

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



المملكة العربية السعودية

جامعة الملك سعود

كلية علوم الأغذية والزراعة

قسم علوم الأغذية والتغذية

تأثير التشعيع في وجود وعدم وجود الالفاتوكوفيرول على نشاط بعض مضادات الأكسدة الإنزيمية في كبد فئران الألبينو

**Effect of Irradiation in the Presence and Absence
of α - tocopherol on the Activity of some
Antioxidant Enzymes in Albino Rats Liver**

قدمت هذه الرسالة استكمالاً لمتطلبات الحصول على درجة الماجستير في
قسم علوم الأغذية والتغذية – كلية علوم الأغذية و الزراعة
جامعة الملك سعود

إعداد

وحيدة بنت هزاع القحطاني

ربيع الأول ١٤٢٥ هـ
أبريل ٢٠٠٤ م

تأثير التشعيع في وجود وعدم وجود الألفاتوكونيرول على نشاط بعض مضادات الأكسدة الإنزيمية في كبد فئران الألبينو

إعداد

وحيدة بنت هزاع القحطاني

نوقشت هذه الرسالة بتاريخ ١٤٢٥/٣/٢ هـ الموافق ٢٠٠٤/٤/٢١ م وتمت إجازتها

أعضاء لجنة الاشراف

التوقيع

.....

د. زبيدة بنت عبد رب النبي بخيت
قسم علوم الأغذية والتغذية - كلية علوم الأغذية والزراعة

.....

د. سهام بنت محمد سعيد النقيب
قسم الكيمياء الحيوية - كلية العلوم

أعضاء لجنة المناقشة

التوقيع

.....

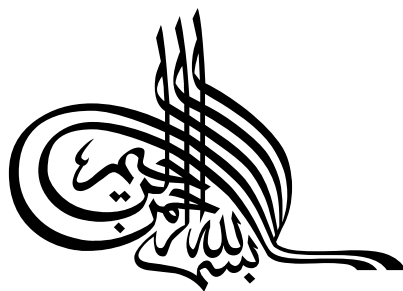
أ. د. حسن بن عبد الله القحطاني
قسم علوم الأغذية والتغذية - كلية علوم الأغذية والزراعة

.....

أ. د. هناء بنت محمد صدقي
قسم علوم الأغذية والتغذية - كلية علوم الأغذية والزراعة

.....

د. ماجد بن صالح العقيل
قسم الكيمياء الحيوية - كلية العلوم



الإهداء

مصدر إحساسي

رغم الظروف ورغم دورات الأيام
ما هدد حيلي غير تبريح الآلام
ما بقى في الزمن خوف من ظلم وظلام
دايم أذكركم لين ما أنام
أدعي صلاتي وكل تسبيح وصيام
ويوم الليالي تمر كأنها أعوام
أتعب لجل يوم أشوفه بالأحلام
قلبي طموح للغلى دوم عزام
شهادة نرفع بها الراس قدام
أهدي لكم عمري ونجاحي له وسام
يا نغز قلبي والمحبة والوئام
ناصر يا ولدي أنت بيت القصيدة والكلام
وأنت يا منى تعجز توصيف الأقلام
وأروى يا مصدر إحساس ويا منبع الإلهام
وبدر يا اللي أنت البدر في ليل الظلام
يُمه يعلك دمت في قلبي حب وغرام
عسى الفرح يجمعنا وتزدان الأيام

والتضحيات اللي خدت مني سنيني
وفراقكم يا عيالي الغالبيين
وما منا ذنب وعسى الله يعين
وإن نمت أصحى كلكم حاضنيني
ما أنحرم منكم وهمي دفين
والزمن شارد والكتب تحتوين
يوم الله جمعنا وتقرر عيني
والحمد لله كان ربي عوين
والناس تعرف عن غلامك في عيني
يا أغلى ما عندي وزهرة سنيني
كلكم مصدر إحساسي وحنيني
تساوي كنوز وكل شيء ثمين
حبك بروحي سـكـين
لعطشت منك كل شيء يرويني
صوتك في كل ليلة يناديني
ترى كل الأمل فيكم لقيته كل الفرح فيني
والجنة مثوانا مع المسـلمين

أمكم وحيدة

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين الرحمن الرحيم، الذي علم بالقلم علم الإنسان ما لم يعلم..
والصلاة والسلام على نبي الهدى محمد ﷺ وعلى آله وصحبه وسلم . أما بعد ...

أتقدم بالشكر لسعادة الدكتورة/ **زبيدة عبد رب النبي بخيت** الأستاذ المشارك
في كلية علوم الأغذية والزراعة ، جامعة الملك سعود والمشرف الرئيسي على هذه الرسالة

كما أتقدم بالشكر والتقدير لسعادة الدكتورة/ **سهام محمد النقيب** الأستاذ
المشارك بقسم الكيمياء الحيوية ، كلية العلوم ، جامعة الملك سعود والمشرف المساعد على
هذه الرسالة . وأشكر سعادة الأستاذ الدكتور/ **محمد عمر السحيباني** رئيس قسم علم
الأمراض في كلية الطب جامعة الملك سعود الذي ساعدني في تحليل نتائج هذا البحث . كذلك
أشكر الأستاذ/ **علي السوادي** أخصائي المختبرات الطبية بقسم علم الحيوان ، كلية العلوم ،
جامعة الملك سعود وسعادة الدكتور/ **مُنهم الريس** استشاري علم الأمراض بكلية الطب
بمستشفى الملك خالد الجامعي ، جامعة الملك سعود على مساعدتي في الجزء النسيجي من
البحث .

كما أتقدم بالشكر والعرفان لجامعتنا الحبيبة **جامعة الملك سعود** وكافة منسوبيها
ممن كانوا لي عوناً. كما أتقدم بالشكر الجزيل **لأعضاء لجنة المناقشة** لتفضلهم وقبولهم مناقشة
هذه الرسالة كذلك أشكر صديقاتي/ **هبة كردي وضحى النوري و منى الجالس و**
فاطمة القحطاني على ماقدموه لي من معنى حقيقي لل صداقة .

وكل الشكر والوفاء **لوالدي** الحبيب **ووالدي** الحبيبة التي كانت دائماً أم لا كالأمهات
ونهر عطاء لا ينتهي وكذلك أشكر شقيقتي وأخي **راكان** وشقيقي المهندس / **وحيد** وكذلك
الشكر لشقيقي الدكتور/ **نبيل وزوجته** على كل ما قدماه لي من معنى الحب والحنان والعطاء

وأخيراً كل شكري وكامل قلبي ... إلى سرُّ سعادتي وأغلى ما أملك
في حياتي أولادي ... **ناصر / منى / أروى / بدر**.

الباحثة / وحيدة بنت هزاع القحطاني

المخلص

تأثير التشعيع في وجود وعدم وجود الالفاتوكوفيرول على نشاط بعض مضادات الأكسدة الإنزيمية في كبد فئران الألبينو

إعداد:

وحيدة بنت هزاع القحطاني

استهدفت الدراسة الحالية تأثير الدور الواقى لفيتامين هـ كمضاد للأكسدة عند تناول الفئران الأغذية المشعة بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ، وذلك عن طريق تتبع مستوى فيتامين هـ ، والمالون داي الدهيد Malondialdehyde (MDA) في البلازما ونشاط بعض أنزيمات الكبد الكتاليز Catalase (CAT) والجلوتاثيون بيروكسيديز Glutathion peroxidase (GPX) والجلوتاثيون ريديكتاز Glutathion reductase (GR) والسوبرأوكسيديز ديسميوتاز (SOD) Superoxide dismutase ، أيضاً أجري الفحص المجهرى لمعرفة التأثير على الخلايا الكبدية للفئران ، درس أيضاً أثر تناول العلائق التجريبية المشعة في وجود وعدم وجود فيتامين هـ على كمية الغذاء المستهلك والوزن المكتسب وكفاءة استخدام الغذاء والوزن النسبي للكبد .

استخدمت الدراسة ٤٢ فأراً من ذكور جنس Wistar Albino البالغين وزن ١٠٠ جم $\pm$ ٥ جم تمت تغذيتها على العليقة المرجعية لمدة أسبوع كفترة أقلمه بعد ذلك قسمت إلى سبع مجاميع تجريبية المجموعة الأولى مجموعة ضابطة تناولت الفئران غذاء متوازن والمجموعة الثانية والرابعة والسادسة تناولت غذاء متوازن مشع بجرعات قدرها ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي على التوالي ، أما المجموعة الثالثة والخامسة والسابعة تناولت الفئران غذاء متوازن مشع

بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي على التوالي ومضاف لها فيتامين هـ بجرعة قدرها ٣٠ ملجم/١٠٠ جم عليقة .

استمرت التجربة لمدة ٨ أسابيع تم حساب كمية الغذاء المستهلك وتم حساب قيمة كفاءة استخدام الغذاء Food Efficiency Ratio (FER) والوزن المكتسب Weight Gain (WG) لجميع المجموعات .في نهاية التجربة صومت الفئران لمدة ١٢ ساعة وأخذت عينات من الدم عن طريق الوخز في القلب وتم فصل البلازما وتقدير مستوى فيتامين هـ عن طريق الفصل الكروماتوجرافي وقدر مستوى المألون داي الدهيد بالطريقة اللونية.

كذلك تم تقدير النشاط الأنزيمي في الكبد للأنزيمات الكتاليز والجلوتاثيون بيروكسيديز والجلوتاثيون ريديكتيز والسوبرأوكسيد ديسميوتيز بالطرق الأنزيمية اللونية . كما تم إجراء الفحص الميكروسكوبي للخلايا الكبدية.

أوضحت نتائج المجاميع التجريبية المتتالوة غذاء متوازن مشع بجرعات قدرها ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ، والمجاميع التجريبية المتتالوة غذاء متوازن مشع بجرعات قدرها ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ومضاف لها فيتامين هـ بجرعة قدرها ٣٠ ملجم/١٠٠ جم عليقة انخفاض لم يبلغ درجة معنوية في مستوى الغذاء المستهلك والوزن النسبي للكبد أما بالنسبة لوزن الجسم فلم يكن هناك تغير مقارنة بالمجموعة الضابطة .

كذلك أظهرت النتائج ارتفاع في مستوى فيتامين هـ لكنه لم يرقى إلى درجة معنوية في بلازما الفئران في المجاميع التجريبية المتتالوة غذاء متوازن مشع بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ، والمجاميع التجريبية المتتالوة غذاء متوازن مشع بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ، ومضاف لها فيتامين هـ بجرعة قدرها ٣٠ ملجم/١٠٠ جم عليقة مقارنة بالمجموعة الضابطة ، وارتبط معه عكسياً الانخفاض الذي لم يبلغ درجة معنوية في مستوى المألون داي الدهيد في المجاميع التجريبية المتتالوة غذاء متوازن مشع بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ، والمجاميع التجريبية المتتالوة غذاء متوازن مشع بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ، ومضاف لها فيتامين هـ بجرعة قدرها ٣٠ ملجم/١٠٠ جم عليقة مقارنة بالمجموعة الضابطة.

أشارت النتائج إلى انخفاض لم يبلغ درجة معنوية في مستوى نشاط أنزيم الكتاليزوانزيم الجلوتاثيون ريدكتيز للمجاميع التجريبية المتناولة غذاء متوازن مشع لجرعات ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ، والمجاميع التجريبية المتناولة غذاء متوازن مشع بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ومضاف لها فيتامين هـ بجرعة قدرها ٣٠ ملجم/١٠٠ عليقة مقارنة بالمجموعة الضابطة . كذلك أظهرت النتائج انخفاض لم يبلغ درجة معنوية في مستوى نشاط أنزيم السوبرأوكسيد ديسميوتيز في جميع المجموعات التجريبية للفئران المتناولة غذاء متوازن مشع بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ، والمجاميع التجريبية المتناولة غذاء متوازن مشع بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ، ومضاف الفيتامين هـ بجرعة قدرها ٣٠ ملجم/١٠٠ جم عليقة مقارنة بالمجموعة الضابطة .

وأظهرت نتائج الفحص المجهرى لكبد الفئران المتناولة الغذاء المتوازن ومشع بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ، وغذاء متوازن ومشع بجرعات ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي ومضاف لها فيتامين هـ بجرعة قدرها ٣٠ ملجم/١٠٠ جم عليقة الحيوان أن الخلايا الكبدية طبيعية مع تجانس في المظهر النسيجي ووحدة اللون كما لوحظ خلو النسيج الكبدي من أي تغيرات مرضية أو تحبب أو تجمعات دهنية في الخلايا مقارنة بالمجموعة الضابطة .

ولذلك أكدت نتائج الدراسة البيوكيميائية (الكيموحيوية) والفحص المجهرى أن طريقة حفظ الأغذية بالجرعات الإشعاعية ضمن الدراسة من طرق المعالجة الهامة ولم تظهر تأثيرات ضارة على حيوانات التجارب .

Summary

Effect of Irradiation in the Presence and Absence of α -tocopherol on the Activity of some Antioxidant Enzymes in Albino Rats Liver

Wahida Hazzaa Al-Kahtani

The present study aimed to investigation of the protective role of vitamin E as an anti-oxidant when feeds irradiated with doses of 10, 20 or 40 Kilo Gray are applied. This was done by following up the plasma levels of vitamin E, mallondialdehyde (MDA) and the activity of some liver enzymes; catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR) and superoxide dismutase (SOD). Also, the effect on hepatocytes was identified by microscopical examination of the liver tissues. The study also included the effect of experimental irradiated diets on food consumption(TFC), body weight gain(WG), Food efficiency Ritio (FER) and the relative liver weights.

In the present study, 42 Wistar albino rats weighing 100 ± 5 grams were used. Rats were fed on a reference standard diet for one week stabilization period. Thereafter, animals were divided randomly into 7 equal groups, the first group served as control and received balanced diet. The second , fourth and sixth groups received balanced diet irradiated with doses of 10, 20 and 40 Kilo Gray. The same irradiated diet supplemented with vitamin E at the dose of 30 mg/100 gm diet was offered to the animals of groups 3, 5 and 7.

The experiment durated for 8 weeks during which the amount of the consumed food, weight gain and food efficiency Ritio in all groups were recorded. At the end of the experimentation period, and after 12 hr fasting period, blood samples were collected through cardiac puncture and plasma was separated. Vitamin E level was evaluated by the chromatographic analysis while the level of mallon dialdehyde was assessed by the colorimetric method.

The enzyme activity of catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase and superoxide dismutase in the liver tissues was evaluated by the enzymatic colorimetric methods. Also, microscopic examination of the liver tissue was carried out.

Results obtained from experimental groups fed on the irradiated diet at the doses of 10, 20 and 40 Kilo Gray and supplemented with vitamin E showed reduction in food consumption and relative liver weights but

revealed no change concerning the body weight compared with the control group.

Results also showed increase which didn't reach significant degree in the plasma level of vitamin E in all experimental groups, i.e., group received irradiated diet with or without vitamin E compared to the control group. Increased vitamin E level was related with a significant reduction in the level of malondialdehyde in experimental groups received diet irradiated with 40 Kilo Gray and experimental groups fed on 10, 20 and 40 Kilo Gray irradiated balanced diet supplemented with vitamin E compared with control group.

In addition results showed reduction which didn't reach significant degree in the level of catalase and glutathione reductase in animals received irradiated diet at the levels of 20 and 40 Kilo Gray and those fed on vitamin E supplement diet irradiated at the doses of 10, 20 and 40 Kilo Gray compared with control. The enzyme superoxide dismutase was decreased which didn't reach significant degree in experimental animals received 10, 20 and 40 Kilo Gray-irradiated balanced diets supplemented with or without vitamin E as compared with control group.

Microscopical examination of liver tissues obtained from animals received 10, 20 and 40 Kilo Gray-irradiated balanced diets supplemented with or without vitamin E revealed normal hepatocytes and normal tissue architecture. Also, there were no histopathological changes such as cytoplasmic granularity or fatty degeneration of the hepatic cells. Thus, the results of the present study, including the biochemical data and histological examination, approved that the method of food conservation by irradiation at the studied levels has no adverse effects on experimental animals.

فهرس الموضوعات

العنوان	الصفحة
الملخص	ب
الملخص الإنجليزي	هـ
الباب الأول : المقدمة	
المقدمة	١
الباب الثاني : الدراسات السابقة	
١ — أثر تناول العلائق المشبعة على كمية الغذاء المستهلك وكفاءة استخدام الغذاء ووزن الجسم والوزن النسبي للكبد	٤
٢ — مضادات الأكسدة ودورها الواقي في منع أكسدة الدهون	٥
٣ — أثر تناول العلائق المشبعة على نشاط إنزيمات الكبد	٨
٤ — أثر تناول العلائق المشبعة على مستوى بلازما الدم من فيتامين هـ ومركب MDA	١٢
٥ — أثر تناول العلائق المشبعة على خلايا الكبد	١٥
الباب الثالث : منهج البحث (المواد وطرق العمل)	
١ — المواد المستخدمة	١٩
١-١ إعداد العلائق المستخدم في التجربة	١٩
٢-١ مضادات الأكسدة	٢٠
٣-١ جرعة التشيع	٢٠
٤-١ حيوانات التجارب	٢٠
٢ — طرق العمل	٢٠
١-٢ تصميم تجربة التغذية	٢٠
٢-٢ جمع عينات الدم	٢١
٣-٢ الوزن النسبي للكبد	٢٢
٤-٢ التقديرات البيوكيميائية بالبلازما	٢٢
١-٤-٢ تقدير فيتامين هـ (ألفاتوكوفيرول)	٢٢
٢-٤-٢ تقدير مركب المألون داي الذهب	٢٣
٥-٢ التقديرات البيوكيميائية في الكبد	٢٤
١-٥-٢ تقدير إنزيم سوبر أوكسيد ديسميوتيز	٢٤
٢-٥-٢ تقدير إنزيم الجلوتاثيون بيروكسيديز	٢٦
٣-٥-٢ تقدير إنزيم الجلوتاثيون رديكتيز	٢٧

العنوان	الصفحة
٢-٥-٤ تقدير إنزيم الكتاليز	٢٨
٢-٦ الفحص المجهرى لأنسجة الكبد	٢٩
٣ - التحليل الإحصائي	٣١

الباب الرابع : النتائج والمناقشة

النتائج والمناقشة	٣٢
أولاً : التقييم التغذوي	٣٢
ثانياً : القياسات البيوكيميائية في البلازما	٣٥
مستويات البلازما من فيتامين هـ والمالون داي الدهيد	٣٥
ثالثاً : تقدير نشاط الإنزيمات الكبدية	٣٩
١ - مستويات نشاط إنزيم السوبرأوكسيد ديسميوتيز	٣٩
٢ - مستويات نشاط إنزيم جلوتاثيون بيروكسيديز	٤١
٣ - مستويات نشاط إنزيم جلوتاثيون ريدكتيز	٤١
٤ - مستويات نشاط إنزيم الكتاليز	٤٢
رابعاً : الفحص المجهرى لمقاطع كبد الفئران	٤٥

الباب الخامس : الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات	٥٠
التوصيات	٥١

المراجع

المراجع العربية	٥٢
المراجع الإنجليزية	٥٣

فهرس الجداول

رقم الجدول	الصفحة
جدول (١)	مجموعات العلائق التجريبية المستخدمة ١٩
جدول (٢)	المجموعات التجريبية والعلائق والجرعات التشيعية المستخدمة ٢١
جدول (٣)	تأثير استهلاك العلائق المشعة على الوزن والوزن النسبي للكبد في الفئران ٣٣
جدول (٤)	تأثير استهلاك العلائق المشعة في وجود وعدم وجود فيتامين هـ على مستوى فيتامين هـ والمالون داي الداهيد في بلازما الفئران ٣٦
جدول (٥)	تأثير استهلاك العلائق المشعة في وجود وعدم وجود فيتامين هـ على نشاط الإنزيمات الكبدية (السوبر أوكسيد ديسميوتيز ، جلوتاثيون بيروكسيديز ، جلوتاثيون ريدكتيز ، الكتاليز) ٤٠

فهرس الأشكال

الصفحة	رقم الشكل
٤٧	شكل (١) شريحة من كبد الفئران في المجموعة الضابطة المتناولة الغذاء المتوازن توضح تجانس التحبب في النسيج الكبدي مع تجانس انتشار اللون
٤٨	شكل (٢) شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن والمعرض لجرعات إشعاعية قدرها ١٠ كيلو جراي
٤٨	شكل (٣) شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن والمعرض لجرعات إشعاعية قدرها ٢٠ كيلو جراي
٤٨	شكل (٤) شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن والمعرض لجرعات إشعاعية قدرها ٤٠ كيلو جراي
٤٩	شكل (٥) شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن والمضاف له فيتامين هـ والمعرض لجرعات إشعاعية قدرها ١٠ كيلو جراي
٤٩	شكل (٦) شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن والمضاف لها فيتامين هـ والمعرض لجرعات إشعاعية قدرها ٢٠ كيلو جراي
٤٩	شكل (٧) شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن والمضاف لها فيتامين هـ والمعرض لجرعات إشعاعية قدرها ٤٠ كيلو جراي

الباب الأول

المقدمة

المقدمة Introduction

تحتوي البيئة على نسبة دائمة من الإشعاع منذ نشأة الحياة على الكرة الأرضية تتوازن مع غيرها من العوامل البيئية الأخرى. ومع بداية الاهتمام العلمي بالإشعاع وبعد اكتشاف الراديوم المشع والكوبالت المشع والأشعة السينية ومع تقدم التكنولوجيا في مجال علوم الإشعاع صاحب ذلك تطبيقات عملية للاستفادة من الابتكارات الحديثة كمحاولة لتطويع عناصر الطبيعة لخدمة الإنسان .

