تأثير البيوتين (B_7) في بعض مستويات مضادات الأكسدة (غير الأنزيمية) والمعالجة البيروكسيدية للدهن في أمصال دم وأكباد ذكور الأرانب المحلية المعرضة للإجهاد التأكسدي بفعل فوق أوكسيد الهيدروجين

نور عبد الواحد الصالح[1] ومنى حسين جانكير[2] ومنتهى محمود القطان[3]
قسم علوم الحياة ــ كلية العلوم ــ جامعة الموصل ــ العراق

تاريخ الإيداع 2012/05/03
قبل للنشر في 2012/11/05

الملخص

هدفت الدراسة الحالية إلى معرفة قدرة البيوتين على الحماية من الإجهاد التأكسدي المحدث بفوق أوكسيد الهيدروجين (الماء الأوكسجيني) H_2O_2 بتركيز 1 % المستهلك في ماء الشرب من قبل ذكور الأرانب المحلية. استخدم في هذه الدراسة 40 ذكراً من الأرانب المحلية بعمر 7 – 8 أشهر، قسمت عشوائياً إلى أربع مجموعات، بواقع 10 أرانب لكل مجموعة وكانت على التوالي المجموعة الأولى: أُعطيت علفاً قياسياً وماءً اعتيادياً وعُدّت المجموعة القياسية، المجموعة الثانية: أُعطيت علفاً قياسياً وماءً مضافاً إليه فوق أوكسيد الهيدروجين بتركيز 1%، المجموعة الثالثة: أُعطيت علفاً قياسياً مع تجريعها بالبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغم من وزن الجسم، المجموعة الرابعة: أُعطيت علفاً قياسياً وماءً مضافاً إليه فوق أوكسيد الهيدروجين بتركيز 1% مع تجريعها بالبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/ كغ من وزن الجسم، وعوملت هذه المجاميع يومياً مدة 8 أسابيع.

أظهرت نتائج المعاملة بفوق أوكسيد الهيدروجين (العامل المؤكسد) انخفاضاً معنوياً في تركيز كل من البروتين الكلي، والألبومين، والغلوبيولين، في حين أظهرت ارتفاعاً معنوياً في تركيز حمض البول في مصل دم ذكور الأرانب المعاملة مقارنة بالمجموعة القياسية، كما أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في تركيز الغلوتاثيون GSH الذي يؤدي دوراً مضاداً للأكسدة، ورافق ذلك ارتفاع معنوي في تركيز المالون ثنائي الألدهيد MDA في مصل الدم ونسيج الكبد في الأرانب المعاملة بفوق أوكسيد الهيدروجين مقارنة بالمجموعة القياسية، مما يدل على قابلية فوق أوكسيد الهيدروجين في إحداث الإجهاد التأكسدي في ذكور الأرانب.

كما أظهرت النتائج أن معاملة الأرانب بالبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/ كغ من وزن الجسم سبب ارتفاعاً معنوياً في تركيز كل من البروتين الكلي، والألبومين، والغلوبيولين وانخفاضاً معنوياً في تركيز حمض البول في مصل الدم، وأظهرت ارتفاعاً معنوياً في تركيز الغلوتاثيون GSH ورافق ذلك انخفاض معنوي في تركيز المالون ثنائي الألدهيد MDA في مصل الدم ونسيج الكبد في الأرانب المعاملة مقارنة بالمجموعة القياسية. تشير هذه النتائج إلى أن للبيوتين تأثيراً مضاداً للأكسدة المحدثة بوساطة فوق أوكسيد الهيدروجين.

الكلمات المفتاحية: البيوتين، فوق أوكسيد الهيدروجين، الغلوتاثيون، المالون ثنائي الألدهيد، الألبومين.

[1]طالب، [2] الأستاذ المشرف، [3] الأستاذ المشرف المشارك.

The Effect of Biotin (B_7) on the Level of Some Non-enzymatic Antioxidants and Lipid Peroxidation in Blood Serums and Livers of Local Male Rabbits Exposed to Oxidative Stress by Hydrogen Peroxide

N. A. W. Al-Salih[(1)], M. H. Jankeer[(2)]; and M.M. Al-Kattan[(3)]

Department of Biology, Faculty of Sciences, Mousl University, Iraq

Received 03/05/2012
Accepted 05/11/2012

ABSTRACT

The present study aimed to investigate the capacity of biotin in preventing oxidative stress induced by hydrogen peroxide H_2O_2 at a concentration of 1% given with consumed drinking water to local male rabbits. 40 male rabbits aged 7-8 months, were used in this study and were divided randomly into four groups, with 10 rabbits within group, as follow: the first group was given standard forage and normal water and considered as control, the second group was given standard forage and 1% H_2O_2 in water, the third group was given standard forage and 200 mg biotin /kg body weight in water, the fourth group was given standard forage, 1% H_2O_2 and 200 mg biotin /kg body weight in water. All groups were treated daily for 8 weeks.

The results showed that the treatment with H_2O_2 caused a significant decrease in the concentrations of each total protein, albumin, and globulin, but significant increase in uric acid concentration in blood serum of the treated rabbits was shown compared with the control group. The result also showed a significant decrease in Glutathione (GSH) concentration, associated with a significant increase in Malondialdehyde (MDA) concentration in blood serum and liver tissue of the treated rabbits with H_2O_2 compared with control the group. The above changes indicate the ability of H_2O_2 to induce the oxidative stress in male rabbits.

The results also showed that the treated rabbits with a dose of 200 mg biotin/kg evoked a significant increase in the concentrations of each total protein, albumin, and globulin. A significant decrease in uric acid concentration in blood serum and a significant increase in GSH concentration were showed. This was associated with a significant decline in MDA concentration in blood serum and liver tissue of the treated rabbits compared with the control group. These results indicate that biotin has a protective effect against oxidative stress induced by hydrogen peroxide.

Keywords: Biotin, Hydrogen peroxide, Glutathione, Malondialdhyde, Albumin.

[(1)]Student, [(2)] Superviser, [(3)] Associated superviser.

المقدمة

اهتم العديد من الباحثين في مجال الصحة العامة والتغذية بدراسة الأهمية البايولوجية للفيتامينات بأنواعها كلّها لما لها من أهمية في ديمومة حياة الكائنات الحية (Gronder and De, 2004). وتعدُّ الفيتامينات مركبات عضوية يحتاج إليها الجسم بكميات زهيدة في غذائه للمحافظة على صحته والوقاية من الأمراض المرتبطة بها، لذا فمن الضروري وجودها في الغذاء المتناول (Bender, 2003). وللفيتامينات دور مهم في عمليات البناء، والنمو، وتنظيم العمليات الحيوية، إذ يدخل بعضها في تركيب العديد من المركبات المهمة، مثل مرافقات الأنزيمات التي تعمل كعوامل ناقلة في تفاعلات التنفس الخلوي، في حين يعمل بعضها الآخر في الحفاظ على التراكيب الجسمية مثل الأنسجة الظهارية والضامة والغضروفية والعظمية (Murray *et al*., 2003).

