعطاء بيروكسيد الهيدروجين، أو حصول زيادة في تحلل الدهون والأحماض الدهنية المشبعة، مما أدى إلى تثبيط في إفراز وإخراج المواد الستيرويدية وأحماض الصفراء (17). أو قد يعزى السبب إلى مساهمة الكولستيرول في تصنيع الشحوم البروتينية في الكبد، وهذا بدوره يرفع من مستوى تركيز LDL-C و VLDL-C (18،19،20).

إن التغيير الحاصل في معدلات تركيز الكولستيرول الكلي وكولستيرول الشحوم البروتينية في المجاميع المعطاة بيروكسيد الهيدروجين تتفق مع نتائج الكناني (4) في الدجاج، والتي أوضحت أن مستوى HDL-C ببلازما الدم ينخفض عند زيادة مستويات TG و VLDL-C في الحيوانات المصابة بمرض التصلب العصيدي وان إعطاء بيروكسيد الهيدروجين مع الكولستيرول أو بدونه يحدث ارتفاعا بمستوى الكولستيرول الكلي ببلازما الدم ويؤدي إلى حدوث آفات تعصدية في الأبهر.

إن حالة الزيادة الحاصلة في تركيز الكوليستيرول الكلي وفي كوليستيرول الشحوم البروتينية (LDL – C و VLDL – C) المصاحبة لإعطاء بيروكسيد الهيدروجين لا يمكن تفسيرها في الوقت الحاضر. وعلى العموم قد تعزى هذه الزيادة إلى زيادة في التغييرات الحاصلة في معدل طرح وامتصاص الستيرويدات(17). أو ربما يعود إلى حدوث تغيرات في نشاط جينات خلايا الكبد مثل تلك المسؤولة عن مستقبلات البروتينات الشحمية (Lipoproteins) والبروتينات الشحمية البروتينية نوع B (Apolipoprotein B) (21). في حين أظهرت نتائج الدراسة إن تجريع فيتامين C لمجموعتي م2 و م3(بعد التأكد من حصول التصلب العصيدي بالأسبوع الثالث عشر) قد أدى إلى خفض معدلات تراكيز الكولستيرول وLDL-C وVLDL-C و TG مع ارتفاع HDL-C مقارنة مع السيطرة و م1 (كما موضح في الجداول رقم 1 و 2 و 3 و 4 و5). قد يعزى السبب لهذا الانخفاض إلى أن فيتامين C له دور في تخفيض معدلات LDL-C عن طريق تأثيره على نشاط المستقبلات الموجودة على سطح LDL-C في الكبد (22) كما انه يؤثر على خفض كل من TG و VLDL-C من خلال تقليل تصنيع الكولستيرول في الكبد (23) . في حين اظهر Duell (8) إن فيتامين C له تأثير على المواد المؤكسدة فيقلل من مستوى المالوندالديهايد (MDA) ويزيد الكلوتاثايون في بلازما الدم وان له دورا بتقليل الإجهاد التاكسدي المحدث بواسطة الغذاء الغني بالكولستيرول في الإنسان والحيوان.

لقد بينت الدراسة الحالية بان إعطاء بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5 % مع ماء الشرب لمجموعتي م1 وم3 قد أدى إلى حدوث التصلب العصيدي (الصورة 1). إن هذه التغيرات النسيجية في الشريان الأبهر جاءت متفقة مع نتائج العديد من الدراسات التي استخدم فيها تركيز عالي من الكوليستيرول في الأرانب (24) لاستحداث التصلب العصيدي، فضلا عن إنها اتفقت مع نتائج الدراسة التي استحدث فيها التصلب العصيدي بواسطة بيروكسيد الهيدروجين التي أجريت من قبل الكناني (4) في الدجاج و Khudiar (5) في الجرذان. وقد تعزى هذه التغيرات إلى الآثار التي يمكن أن تحدثها بيروكسدة الدهن التي بامكانها أن تغزو طبقة العضلات الملساء (عبر الخلايا البطانية) للشريان وإحداث تلك الآفات.