تقنية التشعيع هي عبارة عن استخدام الأشعة المؤينة الناتجة عن نظائر مشعة كالكوبالت والسييزيوم أو من أجهزة تنتج كميات محكمة من الأشعة السينية أو الالكترونات المنتجة بالمعجلات الالكترونية وجميعها تنتج طاقة عالية إلا أن هذه الطاقة تكون اقل من المستوى الذي يؤدي إلى إنتاج مواد مشعة فانتشر استخدام تقنية التشعيع في مجالات عديدة منها مجال الغذاء وذلك نتيجة تزايد حالات التسمم الغذائي والشكوك الدائمة المتعلقة بمدى سلامة المواد الكيماوية المستخدمة في الأغذية وأصبحت هذه التقنية من الأمور الضرورية الإلزامية (القحطاني ، ٢٠٠٢م) كذلك استخدم التشعيع لتحسين خواص الغذاء وكذلك كطريقة من طرق المحافظة عليه لفترة زمنية أطول (El-Samahy et al., 2000) .

استخدم كذلك التشعيع في بعض التطبيقات الأخرى مثل منع الإنبات والتزريع لبعض المنتجات الغذائية ومنع التعفن لبعض الثمار الطازجة والمعبأة ، ومنع التلوث الميكروبي والطفيلي للحوم ومنتجاتها ، كما استخدم التشعيع بغرض تعقيم الوجبات الغذائية لمرضى نقص المناعة البيولوجية والوجبات الغذائية لرواد الفضاء (الناصر ، ١٤١٩هـ) ولتحسين القيمة الحيوية للبروتينات (الجويعد ، ٢٠٠٠م) . ومع التوسع والضرورة في تطبيق تقنية التشعيع في مجالات معالجة حفظ الأغذية لوحظ ازدياد المعدلات البيئية من الإشعاع وخطورة ما يعرف بنواتج التحلل الإشعاعي ومن أهمها ما يعرف بالجذور الحرة Free radicals والتي ترتبط مع بعض مكونات الغذاء مثل الدهون وكذلك دهون الجسم ومع وجود جزيئات الأكسجين النشطة والتي تنتجها أشعة جاما والمسؤولة عن أكسدة الدهون الموجودة في جدر الخلايا مسبباً تكون مركبات فوق أكسيدية peroxides مما يفقدها دورها الوظيفي نتيجة لحدوث تدهم في خلايا الأنسجة الهامة مثل الكبد وفشله في القيام بوظائفه الأيضية (العجيان ، ٢٠٠٢م) .

ولقد حبانا الله العظيم بأنظمة تلعب دوراً في وقاية الجسم ومكونات الغذاء ضد الجذور الحرة يطلق عليها مضادات الأكسدة anti-oxidants والتي لها القدرة على ربط الجذور الحرة المتولدة وبالتالي تقليل من التفاعلات الفوق أكسيدية peroxide reactions الضارة منها مضادات الأكسدة غير الإنزيمية مثل بعض العناصر المعدنية كعنصر السيلينيوم الذي ثبت أنه يحفز التحلل لمركبات الأكسجين الفعالة المنتشرة والهيدروكربونات فوق أكسيدات العضوية والجذور الحرة العضوية وهو لازم للتصنيع والنشاط الحيوي لإنزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز Glutathion peroxidase GPX، وبعض الفيتامينات كفيتامين ج وفيتامين أ وبيتا كاروتين وفيتامين هـ كعامل مانع للأكسدة حيث يقي دهون الجسم والدهون الغذائية من الأكسدة (Willett, 1990; El-Khatib, 1997). من أهمها فيتامين هـ الذي ثبت أن له دوراً هاماً في الحفاظ على صحة الأغذية عند معاملتها بالإشعاع ، إذ له دور واقى في منع التلف الحاصل نتيجة تكوّن الجذور الحرة الناتجة من أكسدة الدهون (Suntres and Skek, 1996; Wolf et al ., 1998).

كما أن هناك مضادات الأكسدة الإنزيمية وهي أنظمة حيوية بالخلايا لها دور واقى ضد التغيرات الفوق أكسدية كإنزيم السوبر أكسيد ديسميوتاز SOD وإنزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز GPx وإنزيم الجلوتاثيون ريدكتاز GR والكتالاز CAT ، جميعها لها دور فعال في مواجهة ازدياد تكون المركبات البيروكسيدية الناتجة من الظروف البيئية (Xia et al., 1993; Atif, 1998).

ونظراً لأن تشييع الأغذية من التقنيات الحديثة (القحطاني ، ٢٠٠٢م) ، (El-Samahy et al., 2000) التي تتطلب المزيد من الدراسات والبحوث وخصوصاً عند استخدام الجرعات العالية في المعالجة وتضارب نتائج العديد من الأبحاث العلمية حيال سلامة الأغذية المشعة جاءت فكرة هذا البحث عن دراسة التغيرات المحتملة حدوثها عند تناول الأغذية المشعة بمستويات مختلفة على الكبد وبلازما الفئران في وجود وعدم وجود فيتامين هـ وذلك من خلال التقديرات التالية :

١ — تقدير كمية الغذاء المستهلك ووزن الجسم وكفاءة استخدام الغذاء والوزن النسبي للكبد عند تناول الفئران الأغذية المشعة مقارنة بالغذاء المتوازن غير المشع في وجود وعدم وجود فيتامين هـ .

٢ — تقدير مستوى فيتامين هـ Alpha tocopherol وتقدير مركب المالون داي الدهيد (MDA) في بلازما الفئران.

٣ — تقدير نشاط بعض إنزيمات الكبد التالية:

أ — سوبر أوكسيد ديسموتيز Superoxide dismutase .

ب — جلوتاثيون بيروكسيداز Glutathione peroxidase .

ج — جلوتاثيون ريدكتيز Glutathione reductase .

د — الكتاليز Catalase .

٤ — الفحص المجهرى (دراسة نسيجية) لخلايا كبد الفئران المتناولة غذاء مشع وغير مشع في وجود وعدم وجود فيتامين هـ .

الباب الثاني

الدراسات السابقة Literature Review

١ - أثر تناول العلائق المشبعة على كمية الغذاء المستهلك وكفاءة

استخدام الغذاء ووزن الجسم والوزن النسبي للكبد :

درس (Mahrous, 1992) أثر تناول الفاصوليا البيضاء الخام سواء المعرضة لجرعة إشعاع قدرها ١٠ كيلو جراي أو بدون تعريض للإشعاع على مستوى كفاءة استخدام البروتين (PER) Protein efficiency ratio لدى حيوانات التجارب المتتالية الفاصوليا البيضاء غير المشبعة حيث أدى التعرض لجرعات الإشعاع عند مستوى ١٠ كيلو جراي إلى عدم وجود فرق معنوي أو عدم وجود التحسن المعنوي في مستوى PER حيث سجلت القراءات ٠,٩١ بينما مع زيادة جرعة الإشعاع أدى إلى تحسن طفيف في مستوى PER لم يزيد عن ٥ ٪ .

وفي دراسة (El-Wakeil et al., 1995) حول تغذية الفئران على البقوليات غير المعاملة بالإشعاع مثل الفاصوليا وفول الصويا والفول البلدي والحمص والترمس ظهر انخفاض شديد في معدلات النمو بينما أدى تعرض هذه البقوليات للمعاملة الإشعاعية بجرعة الإشعاع قدرها ١٠ كيلوجراي إلى تحسن أو تصحيح لمعدلات النمو وفسر ذلك أن هذه الأنواع تحتوي على معيقات الاستفادة الحيوية من العناصر الغذائية وأن التعرض لجرعة إشعاع تعمل على تثبيط هذا الأثر كذلك أوضحت الدراسة أن التغذية على كل من الفاصوليا المعاملة وغير المعاملة كذلك فول الصويا غير المعامل أدى إلى زيادة وزن الأعضاء مثل البنكرياس والكبد بينما انخفض وزن الطحال . كذلك سجلت نتائج الدراسة زيادة طفيفة في وزن الكبد فقط عند تناول فول الصويا المعامل .

درس (Yamamoto et al., 1995) أثر تناول مضادات الأكسدة المختلفة سواء الطبيعية أو المصنعة على تكوين مركبات فوق الأكاسيد في ميكروسومات خلايا كبد الفئران وعلى زيادة الوزن النسبي ووزن الكبد . واستخدمت الدراسة فئران في وزن ٨٠ جم وقسمت لأربع مجاميع ، المجموعة الأولى تناولت العليقة المرجعية والمجموعة الثانية تناولت غذاء مضافاً إليه مادة Probucol بنسبة ١ ٪ والمجموعة الثالثة تناولت غذاء مضاف لها فيتامين هـ بنسبة ٠,٠١ ٪ والمجموعة الأخيرة تناولت غذاء مضاف له (BHT) Butylated Hydroxy Toluene واستمرت التجربة ٣٠ يوم . ومن نتائج الدراسة لوحظ أن مضادات الأكسدة التي تم دراستها ليس لها تأثير على النمو بالرغم من زيادة أوزان الأكباد زيادة معنوية وكانت أكبر زيادة للأكباد في مجموعة

الفئران التي احتوى غذائها على BHT وأرجع الباحث ذلك إلى أن التأثير المضاد للأكسدة الأكثر فاعلية كان عند استخدام مادة BHT مقارنة بكل من فيتامين هـ و Probucol مقارنة بالغذاء المعتاد .

درس (Vacca et al., 1996 ; Gutteridge, 1995) حول اثر تناول مضادات الأكسدة واثـر التشـيع على وزن الكبد . وجدت الدراسة أن التغيرات البيوكيميائية و الزيادة في وزن الكبد قد ترجع إلى التغير الحيوي في مكونات الدهون كالفسفولبيدات في الخلايا الكبدية أو إلى زيادة التكوين الحيوي للبروتينات بالكبد.

٢ - مضادات الأكسدة ودورها الواقى في منع أكسدة الدهون :

ذكر (Smith and Kummerow, 1989) في دراسته عن تأثير المتناول الغذائي من فيتامين هـ بجرعة مقدارها ١٠٠٠ وحدة دولية لكل كيلو من الغذاء على دهون البلازما في الدجاج البياض الذي كان يعاني من ارتفاع مستوى الدهون في الدم حيث لوحظ انخفاض في مستوى مركبات فوق الأكاسيد بالمقارنة مع المجموعة الضابطة . والتي يرتفع لديها نسبة الدهون وفوق الأكاسيد في الدم . وأكدت دراسات عديدة (Clerc, 1992; Barber et al., 1994& Brown et al., 1998) أهمية إضافة الفيتامينات المضادة للأكسدة كفيتامين أ وفيتامين ج وفيتامين هـ وبيتا كاروتين للطعام ، ودورها في الوقاية من التلف الناتج عن تكون الجذور الحرة وتحويلها لجزيئات غير نشطة مما يقلل من خطر الإصابة بالعديد من الأمراض كأمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان .

درس (Shaheen and Hassan, 1994) أثر تناول الكاروتينات في تقليل أثر تعرض الفئران للإشعاع ووجد أن تناول الكاروتينات يعمل على منع تأكسد الليبيدات الموجودة في الجلد عند تعرضها للإشعاع كما يعمل على تقليل التحول الجيني الحاصل للخلايا ويعمل على المحافظة على إنزيم الجلوتاثيون والسوبر أوكسيد ديسميوتيز كنظام دفاعي مضاد للأكسدة .

أوضحت دراسة (Takamatsu et al., 1995) عن تقييم تأثير تناول فيتامين هـ بجرعة مقدارها ٣ ملجم و ١٠٠ ملجم بالفم يومياً لمدة ٦ سنوات على مجموعة من الأصحاء والذي تقع أعمارهم ما بين ٣٨-٥٦ سنة مقارنة بمجموعة أخرى من نفس شريحة العمر التي لا تتناول هذا الفيتامين بنظام تجريبي . وقد أثبتت نتائج الدراسة ارتفاع مستوى التوكوفيرول الكلي Total Tocopherol في السيرم بارتفاع جرعة الفيتامين المتناولة . كما أن المداومة على تناول جرعة مقدارها

١٠٠ ملجم يومياً من فيتامين هـ تؤدي إلى انخفاض معدل مكونات السيرم من جزيئات البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة (LDL) Low density lipoproteins .
 بين الشحي (Sheehy et al., 1995) أن فيتامين هـ يستطيع المحافظة على ثبات المواد الدهنية والدهون الفسفورية والكوليسترول الموجودة في الخلية ضد الأكسدة مقارنة بمضادات الأكسدة الاصطناعية ، وأضاف أن اللحوم التي تحتوي على دهون ذات أحماض دهنية عديدة غير مشبعة Poly Un Saturated Fatty Acids (PUFA) عالية تتعرض للأكسدة بدرجة اكبر .

أشارت دراسة (El-Deghidy et al., 1996) إلى الدور الوقائي لفيتامين هـ ضد التأثيرات التي يحدثها التشعيع في الفئران حيث تم تغذية الفئران بغذاء يحتوي على نسبة عالية من الدهون لمدة شهرين ، بعدها قسمت الفئران إلى مجموعات ، مجموعة تم حقنها بفيتامين هـ (٥ ملجم/١٠٠ جم من وزن الجسم) قبل كل جرعة إشعاعية .
 تبين من الدراسة أن التشعيع عمل على زيادة المحتوى الكلي للدم من الليبيدات والكوليستيرول والبروتينات الشحمية منخفضة الكثافة LDL والجليسيريدات الثلاثية والفسفوليبيدات لكنه خفض البروتينات الشحمية عالية الكثافة HDL وبعد الحقن بجرعة فيتامين هـ المختبرة حدث تغير في نسبة مكونات الليبيدات المختلفة ، حيث انخفضت مستويات البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة LDL مع ارتفاع البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة HDL وأكدت الدراسة على أن هذا التأثير المفيد لفيتامين هـ في تجنب أمراض القلب وتصلب الشرايين ويمكن أن يمتد إلى الحماية من التأثيرات السلبية للمعالجة الإشعاعية .

استعرض (Pasha, 1997) في مقاله مرجعية أهمية الفيتامينات المضادة للأكسدة في إزالة الجذور الحرة التي عادة ما تنتج كنواتج ثانوية أثناء التفاعلات الحيوية في الجسم التي تؤدي إلى هدم الخلايا وحدوث خطورة بالأنسجة وبالتالي هدم الأعضاء والإصابة بالأمراض المزمنة . واستعرض الباحث نتائج بعض الدراسات المختلفة على الحيوان والإنسان والتي أظهرت أن أكسدة LDL تعتبر أهم خطوة في الإصابة بالأمراض ، حيث أن تفاعل الشقوق الحرة يعمل على تغير الأيض نتيجة أكسدة البروتينات الشحمية المنخفضة الكثافة التي تعمل على تكوين خلايا هشة وأن مضادات الأكسدة تمارس دورها في المحافظة على وظيفة الخلايا وتشمل الفيتامينات التي تعمل

كمضادات للأكسدة بيتاكاروتين β -Carotene والفاثوكوفيرول α -Tocopherol وفيتامين ج . كما اقترحت الدراسة أن المتناول الغذائي اليومي من بيتاكاروتين يعتبر في تأثيره مثل تلك المواد الغنية بفيتامين هـ و ج وتشارك جميعها في تأثيرها المضاد للأكسدة وتعمل بذلك على خفض خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية .

تناولت دراسة (Wolf et al., 1998) فيتامين هـ وأهميته ودوره الواقي في منع التلف الحاصل نتيجة تكون الجذور الحرة الناتجة عن أكسدة الدهون . يلعب فيتامين هـ دوراً هاماً في التشعيع حيث يعمل على تقليل التأثيرات الناتجة عن التعرض للتشعيع وأكدت دوره الحامي ضد خطر الإصابة بالأمراض كالسرطانات . وأتضح من الدراسة أهمية التركيب الكيميائي للفيتامين في أدائه لوظيفته كأهم مضاد للأكسدة وفي تفاعله مع باقي مضادات الأكسدة .

بينت دراسة (Doyle, 1999) أن التأثيرات غير المرغوبة التي تحدث عند التعرض للتشعيع ترجع إلى تكون فوق أكاسيد الدهون في الأغذية ، كذلك تفقد الحماية ضد الأكسدة في الدهون الغذائية في الأطعمة عندما تتوفر جزيئات الأكسجين التي تتجهها أشعة جاما عند تعريض تلك الأغذية للإشعاع . وقد تؤدي فوق الأكاسيد المتكونة إلى تغيير غير مرغوب في الرائحة والطعم لهذه الأطعمة . كذلك يؤدي تناول مثل تلك المركبات إلى الإصابة بأمراض الناتجة عن تناول مثل تلك المركبات فوق المؤكسدة بالدهون ، ولهذا السبب لا يفضل استخدام التشعيع في بعض الأطعمة مثل الأسماك الدهنية واللحوم وبعض المواد الغذائية التي تحتوي على نسبة عالية من الدهون . وقد بينت الدراسة أنه هناك معاملات أولية قبل التعرض للإشعاع تعمل على تقليل الأثر الضار مثل تقليل تكون فوق أكاسيد الدهون عن طريق خفض مستويات الأكسجين ودرجة الحرارة أثناء تعرض اللحوم كاستخدام التجميد ثم التشعيع كما وضحت الدراسة أن الزيادة في مستويات فيتامين هـ في عضلات الطيور الداجنة أدت إلى تقليل تكون فوق أكاسيد الدهون عقب تعريض اللحوم للتشعيع .

