وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية التربية /قسم علوم الحياة

عنوان البحث

تأثير السيلينيوم في بعض المعايير الدموية و الكيموحيوية في

ذكور الجرذان البيض

بحث مقدم الى رئاسة قسم علوم الحياة كلية التربية / جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

مقدم من قبل الطالبتان

زينب علي عاصف

رجاء عبد الامير حميد

بأشراف

د . وجدان مطرود كاظم

1439 هـ 2018م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

((ومن آياته خلق السموات والارض وما بث فيهما من دابة))

صدق الله العلي العظيم

الشكر والتقدير

وفي مثل هذه اللحظات يتوقف اليراع ليفكر قبل ان يخط الحروف ليجمعها في كلمات ... تتبعثر الاحرف وعبثا ان يحاول تجميعها في سطور سطورا كثيرة تمر في الخيال ولا يبقى لنا في نهاية المطاف الا قليلا من الذكريات وصور تجمعنا برفاق كانوا الى جانبنا ....

فواجب علينا شكرهم ووداعهم ونحن نخطو خطواتنا الاولى في غمار الحياة

ونخص بجزيل الشكر والعرفان الى كل من اشعل شمعة في دروب عملنا والى من وقف على المنابر واعطى من حصيلة فكره لينير دربنا واتقدم بالشكر الجزيل الى الاستاذة الفاضلة (د . وجدان مطرود) التي شرفتني واكرمتني بأشرافها القيم و متابعتها المتواصلة في كتابة هذا البحث وايضا الشكر والتقدير التقدير الى اساتذتي الكرام في قسم علوم الحياة .

الاهداء

الى من علم البشرية مبادئ العلم والثقافة الى منارة العلم سيد الخلق رسولنا وحبيبنا الاكرم محمد (ص)

الى من علمي النجاح والصبر والقوة ومواجهة الصعاب لآصل الى ما انا فيه ..ابي

الى من تتسابق الكلمات لتخرج معبرة عن مكنون ذاتها وعندما تكسوني الهموم اسبح في بحر حنانها ليخفف من الآمي ..امي

إهداء

الى امي وابي

الى اخوتي

الى اهلي وعشيرتي

الى اساتذتي

الى زملائي وزميلاتي

اهدي ثمرة جهدي المتواضع...

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تحديد تأثير سيلينات الصوديوم قي بعض المعايير الدموية والكيموحيوية في ذكور الجرذان البيض. واشتملت الدراسة على (20) ذكر من الجرذان البيض البالغة وقسمت عشوائياً الى مجموعتين، كل مجموعة تشمل (10) حيواناً وكما يأتي: مجموعة السيطرة: جرعت الماء المقطر ولمدة 30 يوما، ومجموعة المعاملة: جرعت سيلينات الصوديوم بتركيز 0.5 ملغم / كغم عن طريق الفم يوميا ولمدة 30 يوما .

بينت النتائج حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل عدد الكريات الحمر وتركيز الهيموغلوبين وحجم الخلايا المرصوص في المجموعة المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة .

كما اشارت النتائج الى حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز انزيمات الكبد AST وALT وALP في مصل دم المجموعة المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة.

المقدمـة Introduction

العناصر النزرة وهي تلك العناصر التي توجد في النظام الطبيعي بكميات قليلة كذلك فأن احتياجها من قبل الجسم تكون بكميات قليلة أو نزرة جدا ، وهي عبارة عن عناصر كيميائية لا تختزل ولا تتجزأ الى مركبات اصغر(Abid *et al.,* 2002). تقسم العناصر النزرة من حيث أهميتها الى مجموعتين، الاولى هي العناصر النزرة الأساسية وهي العناصر التي لا يمكن للكثير من الفعاليات الحيوية أن تتم بدونها مثل الكوبلت والنحاس والحديد والمنغنيز والخارصين، أما الثانية فهي العناصر النزرة غير الأساسية والتي ليس لها أهمية حيوية كيميائية معروفة وتضمّ الكادميوم والرصاص والزئبق والزرنيخ (Arcasay *et al.*, 2001) .

قد توجه الاهتمام في الآونة الأخيرة نحو استخدام العناصر النزرة كالسيلينيوم والزنك والحديد والنحاس للتقليل من تأثير بعض المواد السامة وتجمعها في الجسم .

