



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية - كلية العلوم

قسم علوم الحياة

دراسة تأثير فيتامين د على خلايا الكبد في
الجرذان البيض

بحث مقدم الى مجلس كلية العلوم قسم علوم الحياة في جامعة
القادسية وهو جزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس

شفاء جواد كاظم

بإشرافه

أ.م. د: - علي عبد الحسين خزاي

2019م

1440هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

((يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ

وَرَجَاهُ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ))

صدق الله العظيم

سورة المجادلة (الآية ١١)

الاهداء

الى ملاكي في الحياة..... الى معنى الحب والحنان

الى بسمة الحياة وسر الوجود..... الى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي

والدتي العزيزة.....

الى الذي اهداني سنين عمره..... وعاند الهم

بصره..... والدي العزيز

الى نبراس حياتي ومرمر سعادتي..... الى ينبوع المحبة والحنان

الى من هم أشد إيمري..... إخوتي وأخواتي

والى كل من يؤمن بأن بذور نجاح التغيير هي في ذاتنا وفي أنفسنا قبل ان تكون في أشياء أخرى.

الشكر والتقدير

الحمد لله وكفى، والصلاة والسلام على النبي المصطفى صلى الله عليه واله وسلم،
وبعد

فإنه لا يعني وقد وفقني الله تعالى لتحقيق هذا البحث الا ان اشكره سبحانه وتعالى.
ثم أتقدم بالشكر الجزيل مع احترامي الفائق لأستاذي الفاضل (د. علي عبد الحسين
غزاي) الذي أشرف على بحثي خير اشراف، ووجهني بتوجيهاته القيمة وتصحيحاته
الى الصواب طيلة عملي في البحث فجزاه الله خير جزاء.

وكذلك أتقدم بالشكر الجزيل الى حضرة الدكتور خليل كزار جلاب المعاون الإداري
لعميد كلية الطب البيطري لمساعدته في مجال الدراسة النسيجية فجزاه الله عني أفضل
الجزاء.

كما أتقدم بخالص الشكر والتقدير الى جميع الأساتذة المحترمين في كلية العلوم قسم
علوم الحياة جامعة القادسية واشكر جميع أصدقائي الذين لم يبخلوا عليّ بجهد او
معلومة وإلى كل من مد يد العون لي ولم يتسنى لي ذكره.

والله ولي التوفيق.

الخلاصة

الفيتامينات هي عناصر غذائية أساسية لجسم الإنسان، وهي عبارة عن مركبات عضوية توجد طبيعياً في الأغذية ويحتاجها الجسم بكميات بسيطة للقيام بوظائفه الطبيعية، ولا يستطيع الجسم تصنيعها أو تصنيع كميات كافية منها لتلبي احتياجاته. يعمل فيتامين د بشكل رئيسي كهرمون ستيرويدي وله بروتينات رابطة في الدم، ويعمل عن طريق تفاعله مع مستقبلات فيتامين د في جدران ونوايا الخلايا مؤثراً في عملية نسخ الجينات في الأنسجة المختلفة، حيث إنه يؤثر في أكثر من ٥٠ جيناً من ضمنها جين البروتين الرابط للكالسيوم، وتشمل وظائفه ما يأتي: توازن الكالسيوم والفوسفور في الجسم فإن فيتامين د والكالسيوم بكميات كافية يحافظان على مستويات طبيعية للكالسيوم في الدم ويمنعان ارتفاع هرمون الغدة الجار درقية وخسارة الكالسيوم من العظام يلعب هرمون الكالستيريول دوراً هاماً في تمايز الخلايا وتكاثرها ونموها بشكل طبيعي في العديد من الأنسجة التي تشمل الجلد والعضلات والغدة الجار درقية وجهاز المناعة والدماغ والجهاز العصبي والغضاريف والبنكرياس والأعضاء التناسلية والثدي والقولون، ويمنع النمو غير الطبيعي للخلايا وبالتالي يقلل من خطر الإصابة بالسرطان، يتحوّل فيتامين د الذي يتم تناوله أو تصنيعه في الجلد إلى ٢٥-هيدروكسيل الفيتامين د (بالإنجليزية: ٢٥(OH)-vitamin D)، ولذلك يعتبر أفضل تحليل لمعرفة مخزون الجسم من فيتامين د هو تحليل مستوى ٢٥-هيدروكسيل الفيتامين د الكامل، وهناك اختلاف على تعريف نقص فيتامين د وعدم كفايته، يعتبر الشخص مصاباً بنقص شديد بالفيتامين د إذا ما كانت نتيجة التحليل أقل من ١٠ نانوجرام/ملل، في حين يعتبر مصاباً بنقصه في حال كانت النتيجة تتراوح بين ١٠-٢٤ نانوجرام/ملل، أما إذا ما كانت النتيجة بين ٢٥-٨٠ نانوجرام/ملل فإنها تعتبر طبيعية وجيدة، وفي حال ارتفعت عن ٨٠ نانوجرام/ملل فإنها تعتبر في مستوى قد يسبب السمية