درس عثمان وآخرون (Osman et al., 2001) أثر فيتامين هـ في التقليل من التغيرات الكيموحيوية في دم وكبد الفئران عند تعريض جسمها بالكامل لأشعة جاما . واستخدمت الدراسة المعالجة بالفم بالبيتا كاروتين بمعدل ٣٠ ملجم/كجم من وزن الجسم لمدة ٣ أسابيع وكان التعرض لجرعة ٦ جراي يوم بعد يوم خلال ٣ ، ١٠ ، ٢٠ يوم من التجربة . توصلت الدراسة إلى أن التعرض للإشعاع أدى إلى زيادة في مستوى

فوق أكاسيد الدهون والمالون داي الدهيد بنسبة تصل إلى ٧٥,٥ % و ٧٤,٦ % على التوالي مقارنة بالمجموعة الضابطة وأنه عند تناول البيتا كاروتين حدث تحسن ملحوظ في التغيرات الناتجة عن التعرض للإشعاع حيث كانت مستويات فوق أكسيدات الدهون والمالون داي الدهيد طبيعية في البلازما .

أشارت دراسة (متلفيتو ، ١٤١٨هـ) التي أجريت على أنواع من الزيوت والدهون، أن التسخين في فرن الموجات الدقيقة لفترات زمنية أدى إلى أكسدة وانحلال الأحماض الدهنية المكونة لهذه الزيوت والدهون والذي انعكس بدوره على حدوث تغيرات في خصائصها ، وعملت مضادات الأكسدة عند إضافتها إلى هذه الزيوت والدهون على الحد من أكسدتها أثناء التسخين في فرن الموجات الدقيقة وبالتالي المحافظة على جودة الخصائص الفيزيائية والكيميائية .

٣ - أثر تناول العلائق المشبعة على نشاط إنزيمات الكبد :

أشارت دراسة (Farag and Diaa El-Din, 1990) إلى التأثير الآمن لتناول بقول فول الصويا المعرض للإشعاع حتى مستوى ١٠ كيلو جراي ، يرجع التأثير الأساسي الضار عند تناول الفئران لهذه البقول يرجع إلى وجود بعض مضادات التغذية التي تؤثر في الإنزيمات الهاضمة وتؤثر في النمو مما ينعكس على تدهور وظائف البنكرياس والكبد والمعدة والخصية والكلية نتيجة تضخمها وضمور الطحال . لكن التعرض إلى جرعات الإشعاع المنخفضة مثل ٦ و ١٠ كيلو جراي أدى إلى تثبيط مضادات التغذية وتحسين الاستفادة الحيوية. تناولت دراسة (El-Wakeil et al., 1995) معاملة بعض البقوليات (الفاصوليا والفول البلدي والحمص والترمس) بجرعة إشعاعية قدرها ١٠ كيلوجراي ومقارنتها بالعينات غير المعاملة بالإشعاع . لم يكن هناك من الناحية الفسيولوجية أي تأثيرات ضارة عند تغذية حيوانات التجارب .

بحث (Zheng Hui et al., 1996) في دراسته عن تأثير الإشعاع المؤين على النشاط الحيوي وعلى مكونات الدم وخلايا كبد الفئران جرعات (٣ ، ٦ ، ٩ ، ١٢ Gy) حيث بينت انخفاض نشاط الإنزيمات (السوبر أوكسيد ديسموتيز SOD والكاتاليز CAT ، والجلوتاثيون بيروكسيداز GPx) ، مع زيادة الجرعات الإشعاعية المستخدمة .

لقد ذكر (El-Khatib, 1997) أن الجذور الحرة تتولد باستمرار في كل الخلايا عند توفر الظروف الهوائية تقريباً. وإذا لم يتم التخلص منها بواسطة مجموعة متكاملة وشاملة من الآليات المضادة للأكسدة الداخلية المصدر فإن ذلك يسبب تلف الأنسجة نتيجة لوجود تلك الجذور الحرة التي تعتبر السبب في الإصابة بعدد كبير من الأمراض بما فيها السرطان والالتهابات المختلفة وتصلب الشرايين ومرض القلب التاجي والداء السكري . كما يتبين أن المستويات المنخفضة لواحد أو أكثر من مضادات الأكسدة الجوهرية تكون مصاحبة لعدد من تلك الأمراض . كما تناول الباحث الجهود المبذولة لدراسة الأثر الفعال لمضادات الأكسدة في علاج أو منع التأثيرات الضارة للجذور الحرة وأن تتبع فاعلية مضادات الأكسدة خارجية المصدر والمستعملة حالياً يعمل على زيادة قدرة الآليات المضادة للأكسدة الداخلية مثل إنزيمات جلوتاثيون بيروكسيداز المعتمد على وجود السيلينيوم وكذلك المضادات للأكسدة من الفيتامينات مثل الفاتوكوفيرول وحمض الأسكوربيك وبيتاكاروتين . هناك العديد من الأدوية لها فاعلية عالية في مصادرة الجذور الحرة أيضاً ومن بينها أدوية مثل *allopurinol*, *gliclazide*, *probucol* ، وأن هذه الخاصية هي التي تؤكد فاعليتها الدوائية المفيدة .

وفي دراسة (Atef, 1998) عن التأثير العلاجي الوافي للألفاتوكوفيرول فقد تم حقن مجموعة من الفئران بالسموم الداخلية الخاصة بميكروب السالمونيلا في التجويف البطني بجرعة قدرها (١٣) ملليجرام لكل كيلوجرام من وزن الجسم) وكان التأثير المميت لتلك الجرعات بنسبة ٤٧,٦٠ % بعد ٢٤ و ٤٨ ساعة من الحقن في حين أن المعالجة للفئران بمضاد الأكسدة فيتامين هـ (الفاتوكوفيرول) أدى إلى استعادة معدل البقاء بنسبة ١٠٠ % و ٨٧ % بعد ٢٤ و ٤٨ ساعة على التوالي من حقن تلك السموم تعرضت كبد الفئران المحقونة للإصابة بالضرر نتيجة زيادة ملحوظة في مستوى فوق أكسيد الدهون مع النقص الملحوظ في مستوى الجلوتاثيون الكلي وكذلك المختزل وهي المؤشرات الرئيسية لنشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة في الكبد وهي جلوتاثيون بيروكسيداز ، وجلوتاثيون ريدكتاز ، السوبرأوكسيد ديسميوتاز وأدى حقن الفئران بمضادة الأكسدة الألفاتوكوفيرول بمفرده إلى نقص في مستوى الدهن البيروكسيدي من جهة والمحافظة على نشاط الإنزيمات السابقة مما يؤكد أن المعالجة المسبقة بمادة الألفاتوكوفيرول ذات فاعلية عالية في وقاية الكبد ضد التأثيرات الضارة والمؤثرة على كفاءته نتيجة عمليات أكسدة دهون خلاياه .

تناول (Hong-Sun et al., 1999) تأثير أشعة جاما بالجرعات (١٠ ، ٥ ، ٣ ، ١ كيلو جراي) على نشاط الإنزيمات المؤكسدة وهي إنزيم الكاتاليز وإنزيم السوبر أوكسيد ديسميوتيز وإنزيم الجلوتاثيون الكبريتي المحوّل . وعلى مكونات الدهون من الكولسترول الكلي والبروتينات الشحمية منخفضة الكثافة والبروتينات الشحمية عالية الكثافة والدهون الفسفورية ، وأشارت نتائج الدراسة أنه ليس لجرعات الإشعاع حتى جرة قدرها ١٠ كيلوجراي تأثير ضار أو تغير معنوي في كل من الإنزيمات السابقة ومكونات الدهون في لحوم الأبقار .

أظهر (Mates et al., 1999) في دراسته عن علاقة الإنزيمات المضادة للأكسدة بالأمراض التي تصيب الإنسان وأهمية الإنزيمات سوبرأكسيد ديسميوتيز SOD وجلوتاثيون بيروكسيداز GPx والكاتاليز CAT في حماية جسم الإنسان ضد التأثير السام لجزيئات الأكسجين النشط (ROS) . وأوضحت النتائج أن وجود الأكسجين النشط يتدخل في إعاقة نمو الخلايا ويؤدي إلى إعاقة وظائفها المختلفة كما يؤدي إلى موتها . حيث يعتبر وجود الأكسجين النشط بتركيزات قليلة من الأمور المفيدة المعتادة أو غير الضار في بعض العمليات الخلوية الداخلية أو كعامل مدافع ضد نشاط الكائنات الحية الدقيقة . بينما تلعب التركيزات الزائدة منه دوراً في حدوث التغيرات العمرية والشيخوخة كما في حالات عديد من الأمراض كالسرطان وأمراض القلب وفقد المناعة ووظائف الهرمونات نتيجة تراكم جسيمات الأكسجين النشط لذلك كان يلزم تنشيط مضادات الأكسدة الإنزيمية وغير الإنزيمية التي تعمل على تنظيم كبح نشاط المركبات الضارة الناتجة عن عمليات الأكسدة والتغيرات المرضية الناتجة عنها .

تناولت دراسة (البدر ، ١٩٩٩ م) تأثير تناول فيتامين هـ ، وفيتامين جـ على مكونات دهون الدم والكبد لتقليل حالة تصلب الشرايين في الفئران . واستخدمت الدراسة ٥٦ فأر من نوع wistar albino وتمت تغذيتهم على أغذية تحتوي على مستويات مرتفعة من الزيوت ١٥ ٪ (الزيتون — دوار الشمس — النخيل) مقارنة مع المجموعة الضابطة التي تحتوي غذاؤها على ٤ ٪ من زيت الذرة . وتم تقدير مكونات دهون الدم وفيتامين هـ في بلازما الدم ووجد أن تناول كل من فيتامين هـ وفيتامين جـ في حالة تناول الأغذية المرتفعة الدهون والكولسترول أدى إلى خفض مستوى الدهون الكلية كما كانت نسبة الزيادة في الدهون الكلية عند تناول فيتامين هـ وفيتامين جـ أقل عن

تلك الزيادة التي سجلت بدون تناول الفيتامينات في جميع مجموعات التجربة المتناولة للزيوت المختلفة مقارنة بالغذاء المتوازن وبلغت نسبة الزيادة ١٢,٦ % ، ١٣,١ % ، ٢٨,٦ % من ذلك أمكن القول أن هناك تأثير مفيد لفيتامين هـ وفيتامين جـ من حيث خفض مستويات الدهون الكلية في بلازما الدم عند تناول الأغذية عالية الدهون والكوليسترول .

درس (Tribble et al., 2000) التشيع وتأثيره في تنشيط التغيرات في جدار الشرايين الدموية في الفئران . واستخدمت الدراسة فئران في عمر ١٠ أسابيع وتم تعريضها إلى أشعة جاما بجرعة قدرها ٨ جراي ثم حقن بعضها عن طريق الوريد بدهون بروتينية منخفضة الكثافة والبعض الآخر بدهون بروتينية منخفضة الكثافة مع فيتامين هـ ووجد من النتائج البيوكيميائية انخفاض ملحوظ في معدلات هدم الدهون البروتينية منخفضة الكثافة لأورطة الفئران المحقونة بالدهون البروتينية منخفضة الكثافة مع فيتامين هـ مقارنة مع فئران المجموعة غير المتناولة للفيتامين وبينت الدراسة أن التشيع يؤثر في نشاط الإنزيم السوبرأوكسيد ديسميوتاز SOD وبالتالي يعمل على زيادة تراكم الدهون البروتينية منخفضة الكثافة LDL على جدار الشرايين .

أوضحت دراسة (العجيان ، ٢٠٠٢ م) حول تأثير تناول مضادات الأكسدة مثل فيتامين هـ وفيتامين أ والسلينيوم لتقليل مخاطر الإصابة بالعدوى الغذائية الناتجة من تلوث الغذاء بالسالمونيلا . خلصت النتائج إلى أن تناول مضادات الأكسدة المختبرة هذه وخصوصا فيتامين هـ أدى إلى خفض مستويات المالون داي الدهيد وهو من المركبات الضارة الناتجة عن إنفراد الجذور الحرة، لوحظ تحسن في مستوى نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة (السوبر أوكسيد ديسميوتاز و الجلوتاثيون بيروكسيديز و الجلوتاثيون ريدكتاز) بشكل واضح عدا المجموعة التي تناولت فيتامين أ .

٤ - أثر تناول العلائق المشبعة على مستوى بلازما الدم من فيتامين هـ ومركب MDA :

تناول (Monahan et al., 1990) دور فيتامين هـ في منع حدوث الأكسدة في اللحوم الخنازير المطهية وغير المطهية وبيّن أن إضافة ٢٠٠ ملجم من ألفاتوكوفيرول أسيتيت (α -Tocopherol acetate) لكل كجم من العليقة عمل على عدم زيادة الأكسدة في اللحوم المحفوظة عند درجة حرارة ٤ °م ولمدة ثمانية أيام . كذلك أدت هذه الجرعة من الفيتامين إلى خفض مستوى مادة الثيوباربوتيريك (TBA) وخفض مستوى LDL عندما خزنت تلك الأنواع المطهية عند درجة حرارة ٤ °م لمدة ١٠ أيام كما تبين أن تدعيم عليقة الحيوان بالألفا توكوفيرول أسيتيت بنفس الجرعة خفض من تعرض دهون كبد وقلب وكلية الخنازير للأكسدة .

أجرى (Nardini et al., 1993) دراسة حول أثر تناول أنواع مختلفة من الزيوت الغذائية ذات المحتوى المختلف من الأحماض الدهنية غير المشبعة بنسبة ١٥ ٪ من زيت فول الصويا وزيت الزيتون وزيت جوز الهند وعلاقتها بتكوين مركبات فوق الأكاسيد في خلايا كبد الفئران التي غذيت على فيتامين هـ لمدة ٦ أسابيع وفي نهاية التجربة تم تقدير مستويات مالون داي الدهيد وفيتامين هـ في خلايا الكبد ، وتبين من النتائج أنه في حالة الإشباع من فيتامين هـ فإن الأحماض الدهنية غير المشبعة لا تحدث لها زيادة في الأكسدة مع زيادة المتناول الغذائي من الأحماض الدهنية غير المشبعة.

تناولت دراسة الشحي (Sheehy et al., 1994) تأثير تدعيم العليقة بالألفاتوكوفيرول حيث تمت تغذية ٣٦ من الدجاج بعليقة تحتوي على ٤٠ جم من زيت دوار الشمس المغلي مضافاً إليه ٢٠٠ وحدة دولية /كجم من وزن الجسم من الألفاتوكوفيرول ، ومجموعة أخرى من الدجاج على عليقة تحتوي على ٤٠ جم من زيت دوار الشمس الطازج المضاف إليه نفس كمية الفيتامين السابقة . نتج عن التدعيم بالألفاتوكوفيرول خفض درجة أكسدة الدهون بدرجات مختلفة حسب نوع النسيج ومكانه في الجسم وكانت دهون أنسجة الدجاج أكثر عرضة للتأكسد عند تغذية الدجاج بزيت دوار الشمس المغلي . كما وجدت الدراسة أن المداومة على تناول دهون فوق المؤكسدة أدت إلى تكوين الجذور الحرة والتي تعمل على خفض مستوى الألفاتوكوفيرول في الممرات المعوية والأمعاء .

درس (Lariats and Thayer, 1994) تأثير تعرض صدور الدجاج الطازجة إلى إشعاعات جاما C_{5}^{137} يجرع تصاعدياً (٠,٠ ← ١,٠ ← ٣,٠ ← ٥,٦ ← ١٠,٠ كيلو جراي) عند درجة حرارة صفر - ٢ °م وتم استخلاص التوكوفيرول بعد التشعيع وتحديد كميته. أظهرت الدراسة أن هنالك تأثيرات إشعاعية على صدور الدجاج وهي تسبب انخفاض في الألفاتوكوفيرول، ووجد أنه كلما زادت الجرعة الإشعاعية كلما زاد انخفاض في الألفاتوكوفيرول فقط.

ذكر (Buckely, 1995) في دراسته حول تدعيم الغذاء بفيتامين هـ وتركيزه في الأنسجة، أن إضافة فيتامين هـ للعليقة بنسبة ٣٠ ملجم/كجم إلى عليقة الخنازير تعمل على رفع فيتامين هـ في بلازما الدم والأنسجة بمعدل ٢,٥-٣ مرة مقارنة بالمجموعة الضابطة، وكذلك سجلت نتائج مشابهة في حالة إعطاء الخنازير ١٠، ١٠٠، ٢٠٠ وحدة دولية من فيتامين هـ لكل كجم من العليقة. وتوصل كذلك إلى أن تركيز فيتامين هـ يزداد في الكلية ثم الرئتين ثم القلب ثم الكبد. وأن تركيز فيتامين هـ في الأنسجة يزيد زيادة مطردة مع زيادة فترة الإمداد.

تناولت دراسة (El-Wakeil et al., 1995) تغذية الفئران على البقوليات غير المعاملة مثل الفاصوليا وفول الصويا والفول البلدي والحمص والترمس واستخدمت جرعة مقدارها ١٠ كيلو جراي للتشعيع. ووجدت الدراسة أن تناول الفئران للبذور المعاملة وغير المعاملة بالإشعاع من فول الصويا والفول البلدي والحمص والترمس لم يؤثر في تركيب مكونات الدم حيث كانت جميع القراءات في المدى الطبيعي.

درس (Devaraj and Jialal, 1996) تأثير إضافة فيتامين هـ إلى أنواع مختلفة من الأغذية ودوره في خفض معدل أكسدة الدهون وكان الهدف من الدراسة اختبار تأثير فيتامين هـ على الدور الوظيفي للخلايا وتمت الدراسة على ٢١ حالة لمدة ٨ أسابيع وتمت إضافة فيتامين هـ إلى الغذاء بمعدل ١٢٠٠ وحدة دولية/يوميًا. وتم تتبع انسياب تفاعل الأكسجين لتكوين فوق الأكاسيد، ولوحظ أنه عند تناول فيتامين هـ يحدث انخفاضاً معنوياً في انسياب الأكسجين اللازم لحدوث أكسدة الدهون وذلك سواء في أثناء فترة الراحة أو النشاط العضلي.

تتبع (Al-kahtani et al., 1996) التغير الكيميائي بعد التشعيع والتغير الكيميائي بعد التشعيع والتخزين لأنواع من الأسماك حيث شععت بجرعات من أشعة جاما (١,٥-١٠ كيلو جراي) وبعد ذلك تم تخزينها لمدة ٢٠ يوم عند درجة حرارة $2 \pm 2^{\circ}\text{C}$. أحدثت الجرعات عند $\text{KGy} \leq 4.5$ فقدان شديد في الفيتامين، ومع زيادة

الجرعات الإشعاعية وزيادة فترة التخزين ارتفعت كمية حامض الثيو بارتوريك في العينات المشعة وفي الجرعات الأعلى من 3.0 KGy انخفض مستوى الألفا والجاما توكوفيرول في أنواع السمك المستخدم خلال ٢٠ يوم من اثر المعاملة بالتشعيع والتخزين .

تناول (Calvin et al. 1998) تأثير إضافة الألفاتوكوفيرول والمعاملة بالإشعاع على فيتامين هـ ومدى التأكسد في دهون الدجاج المفروم والمطبوخ والمخزن ، حيث تم أخذ ٥٠٠ صوص من الديوك وتم تقسيمها عشوائياً إلى ٣ مجموعات وإطعامها عليقة مضاف إليها ألفاتوكوفيرول أسيتيت بجرع ١٠٠ - ٢٠٠ - ٤٠٠ ملجم/كجم من العليقة ، وتم معاملتها بجرعات إشعاعية ٢,٥ - ٤ KGy من أشعة جاما عند درجة حرارة ٤° م . وبعد ٨ أسابيع ذبحت الطيور ثم جمدت اللحوم لمدة ٢٤ ساعة ثم أخذت الصدور والأفخاذ وتم فرمها وطبخها ثم خزنت معها الصدور والأفخاذ مطبوخة ومفرومة ومجمدة دون تعريضها لأشعة جاما . وجدت الدراسة ارتفاع في تركيز الألفاتوكوفيرول مع زيادة الكمية المضافة منه في العليقة . وانخفاض في تركيزه مع زيادة مدة التخزين له في الثلجة . كذلك لوحظ ارتفاع كمية حامض الثيوبارتوريك مع زيادة مدة التخزين و انخفاض الكمية مع زيادة الألفاتوكوفيرول أسيتيت المضافة . كذلك وجدت الدراسة أن إضافة أكثر من ٤٠٠ ملجم من الألفاتوكوفيرول أسيتيت /كجم من العليقة يمنع تأكسد الكوليسترول في لحوم الدجاج المفرومة والمخزنة في الثلجة .