ويعد السيلينيوم من العناصر النزرة الضرورية للإنسان والحيوان إذ يلعب دوراً مهماً في موازنة النظام المضاد للأكسدة وحماية الجسم من ظروف الإجهاد التأكسدي ، وان دور السيلينيوم كمضاد للأكسدة يكون من خلال عدة آليات منها: كسح الجذور الحرة ، الارتباط مع المعادن السامة وتكوين معقدات خاملة، كما انه يدخل في تركيب انزيم Glutathione peroxidase (GPX) المضاد للأكسدة (Battin& Brumaghim , 2009). ويعزى التأثير المهم للسيلينيوم إلى وجود العديد من الأنزيمات التي يدخل السيلينيوم في تكوينها ومن ضمنها أنزيم glutathione-peroxidase وThioredoxin reductase و deiodinase. وتؤدي بعض هذه الانزيمات دوراً مهماً لاسيما في الدماغ والغدد الصم (Behne *et al.*, 1995). ولكن أهمها أنزيم كلوتاثيون بيروكسيديز الذي يتواجد في سايتوبلازم الخلايا وفي المتقدرات وكريات الدم الحمر والبلازما وفي أنسجة الكبد والنطف (Ursini *et al.*, 1999)، ولهذا الانزيم دور مهم في تنظيم مستوى بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 عن طريق تحويل الكلوتاثيون المختزل Reduced glutathione إلى الكلوتاثيون المؤكسد Oxidized glutathione وبالتالي يعمل على حماية الخلايا والأنسجة ضد بيروكسدة الدهون عن طريق إزالة بيروكسيد الهيدروجين ومن ثم تقليل تكوين جذر الهيدروكسيل (Arteel & Sies, 2001).

المواد وطرق العمل

أستعمل في هذه الدراسة عنصر السيلينيوم على هيئة سيلينات الصوديوم Na_2SeO_4 التي تم الحصول عليها من مختبرات قسم الكيمياء التابع لكلية التربية/ جامعة القادسية، إذ تم إستخدامه بتركيز 0.5 ملغم /كغم (Soudani *et al.* , 2012).

اشتملت الدراسة على (20) ذكر من الجرذان البيض البالغة، وقد تراوحت أعمارهم ما بين (3–3.5) أشهر ووضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية ورشت أرضيتها بنشارة الخشب كما تمت العناية بنظافة الأقفاص وخضعت الحيوانات في جميع مراحل التجربة تحت ظروف مختبرية متشابهه من تهوية وإضاءة، وقد زودت بالماء والعليقة باستمرار وبشكل حر خلال مدة التجربة. قسمت الحيوانات عشوائياً الى مجموعتين، كل مجموعة تشمل (10) حيواناُ وكما يأتي :

1– مجموعة السيطرة : وقد جرعت الماء المقطر وعدت كمجموعة السيطرة.

2– مجموعة المعاملة: جرعت سيلينات الصوديوم بتركيز 0.5 ملغم /كغم يومياً وعن طريق الفم ولمدة 30 يوما .

بعد انتهاء التجربة تم تخدير الحيوانات باستخدام الكلوروفورم ثم سحب الدم من القلب مباشرة باستخدام طعنة القلب ووضع 1 مل من الدم المسحوب في أنابيب جمع الدم الحاوية على مادة EDTA المانعة للتخثر لغرض إجراء التحاليل الخاصة بالمعايير الدمية ، في حين وضع 3 مل من الدم المتبقي في أنابيب اختبار خالية من المادة المانعة للتخثر، وتركت لمدة 15– 20 دقيقة في درجة حرارة المختبر ثم وضعت العينات داخل جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة لغرض فصل المصل ولإجراء الاختبارات الكيموحيوية، وتم حفظ المصل بدرجة حرارة – 20 مo لحين الاستعمال.

المعايير الدمية

تم قياس عدد كريات الدم الحمر وتركيز الهيموكلوبين وحجم الخلايا المرصوص عن طريق وضع عينة الدم في EDTA tube في جهاز التحليل الدموي الاتوماتيكي Heamatological Analyzer، بالاعتماد على بروتوكولات الشركة المصنعة والمحاليل المضافة من قبل الجهاز .

المعايير الكيموحيوية

1- تقدير فعالية الأنزيمات الناقلة للامينALT و AST في المصل

اتبعت الطريقة اللونية للعالمين Reitman و Frankel (1957) لتقدير فعالية الإنزيمات الناقلة للامين ALT وAST واستخدمت عدة التحاليل Kit المجهزة من شركة Giesse الإيطالية.

