تقييم الدور الوقائي لحليب الافراس المخمر في التخفيف من اثار الاجهاد التأكسدي المستحدث بخلات الرصاص في الجرذان البيضاء

شيماء عباس صبيح كريم ناصر طاهر
كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية كلية التقانات الاحيائية / جامعة القادسية
email: karimnasir@yahoo.com
(الاستلام 2 تشرين الثاني 2014 ، القبول 15 كانون اول 2014)

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية للفترة من 27 - 2 - 2014 لغاية 30- 3 -2014 لتقييم الدور الوقائي لحليب الافراس المخمر في التخفيف من اثار الاجهاد التأكسدي المستحدث بخلات الرصاص في الجرذان البيضاء. استخدم في هذه الدراسة 40 ذكر من الجرذان البيضاء، قسمت عشوائيا الى اربعة مجاميع بواقع (10جرذ / مجموعة) وكانت على التوالي مجموعة السيطرة (C): اعطيت العليقة القياسية وماء الشرب فقط طيلة مدة التجربة. مجموعة المعاملة الاولى (T_1) : اعطيت العليقة القياسية والماء المقطر منزوع الايونات المذاب فيه (1000 ppm) من خلات الرصاص/ يوم طيلة مدة التجربة. مجموعة المعاملة الثانية (T_2): اعطيت العليقة القياسية والماء المقطر منزوع الايونات المذاب فيه (1000 ppm) من خلات الرصاص عوملت حيوانات هذه المجموعة بحليب الافراس المخمر بالتجريع عن طريق الفم (10 مل/كغم من وزن الجسم / يوم) طيلة مدة التجربة. مجموعة المعاملة الثالثة (T_3): اعطيت العليقة القياسية والماء المقطر منزوع الايونات المذاب فيه (1000 ppm) من خلات الرصاص عوملت حيوانات هذه المجموعة بمادة Ca-EDTA بالتجريع عن طريق الفم (50 ملغم/كغم من وزن الجسم/ يوم) طيلة مدة التجربة. ادت المعاملة بخلات الرصاص الى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في فعالية الانزيمات الناقلة للأمين (ALT وAST) وانزيم الفوسفاتيز القاعدي كما اظهرت النتائج انخفاضا معنويا ($P<0.05$) في تركيز انزيم السوبر اوكساید ديسميوتز (SOD) وارتفاعا معنويا ($P<0.05$) في المالونداياليديهايد (MDA) في مصل الدم. من جانب اخر بينت النتائج ان اعطاء حليب الافراس المخمر ومادة EDTA مع خلات الرصاص قد اسهما بشكل واضح في تحسين المعايير السابقة الذكر مقارنة بالمجموعة التي اعطيت خلات الرصاص فقط وبمستويات قريبة من مجموعة السيطرة. واستنادا لنتائج هذه الدراسة نستنتج بأن التعرض لخلات الرصاص يمكن ان يسبب خللا في عدد من الوظائف الفسلجية وتأثيره في احداث الاجهاد التأكسدي واثبات الدور الوقائي لحليب الافراس المخمر في حماية الكبد من اضرار الاجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية : حليب الافراس ، الاجهاد التأكسدي ، الرصاص ، EDTA

Evaluation the protective role of fermented mares milk in alleviate the effects of oxidative stress induced by lead acetate in albino rats

Shaima Abbas Sabeeh Kareem Naser Taher
Coll. of Biotechnology / Univ. of AL-Qadisyia Coll. of Vet. Med. / Univ. of AL-Qadisyia

Abstract

This study was carried out at college of veterinary medicine /AL-Qadisiya university during the period from 27-2-2014 to 30-3-2014 to evaluate the role of fermented mares milk in alleviate the effect of oxidative stress induced by lead acetate. A total of (40) male albino rats were used in this study, the rats were divided randomly into four groups including (10 rats per each group) as following: Control group (C) fed only standard diet and water for drinking, first treatment group (T_1) fed the same diet and deionized distilled water intoxicated with (1000 ppm) lead acetate, second treatment group (T_2) fed the same diet and deionized distilled water intoxicated with (1000ppm) lead acetate, and orally received fermented mares milk (10 ml /kg B.W) by gavage, third treatment group (T_3) fed the same diet and deionized distilled water intoxicated with (1000 ppm) lead acetate and orally received (50 mg / kg B.W) Ca-EDTA by gavage. The results showed that intoxicated with lead acetate causes a significant ($P<0.05$) increase in activity of (AST, ALT and ALP) enzymes. Also the result revealed that a significant ($P<0.05$) decrease in activity of super dismutase (SOD) enzyme and

a significant ($P<0.05$) increase in concentration of serum malondialdehyd (MDA) in the blood serum group. On the other hand the result showed that giving fermented mares milk or EDTA with lead acetate contribute in improvement of previous parameters as compared to (T_1) and closely to control group. According to the results obtained in the present study, it could be concluded that exposed to lead acetate can be causes disturbance in physiological functions and induced oxidative stress besides approved the protective role of fermented mares milk in liver protection.

Key words: Mares milk, oxidative stress, lead acetate, EDTA.