تناولت دراسة (Sharma et al., 1999) تقييم فاعلية فيتامين هـ كمضاد للأكسدة ضد حدوث عمليات فوق أكسدة الدهون في الصفائح الدموية حيث استخدمت الدراسة قرود من جنس Rhesus . وأوضحت الدراسة أن الدور الذي يلعبه فيتامين هـ كعامل واقى من الإصابة بالتصلب الشراييني يكمن في تحديده لعمليات فوق الأكسدة في مكونات دهون الدم . كما لوحظ انخفاض مستويات السيрум والكوليسترول والجليسيريدات الثلاثية في مجموعة القرود المغذاة على أنواع الأغذية عالية الدهون والكوليسترول عند حقنها لمدة ٩ شهور بالألفاتوكوفيرول كذلك لوحظ انخفاض مستويات مركبات المألون داي الدهيد وكذلك نشاط الإنزيمات المضادة للتأكسد بدرجة معنوية أقل من هذه المجموعات مقارنة مع مجموعة القرود التي غذيت على الغذاء عالي الدهون والكوليسترول والمدعم بفيتامين هـ . وكانت النظرة العامة للدراسة هي تقييم فاعلية

فيتامين هـ كمضاد للأكسدة ضد حدوث عمليات فوق أكسدة للدهون حيث يعمل جزئياً على إعاقة حدوثها .

٥ - أثر تناول العلائق المشبعة على خلايا الكبد :

درس (Rosent et al., 1995 ; Sies et al (1992) أثر التعرض للإشعاع على الأحماض النووية المنزوعة الأوكسجين (DNA) حيث يحدث كسر لسلاسل الأحماض النووية المنزوعة الأوكسجين (DNA) وبالتالي يؤثر على النيوكليوتيدات وذلك نتيجة التعرض للإشعاع حيث يحدث توليد لأنواع نشطة من الأوكسجين عن طريق تنشيط عمليات تكوين مركبات فوق أكسيديه تزيد من تأكسد الدهون في جدر الخلايا مما يفقدها دورها الوظيفي .

بين (Suntres and Shek, 1996) في دراسته عن دور الألفا توكوفيرول في الحماية من التسمم الكبدي أن المعالجة المسبقة بجرعات من الألفا توكوفيرول للفئران المحقونة بالأندوتوكسين كانت ذات فاعلية في فرض حماية ملحوظة ضد التغيرات الضارة التي أحدثها الحقن وذلك على مستوى كل من الدهون فوق الأكسيديه ومستوى الجلوتاثيون بيروكسيديز في أكباد الحيوانات ، حيث أكدا دور الفيتامين الذي يعمل على الحماية من تكون فوق الأكاسيد التي تؤدي إلى هدم الخلايا مما يفقدها دورها الوظيفي . أوضح (King et al., 1998) في دراسته عن تأثير فيتامين هـ على الأمراض التي تصيب الكبد لدى الفئران ، أجريت التجربة مستخدمة ١٢٠ فأر ذكور من جنس Wister albino وقسمت إلى أربعة مجاميع متساوية المجموعة الأولى لم تتناول أي علاج كمجموعة ضابطة والمجموعة الثانية تناولت فيتامين هـ بنسبة ٣٠ ملجم/كجم من وزن الجسم لمدة أسبوع والمجموعة الثالثة تناولت علاج موضعي والمجموعة الأخيرة حقنت بالوريد كمعالجة عبارة عن ميثيل بردين أيسولون methyl prednisolone ٢ ملجم/كجم من وزن الجسم وقد تم تتبع مقدار مالون داي الدهيد نتيجة أكسدة دهون الكبد مباشرة وبعد مضي حوالي ١٥ دقيقة ثم بعد ١٥ دقيقة أخرى ، أوضحت النتائج زيادة أكسدة الدهون بعد ١٥ دقيقة الأولى في المجموعة الضابطة لتصل من ٨,٧٦٣ إلى ١٠,٤٩ مالون داي الدهيد nmol/g لكنها لم تتغير في المجموعة الثانية التي تناولت فيتامين هـ ، الثالثة التي عولجت موضعياً، الأخيرة التي حقنت بالوريد . كما لوحظ حدوث إنتفاخات في الميتوكوندريا للخلايا الكبدية للمجموعة الأولى فقط وذلك من خلال الدراسات

المجهريّة للأنسجة ، ومن ذلك وجد أن فيتامين هـ و topical hypothermia والأستيرويدات تعمل على تثبيط هدم الخلايا وتأكسد الدهون وتوفّر درجة من الحماية للخلايا الكبدية من خلال الأنسجة الكبدية .

تناول (Canturk et al., 1999) تأثير الحماية لفيتامين هـ على الغشاء المخاطي المبطن للأمعاء في الفئران ، وقد تم تقسيم الفئران إلى ثلاث مجاميع ، المجموعة الأولى ضابطة ، المجموعة الثانية مجموعة الفئران المصابة بالتليف الكبدية أما المجموعة الثالثة فهي مجموعة الفئران المصابة بالتليف الكبدية وأعطيت فيتامين هـ بتركيز ١٠ ملليجرام/كغم/يوم ، لمدة ١٢ أسبوع وفي نهاية التجربة وتم نزع المعدة وذلك للتحليل الحيوي والنسيجي، لوحظ أن مساحات التقرحات المعدية كانت كبيرة في مجموعة الفئران المصابة بالتليف الكبدية وأكثر خطورة عند المقارنة مع المجموعة التي تعاني من التليف المتناولة فيتامين هـ كما أن مقدار مركبات مالون داي الدهيد في الأنسجة ، وكذلك مستوى جلوتاثيون كانت منخفضة في المجموعة الثالثة المصابة بالتليف الكبدية ومعطاة فيتامين هـ مقارنة مع المجموعة المصابة بالتليف الكبدية ، لذلك أمكن القول أن الجدر المخاطية للجهاز الهضمي في الفئران المصابة بالتليف الكبدية مصابة بتغيرات غير طبيعية أدت إلى تغير وظيفي ونسيجي عند فحص تلك الخلايا والتي تبدلت في وجود فيتامين هـ أو مختلف مضادات الأكسدة الأخرى .

وفي دراسة (البدر ، ١٩٩٩م) حول تأثير تناول فيتامين هـ ، جـ على مكونات دهون الدم والكبد لتقليل حالة تصلب الشرايين في الفئران . واستخدمت الدراسة ٥٦ فأر من نوع Wistar albino وتمت تغذيتهم على أغذية تحتوي على مستويات مرتفعة ١٥ ٪ من الزيوت (زيتون – دوار الشمس – النخيل) مقارنة مع المجموعة الضابطة ذات الغذاء المحتوي على ٤ ٪ من زيت الذرة . من نتائج الدراسة وجد أن هنالك تغيرات نسيجية مرضية توجد على شكل ارتشاحات وتجمعات دهنية في كبد الفئران المتناولة أغذية عالية الدهون والكوليسترول . كما لوحظ تحسن جزئي في الشكل الظاهري والتجمعات في حالة تناول الفيتامين هـ ، جـ .

وفي دراسة (Jun et al., 2000) أنه عند تعريض اللحوم للتشعيع فإن الأحماض النووية المنزوعة الأوكسجين (DNA) للخلايا المشعّة تعطي نهايات (Tails) طويلة . أما الخلايا غير المشعّة كانت نهاياتها قصيرة أو لا يوجد لها نهايات . وأظهرت الدراسة كذلك أنه مع زيادة جرعة التشعيع المستخدمة يزداد طول نهاية الحمض النووي .

درس (Turkdogan et al., 2001) أهمية الدور الوظيفي لمضادات الأكسدة مثل فيتامين هـ وفيتامين ج وكذلك السيلينيوم ومقارنتها بتناول حبة البركة بالتبادل كمصدر طبيعي تحتوي على مواد مضادة للأكسدة وذلك لمنع التليف الكبدي مقارنة مع المجموعة الضابطة في الأرانب ، تناولت المجموعات التجريبية من الحيوانات مركب رابع كلوريد الكربون CCl_4 وذلك لإحداث تغيرات هدمية لأنسجة الكبد وتحول كبد الأرانب إلى حالة مرضية من التليف الكبدي ، وجدت النتائج انخفاض قيم الإنزيمات الكبدية مثل سوبر أكسيداز ديسميوتاز SOD في كل المجموعات مقارنة مع المجموعة الضابطة في الأسبوع الثاني عشر من التجربة ، كذلك كان معدل التغير الإيجابي في النشاط الإنزيمي لإنزيم جلوتاثيون بيروكسيداز منذ الأسبوع السادس للتجربة وأيضاً الأسبوع الثاني عشر في مجموعات الحيوانات المتناولة فيتامين ج — واضحاً مقارنة بالمجموعة الضابطة ، وعند فحص النسيج الكبدي مجهرياً كدراسة نسيجية موت الخلايا الكبدية وتحولها إلى ندب في المجموعة المتناولة مركب CCl_4 فقط ، وقد لوحظ حدوث حالات التليف المتقدمة مقارنة بالمجموعة الضابطة وكان من نتائج الفحص النسيجي للمناطق المصابة بالتليف لا تبدو بصورة خطيرة وتبدو كمناطق متليفة ضيقة في حالة تناول حبة البركة وبفحص أنسجة كبد الأرانب المتناولة فيتامين ج — وجد اختزال طفيف لأماكن الضرر عند المقارنة لشرائح كبد لمجموعة الضابطة ، بينما لوحظ أن تناول فيتامين هـ والسيلينيوم أدى إلى خفض التغيرات النسيجية للخلايا الكبدية مقارنة مع المجموعات الضابطة وبدرجات أكثر وضوحاً عند المقارنة مع شرائح كبد الحيوانات المتناولة حبة البركة ، من النتائج أمكن القول أن حبة البركة نجحت جزئياً في منع التغيرات النسيجية الضارة التي تؤدي إلى التليف الكبدي في الأرانب بينما أدى تناول كل من فيتامين هـ والسيلينيوم إلى حدوث تأثير علاجي أكبر وأوضح بينما لم يكن لفيتامين ج تأثير إيجابي معنوي .

تناولت دراسة (العجيان ، ٢٠٠٢ م) تأثير تناول مضادات الأكسدة مثل فيتامين هـ وفيتامين أ والسيلينيوم لتقليل مخاطر الإصابة بالعدوى الغذائية الناتجة من تلوث الغذاء بالسالمونيلا على خلايا كبد وأمعاء الفئران. ووجدت نتائج الفحص المجهرى لمقاطع كبد وأمعاء الفئران حدوث تدهم لخلايا الكبد وإرتشاحات وتحلل دهني داخل وخارج الخلايا للفئران المصابة بالعدوى وحدثت تقرحات جدارية وتغيرات بالخمالات في الأمعاء وذلك مقارنة مع المجموعة الضابطة . وأدى تناول فيتامين هـ والسيلينيوم إلى تحسن في الشكل الظاهري مع قلة التجمعات الدهنية في شرائح مقاطع

كبد ، بينما وجد أن فيتامين أ هو الأقل تأثيراً على التغيرات النسيجية مثل الارتشاحات والتقرحات الجدارية للخمالات وذلك في مقاطع شرائح الكبد والأمعاء .

الباب الثالث

المواد والطرق Materials and Methods

١- المواد Materials

١-١ إعداد العلائق المستخدمة في التجربة Preparation of diets :

تم تكوين العلائق حسب توصيات المعهد الأمريكي للتغذية AIN93 American Institute of Nutrition التي عدلت كما جاء في دراسة (Reeves et al., 1993) ، كما أضيفت جرعات من فيتامين هـ إلى المجموعات المختبرة بمعدل ٣٠ ملجم/١٠٠ جم من العليقة ، وبعدها حفظت العلائق بالتبريد على درجة حرارة ٤ °م طوال فترة التجربة ، وتم الحصول على الكازين ونشا الذرة والدكستروز ومخلوط الفيتامين ودل — ميثونين وبيترترات الكولين وزيت الذرة من شركة سوماتكو المتخصصة في توريد تلك المنتجات إلى مدينة الرياض . ويوضح جدول رقم (١) مكونات العلائق المستخدمة في التجربة .

جدول (١) مجموعات العلائق التجريبية المستخدمة

** المجموعة التجريبية (جم %)							مكونات الغذاء
المجموعة السابعة (٧)	المجموعة السادسة (٦)	المجموعة الخامسة (٥)	المجموعة الرابعة (٤)	المجموعة الثالثة (٣)	المجموعة الثانية (٢)	المجموعة الضابطة (١)	
٢٠,٠٠	٢٠,٠٠	٢٠,٠٠	٢٠,٠٠	٢٠,٠٠	٢٠,٠٠	٢٠,٠٠	عليقة مرجعية (كازين)
١٥,٠٠	١٥,٠٠	١٥,٠٠	١٥,٠٠	١٥,٠٠	١٥,٠٠	١٥,٠٠	سكروز
٥,٠٠	٥,٠٠	٥,٠٠	٥,٠٠	٥,٠٠	٥,٠٠	٥,٠٠	زيت الذرة
٥٠,٠٠	٥٠,٠٠	٥٠,٠٠	٥٠,٠٠	٥٠,٠٠	٥٠,٠٠	٥٠,٠٠	نشا الذرة
٥,٠٠	٥,٠٠	٥,٠٠	٥,٠٠	٥,٠٠	٥,٠٠	٥,٠٠	ألياف
٣,٥٠	٣,٥٠	٣,٥٠	٣,٥٠	٣,٥٠	٣,٥٠	٣,٥٠	مخلوط معادن
١,٠٠	١,٠٠	١,٠٠	١,٠٠	١,٠٠	١,٠٠	١,٠٠	مخلوط فيتامينات
٠,٣٠	٠,٣٠	٠,٣٠	٠,٣٠	٠,٣٠	٠,٣٠	٠,٣٠	دل — ميثونين
٠,٢٠	٠,٢٠	٠,٢٠	٠,٢٠	٠,٢٠	٠,٢٠	٠,٢٠	بيترترات الكولين
٣٠,٦٦*	٠,٦٦*	٣٠,٦٦*	٠,٦٦*	٣٠,٦٦*	٠,٦٦*	٠,٦٦*	فيتامين (هـ)*

** Reeves et al., (1993)

* مستوى فيتامين (هـ) ملجم / ١٠٠ جرام .

٢-١ مضادات الأكسدة Antioxidants :

أستخدم فيتامين هـ (الألفاتوكوفيرول) كمضاد للأكسدة والذي تم توفيره من الصيدليات المحلية في مدينة الرياض شركة (Evion) . وتم إضافة جرعة الفيتامين المختبرة (٣٠ ملجم/١٠٠ جم عليقة) للعليقة قبل تعريضها للتشعيع .

٣-١ جرعة التشعيع Irradiation dose :

تم تعريض العلائق المختبرة AIN لجرعات إشعاع قدرها ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلوجراي باستخدام خلية تشعيع جاما (Nordion Int. Co., Ontario, Gamma Cell 220 Canada) تابعة لمعهد بحوث الطاقة الذرية ، مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية بالرياض في المملكة العربية السعودية ، وقد تم استخدام أشعة جاما من النظير كوبالت ^{60}Co المشع .

٤-١ حيوانات التجارب Experimental animals :

استخدم اثنان وأربعون فأراً من الذكور البالغين من جنس Wistar Albino ، وزن ١٠٠ جم $\pm$ ٥ جم وبمتوسط عمر من ٦-٨ أسابيع تم الحصول عليها من بيت الحيوان في كلية الطب - جامعة الملك سعود - الرياض .

٢ . طرق العمل :

٢-١ تصميم تجربة التغذية Experimental design :

صممت هذه التجربة لدراسة تأثير تغذية الفئران على أغذية مشعة مضاف إليها الجرعات المختبرة من فيتامين هـ بمعدل (٣٠ ملليجرام/١٠٠ جم عليقة) أو بدون إضافة وذلك لتقييم مستوى بعض الإنزيمات في كبد الفئران ولقد قسمت الفئران عشوائياً إلى سبع مجموعات تجريبية كل مجموعة تحتوي على ستة فئران كل فأر وضع على حده داخل أقفاص مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ . وتمت أقلمة الفئران بتغذيتها على العليقة المرجعية لمدة أسبوع ثم قبل البدء الفعلي للتجربة يوضح بجدول رقم (٢) المجموعات والعلائق المختلفة المستخدمة في تغذية الفئران . وكانت كل الظروف البيئية ثابتة طوال فترة التجربة من درجة الحرارة $22 \pm 2^\circ\text{C}$ والرطوبة النسبية

± ٥.٥ % ودورة إضاءة / ظلام ١٢ ساعة، كان الماء متاح للفئران ، استمرت التجربة لمدة ثمانية أسابيع تم تتبع وزن الفئران أسبوعياً وقد تم حساب ما يلي :

١ - كمية الغذاء المستهلك طوال فترة التجربة (أ) = مجموع الغذاء المستهلك يومياً .

٢ - الوزن المكتسب (جم) (ب) = الوزن في نهاية التجربة - الوزن في بداية التجربة.

٣ - كفاءة استخدام الغذاء = (ب) / (أ) .

جدول (٢) المجموعات التجريبية والعلائق والجرعات التشيعية المستخدمة

المجموعة (١)	فئران تناولت غذاء متوازن (مجموعة ضابطة) .
المجموعة (٢)	فئران تناولت غذاء متوازن عرض لجرعة إشعاع مقدارها ١٠ كيلوجراي - .
المجموعة (٣)	فئران تناولت غذاء متوازن عرض لجرعات إشعاع مقدارها ١٠ كيلوجراي - ومضاف له جرعة فيتامين هـ - - بمعدل ٣٠ ملليجرام/١٠٠ جم عليقة .
المجموعة (٤)	فئران تناولت غذاء متوازن عرض لجرعة إشعاع مقدارها ٢٠ كيلوجراي .
مجموعة (٥)	فئران تناولت غذاء متوازن عرض لجرعة إشعاع مقدارها ٢٠ كيلوجراي - ومضاف له جرعة فيتامين هـ - - بمعدل ٣٠ ملليجرام/١٠٠ جم عليقة .
مجموعة (٦)	فئران تناولت غذاء متوازن عرض لجرعة - إشعاع مقدارها ٤٠ كيلوجراي - .
مجموعة (٧)	فئران تناولت غذاء متوازن عرض لجرعة إشعاع مقدارها ٤٠ كيلوجراي - ومضاف له جرعة فيتامين هـ - - بمعدل ٣٠ ملليجرام/١٠٠ جم عليقة .

* الجرعات الإشعاعية حسب ما ورد (World Health Organization, 1988) .

-- مستوى فيتامين هـ الكلي في العليقة : ٣٠,٦٦ ملليجرام / ١٠٠ جم عليقة (البدر ، ١٩٩٩ م) .

٢-٢ جمع عينات الدم : Collection of blood samples

تم سحب عينات الدم عن طريق الوخز في القلب وأخذت عينات الدم ووضعت في أنابيب تحتوي على مادة مانعة للتجلط: Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA) ، ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي :

Digisystem laboratory instrument NC. Made in Taiwan R. O. C.