تؤدي بعض الفيتامينات المحضرة صناعيا دوراً واقياً ضد عمليات الأكسدة المحدثة بالجذور الحرة (McDonald *et al*., 1973)، التي لها القدرة على إلحاق الأذى بالجزيئات الحيوية في الخلية ولاسيّما البروتينات، والدهون، والكاربوهيدرات والحموض النووية (Stahl and Sies, 1997). ويعدُّ الأذى المحدث بالجذور الحرة ذا أهمية كبيرة في زيادة تكون هذه الجذور، وفي سلسلة من التفاعلات التي تؤدي إلى تحطيم الجزيئات الحيوية في الخلية (Cheng *et al*., 2002). وتؤدي زيادة الجذور الحرة في الجسم إلى حالة تعرف بالإجهاد التأكسدي Oxidative Stress، وهو خلل أو اضطراب في التوازن بين مضادات الأكسدة وجذور الأوكسجين الحرة في الأنسجة الحية (Halliwell, 1997). لذا تقسم مضادات الأكسدة إلى نوعين وهما: مضادات الأكسدة الأنزيمية ومضادات الأكسدة غير الأنزيمية. وتقسم مضادات الأكسدة غير الأنزيمية إلى مضادات الأكسدة الغذائية (خارجية المنشأ) التي تضم العديد من الفيتامينات والمعادن الموجودة بشكل كبير في الأغذية، ومن أهمها فيتامين E، وفيتامين A، وفيتامين C، ومجموعة فيتامينات B ولاسيّما فيتامين البيوتين B_7 (أوفيتامين H) الذي يؤدي دوراً مهماً في القضاء على الجذور الحرة في الأغشية الخلوية قبل أن تتمكن هذه الجذور من إحداث تأثيرها (Combs, 2008). أما المعادن فتضم المنغنيز والسيلينيوم والنحاس والزنك. أمَّا القسم الثاني من مضادات الأكسدة غير الأنزيمية فتضم مضادات الأكسدة اللاغذائية (داخلية المنشأ) التي تنشأ من داخل الجسم، مثل البومين المصل، والبيليروبين (الأصبغة الصفراوية)، وكذلك الغلوتاثيون الذي يعمل كمادة أساس للعديد من مضادات الأكسدة الأنزيمية (Suleyman *et al*., 2003).

يعمل فيتامين البيوتين B_7 كمرافق أنزيمي للعديد من العمليات الاستقلابية التي تحدث في الجسم، فهو يؤدي دوراً مهماً في عملية نقل مجموعة ثنائي أوكسيد الكربون CO_2 وتثبيتها، وفي استقلاب الدهون، والبروتينات، واستحداث السكر Gluconeogenesis،

وغيرها من الفعاليات الحيوية التي تحدث في الجسم. كما يعمل البيوتين مضاداً للأكسدة إذ يقوم بكبح تأثير العديد من الجذور الحرة التي تتشكل داخل جسم الكائن الحي بصورة طبيعية (Holmberg *et al.*, 2005). ويؤدي نقصه إلى تجفاف والتهابات الأغشية المخاطية المختلفة والجلد (Murray *et al.*, 2003). يوجد البيوتين في أنواع مختلفة من الأغذية مثل العسل الملكي، وخميرة الكحول، والخضراوات كالطماطة والقرنبيط واللهانة، ومن الفواكه كالموز والشليك، وكذلك المكسرات مثل الجوز واللوز وفستق الحقل، كما يوجد في الحبوب مثل الحنطة، فضلاً عن المصادر الحيوانية كاللحوم وخاصة الكبد والكلية، و في سمك السلمون وفي الحليب ومشتقاته وصفار البيض (Combs, 2008).

هدفت الدراسة الحالية إلى معرفة قدرة البيوتين في الحماية من الإجهاد التأكسدي المحدث بفوق أوكسيد الهيدروجين بتركيز 1% في ذكور الأرانب المحلية.

مواد البحث وطرائقه

المواد المستخدمة في الدراسة

استخدم في هذه الدراسة البيوتين الصيني المنشأ، وقد حُصل عليه من الشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية في نينوى. كما استخدم فوق أوكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 50 % المصنع من قبل شركة Lab Tech الهندية وحُصل عليه من مذخر الفاتح للأدوية والمستلزمات الطبية في محافظة نينوى.

الحيوانات المستخدمة

تهيئة الحيوانات

استخدم في هذه الدراسة 40 ذكراً من الأرانب المحلية *Oryctolagus cuniculus*، بعمر (7-8) أشهر وبوزن (1250 - 1500) غم، اشتُريت من الأسواق المحلية بحالة جيدة، ورُبيت في أقفاص مصنوعة من الألمنيوم معدة لهذا الغرض، بدرجة حرارة تراوح بين 25 – 28°م، ومدة إضاءة 14 ساعة ضوء و10 ساعات ظلام (إضاءة طبيعية) وفي ظروف تهوية جيدة، وغذيت الحيوانات على علف قياسي (مركز) للأرانب باستخدام أوانٍ مصنوعة من الألمنيوم بكميات متساوية وبتسلسل ثابت للمعاملات جميعها، أما الماء فقد قُدِّم للأرانب باستخدام أوانٍ مصنوعة من الألمنيوم سعة نصف لتر المثبتة في القفص لمنع انسكاب الماء. وقد أُخضعت الحيوانات لمدة تأقلم مع الظروف الجديدة مدتها أسبوع قبل القيام بأية خطوات تجريبية.

تصميم التجربة

قُسِّمت الأرانب عشوائياً إلى أربع مجموعات (10 أرانب/ مجموعة)، وبعد انتهاء المدة التحضيرية بدأت معاملة الأرانب يومياً مدة 8 أسابيع، وعوملت خلالها الأرانب وفق ما يأتي:

1. المجموعة القياسية

عُوملت هذه المجموعة بإعطائها علفاً قياسياً مع ماء اعتيادي، مدة 8 أسابيع، وكان متوسط الوزن الأبتدائي لهذه المجموعة مساوياً 1260 غ/ أرنب.