المقدمة

تعتبر المعادن الثقيلة مثل (الرصاص ، والكادميوم ، والزئبق ، والزرنيخ) من الملوثات الكيميائية المنتشرة على نطاق واسع في البيئة ، اذ ان التعرض لها يمثل تهديدا رئيسيا لصحة الانسان ولذلك درست هذه المعادن بشكل مكثف لمعرفة اثارها على الصحة العامة ومراجعتها بشكل منتظم من قبل المنظمات الدولية مثل منظمة الصحة العالمية (1). ويعتبر الرصاص من اكثر المعادن الثقيلة السامة انتشارا حيث انه يستعمل في العديد من الصناعات مثل صناعات البطاريات والمبيدات الحشرية والاسمدة والصناعات النفطية وغيرها وبالتالي فأنه يشكل خطرا على صحة الانسان والحيوان لأنه يمتلك خاصية الثبات في البيئة وقابليته على التراكم في انسجة الجسم المختلفة مثل الكبد والرئة والطحال مسببا اضرارا شديدة (2) و يأتي تأثير الرصاص من خلال احداثه لحالات الاجهاد التأكسدي (وهو اختلال التوازن بين توليد الجذور الحرة ونظام الدفاع المضاد للأكسدة المتمثل بالكلوتاثيون بيروكسيديز والسوبر اوكسايد ديسموتيز (SOD) والكاتليز) فقد وجد (3) ان اعطاء خلات الرصاص للجرذان عن طريق الفم يؤدي الى الاجهاد التأكسدي بأليات مختلفة مثل (بيروكسدة الدهون وزيادة تكسر الحامض النووي DNA في الكبد ونقص مستوى انزيم السوبر اوكسايد ديسموتيز SOD والكلوتاثيون المختزل GSH والكلوتاثيون بيروكسيديز. وقد استخدمت عدة طرق للتخلص من الاثار السامة للرصاص كاستعمال المواد الخالبة Chelating agents مثل مادة EDTA التي استخدمت بعد الحرب العالمية الثانية نتيجة لتعرض جنود البحارة الأمريكيين العاملين في صبغ السفن البحرية للتسمم بعنصر الرصاص لذلك أقرّ النظام الطبي في الولايات المتحدة الأمريكية استخدام عامل الاستخلاب DTA- Ethylene Di-amine Tetra acetic Acid وقد اثبتت منظمة الدواء والغذاء الامريكية (FDA) فعالية هذه المادة في التخلص من الاثار السامة للرصاص الا ان استخدام المواد الكيميائية قد تكون له اثار تفوق فوائدها لذلك تم اللجوء الى البحث عن استخدام بدائل وقائية وعلاجية طبيعية. ان حليب الافراس يتميز باختلافه عن حليب بقية الحيوانات المجترة فهو منخفض في نسبة البروتين والدهون والكولسترول الا انه مرتفع في محتواه من المعادن (Mg،Zn،Cu) والفيتامينات (A،E،C،B) بالإضافة الى ما يحتويه من المركبات الفعالة (4) وبالنظر لعدم وجود دراسات تخص حليب الافراس فقد استهدفت الدراسة الحالية معرفة الاهمية الوقائية لحليب الافراس المخمر في التخفيف من اثار الاجهاد التأكسدي الناتج من التسمم بالرصاص .

المواد وطرائق العمل

حيوانات الدراسة: اجريت هذه الدراسة في البيت الحيواني التابع لكلية الطب البيطري/ جامعة القادسية للفترة من 2014/2/27 ولغاية 2014/3/30. استخدم (40) من ذكور الجرذان البيضاء (White albino) تم شرائها من البيت الحيواني لكلية الطب البيطري/ جامعة بغداد تراوحت اعمارها بين (8–9) اسابيع و اوزانها بين (200–210) غم. خضعت الحيوانات خلال فترة اجراء التجربة الى ظروف مختبرية متشابهة من حيث درجة الحرارة (22°C) والتهوية والرطوبة (55%) و التغذية و الاضاءة التي كانت بمعدل 12 ساعة ضوء الى 12 ساعة ظلام وقدم لها الغذاء بصورة حرة وحسب المتطلبات الغذائية التي اوصى بها مجلس البحوث الامريكي (5) .

جمع عينات حليب الافراس: جمعت عينات الحليب من فرس سليمة ظاهريا بعد 28 يوم من الولادة في الموسم الرابع لها وذلك بعد التأكد من سلامة الضرع وعدم اصابته بالتهاب الضرع من خلال اجراء اختبار كاليفورنيا (CMT) .الفرس مرباة في مزرعة في قضاء عفك في محافظة القادسية. اتبعت شروط النظافة عند جمع العينة من غسل الضرع بالماء بعدها جمع الحليب بطريقة الحلب اليدوي اذ تم وضع الحليب في قنينة سعة 250 مل وحفظ بدرجة حرارة التبريد الى حين اجراء التحليل الكيميائي و الفيزيائي للعينة في مختبرات دائرة بيئة الديوانية .تم الحصول على اربع عينات من الحليب خلال مدة التجربة مقسمة على اربع اسابيع.

تحضير حليب الافراس المخمر: تم إعداد حليب الفرس المخمر بأتباع الطريقة القياسية الموصوفة من قبل (6) و قد اجراي التحليل الكيميائي والفيزيائي للعينات حسب الطرق القياسية الموصوفة من قبل (7) .

المواد الكيميائية المستخدمة وطريقة تحضيرها:

1- خلات الرصاص:- تم شرائها من الاسواق المحلية ذات منشأ (Sigma chemical Co. USA). و قد حضر المحلول عن طريق اذابة1غم من مسحوق خلات الرصاص في 1 لتر من الماء المقطر لغرض الحصول على تركيز (1000 ppm) / مل

2– مادة Ca-EDTA:- تم شرائها من الاسواق المحلية وذات منشأ (Sigma chemical Co. USA). وقد تم تحضير المحلول بإذابة 1غم من مادة EDTA في 100مل من الماء المقطر منزوع الايونات (Deionized distilled water) ليصبح تركيز للحصول على تركيزها 10ملغم/مل وذلك لغرض الحصول على الجرعة المطلوبة (50 ملغم/كغم من وزن الجسم).