على سرعة ٦٠٠٠ لفة / دقيقة ولمدة ٢٠ دقيقة ، وسحبت طبقة البلازما (الجزء العلوي الراق) باستخدام ماصة دقيقة Micropipette ثم نقلت في عبوات وحفظت عند درجة حرارة - ٢٠ °م لحين إجراء التجارب البيوكيميائية للبلازما .

٣-٢ الوزن والوزن النسبي للكبد : The Liver relative weight

تم استئصال كبد الفئران وغسلها في محلول فسيولوجي ٠,٨٥ ٪ كلوريد الصوديوم وجففت بوضعها بين ورقتي ترشيح مع الضغط عليها باليدين ثم وزنت مباشرة وتم حساب الوزن النسبي للكبد من المعادلة التالية :

$$\text{الوزن النسبي للكبد} = \frac{\text{وزن الكبد}}{\text{وزن الجسم}} \times 100$$

ثم أخذت عينة من الكبد مقدارها ١ جم وذلك لاستخدامها في الفحص المجهرى وحفظت الكمية المتبقية في عبوات بلاستيكية محكمة الغلق عند درجة حرارة - ٢٠ °م لاستخدامه في التقديرات البيوكيميائية .

٤-٢ التقديرات البيوكيميائية في البلازما: Biochemical analysis of Plasma

١-٤-٢ تقدير فيتامين (هـ) الألفاتوكوفيرول :

تم تقدير مستوى الألفاتوكوفيرول في عينات البلازما حسب طريقة (Rhywilliams, 1985) كما يلي :

(١) مزج ٢٠٠ ميكروليتر إيثانول + ٢٠٠ ميكروليتر هكسان مع ٢٠٠ ميكروليتر من عينات البلازما .

(٢) حقن ٢٠ ميكروليتر من الطبقة العلوية التي تحتوي على ألفاتوكوفيرول في جهاز (High-Pressure Liquid Chromatography (HPLC) (Varian) باستخدام عمود من السليكا (100 x 20 x 0.46) وطول موجي 295 nm .

(٣) قدرت المساحة تحت المنحنى للعينات مقارنة بالمحلول القياسي (هـ) معلوم التركيز وحسبت القيم على أساس (ملليجرام / لتر بلازما) .

٢-٤-٢ تقدير مركبات مالون داي الدهيد (MDA) Malondialdehyde :

قدرت مستويات مركبات مالون داي الدهيد في البلازما وذلك عن طريق استخدام حامض ثيوباربتيويك (TBA) Thiobar butyric acid ونظراً لصعوبة قياس معدل أكسدة LDL-C عملياً تم قياس المركبات مالون داي الدهيد المتكونة نتيجة أكسدة LDL-C باستخدام TBA لتعكس مدى أكسدة LDL (Steinbeing, ، 1992) وقدرت مستويات مركبات مالون داي الدهيد (MDA) في عينات بلازما الدم المتكونة أثناء عمليات فوق الأكسدة كمنتجات وسطية وثانوية ناتجة عند تكسير الدهون الفوق مؤكسدة حسب طريقة :

(Esterbauer and Cheeseman , 1990) كما يلي :

١ - وضع ١٠٠ ميكروليتر من البلازما في أنبوبة نظيفة جافة ومزجت مع حجمين (٢٠٠ ميكروليتر) من حامض ثلاثي كلوروكليك ١٠٪
10 % Trichloroacetic acid البارد لترسيب المواد البروتينية .

٢ - تم طرد الأنابيب مركزياً على سرعة ٤٠٠٠ لفة/ الدقيقة لمدة خمس دقائق باستخدام جهاز الطرد المركزي
Digisystem laboratory Instruments- LNC. Made in Taiwan R.O.C.

٣ - نقل الراشح في أنبوبة نظيفة جافة وقدر حجمه ، وأضيف إليه حجم مماثل ماء ثم سخن على درجة ١٠٠ °م لمدة ١٠ دقائق وبرد .

٤ - قرأت الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer
LKB Biochem., Uitraspec. No. 4050 UV/Visible
Spectrophotometer Cambridge United Kingdom

على طول موجي 580 nm وتحسب كمية MDA في عينات بلازما الدم
وقدر التركيز من المعادلة التالية:

$$\text{تركيز (MDA)} = \frac{\text{قراءة امتصاصية العينة}}{\text{قراءة امتصاصية المحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$

(مليمول/لتر بلازما)

٢-٥ التقديرات البيوكيميائية في الكبد :

تمت مجانسة ٥ جم من عينات الكبد مجمدة وذلك في وسط محلول الفوسفات

المنظم pH = 7.4 باستخدام المجنس الكهربائي الآلي

Wheaton Homojenizer-Cold automatic-Benotigt-905 Siche kap 661-Sigmen-Deatsche-JSBN. 1000 rpm/min

وفصل الجزء الرائق باستخدام جهاز الطرد المركزي

Digi system laboratory Instruments- LNC. Made in Taiwan R.O.C.

على سرعة 3200 rpm/min .

تحت (درجة حرارة ٥ °م لمدة ٢٠ دقيقة) واستخدم السائل الرائق في التقدير

الإنزيمي للإنزيمات التالية :

٢-٥-١ تقدير النشاط الإنزيمي لإنزيم سوبر أوكسيد ديسميوتيز :

Superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD, EC 1.15.1.1) :

الأساس العلمي :

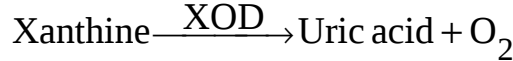
يعمل إنزيم السوبر أوكسيد ديسميوتيز معدني التكوين على عدم تكوين الطفرة السمية للشقوق البيروكسيدية الحرة التي تنتج خلال عمليات الأكسدة الحيوية بالجسم لإنتاج الطاقة حيث يتكون فوق أكسيد الهيدروجين أو جزء الأكسجين النشط $O_2^{1/2}$ اعتمدت الطريقة على توظيف أكسدة الزانثين Xanthine في وجود إنزيم زانثين أكسيداز (XOD) Xanthine oxidase في إنتاج الشق الحر الذي يتفاعل مع مركب الكلوريد (I.N.T.) .

2,4--Idophenoyl 3,4-Nitrophenol 5- phenyl Tetrazoloum chloride (I.N.T.)

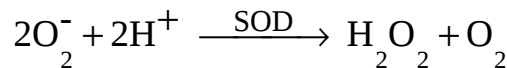
لإنتاج الصبغة الحمراء المعروفة Formazan .

ويمكن تلخيص قدرة النشاط الإنزيمي SOD وذلك بقدرته على تثبيط التفاعل

التالي :



حيث يصبح التفاعل كالتالي:



(Stallings, 1984) وتم تقدير النشاط الإنزيمي لإنزيم سوبر أكسيد
ديسميوتيز في الكبد بالطريقة اللونية حسب طريقة (Arthur and Boyne, 1985)
باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer

LKB Biochem., Uitraspec. No. 4050 UV/Visible
Spectrophotometer Cambridge United Kingdom
وطول موجي 580 .

حسب الخطوات التالية :

- (١) تم عمل خمس تخفيفات قياسية معلومة التركيز وذلك عن طريق تدرج متوالي للمحلول القياسي باستخدام محلول الفوسفات المنظم pH 7.0 حيث يعتبر St_1 هو التركيز القياسي الأصلي للكيماويات سابقة التجهيز (٥ ملليمول/ لتر) وخفف إلى St_2 بوضع ٥ مل من محلول St_1 و ٥ مل من المحلول المنظم الفوسفاتي وحُضر St_3 بتخفيف ٥ مل من محلول St_2 بإضافة ٥ مل من المحلول المنظم الفوسفاتي وحضر St_4 بإضافة ٥ مل من محلول St_3 إلى ٥ مل من محلول المنظم الفوسفاتي ثم حُضر ST_5 وذلك بتخفيف ٥ مل من محلول St_4 بإضافة ٥ مل من المحلول المنظم الفوسفاتي.
- (٢) جهزت ٧ أنابيب نظيفة متماثلة ووضع في كل منها ١,٧ مل من الكاشف وهو خليط من (محلول ٠,٠٥ ملليمول/لتر زانثين + ٠,٢٥ ملليمول/لتر I.N.T.) .
- (٣) استخدمت الأنبوبة الأولى كبلانك وذلك بإضافة ٠,٠٥ مل من المحلول المنظم pH 7.0 .
- (٤) أضيف إلى خمس أنابيب قياسية على التوالي ٠,٠٥ مل من المحلول القياسي $St_1, St_2, St_3, St_4, St_5$ على نفس الترتيب مع الخلط الجيد .
- (٥) أضيف إلى الأنبوبة السابعة (عدد عينات المستخلصات) ٠,٠٥ مل من محلول العينات المراد تقديرها مكررة ثلاثاً .
- (٦) أضيف إلى جميع الأنابيب ٠,٠٢٥ مل من محلول إنزيم زانثين أكسيداز Xanthine oxidase .
- (٧) قدرت الامتصاصية المبدئية مباشرة خلال ٣٠ ثانية A_1 ثم أعيدت تقدير الامتصاصية بعد ٣ دقائق لإتمام التفاعل A_2 وذلك لكل عينة على حده وحسب القيمة الامتصاصية الفعلية من المعادلة :

$$\frac{A_2 - A_1}{3}$$

(٨) رسم المنحنى القياسي باستخدام قيم المحاليل القياسية الخمسة عن طريق العلاقة بين التركيزات القياسية في مقابل الامتصاصية .

(٩) تم عن طريق متابعة امتصاصية العينات على المنحنى القياسي للحصول على تراكيز النشاط الإنزيمي في العينات وحسبت القيم على أساس (ملليجرام / جرام نسيج كبد رطب) .

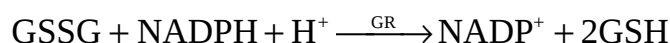
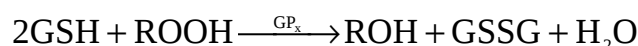
٢-٥-٢ تقدير النشاط الإنزيمي لإنزيم جلوتاثيون بيروكسيداز :

Glutathione peroxidase (GPx, EC 1.11.1.9)

الأساس العلمي :

يقوم إنزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز بتحويل المواد السمية إلى غير سمية داخل الخلايا واعتمدت الطريقة على أساس أن نشاط إنزيم GPx يعتمد على تنشيط مركب الجلوتاثيون GSH في وجود مركب Gumene Hydroperoxide وإنزيم جلوتاثيون ريد كتيز GR وكذلك مركب نيوكليوتيد البيريدين المختزل NADPH حيث تتحول الصورة المؤكسدة من الجلوتاثيون GSSG سريعاً إلى الصورة المختزلة مع أكسدة NADPH إلى NADP⁺ (Ursini et al., 1995).

وتوضح المعادلات التالية التفاعل :



ومع استمرار التفاعل تم تقدير النشاط الإنزيمي لإنزيم جلوتاثيون بيروكسيداز في الكبد بالطريقة اللونية حسب طريقة (Barjade et al., 1988) وباستخدام جهاز Spectrophotometer

LKB Biochem., Utraspec. No. 4050 UV/Visible
Spectrophotometer Cambridge United Kingdom

حسب الخطوات التالية :

١. حضرت ثلاثة أنابيب نظيفة وجافة ثم وضع في كل منها ٠,١ مل من محلول هيدروبيروكسيد Cumene تركيزه ٤,٣ مليمول/ لتر وأضيف

- ٢,٥ مل من الكاشف وهو خليط من محلول جلوتاثيون (٤ مليمول/لتر)
 وإنزيم جلوتاثيون ريدكتيز $0.5 \leq$ وحدة / لتر بالإضافة إلى NADPH
 بتركيز ٠,٣٤ مليمول/لتر.
 ٢. أضيف إلى الأنبوبة الأولى ٠,٠٥ مل من الماء المقطر واستخدمت
 القراءة كبلانك .
 ٣. أضيف إلى الأنبوبة الثانية ٠,٠٥ مل من المحلول القياسي .
 ٤. أضيف إلى الأنبوبة الثالثة ٠,٠٥ مل من العينات المستخلصة من كبد الفئران
 وتكرر ثلاث مرات مع الخلط الجيد.
 ٥. قيس الامتصاصية على طول موجي 340 nm ودرجة حرارة ٣٧ °م
 ٦. حسبت التراكيز على أساس ملليجرام/جرام وزن نسيج كبد رطب من
 المعادلة التالية :

$$\text{تركيز النشاط الإنزيمي} = \frac{\text{قراءة امتصاص العينات}}{\text{قراءة امتصاص المحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$

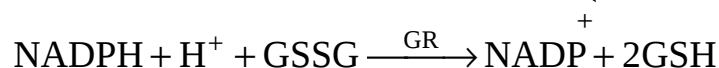
(ملليجرام/جرام نسيج كبد رطب)

٢-٥-٣ تقدير النشاط الإنزيمي لإنزيم جلوتاثيون ريدكتيز :

Glutathione reductase (GR, EC 1.6.4.2):

الأساس العلمي:

يقوم إنزيم الجلوتاثيون ريدكتيز باختزال جلوتاثيون المؤكسد (GSSG) إلى
 جلوتاثيون المختزل (GSH) في وجود NADPH الذي يتأكسد إلى NADP^+
 (Bashir et al., 1995) حسب المعادلة التالية:



وتم تقدير النشاط الإنزيمي لإنزيم الجلوتاثيون ريدكتيز في الكبد بالطريقة
 اللونية حسب طريقة (Coldberg and Spooner, 1983) وباستخدام جهاز
 المطياف الضوئي Spectrophotometer

LKB Biochem., Uitraspec. No. 4050 UV/Visible
 Spectrophotometer Cambridge United Kingdom

حسب الخطوات التالية :

- (١) حضرت ثلاثة أنابيب نظيفة وجافة ثم وضع في كل منها ٠,١ مل من الكاشف
 وهو خليط من [٠,٠٢ مل NADPH وجلوتاثيون GSSG (٢,٢ مليمول/لتر)
 بالإضافة إلى إنزيم ريدكتيز بتركيز $0.5 \leq$ وحدة] .

(٢) وضعت في الأنبوبة الأولى ٠,١ مل من المحلول المنظم (pH 7.3) كبلانك وللأنبوبة الثانية ٠,١ من GSSG القياسي (٢,٢ مليمول/لتر) وللأنبوبة الثالثة وضع ٠,٠٤ مل من العينات المستخلصة من كبد الفئران وتكرر ثلاثاً مع الخلط الجيد .

(٣) قيس الانخفاض في الامتصاصية على طول موجي 340 nm على درجة حرارة ٣٧°م .

(٤) حسبت التراكيز على أساس ملليجرام/جرام نسيج كبد رطب من المعادلة التالية :

$$\text{تركيز النشاط الإنزيمي} = \frac{\text{قراءة امتصاص العينات}}{\text{قراءة امتصاص المحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي} \\ (\text{ملليجرام/جرام نسيج كبد رطب})$$

٢-٥-٤ تقدير النشاط الإنزيمي لإنزيم الكتاليز :

Catalase enzyme (CAT, EC 1.11.1.6):

الأساس العلمي:

يتحد إنزيم الكتاليز البروتيني التكوين مع الهيم ويتواجد في كل خلية ويظهر الدور الحيوي لهذا الإنزيم في إزالة جزيئات فوق أكسيد الهيدروجين المتكون أثناء العمليات الحيوية وتحويله إلى الدهيد المقابل (Deisseroth and Dounce, 1970; Zamocky and Koller, 1999) ويتلخص النشاط الإنزيمي في المعادلات التالية :



يتم تقدير مستوى النشاط الإنزيمي لإنزيم الكتاليز في الكبد بالطريقة اللونية حسب طريقة (Aebi, 1984) باستخدام جهاز المطياف الضوئي

Spectrophotometer

LKB Biochem., Uitraspec. No. 4050 UV/Visible

Spectrophotometer Cambridge United Kingdom

حسب الخطوات التالية :

- (١) تم خلط ١ جرام من عينات الكبد مع ٣ مل من الماء المقطر لمدة ١٠ دقائق .
- (٢) أضيف ٣ مل من المذيب المتكون من كلوروفورم وإيثانول ١ : ٢ مع الرج لمدة ٣٠ ثانية ، ثم فصل الراشح باستخدام الطرد المركزي لمدة نصف ساعة على سرعة ٣٢٠٠ دورة/دقيقة .

- (٣) حضرت ثلاث أنابيب نظيفة وجافة ، الأولى (قياسية) احتوت على ٠,١ مل من محلول صوديوم أستات (مع التولين) تركيز ١,٦٦ عياري (الموفرة حامض الاسيتك ٠,٥ عياري) والثانية احتوت على ٠,١ مل من مستخلصات الكبدية والثالثة احتوت على ٠,١ مل من الماء المقطر (بلانك) .
- (٤) تم إضافة ١ مل لكل من الأنابيب من الكاشف ليكومالايكيت Leucomalachite المشع بالإضافة إلى ٠,١ مل من محلول فوق أكسيد الهيدروجين (٠,٠٥ وحدة) .
- (٥) قيس الامتصاصية على طول موجي 580 nm وعلى درجة حرارة ٣٧° م .
- (٦) حسب تراكيز النشاط الإنزيمي ملليجرام/جرام كبد رطب من المعادلة التالية :

$$\text{تركيز النشاط الإنزيمي (ملليجرام/جرام نسيج كبد رطب)} = \frac{\text{قراءة امتصاص العينات}}{\text{قراءة امتصاص المحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$

٦-٢ الفحص الميكروسكوبي للكبد :

- تم تحضير شرائح كبد الفئران من الجزء المفصول عند الذبح (بحجم ١ جم) للفحص المجهرى بحسب طريقة (Drury and Wallington, 1980) كما يلي :
- أ — وضعت العينات من الكبد في محلول الفورمالين المثبت لحفظ الخلايا في شكلها الطبيعي والحالي .
- ب — تم نقل العينات من المثبت إلى محلول كحول ايثيلي تركيزه ٥٠ ٪ ولمدة ثلاث دقائق وذلك لإزالة آثار الفورمالين .
- ت — مررت العينات بعد ذلك على تركيزات متدرجة من الكحول الايثيلي (٧٠ ٪ ، ٨٥ ٪ ، ٩٦ ٪) (كحول نقي) ، وتركت في كل تركيز لمدة ثلاث دقائق وذلك لنزع الماء (Dehydration) .
- ث — نقلت العينات بعد ذلك إلى مخلوط من الكحول الايثيلي والزايلين بنسبة ٣ : ١ على الترتيب لمدة ثلاث دقائق ثم تم زيادة نسبة الزايلين إلى الكحول تدريجياً حتى وصل إلى نسبة ١ : ١ ونقلت العينات بعد ذلك إلى الزايلين المطلق وهي ما تسمى عملية التوضيح Clearing .
- ج — تم غمر العينات في الشمع الذائب وتركت لمدة ساعتين في فرن حراري درجة حرارته ٥٣° م .

- ح - نقلت العينات في قوالب مخصصة لصب الشمع المذاب وتركبت حتى يجمد الشمع .
- خ - تم نقل القوالب الشمعية المحتوية على العينات إلى جهاز الميكروتوم Cambridge Rocking Microtome لإجراء عملية تقطيع لشرائح سمك ٦ ميكرون على درجة ٢٠ °م حيث تثبتت المقاطع على شرائح زجاجية بعد وضع قليل من مخلوط الجلوسرين والألبومين حتى يساعد على لصق العينات المقطوعة على سطح الشرائح الزجاجية .
- د - مررت الشرائح في الزايلين لإزالة البرافين الزائد ثم مررت في كحول ايثيلي متدرج التركيز من ٣٠ ٪ إلى ٨٠ ٪ مذاب به صبغة الهيماتوكسـلين ولمدة خمس دقائق .
- ذ - أعيدت الشرائح مرة أخرى إلى محلول صبغة الهيماتوكسـلين لمدة ٢٠ دقيقة وبعدها أعيدت إلى محاليل الكحول المتوالية التركيز ٣٠-٨٠ ٪ ثم غسلت الشرائح بكحول تركيز ٩٠ ٪ ثم ٩٦ ٪ وقد استخدمت أغشية رقيقة الزجاج على المقاطع .
- ر - استخدم سطح حراري عند ٣٧ °م (Hot Plate) لتجفيف الشرائح ثم فحصت بواسطة المجهر Zeiss, made in Germany .