2. مجموعة زودت بـ H_2O_2

عُوملت هذه المجموعة بإعطائها علفاً قياسياً مع ماء مضافاً إليه H_2O_2 بتركيز 1%، مدة 8 أسابيع (عبد الرحمن;1995 القطان وآخرون، 2007)، وكان متوسط الوزن الابتدائي لهذه المجموعة مساوياً 1305 غ/ أرنب.

3. مجموعة زودت بفيتامين البيوتين

عُوملت هذه المجموعة بإعطائها علفاً قياسياً مع تجريعها بيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم، مدة 8 أسابيع، وكان متوسط الوزن الابتدائي لهذه المجموعة مساوياً 1330 غ/ أرنب.

4. مجموعة زودت بـ H_2O_2 والبيوتين

عُوملت هذه المجموعة بإعطائها علفاً قياسياً مع ماء مضافاً إليه H_2O_2 بتركيز 1% وتجريعها بيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم، مدة 8 أسابيع، وكان متوسط الوزن الابتدائي لهذه المجموعة مساوياً1305 غ/ أرنب.

ملاحظة: أُعطيت جرعات للأرانب التابعة للمجموعة القياسية الماء المقطر لمعادلة إجهاد مسك الأرانب (Batchelor and Giddins, 1995).

جمع العينات وحفظها

حُصلَ على عينات الدم من الأرانب بسحب الدم من القلب مباشرة باستخدام محقنة طبية سعة 5 مل، إذ جمعت عينات الدم بعد مرور مدة 8 أسابيع على معاملة الأرانب، بغرض الحصول على مصل الدم وإجراء الفحوصات الكيميائية الحيوية المختلفة، وفي نهاية مدة المعاملة ضُحيَّت الأرانب جميعها بالخلع العنقي واستخرج الكبد بغرض قياس تركيز الغلوتاثيون Glutathione والمالون ثنائي الألدهيد Malondialdehyde في مستخلصه.

تقدير تركيز المتغيرات الكيميائية الحيوية في مصل الدم

قُدّرَ تركيز الغلوتاثيون في مصل الدم (كمضاد أكسدة غير أنزيمي) باستخدام طريقة كاشف المان Ellman's reagent المعدلة من قبل (Al-Zamely *et al.*,2001).

قُدّرَ تركيز البروتين الكلي في مصل الدم باستخدام مجموعة التحليل الجاهزة من شركة Biolabo الفرنسية اعتماداً على طريقة البايوريت Biuret method (Henry, *et al.*, 1974) كما قُدّرَ تركيز الألبومين في مصل الدم (كمضاد أكسدة غير أنزيمي) باستخدام مجموعة التحليل الجاهزة من شركة

Biolabo الفرنسية اعتماداً على طريقة البروموكريسول الأخضر Bromocresol green method (Jennifer and Findar,1982). وحُسبَ تركيز الغلوبيولين في مصل الدم بعد إيجاد تركيز البروتين الكلي والألبومين وفق المعادلة الآتية:

تركيز الغلوبيولين (غم/100مل) في مصل الدم= تركيز البروتين الكلي ــ تركيز الألبومين

كما قُدّرَ تركيز حمض البول في مصل الدم باستخدام مجموعة التحليل الجاهزة من شركة Biolabo الفرنسية اعتماداً على الطريقة الأنزيمية (Burit and Ashoowed, 1999).

تقدير مستوى المعالجة البيروكسيدية للدهن في مصل الدم

استخدمت طريقة تفاعل حمض ثايوباربـاتيورك Thiobarbituric acid (TBA) وبحسب هذه الطريقة قُدِّر تركيز المالون ثنائي الألدهيد Malondialdehyde(MDA) في مصل الدم، الذي يمثل أحد النواتج الرئيسة لعملية المعالجة البيروكسيدية للدهن، ويعدُّ تركيزه مؤشراً لهذه العملية (Muslih *et al.*, 2002).

تقدير تركيز الغلوتاثيون في مستخلص نسيج الكبد

قُدّرَ تركيز الغلوتاثيون في مستخلص نسيج الكبد وفق طريقة (Moron *et al.*, 1979). إذ تعتمد هذه الطريقة على استخدام كاشف المان DTNB [5,5-Dithiobis (2-Nitrobenzoic acid)] الذي يتفاعل بسرعة مع الغلوتاثيون، ويختزل بوساطة مجموعة الثايول (-SH group) للغلوتاثيون مكوناً ناتجاً ملوناً، وتُقاس شدة امتصاصيته عند الطول الموجي 412 نانوميتراً، ويعتمد تركيز الناتج المتكون على تركيز الغلوتاثيون الموجود في مستخلص النسيج.

تقدير مستوى المعالجة البيروكسيدية للدهن في مستخلص نسيج الكبد

قُدّرَ مستوى المعالجة البيروكسيدية للدهن في مستخلص نسيج الكبد من خلال تقدير تركيز المالون ثنائي الألدهيد MDA باستخدام طريقة (Gilbert *et al.*, 1984). إذ تعتمد هذه الطريقة على التفاعل MDA مع حمض ثايوباربـاتيورك TBA، وهذا التفاعل يجري في وسط حامضي ويكون ناتجاً ملوناً، وتُقاس شدة امتصاصيته عند الطول الموجي 532 نانوميتراً.

التحليل الإحصائي

قيمت النتائج إحصائياً وفق نظام التجارب البسيطة العاملية بالتصميم العشوائي الكامل، واستخدم اختبار دنكن Duncan test المتعدد المدى، وعُدَّتْ النتائج معنوية عند مستوى احتمال ($P \leq 0.05$) وباستخدام البرنامج الإحصائي SA.