تصميم التجربة : استخدم في هذه التجربة (40) جرذ ذكر من نوع (White albino) تراوحت اعمارها بين (8 - 9) اسابيع واوزانها بين (200–210) غم وزعت عشوائيا على اربع مجاميع متساوية العدد بواقع (10 حيوان/ معاملة / مجموعة) وعلى النحو التالي:-

1- مجموعة السيطرة (C):- اعطيت العليقة القياسية والماء المقطر فقط طيلة مدة التجربة.

2- مجموعة المعاملة الاولى (T_1):- اعطيت العليقة القياسية والماء المقطر المذاب فيه (1000 ppm) من خلات الرصاص.

3- مجموعة المعاملة الثانية (T_2):- اعطيت العليقة القياسية والماء المقطر المذاب فيه (1000 ppm) من خلات الرصاص عوملت حيوانات هذه المجموعة بحليب الافراس المخمر بالتجريع عن طريق الفم (10 مل /كغم من وزن الجسم / يوم).

4- مجموعة المعاملة الثالثة (T_3):- اعطيت العليقة القياسية والماء المقطر المذاب فيه (1000 ppm) من خلات الرصاص عوملت حيوانات هذه المجموعة بمادة Ca-EDTA بالتجريع عن طريق الفم (50 ملغم / كغم من وزن الجسم/ يوم).

جمع عينات الدم: بعد انتهاء مدة التجربة البالغة (30) يوما تم تصويم الحيوانات لمدة (12) ساعة قبل جمع العينات بعدها تم تخدير الجرذان باستعمال مادة الكلورفورم ، و سحب الدم من القلب مباشرة باستعمال محقنه طبية نبيذه سعة 5 مل حيث وضع الدم في أنابيب اختبار زجاجية نظيفة خالية من مانع التخثر، وتركت لفترة من الزمن ثم دورت بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة لغرض الحصول على مصل الدم ، الذي وضع في أنابيب خاصة وحفظ بدرجة - 20 مْ لحين إجراء الفحوصات عليه.

معايير وظائف الكبد

تقدير فعالية الانزيمات الناقلة للأمين (ALT و AST)

تم تقدير فعالية انزيم (ALT و AST) بحسب الطريقة الموصوفة من قبل (8) باستخدام عدة فحص Kit المنتجة من قبل شركة PZ CORMAY S.A. اذ استعملت طريقة ptimized Kinetic method واعتمدت الخطوات المرفقة مع عدة الفحص باستخدام جهاز المحلل الكيميائي الالي (Automatic Chemistry analyzer) على الطول الموجي 340 nm .

تقدير فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP)

استخدمت عدة فحص Kit منتجة من قبل شركة PZ CORMAY S.A اذ استعملت طريقة Optimized Kinetic method وحسب ما اشار اليه (8) واعتمدت الخطوات المرفقة مع عدة الفحص بأستخدام جهاز المحلل الكيميائي الالي. قيست قيمة ALP للعينة تحت الطول الموجي 405 nm .

معايير الاجهاد التأكسدي

تقدير تركيز المالونداياليديهايد في مصل الدم (ملي مول/ لتر) Malondialdehyde (MDA)

تم تقدير تركيز MDA في مصل الدم باستخدام تقنية الاليزا Elisa وذلك عن طريق التنافس بين الاجسام المضادة لل MDA الموجود في حفر شريحة التخافيف الدقيقة والاجسام المضادة المرتبطة بإنزيم HPR على مواقع الارتباط بمستضدات ال MDA الموجودة في مصل الدم . وبعد اكتمال عملية الغسل المنظم لإزالة الاجسام المضادة غير المرتبطة يتم اضافة محلول مادة الاساس للأنزيم TMB الذي يرتبط بالإنزيم لتكوين محلول أزرق اللون يتحول الى اللون الاصفر عند اضافة محلول حامض الكبريتيك وذلك لغرض ايقاف التفاعل . وتتناسب شدة اللون المتكون طرديا مع تركيز مستضدات الMDA الموجودة في مصل الدم والتي تقاس الامتصاصية لها عند طول موجي 450 نانومتر، وتم تحديد تركيز الMDA في نماذج مصل الدم باستخدام المنحني القياسي له.

تقدير تركيز إنزيم السوبر اوكساید ديسميوتيز (SOD) Super oxide dismutaes في مصل الدم (U/ml)

تم تقدير تركيز SOD في مصل الدم باستخدام تقنية الاليزا Elisa وذلك عن طريق التنافس بين الاجسام المضادة الموجود في حفر شريحة التخافيف الدقيقة والاجسام المضادة المرتبطة بانزيم HPR على مواقع الارتباط بمستضدات ال SOD الموجودة في مصل الدم. وبعد اكتمال عملية الغسل المنظم لازالة الاجسام المضادة غير المرتبطة يتم اضافة محلول مادة الاساس للانزيم TMB الذي يرتبط بالانزيم لتكوين محلول أزرق اللون يتحول الى اللون الاصفر عند اضافة محلول حامض الكبريتيك وذلك لغرض ايقاف التفاعل . وتتناسب شدة اللون المتكون طرديا مع تركيز مستضدات الSOD الموجودة في مصل الدم والتي تقاس الامتصاصية لها عند الطول الموجي 450 نانومتر، وتم تحديد تركيز الSOD في نماذج مصل الدم باستخدام المنحني القياسي له.