٣. التحليل الإحصائي :

تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام الحاسب الآلي في كلية علوم الأغذية والزراعة – جامعة الملك سعود بالرياض ، وذلك باستخدام برنامج : Statistical Analysis System (SAS, 1990) لحساب النسب المئوية واختبار (t-test) وتحليل التباين في اتجاه واحد

One Way Analysis of Variance (ANOVA)

وذلك لدراسة الفروق بين المتوسطات $\pm$ الخطأ المعياري كأقل فرق معنوي واعتبر الفرق المعنوي عند $(P < 0.05)$ (Steel and Torrie, 1980) .

الباب الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

أولاً : التقويم التغذوي :

يناقش هذا الجزء تأثير تناول الفئران لعلائق متوازنة عرضت لجرعات إشعاع (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠) كيلو جراي في وجود وعدم وجود فيتامين هـ مقارنة مع المجموعة الضابطة المتتالة الغذاء المتوازن على كمية الغذاء المستهلك (جم) Total Food Consumption (TFC) والوزن المكتسب (جم) Weiht Gain (WG) وكفاءة استخدام الغذاء Food Efficiency Ratio (FER) والوزن النسبي للكبد Liver Relative Weight .

من النتائج المدونة في الجدول (٣) عن تناول الفئران الغذاء المتوازن والمعرض لجرعات إشعاع قدرها ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي في وجود وعدم وجود فيتامين هـ مقارنة مع المجموعة الضابطة المتتالة الغذاء المتوازن على كمية الغذاء المستهلك (جم) كانت أعلى كمية للغذاء المستهلك $532,11 \pm 2,9$ جم في المجموعة الضابطة المتتالة الغذاء المتوازن وأدنى كمية للغذاء المستهلك $470,57 \pm 3,7$ جم في مجموعة الغذاء المتوازن والمشع عند جرعة قدرها ٤٠ كيلو جراي ومضاف لها الجرعة المختبرة من فيتامين هـ . تناقصت كمية الغذاء المستهلك مع زيادة الجرعة الإشعاعية وخصوصاً في العلائق المعالجة عند 20 KGy فأكثر ونتج عن إضافة فيتامين هـ خفض أكبر في كمية الغذاء المستهلك لكنه لم يبلغ درجة معنوية . ثم تراوحت قيم الوزن المكتسب ما بين $116,27 \pm 2,08$ جم و $120,89 \pm 1,81$ جم دون فروق بين جميع المجموعات التجريبية بما فيها المجموعة الضابطة .

بالنسبة لقيم كفاءة استخدام الغذاء جدول (٣) زادت كفاءة استخدام الغذاء بزيادة الجرعة الإشعاعية حيث أدت الجرعات الإشعاعية عند مستوى ٤٠ كيلو جراي في وجود وعدم وجود فيتامين هـ أدى إلى تحسين القيمة حيث سجلت القيم $0,250 \pm 0,03$ و $0,254 \pm 0,05$ على التوالي .

جدول (٣) : تأثير استهلاك العلائق المشعة على الوزن والوزن النسبي للكبد في الفئران .

القياسات المجاميع التجريبية	الغذاء المستهلك (جم)	الوزن المكتسب (جم)	FER	الوزن النسبي للكبد
الغذاء المتوازن (المجموعة الضابطة)	a ٢,٩ ± ٥٣٢,١١	a ٢,٦ ± ١١٨,٢١	a ٠,٠٣ ± ٠,٢٢٣	a ٠,٥٥ ± ٣,٤١
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (١٠ KGy)	a ٢,٥ ± ٥٣٢,٠٠	a ٢,٣ ± ١١٧,٩٠	a ٠,٠٤ ± ٠,٢٢١	a ٠,٢٣ ± ٣,٣٣
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (١٠ KGy + فيتامين هـ)	a ١,٧ ± ٥٢١,١٤	a ٢,٠٨ ± ١١٦,٢٧	a ٠,٠٣ ± ٠,٢٢٣	a ٠,٢٧ ± ٣,٢٤
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (٢٠ KGy)	a ١,٨ ± ٥١٠,٧٢	a ١,١٥ ± ١١٩,٨١	a ٠,٠٣ ± ٠,٢٣٤	a ٠,٢٦ ± ٣,٢٢
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (٢٠ KGy + فيتامين هـ)	a ٠,٨٥ ± ٥٠٣,٠٦	a ٢,٠١ ± ١١٨,٩٠	a ٠,٧ ± ٠,٢٣٦	a ٠,١٢ ± ٢,٨٥
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (٤٠ KGy)	a ٢,٥ ± ٤٨١,٧٢	a ١,٨١ ± ١٢٠,٨٩	a ٠,٠٣ ± ٠,٢٥٠	a ٠,٢٣ ± ٢,٨١
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (٤٠ KGy + فيتامين هـ)	a ٣,٧ ± ٤٧٠,٥٧	a ١,٩٢ ± ١١٩,٧٣	a ٠,٠٥ ± ٠,٢٥٤	a ٠,٤٥ ± ٢,٧٣

المتوسطات ± الخطأ المعياري . عدد الفئران ٦ لكل مجموعة (n = 6) .

المتوسطات ذات الحروف المتشابهة متشابهة معنوياً (P < 0.05)

بلغ الوزن النسبي للكبد ما بين $٠,٤٥ \pm ٢,٧٣$ و $٠,٥٥ \pm ٣,٤١$ في المجموعات التجريبية في وجود وعدم وجود فيتامين هـ بينما بلغت أعلى قيمة للوزن النسبي للكبد $٠,٥٥ \pm ٣,٤١$ في المجموعة الضابطة كانت الجرعة الإشعاعية عند مستوى ٤٠ كيلو جراي سواء في وجود وعدم وجود فيتامين هـ الأكثر تأثيراً في الخفض الذي لم يبلغ درجة معنوية على الوزن النسبي لكبد الفئران كما أن إضافة فيتامين هـ قبل التشعيع عند ٢٠ كيلو جراي خفضت وزن الكبد النسبي $٠,١٢ \pm ٢,٨٥$ لم تؤدي الجرعة ١٠ كيلو جراي في وجود وعدم وجود فيتامين هـ إلى تغيرات في الوزن النسبي للكبد جدول رقم (٣) .

تشير نتائج الدراسة الحالية أن هناك انخفاض لم يبلغ درجة معنوية في قيم الغذاء المستهلك والوزن النسبي للكبد كذلك هناك ارتفاع لم يرقى إلى درجة معنوية في قيم كفاءة استخدام الغذاء ، ويزداد هذا التأثير بزيادة جرعة الإشعاع في وجود فيتامين هـ لكن لم يكن هناك فرق في الوزن المكتسب في المجاميع المختبرة بالرغم من زيادة الجرعات التشعيعية المستخدمة قد يرجع سبب ذلك إلى مدى التحسن الذي طرأ على الغذاء ومكوناته نتيجة المعاملة بالتشعيع والتي أدت إلى زيادة معدل الاستفادة من المتناول الغذائي.

واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Youssef et al., 1995) والتي ذكرت أن المعاملة الإشعاعية بجرعة قدرها ٥ كيلو جراي إلى جرعة قدرها ٧,٥ كيلو جراي أدت إلى تحسين الخواص الطبيعية مما يؤدي إلى رفع الاستفادة الحيوية . وكذلك تماشت النتائج المتحصل عليها من الدراسة الحالية إلى جانب نتائج دراسة (Gutteridge , 1995 ; Vacca et al., 1996) والتي أرجعت التغيرات البيوكيميائية والزيادة في وزن الكبد قد تكون إما للتغير الحيوي لمكونات الدهون في الخلايا الكبدية كالفسفوليبيدات أو إلى زيادة التكوين الحيوي للبروتينات بالكبد .

ثانياً : القياسات البيوكيميائية في البلازما :

مستويات البلازما من فيتامين هـ والمالون داي الدهيد :

وضحت النتائج المدونة في جدول رقم (٤) تأثير تناول الفئران الغذاء المتوازن المعرض لجرعات الإشعاع ١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي في وجود وعدم وجود فيتامين هـ مقارنة بالمجموعة الضابطة المتتولة الغذاء المتوازن على مستوى بلازما الدم من فيتامين هـ ملليجرام / لتر ومستوى مركبات المالون داي الدهيد ملليمول/ لتر .

كانت مستويات قيم فيتامين هـ (الالفاتوكوفيرول) في بلازما فئران المجموعة الضابطة بلغ $10,2 \pm 0,56$ ملليجرام/لتر جدول رقم (٤) عملت المعالجات الإشعاعية عند جرعات أعلى من ١٠ كيلوجراي جدول رقم (٤) على رفع مستويات الاستفادة من الفيتامين بما ينعكس على مستواه بالدم فقد ارتفع مستوى فيتامين هـ في بلازما الفئران المعرضة للإشعاع وكان الارتفاع بزيادة جرعة الإشعاع ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي حيث بلغت مستويات الفيتامين $11,1 \pm 0,44$ و $11,4 \pm 1,94$ على التوالي بينما لم تؤثر جرعة الإشعاع ١٠ كيلو جراي معنوياً في محتوى البلازما من فيتامين هـ حيث سجلت النتائج $10,6 \pm 0,71$ ملليجرام/لتر في مقابل $10,2 \pm 0,56$ ملليجرام/لتر لمستوى الفيتامين في المجموعة الضابطة .

بالنظر لقيم المركبات البيروكسيدية المقدرة على شكل المالون داي الدهيد كما في جدول رقم (٤) فقد بلغت قيمتها $1,88 \pm 0,12$ ملليمول/لتر في بلازما فئران المجموعة الضابطة. تعرض الغذاء لجرعات الإشعاع أدى إلى بعض التغيرات في مستوى هذا المركب وخصوصاً عند جرعة ٤٠ كيلو جراي $1,85 \pm 0,17$ ملليمول / لتر ، بينما كان الاختلاف غير معنوي في المجموعات المتتولة الغذاء المعرض لجرعات الإشعاع ١٠ ، ٢٠ كيلو جراي حيث بلغت القيمة $1,87 \pm 0,18$ و $1,87 \pm 0,44$ ملليمول/لتر على التوالي .

جدول (٤) : تأثير استهلاك العلائق المشبعة في وجود وعدم وجود فيتامين هـ (الالفاتوكوفيرول) على مستوى فيتامين هـ والمالون داي الدهيد في بلازما الفئران .

المجاميع التجريبية	القياسات	فيتامين هـ (الالفاتوكوفيرول) (ملليجرام/لتر)	مالون داي الدهيد (ملليمول/لتر)
الغذاء المتوازن (المجموعة الضابطة)	a	10.2 ± 0.56	1.88 ± 0.12
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (١٠ KGy)	a	10.6 ± 0.71	1.87 ± 0.18
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (١٠ KGy + فيتامين هـ)	a	11.9 ± 1.10	1.85 ± 0.23
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (٢٠ KGy)	a	11.1 ± 0.44	1.87 ± 0.44
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (٢٠ KGy + فيتامين هـ)	a	12.6 ± 1.81	1.84 ± 0.15
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (٤٠ KGy)	a	11.4 ± 0.94	1.85 ± 0.17
الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (٤٠ KGy + فيتامين هـ)	a	12.62 ± 0.41	1.83 ± 0.35

المتوسطات $\pm$ الخطأ المعياري . عدد الفئران ٦ لكل مجموعة (n = 6)

المتوسطات ذات الحروف المتشابهة متشابهة معنوياً (P < 0.05)

يرجع السبب في ارتفاع مستوى فيتامين هـ في البلازما ولكن هذا الارتفاع لم يرقى إلى درجة معنوية عند تناول الفئران الغذاء المشعع إلى ارتفاع الاستفادة الحيوية من المغذيات كما أوضحت نتائج FER كما في جدول رقم (٣)

وتماشت النتائج الحالية مع نتائج دراسة (Osman et al., 2001) حيث أثبتت الدراسة تحسن كفاءة الغذاء والاستفادة من مكوناته عند المستويات الإشعاعية المختبرة التي انعكست على ارتفاع مستويات البيتا كاروتين والعناصر المعدنية المقدره كذلك أشارت دراسات أخرى (Youssef et al., 1995 ; Rao and Vakil, 1985) إلى أن التغيرات الناتجة من تعريض بعض الحبوب إلى الإشعاع تعمل على تحسين بعض الصفات الطبيعية والكيميائية للمواد الغذائية وعلى النقيض من ذلك فقد أشارت دراسات (Lakritz and Thayer, 1994 ; Al-kahtani et al., 1996) إلى انخفاض مستوى الألفا توكوفيرول عند معاملة المادة الغذائية بالتشعيع وقد أرجع السبب إلى كمية فيتامين هـ المضافة أو المتوفرة في المادة الغذائية قبل التشعيع .

ويعزى انخفاض المركبات البيروكسيدية في بلازما الفئران المتناولة الغذاء المشعع إلى وجود فيتامين هـ كمادة مضادة للأكسدة وان زيادة وجود الفيتامين في البلازما يعمل على تغير مستوى المألون داي الدهيد (Draper and Hadley, 1990) والنتائج عن التشعيع عند الجرعات العالية مثل ٤٠،٢٠ كيلوجراي وبالتالي وجود فيتامين هـ بمعدل (٣٠ ملليجرام/١٠٠ جم عليقة) عمل على كبح الأكسدة الناتجة عن التشعيع وتعويض الفقد الذي قد يحصل في فيتامين هـ من جراء المعالجة الإشعاعية .

كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (El-Wakelin et al., 1995) والتي أكدت عدم وجود أي تأثيرات من الناحية الفسيولوجية عند تغذية حيوانات التجارب لمدة ثمانية أسابيع على البقوليات المعاملة بالتشعيع وذلك عند جرعة قدرها ١٠ كيلوجراي وتماشت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Takamatsu et al., 1995) التي أثبتت أن التدعيم لفيتامين هـ بجرعة مقدارها ٣ ملجم ، ١٠٠ ملجم بالفم يوميا لمدة ست سنوات عمل على رفع مستوى التوكوفيرول الكلي في السيرم ، وانخفاض معدل السيرم من LDL.

كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (El-Deghidly et al., 1996) والتي أكدت الدور الوقائي لفيتامين هـ ضد التأثيرات الضارة التي يحدثها التشيع على الجسم، حيث عمل الفيتامين على خفض مستوى LDL في الدم.

واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Calvin et al., 1998 and Wolf, et al., 1998) في أنه عند إضافة فيتامين هـ يحدث انخفاض في مستوى أكسدة الدهون بالرغم من زيادة الجرعات التشيعية على الأغذية .

كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Sushil et al., 2000) في أن إعطاء فيتامين هـ بجرعة يومية مقدارها ١٠٠ وحدة دولية تعمل على خفض المألون داي الدهيد بنسبة ٢٣ ٪ في الدم.

ثالثاً : تقدير نشاط الإنزيمات الكبدية :

توضح النتائج المدونة في جدول رقم (٥) تأثير تناول الفئران الغذاء المتوازن المشع على جرعات (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) سواء في عدم وجود فيتامين هـ أو عند تناول الجرعة المختبرة من فيتامين هـ (٣٠ ملليجرام / ١٠٠ جم عليقة) على مستويات النشاط الإنزيمي لإنزيمات الكبد مثل السوبرأوكسيد ديسميوتيز وجلوتاثيون بيروكسيديز وجلوتاثيون ريدكتيز والكتاليز (ملليجرام / جم نسيج كبدي) .

١ — مستويات نشاط إنزيم السوبرأوكسيد ديسميوتيز (Superoxide dismutase):

توضح النتائج المدونة في جدول رقم (٥) انخفاض لم يبلغ درجة معنوية في جميع القيم عند تناول الفئران الغذاء المشع بالجرعات الثلاث (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) حيث بلغت القيم $٧٣,١٠ \pm ٠,٦٤$ ، $٧٢,٨٠ \pm ٠,٧٥$ ، $٧٢,٦٨ \pm ٠,٢٣$ ملليجرام / جم نسيج كبدي على التوالي مقارنة مع مستويات النشاط الإنزيمي لكبد فئران المجموعة الضابطة ($٧٣,٩٢ \pm ٠,٨١$ ملليجرام / جم نسيج كبدي) .

أظهرت النتائج من جدول رقم (٥) انخفاض لم يبلغ درجة معنوية لقيم النشاط الإنزيمي لإنزيم السوبر أكسيد ديسميوتيز أن انخفاضاً للقيم جميعها عند اشتراك تناول

جرعة فيتامين هـ المختبرة عند تناول الغذاء المشع بجرعات (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) حيث بلغت القيم $٧٢,٩٣ \pm ٠,٧١$ ، $٧١,١١ \pm ٠,٢٠$ ، $٧١,٠٤ \pm ٠,٦١$ ملليجرام / جم نسيج كبدي على التوالي في مقابل $٧٣,٩٢ \pm ٠,٨١$ ملليجرام / جم نسيج كبدي لنشاط إنزيم السوبر أوكسيد ديسميوتيز في كبد فئران المجموعة الضابطة المتناولة الغذاء المتوازن .

واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Zheng Hui et al., 1996) والتي وجدت انخفاض في نشاط الإنزيمات السوبر أوكسيد ديسميوتيز والكاتاليز والجلوتاثيون بيروكسيداز مع زيادة الجرعات التشعيعية المستخدمة .

كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Atef, 1998) والتي استنتجت أن المعالجة المسبقة بالألفاتوكوفيرول ذات فاعلية في وقاية نشاط الإنزيمات الكبدية (السوبر أوكسيد ديسميوتيز والجلوتاثيون ريد كتيز) والمحافظة على نشاطها في المستوى الطبيعي .

وكذلك اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Hong-Sun et al., 1999) والتي أشارت أنه ليس لجرعات الإشعاع حتى جرعة قدرها ١٠ كيلوجراي تأثير ضار على نشاط الإنزيم السوبر أوكسيد ديسميوتيز .

وتماشت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (العجيان ، ٢٠٠٢م) والتي خلصت نتائجها إلى أن التدعيم بفيتامين هـ عمل على تحسين مستوى نشاط الإنزيمات (السوبر أوكسيد ديسميوتيز ، والجلوتاثيون بيروكسيداز ، والجلوتاثيون ريد كتيز) .

جدول (٥) : تأثير استهلاك العلائق المشعة في وجود وعدم وجود فيتامين هـ على نشاط الإنزيمات الكبدية السوبر أوكسيد ديسميوتيز ، جلوتاثيون بيروكسيديز ، جلوتاثيون ريدكتيز ، والكتاليز .