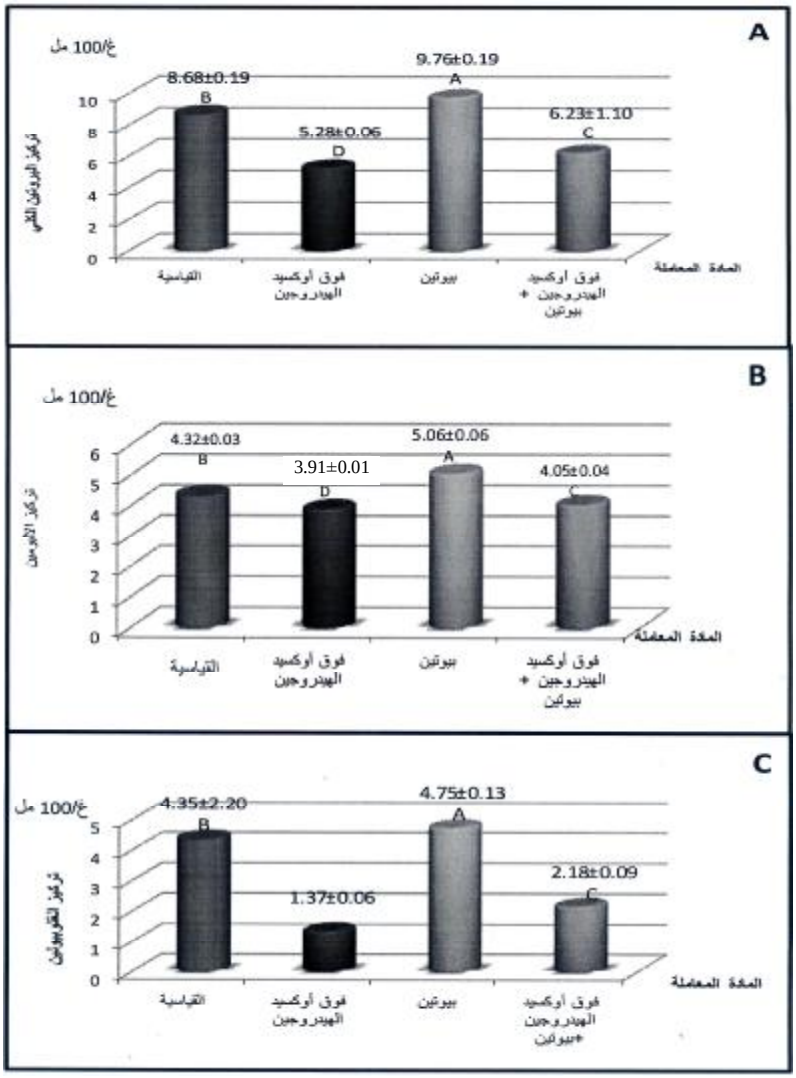
النتائج والمناقشة

تأثير البيوتين وH_2O_2 في تركيز البروتين الكلي والألبومين والغلوبيولين في مصل دم ذكور الأرانب المحلية

تشير النتائج المتمثلة في الشكل (1) (A,B,C) إلى أن معاملة الأرانب بـ H_2O_2 بتركيز 1% مع ماء الشرب أدت إلى حدوث انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز كل من البروتين الكلي والألبومين والغلوبيولين في مصل الدم مقارنة بالمجموعة القياسية. في حين أوضحت النتائج أن معاملة الأرانب بالبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/ كغ من وزن الجسم أدت إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز كل من البروتين الكلي والألبومين والغلوبيولين مقارنة بالمجموعة القياسية. كما يبيّن الشكل ارتفاعاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في تراكيز هذه المتغيرات في مصل دم ذكور الأرانب المعاملة بـ H_2O_2 بتركيز 1% مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/ كغ من وزن الجسم مقارنة بمجموعة H_2O_2 وحده، ولم تصل القيم إلى قيم المجموعة القياسية. يتضح من هذه النتائج أن معاملة ذكور الأرانب المحلية بـ H_2O_2 أدى إلى انخفاض معنوي في تركيز البروتين الكلي في مصل الدم بمعدل 39% عن باقي المعاملات.

ويعزى ذلك إلى انخفاض بناء البروتينات وزيادة متوسط تفكيك البروتينات أو إلى دوره في تخفيض تكوين أصناف الأوكسجين الفعالة، كما يعود ذلك إلى زيادة الإجهاد التأكسدي المحدث بـ H_2O_2، وهذا يوضح أيضاً دور الألبومين كمضاد أكسدة غير أنزيمي في منع تكوين الجذور الحرة؛ وذلك بكسر سلسلة التفاعلات وإعادة إصلاح الجزيئات الحيوية المتضررة تأكسدياً (Haillwell and Gutterides, 1999).

وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه صلاح (2008) عند معاملة ذكور أمهات فروج اللحم بـ H_2O_2 بتركيز0.05 % مدة 8 أسابيع، إذ عزى ذلك إلى أن الإجهاد التأكسدي يعمل على زيادة إفراز هرمون الكورتيكوستيرون Corticosterone من قشرة غدة الكظر، مما يسبب زيادة عدد الأحماض الأمينية التي تستخدم في عملية استحداث السكر Gluconeogenesis، وقد يكون هذا سبباً في خفض تركيز البروتينات في مصل الدم (William, 1984; Freeman, 1988)، وتؤكد ذلك الدراسات التي أوضحت أن انخفاض تركيز البروتين الكلي والألبومين والغلوبيولين في بلازما الدم عند التعرض للإجهاد سببه الزيادة الحاصلة في متوسط تفكيك البروتينات بغرض تكوين الكلوكوز من مصادر غير كاربوهيدراتية (الهيتي، 1982).



الشكل (1) (A,B,C) تأثير المعاملة بفوق أوكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بتركيز 1% وحده مع ماء الشرب، والبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم وحده، وH_2O_2 مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم، في تركيز البروتين الكلي والألبومين والغلوبيولين في مصل دم ذكور الأرانب المحلية.

القيم معبراً عنها بالمتوسط الحسابي± الانحراف المعياري (n=10)

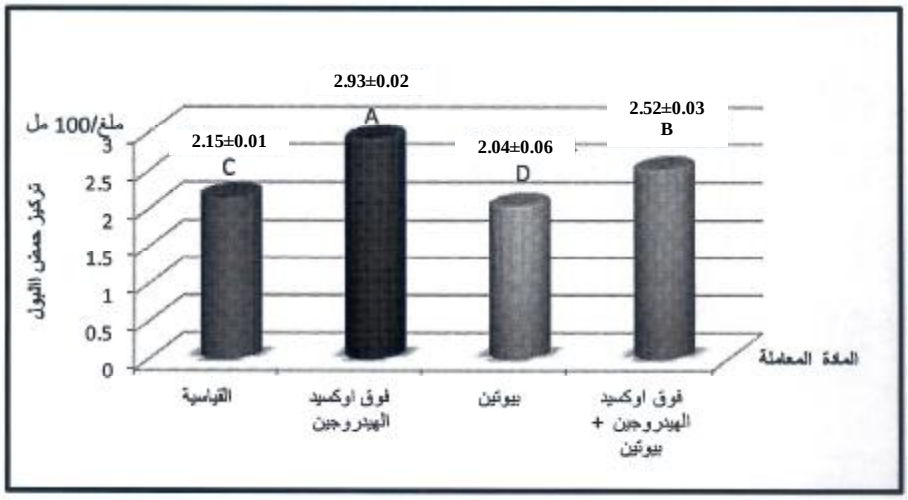
الأشكال المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (P£0.05) والعكس صحيح بحسب اختبار دنكن.