التحليل الاحصائي:

تم تحليل بيانات التجربة باستخدام اختبار تحليل التباين احادي الاتجاه (One Way ANOVA) حسب البرنامج الاحصائي الجاهز واختبرت معنوية الفروقات بين المتوسطات باستخدام اختبار اقل فرق معنوي (LSD) (9).

النتائج

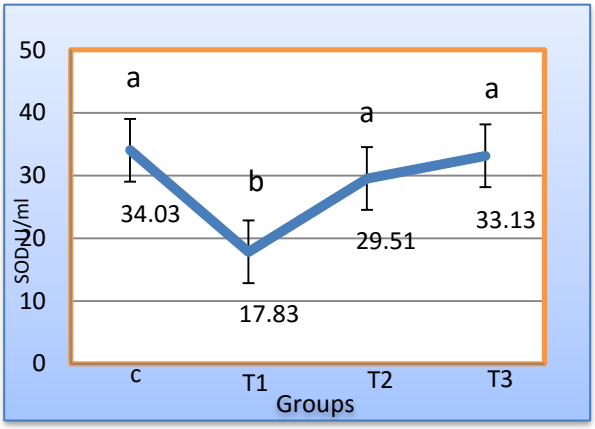
تشير النتائج المبينة في الجدول (1) الى ان المعاملة بخلات الرصاص ادت الى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في فعالية انزيم AST (183.42) مقارنة بمجموعة السيطرة (94.09) U/L. كما لوحظ ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مجموعة المعاملة بحليب الافراس المخمر مع خلات الرصاص (T2) (102.89) U/L ومجموعة المعاملة بمادة EDTA مع خلات الرصاص (T3) (94.51) U/L مقارنة مع مجموعة السيطرة في

حين لم تسجل اي فروقات معنوية بين المجموعتين (T_2 و T_3). بين التحليل الإحصائي لنتائج فعالية إنزيم ALT المدرجة في الجدول (1) أن المعاملة بخلات الرصاص قد أثرت في فعالية الإنزيم ، إذ حصل ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في فعاليته لدى الحيوانات التي عوملت بخلات الرصاص (T_1) (66.67) U/L مقارنة مع مجموعة السيطرة (37.97) U/L وبقية مجاميع التجربة الاخرى. كما حصل ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في فعالية إنزيم ALT في حيوانات المجموعة الثانية (T_2) (51.61) U/L المعاملة بحليب الافراس مع خلات الرصاص مقارنة مع مجموعة خلات الرصاص (T_1). وأوضحت النتائج عدم وجود فروق معنوية تذكر بين فعالية الإنزيم لمجموعة المعاملة (T2) و(T3). كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول ارتفاع معنوي ($P>0.05$) في فعالية انزيم ALP لدى مجموعة الحيوانات التي عوملت بخلات الرصاص لوحدها (T1) (319.71) U/L مقارنة مع مجموعة السيطرة (125.93) U/L وبقية مجاميع التجربة الاخرى (165.9 , 172.85) U/Lعلى التوالي. في حين اوضحت النتائج المبينة في الجدول (1) عدم وجود فروقات معنوية بين بقية مجاميع التجربة (السيطرة ، T_2 وT_3) (125.93, 172.85, 165.9) U/L على التوالي. و أوضحت نتائج الدراسة الحالية ان هناك انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في تركيز انزيم SOD في مجموعة الحيوانات التي عوملت بخلات الرصاص (17.83) U/ml مقارنة مع بقية مجاميع الدراسة C وT_1 وT_3 (34.03 ، 29.51 ، 33.13) U/ml على التوالي في حين ان مجموعة المعاملة بحليب الافراس المخمر (T2) ومجموعة المعاملة بمادة EDTA (T3) لم تسجل اي فروقات معنوية فيما بينها (29.51، 33.13) U/ml على التوالي وكذلك بالمقارنة مع مجموعة السيطرة (34.03). شكل (1). كما تشير النتائج المبينة في الشكل (2) الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز MDA في مجموعة المعاملة بخلات الرصاص (T1) (13.12) nmol/l في حين ادت المعاملة بحليب الافراس المخمر في مجموعة المعاملة (T2) الى حصول تقارب في تركيز المالونداياليديهايد (7.91) nmol/l مع مجموعة السيطرة (6.44) nmol/l كذلك لم تظهر مجموعة (T2) اي فروقات معنوية بالمقارنة مع مجموعة المعاملة بمادة EDTA (T3) (6.98) nmol/l التي لم تسجل اي فروقات عن مجموعة السيطرة.

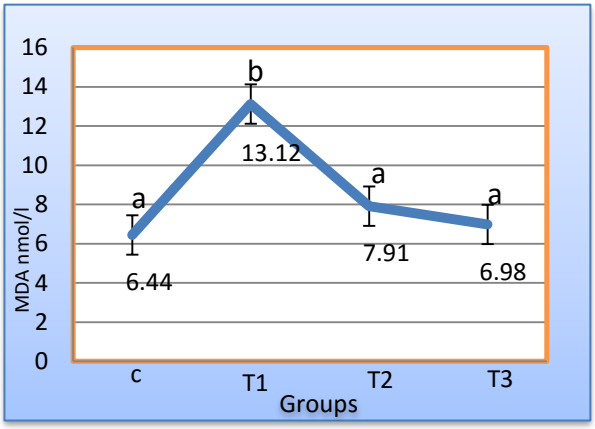
الجدول (1) تأثير المعاملات المختلفة على انزيمات الكبد في مصل دم ذكور الجرذان