أن آلية استحداث التصلب العصيدي باستحداث بيروكسدة الهيدروجين قد تكون من خلال حالة الإجهاد التاكسدي التي يحدثها البيروكسيد حيث انه يعد محررا للجذور الحرة والتي عند زيادتها في الجسم تؤدي إلى حالة الإجهاد التاكسدي. إذ تؤدي زيادة الجذور الحرة إلى زيادة الأوكسجين الحر و زيادة سمك الطبقة العضلية الملساء للشريان وتنشيط الجينات الموجودة على سطح البطانة (25 و26).

من ناحية أخرى، إن إعطاء فيتامين C سوية مع بيروكسيد الهيدروجين عند بداية التجربة أدى إلى التقليل من ظهور آفات التصلب العصيدي في الأنسجة المفحوصة (الصورة 4). يمكن تفسير هذه النتائج إلى أن فيتامين C قد أدى دوره كمضاد للأكسدة ضد الجذور الحرة الناتجة عن البيروكسيد وبالتالي حصول انخفاض في معدلات تركيز الكولستيرول الكلي وكولستيرول الشحوم البروتينية LDL-C وVLDL-C وTG، إذ تعد هذه العوامل مساعدة لتكوين العصيدة. أما عن فترة العلاج بفيتامين C بعد ظهور التصلب العصيدي، فقد لوحظ انخفاض في عدد الخلايا الرغوية والفجوات الدهنية بعد مرور ستة أسابيع من العلاج ويرجع السبب إلى دور بيروكسيد الهيدروجين في ارتفاع الكولستيرول وإحداث الكرب التاكسدي الذي بقي تأثيره داخل وخارج الخلايا عاليا إلى أن أبدى فيتامين C دوره كمضاد للأكسدة وقلل من مستوى كولستيرول الدم وكسر من السلاسل التي تمنع حدوث التأكسد عن طريق استقطاب الجذور الحرة وبالتالي عمل على توفر الخط الدفاعي الأول للحماية ضد زناخة الدهن (8و27و28). وبذلك فان فيتامين C عمل كمضاد للأكسدة وساهم في اضمحلال الآفات الأولية للتصلب العصيدي.

References

1. Chan, A.C. (1998). Vitamin E and atherosclerosis. J. Nutr.,128:1593-1596.
2. Stephen, D. D. (2001). Narrowing of arteries atherosclerosis, 4: 18-20.
3. Salonen, J.; Nazzssonen, K. and parvianen, A. (1997). Low plasma beta carotene, V.E and Selenium levels associated with accelerated carotid atherogenesis in hypocholestremia eastern finnish men. Circulation., 87;1.

4. الكناني، انتصار رحيم. (1998). دراسة قابلية الأذى التأكسدي لبيروكسيد الهيدروجين في إحداث التصلب العصيدي تجريبيا في أفراخ الدجاج. رسالة دكتوراه. كلية الطب البيطري – جامعة الموصل.

5. Khudiar, K.K.(2000). The role of aqeous extracts of olive (*Olea europaea*) leaves and garlic (*Allium sativum*) in ameliorating the effects of experimentally induced atherosclerosis in rats. Ph.D thesis, College of Veterinary Medicine. University of Baghdad.
6. Visioli, F. And Galli, C. (1997). Evaluating oxidation processes in relation to cardiovascular disease: a current review of oxidant / antioxidant methodology. Nutr Metab Cardiovasc Dis., 7:459-466.
7. Melemore, J. L. And Beeley, P.O. (1998). Rapid automated determination of lipid hydroperoxide concentration and total antioxidant status of serum samples from patients infected with hiv: elevated lipid hydroperoxide concentration and depleted total antioxidant capacity of serum samples. Am J Clin Path., 3:268-273.
8. Duell, P.B. (1996). Atherosclerosis with dietary antioxidants: Nutr., 126:1067S-1071S.
9. Santillo, M.; Mondola, P.; Milone. A.; Gioielli, A. and Gifulco, M. (1996). Ascorbate adminstration to normal and cholesterol fed rats inhibits in vitro TBARS formation in serum and liver
10. Santillo, M.; Mondola, P.; Milone. A.; Gioielli, A. and Gifulco, M. (1996). Ascorbate adminstration to normal and cholesterol fed rats inhibits in vitro TBARS formation in serum and liver homogenates. Lifes. Sci., 58(14):1101-8.
11. Lehr, H. A. and Frei, B.N. (1994). Vitamin C prevents cigarette smoke-indued leukocyte aggergation and adhesion to endothelium in vivo. Acad. Sci. Res., 91:7688-92.
12. Alexander, R. W. (1995). Hypertension and atherogenesis of atherosclerosis, oxidative stress and the mediation of terial inflammatory response: a new perspective. Hypertension., 25:155-161.
13. Adriana, C.V. and Mensink, P.H. (1999). Vitamin E concentrate rich in tocotrienoles and V.C. had no effect on serum lipid, lipoprotein and platelet function. Blood., 69:213-9