وأظهرت نتائج الدراسة الحالية أن معاملة الأرانب بالبيوتين أدت إلى ارتفاع تركيز البروتين الكلي والألبومين والغلوبيولين، وهذه النتائج متطابقة مع ما توصل إليه (Petrelli *et al*., l978) إذْ أدّت معاملة إناث الجرذان بالبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام مدة 12 ساعة إلى ارتفاع معنوي في تركيز البروتين الكلي والألبومين والغلوبيولين في مصل الدم وعزى سبب ذلك إلى الدور المساعد للبيوتين على بناء البروتينات واستقلابها وأشار إلى أن نقص البيوتين يؤدي إلى انخفاض مستوى البروتينات في بلازما الدم، في حين أشار (Kothapalli *et al*., 2005) إلى أن للبيوتين دوراً في تنظيم عملية استنساخ وإعادة بناء الحمض النووي المنقوص الأوكسجين الـ DNA، أو ربما له دور في زيادة انقسام الخلية نتيجة لتحفيزه إفراز هرمون النمو من الفص الأمامي للغدة النخامية، الذي يؤدي دوراً مهماً في بناء البروتينات (Holmberg *et al*., 2005)، وقد يكون للبيوتين تأثير في تكوين البروتينات من خلال دوره المعزز لقدرة الجسم على مقاومة الأكسدة مما ينعكس إيجابياً على ارتفاع تركيز الألبومين والغلوبيولين، إذ يؤدي البيوتين (على الأرجح) دوراً في زيادة تكوين الغلوبيولينات المناعية؛ وذلك من خلال تنشيط انقسام الخلايا اللمفاوية من نوع البائية B وتكاثرها ونضجها.

تأثير البيوتين وH_2O_2 في تركيز حمض البول في مصل دم ذكور الأرانب المحلية

يبيّن الشكل (2) ارتفاعاً معنوياً ($P \leq 0.05$) في تركيز حمض البول في مصل دم ذكور الأرانب المعاملة بـ H_2O_2 بتركيز 1% مع ماء الشرب مقارنة بالمجموعة القياسية. بينما أظهرت النتائج أن معاملة الأرانب بالبيوتين بتركيز200 مايكروغرام / كغ من وزن الجسم أدت إلى حدوث انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز حمض البول مقارنة بالمجموعة القياسية، في حين أدت معاملة الأرانب بـ H_2O_2 بتركيز 1% مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/ كغ من وزن الجسم إلى حدوث انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز حمض البول مقارنة بالمجموعة المعاملة فقط بـ H_2O_2، ولم تصل القيم إلى قيم المجموعة القياسية.

أدت معاملة الأرانب بـ H_2O_2 وحده إلى ارتفاع معنوي في تركيز حمض البول في مصل الدم، وهذه النتيجة تتطابق مع النتائج التي توصل إليها طه (2008) عند معاملة آباء الفروج على إحداث الإجهاد التأكسدي وارتفاع إنتاج أصناف الأوكسجين الفعالة القادرة على إلحاق الأذى بالجزيئات الحيوية بعدة طرائق ولاسيّما البروتينات، إذْ تعمل أصناف الأوكسجين الفعالة على تحطيم الأواصر البروتينية (Cheng *et al*., 2002) التي يكون حمض البول الناتج النهائي لها (Sturkie, 1986)، وربما يعزى إلى زيادة الإجهاد التأكسدي الذي أدى إلى زيادة الجذور الحرة التي تلحق الضرر بمكونات الخلية ومنها الحموض النووية والقواعد الآزوتية، إذْ يُعدُّ حمض البول ناتجاً نهائياً لهدم البيورينات.



الشكل (2) تأثير المعاملة بفوق أوكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بتركيز 1% وحده مع ماء الشرب، والبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم وحده، وH_2O_2 مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم، في تركيز حمض البول في مصل دم ذكور الأرانب المحلية.

القيم معبراً عنها بالمتوسط الحسابي± الانحراف المعياري (n=10)

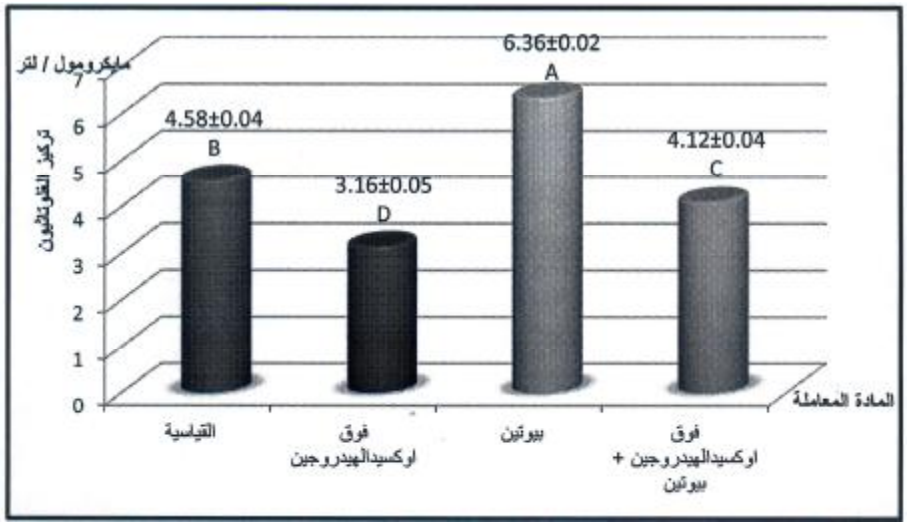
الأشكال المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (P£0.05) والعكس صحيح بحسب اختبار دنكن.

من جانب آخر أدت معاملة الأرانب بالبيوتين إلى انخفاض معنوي في تركيز حمض البول في مصل الدم مقارنة بالمجموعة المعاملة بـ H_2O_2، وسبب هذا الانخفاض ربما يعود إلى الدور الذي يؤديه البيوتين في إزالة التأثيرات المباشرة للجذور الحرة، كما أنّه يعمل على زيادة فعالية مضادات الأكسدة الداخلية المنشأ في الجسم (حمض البول)، أو له دور في بناء البروتينات، ولعل زيادة تركيز البروتينات في مصل الدم عند المعاملة بالبيوتين خير دليل على ذلك، ويمكن أن يكون هذا هو سبباً في انخفاض تركيز حمض البول في مصل الدم.