المعاملات / المعايير	معاملة السيطرة (C) المعدلات ± الخطأ القياسي	المعاملة الاولى (T1) المعدلات ± الخطأ القياسي	المعاملة الثانية (T2) المعدلات ± الخطأ القياسي	المعاملة الثالثة (T3) المعدلات ± الخطأ القياسي
انزيم اسبارتيت امينو ترانسفيريز (AST) (U/L)	10.02 ±94.09 a	17.02 ± 183.42 b	7.58±102.89 c	5.82 ±94.51 c
انزيم الانين ترانسفيريز (ALT) (U/L)	1.3 ±37.97 a	2.7 ±66.67 b	2.68 ±51.61 c	2.05 ±46.96 ca
انزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP) (U/L)	12.26 ±125.93 a	14.85±319.71 b	14.4 ± 172.85 a	20.43 ±165.9 a

- **الحروف المختلفة افقيا تشير الى وجود فرق معنوي بين المعاملات تحت مستوى احتمال ($P < 0.05$) بين المتوسطات .**
- **C مجموعة السيطرة . T_1 المجموعة المعاملة بخلات الرصاص بتركيز1000 ppm. T_2 المجموعة المعاملة بحليب الافراس المخمر(10 مل / كغم من وزن الجسم / يوم). T_3 المجموعة المعاملة بمادة EDTA (50 ملغم /كغم من وزن الجسم / يوم) .**



شكل (1): تأثير المعاملات المختلفة في تركيزانزيم SOD في مصل دم ذكور الجرذان.



شكل (2): تأثير المعاملات المختلفة في تركيز MDA في مصل دم ذكور الجرذان.

الحروف المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي بين المعاملات تحت مستوى احتمال ($P < 0.05$) بين المتوسطات. مجموعة السيطرة (C) . T_1 المجموعة المعاملة بخلات الرصاص بتركيز1000 ppm. T_2 المجموعة المعاملة بحليب الافراس المخمر(10 مل / كغم من وزن الجسم / يوم). T_3 المجموعة المعاملة بمادة EDTA (50 ملغم /كغم من وزن الجسم / يوم).