14. الدلالي،صادق حسن (1989). تحليل الأغذية. كلية الطب البيطري– جامعة الموصل.

15. Friedwald, W.T.; Levy, R.I. and Fredrickson, D.S.(1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. Clin. Chem., 18:499-502.
16. Luna, L.G. (1968). Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of pathology. 3rd McGraw-Hill Book company. NewYork.

17. Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. (1973). Statistical Methods 6th ed. The Iawa state university press. pp: 238-248.
18. Pfeuffer, M. And Pittman, R. (1989).Differences in the underlying mechanisms of cholesterol – and casein – induced hypercholesterolemia in rabbits and rat. Atherosclerosis., 76:89-91.
19. Frishman, W. H. (1998). Biological markers as preidictors of cardiovascular disease. Am. J. Med., 104(6a): 18S-27S.
20. Mangiapane, E. H. and Mcateer, M. A. (1999). Modulation of the regression of atherosclerosis in the hamster by dietary lipids: comparison of coconut oil and olive oil. British. J. Nutr., 82:401-409.
21. Elder, K. and Steng, G. (2000). Plasma thyroxine and cholesterol concentrations of miniature pigs are influenced by thermlly oxidized dietary lipids. J. Nutr., 130: 116-121
22. Salter, A. M.; Mangiapane, E. H.; Bennet, A. J.; Bruce, J. S. and Bilett, M. A. (1998). The effect of different dietary fatty acids on lipoprotein metabolism: Concentration – dependent effects of diet enriched linoleic, myristic, palmitic and stearic
23. Kovanen, P.T. ; Brown, M. S.; Basu, S. K.; Bilheimer, D. W. , and Goldstein, J. L. (1981). Saturation and suppression of hepatic lipoprotein receptors: a mechanism for the hypercholesterolemia of cholesterol – for rabbits. Pro. Nat. Acad. Sci. USA., 78: 1396-1400.
24. Chopra, M. and Thrnham, D. I. (1999). Antioxidants and lipoproten metabolism. Proc. Nutr. Soc., 58(3): 663-71.
25. الشبيب، طه حامد. (1978). دراسة عن التصلب العصيدي في الإنسان وتجريبيا في الأرانب: تأثير الميدروكسي بروجستون و فيتامين C على التصلب. (اطروحة ماجستير). كلية الطب البيطري– جامعة بغداد.
26. Schreck, R. Albermann, K. and Baeuerle, P.A. (1992). Nuclear factor KB: an oxidative stress – responsive transcription factor of eukaryotic cells (a review). Free. Radic. Res. Commun., 17: 221-237.
27. Henning, B.; Toborek, M.; McClain, C. J. And Diana, J. N. (1996). Nutritional implications in vascular endothelial cell metabolism. J. Am. College of Nutr., 15 (4): 345-358.
28. Parker, R. S. and Sabrah, T. L. (1995). Relation of vascular oxidative stress, α-tocopherol and hypercholesterolemia to early atherosclerosis in hamster arterioscler. Thromb. Vasc. Bio., 15: 349-358.
29. Frei, B. (1999). On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 222(3): 196-204.