2 - تقدير فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعديALP في المصل

تم تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي باستخدام الطريقة اللونية المتبعة من قبل العالمان Belfeld & Goldberg (1971) ، وذلك من خلال استخدام عدة التحاليل الجاهزة Kit المجهزة من شركة Giesse الإيطالية.

التحليل الإحصائي Statistical Analysis

حللت نتائج التجارب باستعمال برنامج SPSS الإحصائي ، إذْ استخدم اختبار (Anova) للمقارنة بين المجموعة المدروسة ومجموعة السيطرة وتم حساب اقل فرق معنوي Least Significant Differences (LSD) لاختبار معنوية النتائج (ابو صالح والناصر، 2011).

النتائج والمناقشة

المعايير الدمية

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى حصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل عدد الكريات الحمر وتركيز الهيموغلوبين وحجم الخلايا المرصوص في المجموعة المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما في الجدول (1) .

ويعود سبب ذلك الى ان للسيلينيوم دوراً مهماً في حماية الهيموغلوبين من الأذى التأكسدي من خلال كونه يعد المكون الأساسي لأنزيم GPX الموجود في كريات الدم الحمر والذي يحفز عملية تحطم بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 و بيروكسدة الدهون عن طريق إختزال الكلوتاثيون وبذلك يحمي غشاء الكرية الحمراء والهيموغلوبين من الأكسدة (Murray *et al.*, 2003) . كما يؤثر مستوى Se في تنظيم heme oxygenase-1 الذي يحفز الخطوات الأولى من أيض الهيم ويحول الهيم الى بيليفردين Biliverdin وأحادي أوكسيد الكاربون وأيون الحديد ، إذ لوحظ أن نقص Se يزيد من مستوى heme oxygenase-1 (Mostert *et al.*, 2007). وقد وجد أن هنالك علاقة بين إنخفاض مستوى Se والإصابة بفقر الدم anemia في الفيتنام والولايات المتحدة (Semba *et al.*, 2006).

بالإضافة الى ذلك ، يلعب Se دوراً مهماً في عدد من العمليات البايلوجية حيث يعد عنصراً مهماً في تنظيم وظيفة الغدة الدرقية وزيادة إنتاج هرموناتها (Berger *et al.*, 2001) ومن ثمّ زيادة تكوين كريات الدم الحمر.

المعايير الكيموحيوية

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي انخفاضا معنوياً في مستوى أنزيمات AST وALT وALP في الحيوانات المعاملة بالسيلينيوم مقارنة مع السيطرة .

ويعود ذلك الى ان السيلينيوم يعمل على حماية الكبد والكلية من الضرر التأكسدي الذي تسببه الجذور الحرة المتزايدة من خلال زيادة فعالية مضادات الأكسدة مثل SOD و Glutathione reductase (GR) وزيادة مستوى الكلوتاثيون ، وان Se لا يؤثر على أيض المواد السامة ولكنه يزيد من عمل الكلوتاثيون المزيل للمواد السامة (Modi *et al.* , 2007) . وأكدت ذلك الدراسات (Heikal *et al.* ,2012) إذ ادى تجريع الحيوانات بـ Se الى رفع مستوى الكلوتاثيون الذي يعمل على حماية الخلايا الكبدية وكذلك إزالة مجاميع الأوكسجين الفعالة من خلال ارتباطه مع المركبات الكيميائية السامة.

كذلك لوحظ أن إضافة Se وفيتامين E الى عليقة الجرذان قلل من تليف الكبد Hepatic fibrosis من خلال تثبيط فعالية خلايا Hepatic stellate cells (HSCs) التي تلعب دوراً مهماً في عملية تكوين الألياف في الكبد Liver fibrogenesis (Shen *et al.* ,2005).

جدول (1): يبين تاثير سيلينيات الصوديوم في بعض المعايير الدمية والكيموحيوية في ذكور الجرذان البيض

المجاميع المعايير	مجموعة السيطرة	مجموعة المعاملة
عدد الكريات الحمر (10^6x/ ملم^3)	0.11 ± 7 B	0.15 ± 8.5 a
تركيز الهيموغلوبين (غرام/100مل)	0.2 ± 11.1 B	0.1 ± 13.5 a
معدل حجم الخلايا المرصوص %	0.6 ± 37.1 B	0.2 ± 40.2 a
AST (U\L)	0.4 ± 40.6 A	0.9 ± 35.5 b
ALT (U\L)	0.1 ± 31.2 A	0.3 ± 26.1 b
ALP (U\L)	0.11 ± 89.3 A	0.13 ± 81.5 b

- الأرقام تمثل المعدل ± الخطأ القياسي .
- الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المجاميع .