نشاط الإنزيمات الكبدية ملليجرام / جم نسيج كبدي				القياسات المجاميع التجريبية
الكتاليز	جلوتاثيون ريدكتيز	جلوتاثيون بيروكسيديز	السوبر أوكسيد ديسميوتيز	
a ٠,٢٤ ± ١٢,٤٩	a ٠,٣٣ ± ٨٩,٧٥	a ٠,٨ ± ٩,٦٢	a ٠,٨١ ± ٧٣,٩٢	الغذاء المتوازن (المجموعة الضابطة)
a ٠,٢٧ ± ١٢,١٨	a ٠,١٧ ± ٨٨,٨٤	a ٠,٢١ ± ٩,٦٢	a ٠,٦٤ ± ٧٣,١٠	الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (١٠ KGy)
a ٠,٣٥ ± ١١,٢١	a ٠,٤٢ ± ٨٨,٣٩	a ٠,٢٣ ± ٨,٩٦	a ٠,٧١ ± ٧٢,٩٣	الغذاء المتوازن والمشع (جرعة ١٠ KGy + فيتامين هـ)
a ٠,٢١ ± ١٠,٨٩	a ٠,٣١ ± ٨٧,٤٩	a ٠,٢٢ ± ٧,٧٧	a ٠,٧٥ ± ٧٢,٨٠	الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (٢٠ KGy)
a ٠,٤٠ ± ٩,٩٩	a ٠,٣٥ ± ٨٦,٦٧	a ٠,٤١ ± ٧,٩٢	a ٠,٢٠ ± ٧١,١١	الغذاء المتوازن والمشع (جرعة ٢٠ KGy + فيتامين هـ)
a ٠,٣٤ ± ١٠,٦٦	a ٠,٣٩ ± ٨٧,٢٣	a ٠,٥٣ ± ٨,٢١	a ٠,٢٣ ± ٧٢,٦٨	الغذاء المتوازن والمشع بجرعة (٤٠ KGy)
a ٠,٣٢ ± ٩,٨٦	a ٠,٣٣ ± ٨٦,٣٢	a ٠,٧١ ± ٧,٨٨	a ٠,٦١ ± ٧١,٠٤	الغذاء المتوازن والمشع (جرعة ٤٠ KGy + فيتامين هـ)

المتوسطات ± الخطأ المعياري عدد الفئران ٦ لكل مجموعة (n = 6)

المتوسطات ذات الحروف المتشابهة متشابهة معنوياً (P < 0.05)

٢ — مستويات نشاط إنزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز (Glutathion peroxidase) :

من النتائج المدونة في جدول رقم (٥) نجد أن مستوى نشاط إنزيم جلوتاثيون بيروكسيداز في كبد فئران المجموعة الضابطة المتناولة الغذاء المتوازن بلغ $9,62 \pm 0,8$ ملليجرام / جم نسيج كبدي وأن تناول الفئران الغذاء المتوازن المشع عند ١٠ كيلو جراي لم يؤثر على مستويات النشاط الإنزيمي حيث سجلت القيمة $9,62 \pm 0,21$ ملليجرام / جم نسيج كبدي بينما أدى تناول الفئران للغذاء المشع بزيادة جرعة الإشعاع لتصل (٢٠ و ٤٠ كيلو جراي) إلى انخفاض لم يبلغ درجة معنوية في مستوى نشاط الإنزيم لتسجيل القراءات $7,77 \pm 0,22$ و $8,21 \pm 0,53$ ملليجرام / جم نسيج كبدي على التوالي .

بالنظر لنشاط إنزيم جلوتاثيون بيروكسيداز في كبد الفئران المتناولة الغذاء المشع على المستويات الثلاثة (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠) كيلو جراي في وجود جرعة فيتامين هـ المختبرة جدول رقم (٧) لوحظ انخفاض لم يبلغ درجة معنوية في النشاط الإنزيمي في جميع المجموعات التجريبية وزاد الانخفاض بزيادة الجرعة التشعيعية للغذاء مقارنة مع المجموعة الضابطة ($9,62 \pm 0,8$ ملليجرام / جم نسيج كبدي) وسجلت القراءات $8,96 \pm 0,23$ ، $7,92 \pm 0,41$ ، $7,88 \pm 0,71$ على التوالي للجرعات المتناولة فيتامين هـ مضاد التأكسد كجرعة تدعيميه مع الغذاء المشع على (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) على التوالي .

٣ — مستويات نشاط إنزيم جلوتاثيون ريدكتاز (Glutathione reductase) :

توضح النتائج المدونة في جدول رقم (٥) مستويات إنزيم الجلوتاثيون ريدكتاز في كبد الفئران المتناولة الغذاء المتوازن الذي بلغ $89,75 \pm 0,33$ ملليجرام / جم نسيج كبدي في حين انه عند تناول الفئران للغذاء المتوازن المشع بالجرعات المختبرة عند مستوى (٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) وجدت انخفاضا لم يبلغ درجة معنوية حيث بلغت القيم $87,49 \pm 0,31$ ، $87,23 \pm 0,39$ ملليجرام / جم نسيج كبدي على التوالي لم يؤدي تناول الغذاء المتوازن المشع بجرعة قدرها ١٠ كيلو جراي إلى أي تغير في قيمة نشاط الإنزيم حيث بلغت $88,14 \pm 0,17$ ملليجرام / جم نسيج كبدي . بالنظر لقيم نشاط الإنزيم عند اشتراك تناول جرعة فيتامين هـ التدعيميه المختبرة (٣٠ ملليجرام / ١٠٠ جم عليقة) أوضحت النتائج المدونة في

جدول رقم (٥) انخفاض لم يبلغ درجة معنوية في مستويات النشاط الإنزيمي في الغذاء المدعم بفيتامين هـ والمشع عند جميع درجات التشعيع المختبرة (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) ليسجل القيم $٨٨,٣٩ \pm ٠,٤٢$ ، $٨٦,٦٧ \pm ٠,٣٥$ ، $٨٦,٣٢ \pm ٠,٣٣$ ملليجرام / جم نسيج كبدي على الترتيب في مقابل $٨٩,٧٥ \pm ٠,٣٣$ ملليجرام / جم نسيج كبدي لنشاط إنزيم جلوتاثيون ريدكتيز في كبد فئران المجموعة الضابطة .

٤ - مستويات نشاط إنزيم الكتاليز (Catalase) :

بلغت مستويات نشاط إنزيم الكتاليز في كبد فئران المجموعة الضابطة بالجدول رقم (٥) $١٢,٤٩ \pm ٠,٢٤$ ملليجرام / جم نسيج كبدي بينما أدى تناول فئران المجموعات التجريبية الغذاء المشع بالثلاث مستويات المختبرة (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) إلى خفض مستويات نشاط الإنزيم في جميع هذه العينات لكن الانخفاض لم يبلغ درجة معنوية عند مستوى تشعيع ١٠ كيلو جراي $١٢,١٨ \pm ٠,٢٧$ ملليجرام / جم نسيج كبدي وانخفض مستوى نشاط إنزيم الكتاليز في مجموعات الفئران المتناولة الغذاء المشع بجرعات ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي لكن الانخفاض لم يبلغ درجة معنوية حيث سجلت القيم $١٠,٨٩ \pm ٠,٢١$ و $١٠,٦٦ \pm ٠,٣٤$ ملليجرام نسيج كبدي على التوالي .

ومن النتائج المدونة في جدول (٥) نجد أن تناول الفئران لفيتامين هـ كجرعة تدعيمية مختبرة (٣٠ ملليجرام / ١٠٠ جم عليقة) مضافة للأغذية المشعة على المستويات الثلاثة (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) أدى إلى انخفاض لم يبلغ درجة معنوية لقيم نشاط إنزيم الكتاليز كما لوحظ زيادة الانخفاض بزيادة الجرعة التشعيعية حيث سجلت القيم $١١,٢١ \pm ٠,٣٥$ ، $٩,٩٩ \pm ٠,٤٠$ ، $٩,٨٦ \pm ٠,٣٢$ ملليجرام / جم نسيج كبدي في المجموعات التجريبية المتناولة الغذاء المتوازن المدعم بفيتامين هـ والمشع عند جرعات (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) بالإضافة للجرعة التدعيمية لفيتامين هـ على التوالي .

وتشير نتائج الدراسة إلى انخفاض لم يبلغ درجة معنوية في مستوى نشاط الإنزيمات الكبدية السوبر أكسيد ديسميوتيز والجلوتاثيون بيروكسيداز والجلوتاثيون رديكتيز والكتاليز عند مستوى (٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) سواء في وجود وعدم وجود فيتامين هـ وهذا الانخفاض يدل على حدوث انخفاض مستوى أكسدة الدهون داخل الجسم لأن زيادة مستوى الإنزيمات المضادة للأكسدة دليل على زيادة مستوى الجذور الحرة داخل الجسم وهو ما أكدته دراسة (Xia et al., 1993) .

ومن النتائج نجد أن فيتامين هـ قام بدور مهم جداً في المحافظة على المستوى الطبيعي لنشاط تلك الإنزيمات بالخلايا وذلك بالرغم من زيادة الجرعات التشيعية المستخدمة . لأن الخلايا في وجود فيتامين هـ لا تعتمد على تلك الإنزيمات للتخلص من الأكسدة وتعتمد على تواجد الفيتامين بحماية الأغشية الخلوية .

واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Monahan et al., 1990) والتي تؤكد أن التدعيم الغذائي بالآلفاتوكوفيرول أستيت بجرعة قدرها ٢٠٠ ملجم/كجم عليقة يعمل على خفض معدل أكسدة الدهون داخل الجسم .

وتماشت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Atef, 1998) والتي أكدت أن حقن الفئران بـ ١٣ ملليجرام من الآلفاتوكوفيرول لكل كيلوجرام من وزن الجسم عمل على نقص مستوى فوق أكاسيد الدهون وبالتالي المحافظة على نشاط الأنزيمات الكبدية المضادة للأكسدة : السوبرأوكسيد ديسميوتيز ، والجلوتاثيون بيروكسيداز ، والجلوتاثيون ريدكتيز .

واتفقت كذلك نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (العجيان ، ٢٠٠٢) والتي وجدت انخفاض في مستوى نشاط الأنزيمات الكبدية المضادة للأكسدة : السوبرأوكسيد ديسميوتيز ، والجلوتاثيون بيروكسيداز ، و الجلوتاثيون ريدكتيز وذلك عند تدعيم المتناول الغذائي للفئران بالآلفاتوكوفيرول بجرعة (٣٠ ملجم / ١٠٠ جم من العليقة) .

كذلك اتفقت نتائج الدراسة مع نتائج دراسة (Hong-Sun et al., 1999) التي أكدت أنه ليس لجرعات الإشعاع حتى جرعة قدرها ١٠ كيلوجراي تأثير ضار أو تغير بدرجة معنوية على الإنزيمات المضادة للأكسدة ، الكتاليز ، والسوبرأوكسيد ديسميوتيز ، وعلى مستوى الجلوتاثيون .

وتماشت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Ognjanovic et al., 2003) والتي تؤكد أن المعالجة المسبقة بفيتامين هـ قبل إعطاء الكادميوم بجرعة قدرها (٢٠ وحدة دولية / كجم من وزن الجسم) تعمل على خفض مستوى نشاط الإنزيمات الكتاليز ، الجلوتاثيون رديكتيز ، والسوبر أوكسيديز ديسميوتيز في كرات الدم الحمراء .

وهذا يشير إلى أن فيتامين هـ عمل على إزالة التأثير السمي للكادميوم على نشاط هذه الأنزيمات وفي نفس الوقت على بقاء تركيز نشاط GST في البلازما و GSH في الدم في نفس مستوى قيم المجموعة الضابطة. وهذا يؤكد دور فيتامين هـ الوقائي كمضاد للأكسدة .

كذلك اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Bhor et al., 2004) والتي توصلت إلى أن الزيادة في نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة CAT ، SOD ، GR ، GPX دليل على التكسير الناتج عن وجود الجذور الحرة ، كذلك الزيادة في نشاط SOD و CAT قد يرجع إلى الزيادة في إنتاج H_2O_2 و O_2^- وأن عدم وجود تغير في نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة يدل على الاحتفاظ بمستوى أيض خلوي للـ GSH ونقص العبء التأكسدي داخل الخلايا وهذا يرجع إلى تواجد مستويات كافية من مضادات الأكسدة .

رابعاً: الفحص المجهرى لمقاطع كبد الفئران المتناولة الغذاء المتوازن والغذاء المتوازن المشع بجرعات (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) في وجود وعدم وجود فيتامين هـ :

تحدث في حالات عدم الاتزان الغذائي وحالات التعرض لبعض المواد الكيميائية أو عند تعرض الجسم لجرعات إشعاعية تغيرات واضحة في الكبد لأنه العضو الأكثر حساسية والأكثر تأثراً ، وتظهر التغيرات المرضية على شكل ظهور تغيرات نسيجية سواء على صورة إرتشاحات دهنية أو تحلل للأنسجة . بالنسبة للارتشاحات الدهنية فهي تبدو على صورة ترسبات لقطرات من الدهون بالخلايا الكبدية وعند تحلل وهدم الأنسجة ومع طول الفترة فإن ذلك يؤدي إلى تليف أنسجة الكبد (El-Wakf, 1998 and Turkdogan et al., 2001).

توضح نتائج مقاطع الشرائح التجريبية أن كبد الفئران في المجموعة الضابطة والموضحة في الشكل (١) ذات خلايا كبدية طبيعية المظهر ويتميز النسيج الكبدي بتجانس ظاهري في خلايا النسيج مع تناسق في وحدة اللون .

وبالنظر لشرائح مقطع كبد المجموعات التجريبية المتناولة غذاء متوازن ومدعم اوغير مدعم بفيتامين هـ ومشع بجرعات (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ كيلو جراي) والموضحة في الأشكال من شكل (١) إلى شكل (٧) نجد أن الخلايا الكبدية تتميز بالمظهر الطبيعي مع ظهور تناسق في وحدة اللون وتجانس في الشكل الظاهري للخلايا مقارنة مع المجموعة الضابطة شكل (٥) وعليه لم يتضح أن للتشعيع أو التدعيم بفيتامين هـ تأثير سلبي على النسيج الكبدي .

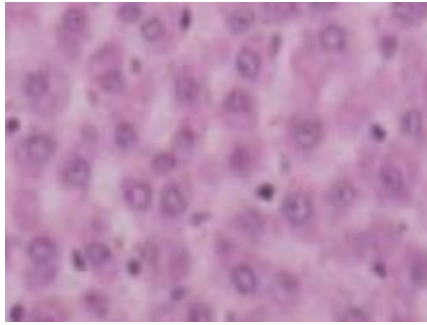
اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسات

(Jacobs et al., 1981 and Dillo et al., 1987)

حيث أوضحت تلك الدراسات أن النسيج الطبيعي للكبد يتميز بتجانس التوزيعات الخلوية وتجانس الخلايا النسيجية كذلك خلوه من التجمعات البنية اللون والارتشاحات بين الخلايا طالما كان الغذاء المتناول متوازناً .

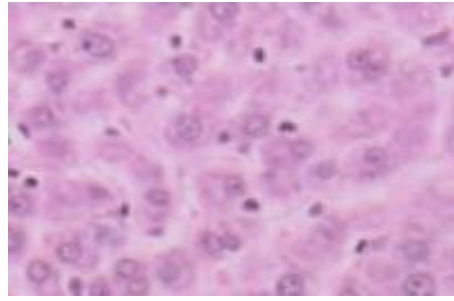
استنتج (Suntres and Shek, 1996) أن المعالجة المسبقة بجرعات من الألفاتوكوفيرول للفئران كانت ذات فاعلية في فرض حماية ملحوظة ضد التغيرات الضارة في كبد الحيوانات حيث أكدا دور الفيتامين كمضاد لهدم أنسجة الكبد والحماية من هدم الخلايا والأنسجة وفقدانها لدورها الوظيفي .

كذلك وجدت دراسة (البدر، ١٩٩٩) و (العجيان ، ٢٠٠٢) تجانس وتحسن ملحوظ في الشكل الظاهري لخلايا النسيج الكبدي مع تناسق في وحدة اللون . وذلك عند تدعيم المتناول الغذائي بالآلفاتوكوفيرول بمعدل (٣٠ ملجرام / ١٠٠ جرام من العليقة) .



شريحة من كبد الفئران في المجموعة المتناولة الغذاء المتوازن توضح تجانس التحبيب في
النسيج الكبدي مع تجانس انتشار اللون.

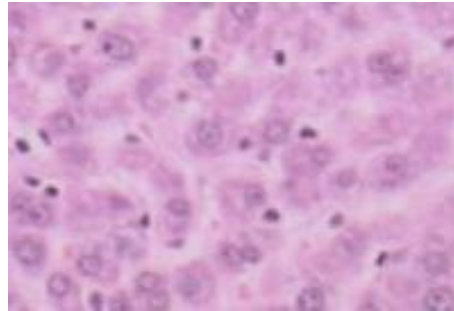
At 300 HP



شكل (٢)

شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن والمعرض لجرعة إشعاعية قدرها ١٠ كيلوجراي .

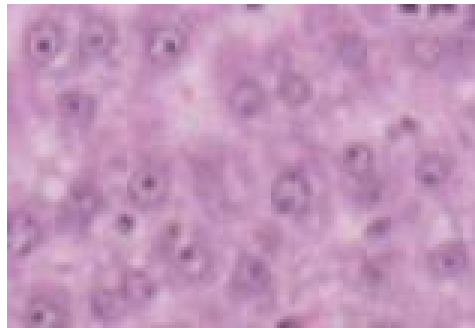
At 300 HP



شكل (٣)

شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن والمعرض لجرعة إشعاعية قدرها ٢٠ كيلوجراي .

At 300 HP

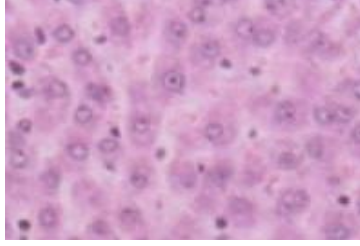


شكل (٤)

شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن والمعرض لجرعة إشعاعية قدرها ٤٠ كيلوجراي .

At 300 HP

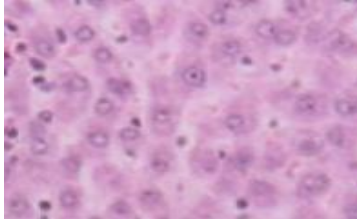
نلاحظ أن في الشرائح الثلاثة تجانس التحبب وتشابه المظهر النسيجي
وتجانس انتشار اللون مقارنة بالشكل (١)



شكل (٥)

شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن ومضاف له فيتامين هـ
والمعرض لجرعة إشعاعية قدرها ١٠ كيلوجراي ومضاف لها فيتامين هـ .

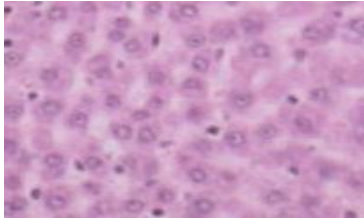
At 300 HP



شكل (٦)

شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن ومضاف له فيتامين هـ
والمعرض لجرعة إشعاعية قدرها ٢٠ كيلوجراي ومضاف لها فيتامين هـ .

At 300 HP



شكل (٧)

شريحة من كبد الفئران للمجموعة المتناولة الغذاء المتوازن ومضاف له فيتامين هـ
والمعرض لجرعة إشعاعية قدرها ٤٠ كيلوجراي ومضاف لها فيتامين هـ .