المناقشة

اظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول ارتفاع في تركيز الانزيمات الناقلة للامين ALT و AST وخاصة للمجموعة التي عوملت بخلات الرصاص وهذه الزيادة في تراكيز هذه الانزيمات تدل علميا على تفاقم الضرر الذي لحق بالأنسجة الحاوية لهذه الانزيمات وبخاصة خلايا الكبد التي تحتوي التركيز الاكبر منها (10). واكدت الدراسات ان المعاملة بخلات الرصاص ادى الى ارتفاع تركيز هذين الانزيمين حيث وجد (11) ان الاجهاد الذي يسببه الرصاص ومركباته ينجم عنه انتاج الجذور الحرة التي تؤثر في فعالية الخلية ولاسيما وظيفة الغشاء الخلوي اذ تعد موادا سامة وضارة لوظيفة الخلية حيث يرتبط الرصاص مباشرة مع الغشاء الخلوي حال وصوله للخلايا مؤديا الى حدوث بيروكسدة الدهن للغشاء الخلوي مما يقود الى حدوث تغيرات في تركيب ووظيفة الغشاء الخلوي عن طريق زيادة نفاذيتها (12). ان اثر الرصاص في تغيير نفاذية اغشية الخلايا الكبدية يؤدي الى تسرب هذه الانزيمات الى الدم (13). وبينت النتائج أن إعطاء حليب الافراس المخمر مع خلات الرصاص أدى إلى تراجع تركيز إنزيمات الكبد إلى معدلات قريبة من السيطرة، وهذا يرجع بالدرجة الأساس إلى الأثر الإيجابي لحليب الافراس المخمر على كافة أنحاء الجسم وعلى الكبد بصورة خاصة لاحتوائه على مضادات الأكسدة مثل Glutathione و Ascorbic acid و Atochopherol و Carotinoid وفيتامين B المعروف تأثيرها كمضادات للأكسدة تعمل على تخفيف اثار الإجهاد التأكسدي الذي يتعرض له الحيوان من خلال تقليل الأوكسجين الذي يرتبط مع الحوامض الدهنية غير المشبعة المكونة لأغشية الخلايا التي تحملها وتمنعها من التأكسد وتكوين الجذور الحرة مما يساعد في المحافظة على هذه الأنزيمات داخل الخلايا وعدم تسربها إلى الدم من خلال الحفاظ على خاصية النفاذية الاختيارية وبخاصة في خلايا الكبد والكلى والقلب وبالتالي تؤدي إلى انخفاض مستويات هذه الأنزيمات في مصل الدم والاستفادة منها داخل الخلايا . واتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه (14) في دور حليب الافراس في الوقاية من الاجهاد التأكسدي حيث اشار الى انه بالإضافة الى مكوناته المضادة للأكسدة التي تشمل العديد من الفيتامينات والمعادن والانزيمات والاهم من ذلك الاوليكوسكرايد التي تظهر نشاط مضاد للأكسدة من خلال محاربة الجذور الحرة التي تهاجم المكونات الخلوية مسببة اكسدة الدهون وبالتالي تؤدي الى احداث تغيرات في هيكلية ووظائف الخلايا لذلك تعتبر نسبة وجود هذه المركبات في الحليب مرتبطة بشكل ايجابي مع تعزيز الحالة الصحية للجسم وتقليل فرص الاصابة بالأمراض . اما المعاملة بمادة EDTA فقد اسهمت في خفض فعالية الانزيمات الناقلة للأمين و هذه النتائج تتفق مع (15) في ان العمل المحتمل لل EDTA كعوامل مخلبية للتخلص من المعادن الثقيلة وبالتالي التقليل من الاثار السمية على انسجة الجسم . كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول ارتفاع معنوي في تركيز انزيم الفوسفاتيز القاعدي . اتفقت نتائج هذه الدراسة مع ما توصل اليه (6) في دراسته على الفئران المعرضة للرصاص اذ لاحظ ان هناك زيادة في تركيز انزيم الفوسفاتيز القاعدي. ودرس (17) اسباب ارتفاع الفوسفاتيز القاعدي عن القيم الطبيعية عند التعرض للرصاص وذلك لعدم قدرة الجسم على افرازه من خلال القناة الصفراوية بسبب انسدادها نتيجة للضرر الذي يلحق بالخلايا الكبدية . في حين بينت النتائج ايضا ان هناك انخفاضا في فعالية الفوسفاتيز القاعدي عند المعاملة بحليب الافراس المخمر وذلك لمحتوى الحليب من بروتينات شرش الحليب ومنها بيتا لاكتوكلوبيولين حيث يمكن أن تحسن إلى حد كبير في خفض الدهون الثلاثية، وخفض الكولسترول ، وتحسين التمثيل الغذائي للسكر في الدم اضافة الى محتواه من الفيتامينات المضادة للأكسدة مثل فيتامين E حيث تساهم هذه المكونات في خفض تركيز الكوليسترول ويمتلك هذا الفيتامين فوائد صحية كثيرة من أهمها خفض الكوليسترول عن طريق التأثير في نسبة (LDL\ HDL) (18) .أوضحت نتائج عدة دراسات أن تناول الحليب المخمر بالبكتيريا يؤدي إلى خفض مستوى كولسترول الدم، (19) وبالتالي التأثير على مستوى الانزيم لان الكوليسترول الزائد يسبب انسداد في بعض قنوات الكبد فيحصل ارتفاع في تركيز الانزيم في المصل الذي يعد دالة على الانسداد الكبدي. اما فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي في مجموعة المعاملة الثالثة فقد اظهرت انخفاضا ملحوظا وذلك بسبب دور مادة EDTA في التخلص من الرصاص عن طريق طرحه خارج الجسم وبالتالي التقليل من اثاره السمية (20). اظهرت نتائج الدراسة ارتفاعا في مستوى تركيز MDA في مصل دم ذكور الجرذان المعاملة بخلات الرصاص مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعتي الحليب وEDTA وتتفق هذه النتائج مع نتائج الدراسة التي توصل اليها (21) عند معاملة الجرذان بتراكيز مختلفة من خلات الرصاص ويعزى سبب ارتفاع مستوى تركيز MDA في مصل دم الجرذان الى قابلية الرصاص على تحفيز الاكسدة وانتاج الجذور الحرة وزيادة بيروكسدة الدهن وحصول الضرر التأكسدي في الاغشية الخلوية وبالتالي رفع مستوى MDA كأحد النواتج النهائية المهمة لعملية الاكسدة(22). كما أشارت الدراسات إلى ان الاجهاد التأكسدي الذي يسببه الرصاص في الانسجة المختلفة المعرضة له، يسبب اختلال في المسارات الايضية الكبدية المختلفة والايض بشكل عام، مما يؤدي الى تحرير انواع الاوكسجين الفعالة. كما اشار(23) الى ان الرصاص عند دخوله للجسم يعمل على تثبيط فعالية الانزيمات الضرورية لتصنيع الدم مثل انزيم دلتا حامض امينو لفينولينك ديهيدريتيز –α Aminolevulnic acid dehydratase بسبب الفة الرصاص العالية نحو مجاميع السلفاهيدريل للأنزيمات مسببا تراكم المادة الاساس لحامض امينولفينولينك (ALA) هذه المادة تكون معرضة للأكسدة مسببة انتاج انواع الاوكسجين الفعالة مثل جذر الهيدروكسيل (OH) وجذر السوبر اوكساید ديسميوتيز O_2 وجذر بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (24). وعزى (25) ان سبب ارتفاع تركيز MDA الى تحفيز انزيم Fatty-acyl - CoA oxidase وبدء اكسدة الاحماض الدهنية التي تؤدي الى زيادة انتاج بيروكسيد الهيدروجين الداخلي المنشأ والذي