المصادر

- أبو صالح، محمد صبحي والناصر، أمجد ضيف الله. (2011) . دليل التحليل الإحصائي باستخدام SPSS. الطبعة الاولى. دار اليازوري للنشر والتوزيع. عمان – الأردن.157-173.

Abid, F.M.; Al-Dori, K.M.; Khalaf, H.L.; Salomi, A.A.& Hamad, A.W. (2002). Measurement of essential trace elements in blood serum of cardiovascular patients compared with normotensive control by atomic absorption spectrophotometry. National J. Chem. 6: 283-304.

Arcasay, A.; Canata, D.; Sinav, B.; Kutlay, L.; Oguz, N.& Sen, M. (2001). Vitamins, trace minerals and other micronutrients. J. Trace Elem. Med. Bio. 15(2-3): 85-7.

Arteel, G.E.& Sies, H. (2001). The biochemistry of selenium and glutathione system. Envir. Toxicol. Pharmacol. 10: 153-158.

Battin, E.& Brumaghim, J. (2009). Antioxidant activity of sulfur and selenium: a review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms. Cell Biochem. Biophysio. 55: 1-23.

Belfeld, A.& Goldberg, D.M. (1971). Enzyme. J. Obeste. Gynecol. 12: 561-562.

Behne, D.; Weiss–Nowak, C.; Kalcklosch, M.; Westphal, C.; Gessner, H.& Kyriakopoulos, A. (1995). Studies on the distribution and characteristics of new mammalian selenium–containing proteins. Analyst. 120: 823 – 825.

Berger, M.; Reymond, M.; Shenkin, A.; Rey, F.& Chiolero, R. (2001). Influence of selenium supplements on the post–traumatic alteration of the thyroid axis: a placebo–controlled trial. Intensive care Med. 27: 91-100 .

Heikal, T.M.; EL–Sherbiny, M.; Hassan, S.; Arafa, A.& Ghanem, H.Z. (2012). Antioxidant effect of selenium on hepatotoxicity induced by chlorpyrifos in male rats. Int. J. Pharmacol. Sci. (4): 603-609.

Modi, M.; Mittal, M.; & Flora, S. (2007). Combined administration of selenium and mose-2,3-dimercaptosuccinic acid on arsenic mobilizationand tissue oxidative stress in chronic arsenic–exposed male rats. Indian. J. Pharmacol. 39(2):107-114.

Mostert, V.; Nakayama, A.; Austin, L.; Levander, X.; Ferris, C.; Hill, K.& Burk, R. (2007). Serum iron increases with acute induction of hepatic heme oxygenase–1 in mice. Drug Metab. Rev. 39: 619 – 626 .

Murray, R.; Granner, D.; Mayes, P.& Rodwell, V. (2003). Harpers lustrated biochemistry. 26th ed. McGraw–Hill Companies. USA. 222 .

Semba, R.; Ferrucci, L.; Cappola, A.; Ricks, M.; Ray, A.; Xue, Q.; Guralink, J.& Fried, L. (2006). Low serum selenium is associated with anemia among older women living in the community: the women's health and aging studies I and II. Bio. Trace. Elem. Res. 112: 97 – 107.

Shen, X.; Cheng, W.; Li, X.; Sun, J.& Xie, L. (2005). Effects of dietary supplementation with vitamin E and selenium on rat hepatic stellate cell apoptosis. World J. Gastroenterol. 11(32): 4957- 4961 .

Soudani, N.; Troudi, A.; Amara, I.; Bouaziz, H.& Zeghal, N. (2012). Ameliorating effect of selenium on chromium (VI) induced oxidative

damage in the brain of adult rats. J. Physiol. Biochem. 68(3): 397-409 .

Reitman, S.& Frankel, S. (1957). Acolorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. Amer. J. Clin. Path. 28: 56-63.

Ursini, F.; Heim, S.; Kiess, M.; Maiorino, M.; Roveri, A.; Wissing, J.& Flohe, L. (1999). Dual function of the selenoprotein GSH-PX during sperm maturation. Sci. 285: 1393-1397.