At 300 HP

لاحظ أن في الشرائح الثلاثة تجانس التحبب وتشابه المظهر النسيجي
وتجانس انتشار اللون مقارنة بالشكل (١)

الباب الخامس

الاستنتاجات Conclusion

بناء على ما جاء في الدراسة الحالية نستنتج ما يلي :

١. يحدث التشعيع تحسن في خواص الغذاء مما يؤدي إلى زيادة معدل الاستفادة من المتناول الغذائي حيث انعكس ذلك على كفاءة استخدام الغذاء .
٢. ارتفاع مستوى فيتامين هـ مع انخفاض مستوى المألون داي الدهيد في البلازما يؤكد دور فيتامين هـ الواقى كمضاد للأكسدة فعال .
٣. وجود فيتامين هـ قام بالمحافظة على مستوى نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة الكتاليز والجلوتاثيون ريدكتيز والجلوتاثيون بيروكسيديز والسوبر أوكسيد ديسميوتيز ، أي أن وجوده في الطعام أنهى دور تلك الإنزيمات كمضادة للأكسدة .
٤. استخدام التشعيع للأغذية حتى جرعة ٤٠ كيلوجراي ، مع إضافة فيتامين هـ ، وجد أنه لم يحدث أي تأثيرات سلبية على النسيج الكبدي كحدوث ارتشاحات أو تجمعات دهنية أو هدم لخلايا الكبد مقارنة بالمجموعة الضابطة .
٥. المعاملة الإشعاعية بجرعة قدرها ١٠ كيلوجراي لم تحدث تغيراً بدرجة معنوية على كفاءة استخدام الغذاء وعلى مستوى فيتامين هـ والمألون داي الدهيد وعلى مستوى نشاط الإنزيمات الكبدية المدروسة .
٦. زيادة الجرعات التشعيعية المستخدمة حتى جرعة ٤٠ كيلوجراي ليس لها تأثير سلبي على دور فيتامين هـ كعامل مضاد للأكسدة .

التوصيات Recommendation

- توصي الدراسة الحالية بناءً على نتائجها بما يلي :
- ١ - إجراء المزيد من الدراسات حول تأثير التشعيع على خواص ومكونات الغذاء ونشاط الإنزيمات الكبدية الأخرى وخصوصاً الدراسات الكيمونسيجية للإنزيمات الكبدية .
 - ٢ - أهمية تناول مضادات الأكسدة وخاصة فيتامين هـ ، لدوره الوقائي ضد حدوث عمليات الأكسدة داخل الخلايا وبالتالي حماية الجسم .
 - ٣ - أهمية التنقيف الغذائي ، ونشر الوعي حول استخدام التشعيع كطريقة من الطرق الآمنة لمعالجة الغذاء .

المراجع References

أولاً: المراجع العربية

- ١ - البدر ، نوال عبدالله . ١٩٩٩ م . تأثير تناول فيتامين هـ ، جـ على مكونات دهون الدم والكبد لتقليل حالة تصلب الشرايين في الفئران ص ٥٩ ، ٦٥ ، ٦٦ ، رسالة لنيل درجة الدكتوراه في فلسفة الإقتصاد المنزلي، تخصص تغذية وعلوم الأطعمة - الرئاسة العامة لتعليم البنات - كلية التربية للاقتصاد المنزلي والتربية الفنية ، الرياض ، المملكة العربية السعودية .
- ٢ - الجويد ، حنان محمد زيد . ٢٠٠٠ م . التقييم الغذائي والحيوي لبذور الماش المعالجة بالتشعيع والسلق . ص ٥٠ ، رسالة لنيل درجة الماجستير في العلوم ، تخصص علوم الأغذية ، كلية الزراعة ، جامعة الملك سعود ، المملكة العربية السعودية .
- ٣ - العجيان ، منى عجيان . ٢٠٠٢ م . تأثير تناول الفئران مضادات الأكسدة لزيادة مقاومة الكبد للتسمم البكتيري . ص ٦٣ ، ٦٤ ، رسالة لنيل درجة الدكتوراه في فلسفة الاقتصاد المنزلي، تخصص تغذية وعلوم الأطعمة ، وزارة المعارف ، كلية التربية للاقتصاد المنزلي والتربية الفنية . الرياض ، المملكة العربية السعودية .
- ٤ - القحطاني ، حسن عبد الله . ٢٠٠٢ م . تشعيع الأغذية لا يجعلها مشعة . عالم الغذاء، العدد (٥) ، ص ٢٩ .
- ٥ - متلقيتو ، فايز عبد الحميد سليمان . ١٤١٨ هـ . تأثير التسخين في فرن الموجات الدقيقة (الميكرويف) على ثبات بعض الزيوت والدهون . ص ١٥ ، رسالة لنيل درجة الماجستير في العلوم ، تخصص علوم الأغذية ، كلية الزراعة ، جامعة الملك سعود ، المملكة العربية السعودية .
- ٦ - الناصر ، محمد علي عبد العزيز . ١٤١٩ هـ . الكشف على الدجاج المبرد المشع وتقدير الجرعات الإشعاعية الممتصة في العظام أثناء التخزين باستخدام طريقة الطنين الدوراني الإلكتروني . ص ٢ ، رسالة لنيل درجة الماجستير في العلوم ، تخصص علوم الأغذية ، كلية الزراعة ، جامعة الملك سعود ، المملكة العربية السعودية .

- Aebi, H. (1984) Catalase. In H. U. Bergmeyer (Ed), Methods in enzymatic analysis (Volum III pp. 278-282). Weinhiem, Germany : Verlag Chemie.
- Al-Kahtani, H., Abu-Tarboush, H., Bajaber, A. Atia, M., Abou-Arab, A., and El-Mojaddidi, M. (1996) Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in Tilapia and Spanish Mackerel. J. Food Sci., 61 (4) : 729-733.
- Arthur, J. R., and Boyne, R. (1985) Superoxide dismutase assay. Life Science, 36 (16) : 1569-1575.
- Atef, A. (1998) Effect of pretreatment with α -tocopherol on the endotoxin induced liver toxicity. The Egyptian Biochemistry J. 16 (1) : 146-165.
- Barber, D. and Harris, S. (1994) Oxygen free radicals and antioxidants. A review. Am. Phar., 34 (9) : 26-35.
- Barjade Quiroga, G., Gil, P., and Lopeztorres, M. (1988) Physiologic significance of catalase and glutathion peroxidase in vivo peroxidation in selected tissues of the toad *Discoglossus pietus* (amphibia) during acclimation to normobaric hyperoxics. J. comp. Physiol. B. 158 : 583-590.
- Bashir, A.; Perham, R. N.; Scrutton, N. S. and Berry, A. (1995) Altering Kinetic mechanism and enzyme stability by mutagenesis of the dimer interface of glutathione reductase. Biochem.J. 312 : 527-53 Ursini, F.; Maiorino, M.; Brigelins-Floh'e, R.; Aumann, K. D. Roveri, A.; Schomburg, D. and Floh'e, L. (1995) Meth. In Enzymol. 252 : 38-53.
- Bhor, V. M., Raghuram, N., and Sivakami, S. (2004) Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin-induced diabetic rats. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 36 : 89-97.
- Brown, N., Bron, A., Harding, J., and Dewar, H. (1998) Nutrition supplements and the eye. Eye, 12 (1) : 127-133.
- Buckley, D., Morrissey, P., and Gray, J. (1995) Influence of Dietary vitamin E on the oxidative stability and Quality of pig meat. J. ANIM. SCI., 73: 3122-3130.
- Calvin, K., Morrissey, P., and Buckley, D. (1988) Effect of dietary α -tocopherol supplementation and gamma-irradiation on α -tocopherol retention and lipid oxidation in cooked minced chicken. Food Chem., 62 (2) : 185-190.
- Canturk, N. Z., Canturk, Z., Utkan, N. Z., Yenisey, C., Ozbilim, G., Geleu, T., and Yalman, Y. (1999) The protective effect of vitamin E on gastric mucosal

injury in rats with cirrhosis of liver Chines Medical J., 112 (1) : 56-60.

Clerc, M. (1992) Antioxidant and/ or Free radical scavenger vitamins in tropical Medicine. Bull. Acad. Natl. Med., 176 (9) : 1393-1406.

Coldberg, M. and Spooner, R. J. (1983) In Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. V. Ed) Verlag. Chem. Deerfield beach, FL. 3rd ed 3 : 258-265.

Deisseroth, A. and Dounce, A. L. (1970) Catalase : Physical and Chemical Properties, Mechanism of Catalysis, and Physiological Role, Physiol. Rev. 50: 319

Devaraj, S., and Jialal, I. (1996) The Effects of alpha tocopherol supplementation on monocyte function decreased lipid oxidation, interleukin-1B secretion and Monocyte Adhesion to Endothelium. The Am. Soc. for Clin. Invest., 98 (3) : 756-763.

Dillo, C., Delboccio, G., Aceto, A., and Federdici, G. (1987) Alteration of glutathione transferase isoenzymes concentration in human renal carcinoma carcinogenesis, 8 : 861-864.

Doyle, M. E. (1999) Food Irradiation Briefings. American Food Research Institute, 610-613.

Draper, H. H., and Hadley, M. (1990) Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Meth. Enzymol. 421-431

Drury, R. A. B., and Wallington, E. A. (1980) Carleton's histological Techniques 5th ed. Oxford Uni. Press. 140-147.

Drury, R. A., and Wallington, E. (1980) Carleton's Histological Techniques 5th ed Oxford Uni. Press, 140-147.

El-Deghidry, E. A. M., Roushdy, H., Zeher, M., and Soliman, S. (1996) Prophylactic role of vitamin E against radiation injury in lipid pattern as affected by dietary fats intake in mice. Journal of the Egyptian German Society of Zoology, 19 : (A) 243-260.

El-Khatib, K. M. (1997) Biologically active free radicals and their scavengers : A review, Saudi Pharmac. J., 5 (2-3):79-89.

El-Samahy S. K., Youssef, B. M., Askar, A. A., and Swailam H. M. M. (2000) Microbiological and chemical properties of irradiated mango. Food Safety J. 20 (3) : 139-156.

El-Wakeil, F. A., Sharabash, M. T. M., Diaa-El-Din, M., Farag, H., and Mahrous, S. R. (1995) Biological and Physiological changes in rats fed some raw and irradiated Legumes. Egypt. J. Rad. Sci. Applic. 8 (1) : 103-119.

- El-Wakf, A. M. (1998) Modalation of promobenzenc induced hepatotoxicity in rats by post toxicant with glutathion. J. Egypt. Ger. Soc. Z001, 27 (1) : 99-111.
- Esterbauer, H., and Cheesman, K. H. (1990) Determination of aldehydic lipid peroxidation products : Malonaldehyde and 4-hydrooxynonenal. Methods in Enzymology, 186 : 407-421.
- Farag, H. and Diaa-El-Din, M. (1990) Upgrading whole someness of soybeans through radiation deactivation of toxic lectin content. Egypt. Rad. Applic. 7 (1-2) : 99-112.
- Gutteridge, G. M. C. (1995) Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin. Chem., (41) : 1819-1828.
- Hong-Sun-Yook, Seung-Ai Kim, Young-Jin Chung, Jong-Goon Kim, Cha-Kwon Chung, and Myung-Woo Byun (1999) Effect of Gamma Irradiation on lipid Components, Antioxidative Enzyme Activities and α -Tocopherol in Beef. Korean J. Food Sci. Tech., 31 (1) : 252-256.
- Jacobs, M. M., Forst, C. F., and Beams, F. A. (1981) Biochemical and clinical effects of selenium on dimethyl hydrazine-inducel colon cancer in rats. Cancer Res., 41 : 4458-4465.
- Jun, Y. P., Kyeong, N., Kyeong, E., and Jae, S. Y. (2000) Detection of irradiated beef and pork by DNA comet assay. Korean Society of Food Science and Nutrition J., 29 (6) : 1025–1029.
- King, L. T., Liyu, T., Paichin, S., Lee K. T., Tsai, L. Y., and Sheen, P. C. (1998) Effect of vitamin E topical hypothermia and steriod on ischemic liver in rats. Kaohsiung. J. of Med. Sci., 14 (1) : 6-12.
- Lakritz, L., and Thayer, D. W. (1994) Effect of Gamma Radiation on Total Tocopherols in Fresh Chicken Breast Muscle. Meat. Sci., 37 : 439-448.
- Mahrous, S. R. (1992) Effect of some treatment on some toxic compounds present in food, PhD. Thesis, Agriculture Colleges , Cairo Univ. Egypt.
- Mates, J., Cristina Perez-Gomez, and Ignacio Nurez de castro (1999) Antioxidant enzymes and Human diseases. Clin. Biochem., 32 (8) : 595-603.
- Monahan, F., Buckley, D., Morrissey, P., Lynech, P., and Gray, J. (1990) Effect of dietary α -tocopherol supplementation on α -tocopherol levels in porcine tissues and on susceptibility to lipid peroxidation. Food Sci. Nutr., 42 (F) : 203.

- Nardini, M., Scaceini, C., D'Aquino, M., Benedetti, P. C., Difelice, M., and Tomassi, G. (1993) Lipid peroxidation in liver microsomes of rats fed soybean, olive and coconut oil. *J. Nutr. Biochem.*, 4 : 39-44,
- Ognjanovic, B. I., Pavlovic, S. Z., Maletic, S. D. Zikic, R. V., Stajn, A. S., Radojicic, R. M., Saicic, Z. S., and Petrovic, V. M. (2003) Protective Influence of vitamin E on Antioxidant Defense system in the Blood of rats treated with Cadmium. *Physiol. Res.* 52 : 563-570.
- Osman, A., Soheir, A., Rashad, A., Abu-Ghadeer, M., Kholeif, T., and Ammax, A. (2001b) Impairment of lipid and carbohydrate Metabolism induced by Gamma-Irradiation in rats : Role of Garlic oil in the repair Mechanism.
- Pasha, H. C. (1997) Antioxidant vitamins and cardiovascular disease. *Journal of Saudi Heart Ass.*, 9 (1) : 1-4.
- Rao, V. S. and Vakil, U. K. (1985) Effect of gamma radiation on cooking quality and sensory attributes of four legumes. *J. of Food Science* 50 (3).
- Reeves, P. G., Nielson, F. H., and Fahey Jr, G. C. (1993) (AIN 93) Purified diets for laboratory rodents. Final report of the American Institute of Nutrition Purified Ad HOC writing committee on reformulation of the AIN-76 A rodent diet. *American Institute Nutr. J.*, 1939-1951.
- Rhys Williams, and A. T. (1985) Simultaneous determination of serum vitamin A and E by liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromating.*, p. 141-198.
- Rosent, G. M., Pou, S., Ramos, C. L., Chohen, M. S., and Britigan, B. E. (1995) Free radicals and phagocytic cells. *FASEB. J.*, 9 : 200-209.
- SAS. (1990) 8th ed. User's Guides Statistics. SAS Institute., North Carolina.
- Shaheen, A. A. and Hassan, S. H. (1994) Role of vitamin A in modulating the radiation-induced change in intestinal disaccharidases of rats exposed to multifractionated gamma radiation. *Strahlenther-Onced.*, 170 (8) : 467-470.
- Sharma, N., Desigen, B., Gghosh, S., Sanyal, S. N., Ganguly, N. K. and Mgiumar, S. (1999) Effect of antioxidant vitamin E as a protective, factor in experimental atherosclerosis in Rhesue monkeys. *Ann. Of Nut. And Metab.*, J., 43 (3) : 181-190.
- Sheehy, P., Morrissey, P. and Buckley, D. (1995) Advances in research and application of vitamin E as an antioxidant for poultry meat. *PROC. 12th EUR. SYMP.*, 425-436.
- Sheehy, P., Morrissey, P., and Flynn, A. (1994) Consumption of theramally-oxidized sunflower oil by chicks reduces α -tocopherol satus and increase susceptibility of tissue to lipid oxidation. *Brit. J. Nutr.*, 71 : 53-65.

- Sies, H., Stahl, W., and Sunquist, A. (1992) Antioxidant functions of vitamins. ANN. N. Y. ACAD. Sci., 30 : 7-20.
- Smith, T. L., and Kummerow, F. A. (1989) Effect of dietary vitamin E on plasma lipids and atherogenesis in restricted ovulator chicken S. J. Atherosclerosis, 75: 105-109.
- Stallings, W. (1984) Three-Dimensional Structure of Iron Superoxide Dismutase: Kinenetics and Structural Comparisons with Cu/Zn Dismutase.Oxygen Radicals in Chemistry and Biology. Walter de Gruyter and CO. Berlin,779-792.
- Steel, R. G., and Torrie, J. H. (1980) Priciples and procedures of statistics : A Biometrical Approach.second Edition. McGraw Hill, New York.
- Steinbeing, D. (1992) Antioxidants in the prevention of human, at heroscerosis summary of proceedings of National heart, lung and Blood Institute, work shop. Circulation, 85 : 1237-2344.
- Suntres, Z. E. and Shek, P. N. (1996) α -tocopherol liposomes alleviate LPS-induced hepatoxicities. J. Endotoxian Recrch, 3 (6) : 505-512.
- Sushil, K.; Jain; Robert McVIE and Tiney Smith (2000) Vitamin E Supplementation Restores glutathione and malondialdehyde to normal concentration in Erthrocytes of Type 1 diabetic children. Diabetes care, 23 (9) : 1389-1394.
- Takamatsu, S., Takamatsu, M., Satoh, K., Imaizumi, T., Yoshida, H., Hiramoto, M., Koyama, M., Ohgushi, Y., and Mizun, S. (1995) Effect on heart of dietary supplementation with 100 gm of tocopheryl acetate, diary for 6 years. the J. of international Med. Res., 23 : 342-357.
- Tribble, D. L., Krauss, R. M., Chu, B. M., Gong, E. L., Kullgren, B. R., Nagy, J. O., and LaBelle, M. (2000) Increased low density liprotein degradation in aorta of irradiated mice is inhibited by preenrichent of low density lipoprtein with alpha tocopherol. Lipid Res. J., 41(10): 16666-16728.
- Turkodgan, M. K., Agaoglu, Z., Yener, Z., Sekeroglu, R., Akkan, H. A., and Avcl, M. E. (2001) The role of antioxidant vitamins (C and E), Selenium and Nigella saliva in the prevention of liver fibrosis and cirrhosis in Rabbits : New Hopes. Dtsch. Tierarztl. Wschr, 108 : 71-73.
- Vacca, R. A. ; Maru, E.; Passarella, S.; Petragallo,V. A. and Greco, M. (1996) Increase in cytosolic and mitochondrial protein synthesis in rats hepatocytes irradiated in Vitro. J. Thotochem.Photobio.B:biology., (34) : 172-202.

- Willett, W. C. (1990) Vitamin A and lung cancer. *Nutr. Rev.*, 48 (5) : 201– 211.
- Wolf, R., Wolf, D. and Ruocco, V. (1998) Vitamin E the radical protector. *Eur. Acad. Dermatol. Venereol. J.*, 10 (2) : 103-117.
- World Health Organization. (1988) Food Irradiation. A technique for preserving and improving the safety of food. Geneva, 34.
- Xia, E., Roa, G., Remmen, H. V. Heydari, A. R., and Richardson, A. (1993) Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male fisher 344 rats are altered by food restriction. *J. Nutr.*, 125 : 195-201.
- Yamamoto, K., Fukuda, N., Shiroj, S., Shiotsuki, Y., Nagata, Y., Tani, T., and Sakai, T. (1995) Effect of dietary antioxidants on the susceptibility to hepatic microsomal lipid peroxidation in the rat. *Ann. Nutr. Metab.*, 39 : 99-106.
- Youssef, B. M., El-Shamhy, S. K., and Swailam, H. M. M. (1995) Microbiological and Technological quality of corn and faba bean affected by varying levels of Gamma Irradiation. *Egypt. J. Rad. Sci. Applic. Vol. 8 (1) : 121-136.*
- Zamocky, M. and Koller, F. (1999) Understanding the Structure and Function of Catalase: clues from Molecular Evolution and in Vitro Mutagenesis, *prog. Biophys. Mol. Biol.*, 72 : 19-66.
- Zheng Hui, Zhao Naikum, and Zhan Rong (1996) Effect of ionizing radiation on bio-oxidase activities in cytoplasm of mouse blood and liver cells. *Chinese J. Rad. Med. and protec.*, 16 (30) : 179-182.