يسهم في بيروكسدة الدهن للغشاء الخلوي (26). من جانب آخر، اظهرت الدراسة الحالية نتائج تفيد بالدور الايجابي لحليب الافراس في تقليل بيروكسدة الدهن ويمكن ان يعزى ذلك الى احتواء الحليب على البيتيدات المضادة للأكسدة التي تتحرر من التحلل المائي للكازين بواسطة الانزيمات الهاضمة او عن طريق تخمير الحليب ببكتريا حامض اللاكتيك (27) . وفي دراسة سابقة بين (28) ان هذه البيتيدات تمتلك نشاط مضاد للجذور الحرة وذلك لأنها تعمل على تثبيط الانزيمات المسؤولة عن بيروكسدة الدهن .كذلك لوحظ من النتائج ان استخدام مادة EDTA كعامل خالب في علاج التسمم بالرصاص ادى الى خفض قيمة MDA لمجموعة الحيوانات المعاملة بمادة EDTA الى جانب خلات الرصاص وهذ النتائج تتفق مع ما توصل اليه (29) الذي اشار الى دوره في محاربة الجذور الحرة. اوضحت نتائج الدراسة الحالية انخفاضا معنويا في مستوى تركيز انزيم سوبر اوكساید ديسميوتيز (SOD) في مصل دم ذكور الجرذان المعاملة بخلات الرصاص وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (30) الذي وجد ان زيادة انزيم SOD كاستجابة لزيادة جذور السوبر اوكساید نتيجة الاجهاد التأكسدي الناتج من التسمم بخلات الرصاص والذي نتج عنه فقدان التوازن بين عوامل الاكسدة والانظمة الدفاعية المضادة للأكسدة ولغرض التخلص من سمية هذه الجذور وخاصة جذر السوبر اوكساید O_2^- تزداد فعالية انزيم SOD اذ يعمل على تحويل جذر السوبر اوكساید الى بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 الذي بدوره يتحول الى ماء بوساطة انزيم الكتاليز (31). تتفق نتائج الدراسة الحالية مع (32) الذي توصل الى ان تعرض الاشخاص العاملين في مصنع البطاريات للرصاص يؤثر على عملية التصنيع الحيوي للهيموكلوبين وبالتالي انخفاض نشاط انزيم SOD المرتبط مع زيادة بيروكسيدة الدهن. وقد افاد (33) بأن الرصاص غير قادر على توليد الجذور الحرة بشكل مباشر ولكن تأثيره يكون بشكل غير مباشر عن طريق بيروكسدة الدهن نتيجة الحاق الضرر بمضادات الاكسدة. كما درس (34) تأثير الرصاص على ال SOD واعزى تأثيره الى الفة الرصاص العالية نحو مجاميع الثايول Thiol group للأحماض الامينية وخاصة الحامض الاميني Cysteine وبالتالي التأثير على وظائف الانزيمات الحاوية على هذه المجموعة مثل انزيم SOD. وقد ذكر (35) الى ان الزيادة في مستوى انزيم SOD يمكن اي يعود الى التفاعل بين الرصاص و ايونات المعادن مثل الحديد والنحاس و الزنك التي تعتبر من العوامل الضرورية لنشاط انزيم السوبر اوكساید SOD. من جهة اخرى اظهرت النتائج ان المعاملة بحليب الافراس المخمر ادت الى حصول انخفاضا في تركيز انزيم SOD ويعود ذلك الى ان الحليب يحتوي على مجموعة واسعة من المركبات التي لها وظيفة مضادة للأكسدة ان وظائف هذه المركبات قد تم دراستها بشكل مكثف فقد ذكر (36) ان الكازين و البيتيدات المشتقة من الكازين الموجودة في الحليب المخمر قد تكون واحده من اهم عوامل تعزيز النشاط المضاد للجذور الحرة حيث وجد ان التركيب الهيكلي للبيتيدات يمكن ان يعزى له تثبيط بيروكسدة الدهن (37) .كذلك تشير البحوث الى ان محتوى الحليب من الفا – لاكتوفيرين يعطيه اهمية كمضاد للأكسدة لان اللاكتوفيرين يعتبر كعامل خالب للمعادن الثقيلة (38)، وبالتالي انخفاض في علامات الاجهاد التأكسدي. وقد تسببت المعاملة بمادة EDTA الى انخفاض معنوي في تركيز انزيم SOD يمكن ان يفسر دورها في التقليل من علامات الاجهاد التأكسدي من خلال دورها كعامل خالب للتخلص من المعادن السامة حيث تستخدم على نطاق وسع في هذا المجال (39).

المصادر

1-Brender J D, Suaez L, Felkner M, Gilani Z, Stinchomb D, Moody K, Henry J, Hendriks K (2006) Maternal exposure to arsenic , cadmium and mercury and neural tube defects in offspring Environ Res. 101: 132 – 139.

2-Pracheta M, Singh L (2009) Effect of lead nitrate Pb(NO3) on plant nutrition, as well as physical and chemical parameters on Lobia (Vigna unguiculata Linn. Walp.). J. Plant Develop. Sci., 1: 49-56.

3-0Martin H, Richert L, Berthelot A (2003) Magnesium deficiency induces apoptosis in primary cultures of rat hepatocytes. Am. Soc. Nut., 133: 2505-2511.

4-Park YW, Zhang H, Zhang B, Zhang L (2006) Mare milk. In Handbook of Milk of Non - bovine Mammals, edited by Park, Y.W., and Haenlein G.F.W. Blackwell Publishing , Oxford, UK . pp. 275 – 296 .

5-NRC (1976) Nutrient requirements of laboratory animals Mice and Rats , No. 10, second revised edn. National Academey of sciences, Washington D.C.

6-Tamime AY, Robinson RK (1999) Yoghurt science and technology (2nd ed).. New York: CRC Press.

7-AOAC (2000) Official methods of Analysis. Association of official Analytical chemists Inc., Virginia , USA.

8-Tietz NW (1995) Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders, 76.

9-SAS (Statistical Analysis system) (2004) User Guide . version 9.1 SAS institute Inc., Cary.

10-Arneson W L, Brickell J M (2007) Assessment of Liver Function. In: Clinical Chemistry: A Laboratory Perspective. Arneson, W.L. and J.M. Brickell (Eds.), F.A. Davis Davis Company, Philadelphia, ISBN-10 : 233-66.

11-Choudhury S, Panda S (2004) Induction of oxidative stress and ultra-structural changes in moss Taxithelium nepalense (Schwaegr) both under lead and arsenic phytotoxicity.Curr. Sci., 87: 342-348.