تأثير البيوتين وH_2O_2 في تركيز الغلوتاثيون (GSH) في مصل دم ذكور الأرانب المحلية

يبيّن الشكل (3) حدوث انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيزGSH في مصل دم ذكور الأرانب المعاملة بـ H_2O_2 بتركيز 1% مع ماء الشرب مقارنة بالمجموعة القياسية، في حين أدت معاملة الأرانب بالبيوتين بتركيز200 مايكروغرام/ كغ من وزن

الجسم إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز GSH في مصل الدم مقارنة بالمجموعة القياسية. بينما يبين الشكل حدوث ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز GSH في مصل دم الأرانب المعاملة بـ H_2O_2 بتركيز 1% مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/ كغ من وزن الجسم مقارنة بمجموعة H_2O_2 وحده، ولم تصل القيم إلى قيم المجموعة القياسية.



الشكل (3) تأثير المعاملة بفوق أوكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بتركيز 1% وحده مع ماء الشرب، والبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم وحده، وH_2O_2 مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم، في تركيز الغلوتاثيون في مصل دم ذكور الأرانب المحلية.

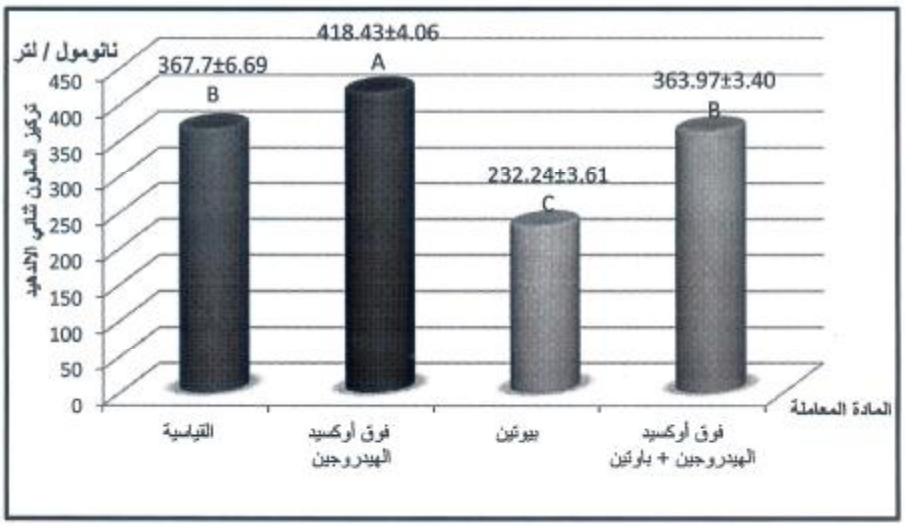
القيم معبراً عنها بالمتوسط الحسابي± الانحراف المعياري (n=10)

الأشكال المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (P£0.05) والعكس صحيح بحسب اختبار دنكن

تأثير البيوتين وH_2O_2 في تركيز المالون ثنائي الألدهيد (MDA) في مصل دم ذكور الأرانب المحلية

أدت معاملة الأرانب بـ H_2O_2 بتركيز 1% مع ماء الشرب إلى حدوث ارتفاع معنويٍّ ($P \leq 0.05$) في تركيز MDA في مصل الدم مقارنة بالمجموعة القياسية، كما موضّح في الشكل (4). ويوضّح الشكل أن معاملة الأرانب بالبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/ كغ

من وزن الجسم أدت إلى حدوث انخفاضٍ معنويٍ ($P \leq 0.05$) في تركيزMDA في مصل الدم مقارنـــة بالمجموعة القياسية، في حين أدت معاملة الأرانب بـــ H_2O_2 بتركيـــز 1% مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/ كغ من وزن الجسم إلى حدوث انخفاضٍ معنـــويٍ ($P \leq 0.05$) في تركيزMDA في مصل الدم مقارنة بمجموعة H_2O_2 وحده والعودة إلـــى مستوى أقل من مستوى المجموعة القياسية.



الشكل (4) تأثير المعاملة بفوق أوكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بتركيز 1% وحـــده مـــع مـــاء الشرب، والبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم وحده، وH_2O_2 مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم، في تركيز المـــالون ثنـــائي الألدهيد في مصل دم ذكور الأرانب المحلية.

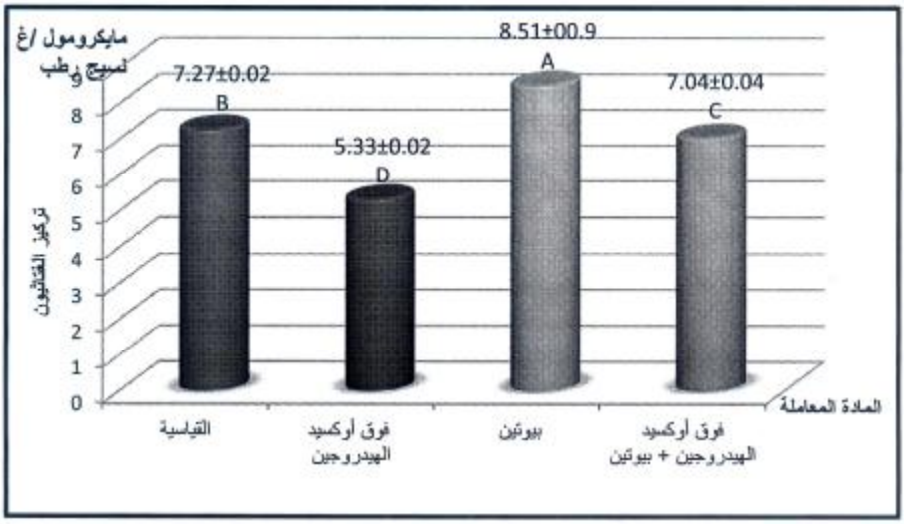
القيم معبراً عنها بالمتوسط الحسابي± الانحراف المعياري (n=10)

الأشكال المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (P£0.05) والعكـــس صـــحيح بحسب اختبار دنكن.

تأثير البيوتين وH_2O_2 في تركيز الغلوتاثيون (GSH) في مستخلص نسيج كبد ذكور الأرانب المحلية

توضّح النتائج في الشكل (5) أن معاملة الأرانب بـــ H_2O_2 بتركيـــز 1% مـــع مـــاء الشرب أدت إلى حدوث انخفاضٍ معنويٍ ($P \leq 0.05$) في تركيزGSH في مستخلص نسيج

الكبد مقارنة بالمجموعة القياسية، بينما توضّح النتائج أن معاملة الأرانب بالبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/ كغ من وزن الجسم أدت إلى حدوث ارتفاعٍ معنويٍّ ($p \leq 0.05$) في تركيزGSH في مستخلص نسيج الكبد مقارنة بالمجموعة القياسية، في حين أدت معاملة الأرانب بـ H_2O_2 بتركيز 1% مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/ كغ من وزن الجسم إلى حدوث ارتفاعٍ معنويٍّ ($P \leq 0.05$) في تركيزGSH في مستخلص نسيج الكبد مقارنة بمجموعة H_2O_2 وحده، ولم تصل القيم إلى قيم المجموعة القياسية.



الشكل (5) تأثير المعاملة بفوق أوكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بتركيز 1% وحده مع ماء الشرب، والبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم وحده، وH_2O_2 مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم، في تركيز الغلوتاثيون في مستخلص نسيج كبد ذكور الأرانب المحلية.

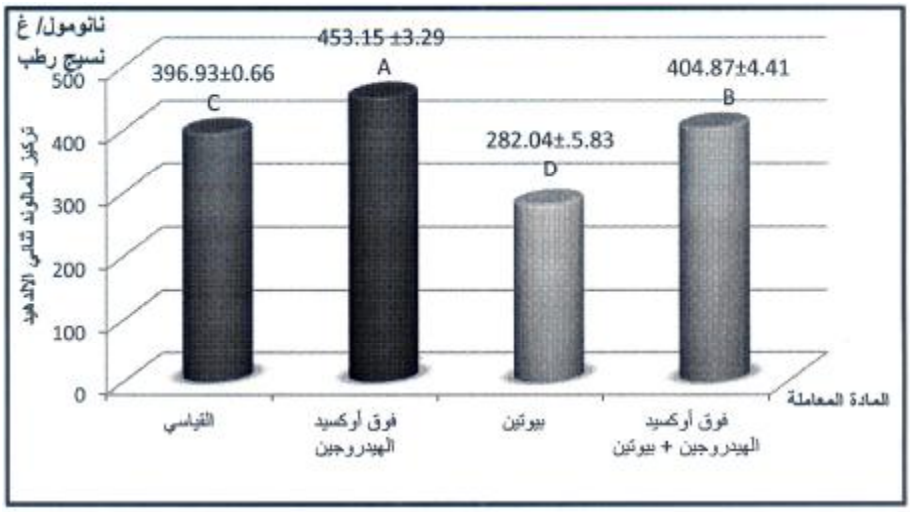
القيم معبراً عنها بالمتوسط الحسابي± الانحراف المعياري (n=10)

الأشكال المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (P£0.05) والعكس صحيح بحسب اختبار دنكن.

تأثير البيوتين وH_2O_2 في تركيز المالون ثنائي الألدهيد (MDA) في مستخلص نسيج كبد ذكور الأرانب المحلية

يوضّح الشكل (6) أن معاملة الأرانب بـ H_2O_2 بتركيز 1% مع ماء الشرب أدت إلى حدوث ارتفاعٍ معنويٍّ ($P \leq 0.05$) في تركيزMDA في مستخلص نسيج الكبد مقارنة

بالمجموعة القياسية، كما يوضّح الشكل (7) أن معاملة الأرانب بـــالبيوتين بتركيـــز 200 مايكروغرام/ كغ من وزن الجسم أدت إلى حدوث انخفـــاض معنـــويٍّ ($P \leq 0.05$) فـــي تركيزMAD في مستخلص نسيج الكبد مقارنة بالمجموعة القياسية، في حين أدت معاملـــة الأرانب بـــ H_2O_2 بتركيز 1% مع البيوتين بتركيز 200 مـــايكروغرام/ كـــغ مـــن وزن الجسم إلى حدوث انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيزMDA في مـــستخلص نـــسيج الكبد مقارنة بمجموعة H_2O_2 وحده، ولم تصل القيم إلى قيم المجموعة القياسية.



الشكل (6) تأثير المعاملة بفوق أوكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بتركيز 1% وحـــده مـــع مـــاء الشرب، والبيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم وحده، وH_2O_2 مع البيوتين بتركيز 200 مايكروغرام/كغ من وزن الجسم، في تركيز المالون ثنـــائي الألدهيد في مستخلص نسيج كبد ذكور الأرانب المحلية.

القيم معبراً عنها بالمتوسط الحسابي± الانحراف المعياري (n=10)

الأشكال المتبوعة بأحرف مختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (P£0.05) والعكـــس صـــحيح بحسب اختبار دنكن.

أدت معاملة الأرانب بـــ H_2O_2 إلى انخفاض معنوي في تركيز GSH (إذْ يعمل GSH كمضاد أكسدة) وارتفاع معنوي في تركيز MDA في مصل الـــدم ونـــسيج الكبـــد (لأنّ MDA يعمل مؤكسداً للدهون ومعدلاً للبروتين القلبي)، أي إنَّ عمل GSH معاكس لعمـــل MDA، وتتطابق هذه النتائج مع ما توصل إليه عبد الرحمن (1995) عند معاملة الجرذان بـــ H_2O_2 بتركيز 1% مدة أسبوعين، كما تتطابق مع نتائج كـــل مـــن العـــلاف (2004)

والخفاف (2005) عند معاملة إناث الأرانب والفئران بـ H_2O_2 مدة 60 يوماً. ويُعزَى سبب هذا الانخفاض في تركيز GSH في مصل الدم ومستخلص نسيج الكبد إلى زيادة هدمه أو انخفاض تصنيعه (Loven *et al*., 1986)، كما يمكن أن يعود هذا الانخفاض إلى حدوث حالة الإجهاد التأكسدي الناتج من تجريع أحد أصناف الأوكسجين الفعالة التي تتمثل بـ H_2O_2، إذ إن انخفاض تركيز GSH في الخلية يعدُّ مؤشراً على زيادة الإجهاد التأكسدي (Mclennan *et al*., 1991).

أمَّا ارتفاع تركيز MDA في مصل الدم ومستخلص نسيج الكبد عند معاملة الأرانب بـ H_2O_2 فيمكن أن يعزى إلى تحفيز أنزيم Fatty Acyl – CoA Oxidase وبدء أكسدة الأحماض الدهنية التي تؤدي إلى زيادة إنتاج H_2O_2 الداخلي المنشأ الذي يُسهم في إنتاج بيروكسيدة الدهن، إذ يشكل MDA الناتج النهائي لها (Osumi and Hashimoto, 1978; Basha and Sovers, 1996). في حين أدت معاملة الأرانب بالبيوتين إلى ارتفاع معنوي في تركيز GSH وانخفاض معنوي في تركيز MDA في مصل الدم ونسيج الكبد.ويعزى سبب ذلك إلى الدور الذي يؤديه فيتامين البيوتين كمضاد أكسدة غير أنزيمي والذي يقوم بإزالة الجذور الحرة المتكونة بصورة طبيعية داخل الجسم قبل دخولها إلى سلسلة التفاعل (Combs, 2008)، ومما يعزز حالة مضادات الأكسدة الموجودة في الجسم ويقلل من المعالجة البيروكسيدية للدهن.