12-Shimizu I, Kamochi M, Yoshikawa H, Nakayama Y (2012) Gender difference in alcoholic liver

composition ofmembrane? Comp BiochemPhysiol C ;104:377–9.

27-Korhonen H, Pihlanto A (2003) Food-derived bioactive peptides—Opportunities for designing future foods. Curr. Pharm. Des. ; 9:1297–1308

28-Rival SG, Boeriu CG, Wichers HJ (2001) Caseins and casein hydrolysates. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. J. Agric. Food Chem. 49:295–302.

29-Hininger I, Waters R, Osman M (2005) Prooxidant effects of vitamin C in EDTA chelation therapy and long-term antioxidant benefits of therapy. Free Radic Biol Med;38:1565-1570.

30-Kasperczyk S, Birkner E, Kasperzyk A, Zalejska-Fiolka J (2004) Activity of superoxide dismutase and catalase in people protractedly exposed to lead compounds. Ann. Agric. Environ. Med., 11: 291-296.

31-Gibananada R, Hussain S A (2002) Oxidants. Ind. J. Exp. Biol., 40: 1213–1232.

32-Patil Yogesh B (2006) Isolation of thiocyanate degrading chemoheterotrophic bacterial consortium. Nature Environment and Pollution Technology 5: 135-138.

33-Patra RC, Swarup D, Dwidedi SK (2001) Antioxidant effects of α- tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead-induced oxidative stress of the liver, kidney and brain in rats. Toxicol., 162: 81-88.

34-Patrick L (2006) Lead toxicity part II: The role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. Altern Med Rev. ,11:114–127.

35-Mohammad IK, Mahdi AA, Raviraja A (2008) Oxidative Stress in Painters Exposed to Low Lead Levels. Arh. Hig. Rada. Toksikol. 59: 161-169

36-Nishino T, Shibahara-Sone H, Kikuchi-Hayakawa H, Ishikawa F (2000) Transit of radical scavenging activity of milk products prepared by Maillard reaction and Lactobacillus casei strain Shirota fermentation through the hamster instestine. J. Dairy Sci. 83: 915-922.

37-Peng XY, Xiong YL, Kong BH (2009) Antioxidant activity of peptide fractions from whey protein hydrolysates as measured by electronspin resonance. *Food Chemistry* 113: 196–201.

38-Sundberg J, Ersson B, Lonnerdal B, Oskarsson A (1999) Protein binding of mercury in milk and plasma from mice and man – a comparison between methylmercury and inorganic mercury. Toxicology 137:169-184.

39-Yokoyama K, Sode K, Tamiya E, Karube I (1989) Integrated biosensor for glucose and galactose. Anal. Chim. Acta., 218, 137–142.

disease. In: Shimizu I (ed) Trends in alcoholic liver disease research: Clinical and scientific aspects. InTech-Open Access Publisher, Rijeka, Croatia, pp 23-40.

13-Bashandy SAE (2006) Beneficial effect of combined administration of vitamin C and vitamin E in amelioration of chronic lead hepatotoxicity. Egypt. J. Hospit. Med. 23:371-384.

14-Roy T, Deepak D (2014) Antioxidant properties of milk oligosaccharides from various ruminants. international J. of pharma and Bio Sciences. 5: 400 - 408.

15-Marija V, Arnai V, Piasek M, Blanusa M (2004) Succimer treatment and calcium supplementation reduce tissue lead in suckling rats. J. Appl Toxicol 24: 123-128 .

16-Attia MM, Ibrahim AA, Nabil M Aziz W (2013) Antioxidant effects of ginger (Zingiber officinale Roscoe) against lead acetate-induced hepatotoxicity in rats. African J. of Pharmacy and Pharmacology. 7: 1213-1219. 17-Saukkonen JJ, Cohn DL, Jasmer RM, Schenker S, Jereb JA, Nolan CM, Ploquin CA, Gordin FM, Nunes D, Strader DB, Bernardo J, Venkataramanan R, Timothy R (2006) An official ATS statement: hepatotoxicity of antituberculosis therapy. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 174:935–952.

18-Pariza MW, Park Y, Cook ME (2001) The biologically-active isomers of conjugated linoleic acid. Prog Lipid Res . 40:283–98.

19-Hepner GR, Fried R, Stjeor S, Fuselti L, Moria R (1979) Hypocholesterole mic effect of yogurt and milk. Am J. Clin Nutr 31, 19-24.

20-Chisolm JJ (1990) Evaluation of the potential role of chelation therapy in treatment of low to moderate lead exposures. Environ Health Perspect 89:67-74.

21-Abdel-Kader MM Afify AA Hegazy AM (2011) Roles of Nacetylcysteine, methionine, vitamin C and vitamin E as antioxidants against lead toxicity in rats. Austr. J. Basic Appl. Sci. 5:1178-1183.

22-Ahmed M, Siddiqui MK (2007) Low level lead exposure and oxidative stress: Current opinions. Clinica Chimica Acta 383: 57-64.

23-Flora SJ, Mehta A, Gupta R (2009) Prevention of arsenic-induced hepatic apoptosis by concomitant administration of garlic extracts in mice. Chem Biol Interact. 177:227–233.

24-Bechara EJH (1996) Oxidative stress in acute intermittent porphyria and lead poisoning may be triggered by 5-aminolevulinic. Braz. J. Med. Biol. Res., Ribeirão Preto, 29:841-851.

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

26-Donaldson WE, Knowles SO (1993) Is lead toxicosis a reflection of altered fatty acid