المراجع REFERENCES

الخفاف، أسرار إسماعيل ياسين يوسف. (2005). قابلية الإجهاد التأكسدي في إحداث آفات التصلب العصيدي التجريبي في إناث الجرذان البيضاء مع استخدام بعض مضادات الأكسدة. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.

صلاح، سنان عصام الدين. (2008). تأثير استخدام فيتاميني A وC وبذور الحلبة في بعض الصفات الفسلجية والنسجية لذكور أمهات فروج اللحم. رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

طه، أحمد طايس. (2008). دور فيتاميني A وC وبذور الحلبة في التقليل من أثر الإجهاد التأكسدي في الأداء الفسلجي والتناسلي لآباء فروج اللحم. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

عبد الرحمن، صائب يونس. (1995). تأثير الجوع وداء السكر التجريبي على مستويات الغلوتاثيون وزناخة الدهن في أنسجة الجرذان. أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.

العلاف، ايناس شيت مصطفى جاسم. (2004). تأثير الثوم وفيتامين هـ في إمراضية التصلب العصيدي المحدث بيروكسيد الهيدروجين في الأرانب. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.

القطان، منتهى محمود، العناز، رجاء مصطفى والسراج، إيمان سامي. (2007). تاثير نبات الزنجبيل وبيروكسيد الهيدروجين في بعض الجوانب الفسلجية والنسيجية والكيميائية الحياتية لذكور الأرانب المحلية. مجلة زراعة الرافدين، المجلد (35)، العدد(1)، ص41 - 48.

الهيتي، حاتم عيسى. (1982). التغيرات الموسمية في بعض الصفات الدموية لسلالات الرومي المحلي في وسط العراق. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

Al-Zamely, O. Y.; Al-Nimer, M. S. and Al-Muslih, R. K. (2001). Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction. N. J. Chem., 4:625-637.

Basha, B.J. and Sovers, J.R. (1996). Atherosclerosis: an update. Am. Heart J., 131: 1192-1202.

Batchelor, G. R. and Giddins G. (1995). Body weight changes in laboratory rabbits. Subjected to transport and different housing conditions. Anim. Technol. (sussex): The Institute Ang., 46(2): 89-95.

Bender, D. A. (2003). "Nutritional biochemistry of the vitamins". 2nd ed. Cambridge Univ. Press. United Kingdom.

Burits, N. R., Ashoowed, E. R. (1999). "Tietz Textbook of Clinical Chemistry" 3rd ed. W.B. Saunders Company, USA.

Cheng. F. C., Jen, J. F. and Tsai, T. H. (2002). Hydroxyl radical in living systems and its separation methods. J. Chromatograpahy. 781 (1-2): 481-496.

Combs, G. F. (2008). "The vitamins: Fundamental aspects in nutrition and health". San Diego. Elsevier, Inc.

Freeman, B. M. (1988). Stress and domestic fowl in biochemical research physiological effect of the environment, World's Poultry Sci. J., 44: 41-61.

Gilbert, H. S., Stump, D. D. and Roth, E. F. (1984). A method to correct for errors caused by generation of interfering compounds during erythrocyte lipid peroxidation. Analyt. Biochem., 137: 282-286.

Gronder; L. and De Y. (2004). "Foundations and clinical Applications of Nutrition". Vitamin E, 3rd ed. pp. 190- 192.

Halliwell, B. (1997). Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutr. Rev., 55: S 44-S 49.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (1999). Free Radical in Biology and Medicine. 3rd ed. Oxford, Oxford University Press, 146-163, 399-430.

Henry, R. J., Cannon, D. C. and Winkelman, J. W. (1974)."Clinical Chemistry, Principles and Technics" . Harper and Row, Publisher, New York.

Holmberg, A., Blomstergren, A. and Nord, O. (2005). The biotin-streptavidin interaction can be reversibly broken using water at elevated temperatures. Electrophoresis. 26 (3): 501-510.

Jennifer, D., Findar, D. P. (1982). Albumin by bromocresol green - a case of laboratory conservatism. *Clin. Chem.*, 28, (6), 1407-1408.

Kothapalli, N., Camporeale, G. and Kueh, A. (2005). Biological functions of biotinylated histones. J.Nutr. Biochem., 16 (7): 446-448.

Loven, O., Schedl, H., Wilson, H., Daabees, T.T., Stegink, L.D., Diekus, M. and Oberley, L. (1986). Effect of insulin and oral glutathione levels and superoxide dismutase activity in organs of rats with streptozotocin-induced diabetes. Diabetes. 35: 503-507.

McDonald, P., Edwards, R. A. and Greenhalgh, J. F. D. (1973). Animal Nutrition. 2ed ed. Longman. London and New York.

Mclennan, S. V., Hafernan, S., Wright, L. and Rae, C. (1991). Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. Diabetes. 40 (3): 344-348.

Moron, M. S., Depierre, J. W. and Mennervik, B. (1979). Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione-S-transferase activities in rats lung and liver. Biochem. Biophs. Acta., 582: 67-78.

Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. and Rodwell, V. W. (2003). "Harper's illrstrated biochemistry". 26th ed. McGraw-Hill companies. North America .

Muslih, R. K., Al-Nimer, M. S. and Al-Zamely, O. Y. (2002). The level of Malondialdehyde after activation with (H_2O_2 and $CuSo_2$) and inhibition by desferoxamine and molsidomine in the serum of patients with acute myocardial infarction. N. J. Chem., 5: 139-148.

Osumi, J. and Hashimoto, T. (1978). Acyl-Coa oxidase of rat liver: a new enzyme for fatty acid oxidation. Biochem. Biophys. Res. Commun., 83: 479-485.

Petrelli, F., Coderoni, S., Moreti, P., Paparelli, M. and Barra, D. (1978). Effect of biotin deficiency on serum proteins and plasma amino acids. Cell. Mol. Life Sci., 34 (11): 1481- 1482.

Stahl, W. and Sies, H. (1997). Antioxidant defense: Vitamins E and Carotinoids. Diabetes. 46: 514-518.

Sturkie, P. D. (1986). "Aviam Physiology". 4th ed. Springer verlag. New York.

Suleyman, D., Mustafa,Y., Mchmet, K., Natan, A., Diveler, A. and Ahmet, A. (2003). Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. Turk J. Gastroenterol., 14 (1): 39-43.

William, N. S. (1984). Stress and the behavior of domestic fowl, World's Poultry Sci. J., 3: 215-220