المقدمة

INTRODUCTION

المقدمة Introduction

فيتامين د

الفيتامينات هي عناصر غذائية أساسية لجسم الإنسان، وهي عبارة عن مركبات عضوية توجد طبيعياً في الأغذية ويحتاجها الجسم بكميات بسيطة للقيام بوظائفه الطبيعية، ولا يستطيع الجسم تصنيعها أو تصنيع كميات كافية منها لتلبي احتياجاته، وبالتالي فهو بحاجة للحصول عليها من مصادر خارجية، ونقصها يسبب أعراضاً محددة. ويعتبر فيتامين د أحد الفيتامينات الذائبة في الدهون، ويختلف عن غيره من الفيتامينات بإمكانية تصنيعه في الجسم عن طريق التعرض المتوسط لأشعة الشمس من مادة أولية يصنعها الجسم من الكولسترول، وهو يعمل كهرمون ستيرويدي يسمى بثنائي هيدروكسيل الكولي كالسيفيرول (الكالسيترول)، وهو يلعب دوراً هاماً في صحة العظام وتوازن الكالسيوم في الجسم (

أماكن وجود فيتامين د

المكملات الغذائية المحتوية على فيتامين د. لا تعتبر المصادر الغذائية كافية للحصول على الاحتياجات من فيتامين د، ولا بدّ من التعرض لأشعة الشمس حتى يصنعه الجسم، حيث وجدت معظم الدراسات أنّ التعرض لأشعة الشمس لمدة ١٠ إلى ١٥ دقيقة في الأيام المشمسة مرتين إلى ثلاث مرات أسبوعياً كافٍ لتزويد الجسم باحتياجاته من فيتامين د، إلا أنّ أصحاب البشرة الداكنة قد يحتاجون إلى وقت أطول من التعرض للشمس حتى يحصلوا على احتياجاتهم. يوجد فيتامين د في المنتجات الحيوانية، وخاصة زيت كبد السمك، كما يوجد بكميات بسيطة ومتفاوتة في الزبدة، والقشطة، وصفار البيض، والكبدة، كما يمكن الحصول عليه من العصائر وحبوب الإفطار والمارجرين المدعمة به. يعتبر حليب الأم كما حليب الأبقار مصدراً ضعيفاً لفيتامين د، لذلك كثيراً ما يتم تدعيم الحليب به، كما يجب إعطاؤه للطفل الذي يرضع من حليب الأم بوصفة طبيب. ويجب أن يحرص الأشخاص الذين لا يتعرضون لأشعة الشمس بشكل كافٍ على شرب كوبين من الحليب المدعم بفيتامين د يومياً. يعتبر فيتامين د ذا ثباتية جيدة حيث لا تتم خسارته من الطعام عند تعرضه للحرارة أو لفترات تخزين طويلة.

وظائف فيتامين د في الجسم

يعمل فيتامين د بشكل رئيسي كهرمون ستيرويدي وله بروتينات رابطة في الدم، ويعمل عن طريق تفاعله مع مستقبلات فيتامين د في جدران ونوايا الخلايا مؤثراً في عملية نسخ الجينات في الأنسجة المختلفة، حيث إنه يؤثر في أكثر من ٥٠ جيناً من ضمنها جين البروتين الرابط للكالسيوم، وتشمل وظائفه ما يأتي: توازن الكالسيوم والفسفور في الجسم، وتعتبر هذه أبرز وظائف فيتامين د في الجسم، حيث إنه يحفز تكوين البروتين الرابط للكالسيوم في جدار الأمعاء ليزيد من امتصاص الكالسيوم، وهو يساعد في امتصاص الكالسيوم أيضاً عن طريق تحفيز قنوات الكالسيوم على امتصاصه. لفيتامين د دور أساسي في ترسيب المعادن في العظام عن طريق الحفاظ على تركيزها في الدم. يزيد فيتامين د أيضاً من امتصاص الفسفور، كما أنه يعيد امتصاص الكالسيوم والفسفور في الكليتين. يحافظ مع هرمون الغدة الجار درقية والكالسيتونين على مستوى الكالسيوم في الدم، فإذا انخفض مستوى الكالسيوم في الدم يرتفع هرمون الغدة الجار درقية محفزاً سحب الكالسيوم من العظام وطرح الفسفور في البول، بينما في حال ارتفع مستوى الكالسيوم في الدم فإن هرمون الكالسيتونين يرتفع ليرفع معدل التخلص من الكالسيوم في البول، وبالتالي فإن فيتامين د والكالسيوم بكميات كافية يحافظان على مستويات طبيعية للكالسيوم في الدم ويمنعان ارتفاع هرمون الغدة الجار درقية وخسارة الكالسيوم من العظام. يلعب هرمون الكالسيتريول دوراً هاماً في تمايز الخلايا وتكاثرها ونموها بشكل طبيعي في العديد من الأنسجة التي تشمل الجلد والعضلات والغدة الجار درقية وجهاز المناعة والدماغ والجهاز العصبي والغضاريف والبنكرياس والأعضاء التناسلية والثدي والقولون، ويمنع النمو غير الطبيعي للخلايا وبالتالي يقلل من خطر الإصابة بالسرطان. يلعب فيتامين د دوراً هاماً في الوقاية من أمراض الروماتيزم التي تنسب بكونها أمراض مناعة ذاتية. يلعب دوراً هاماً في العمليات الأيضية في العضلات ويؤثر في قوتها وانقباضها، ويضعف نقصه العضلات وخاصة عضلة القلب. وجدت بعض الدراسات أن مستوى هرمون الكالسيتريول في الدم يتناسب عكسياً مع مقاومة الإنسولين وأن له دوراً في الوقاية من مرض السكري من النوع الثاني تقترح العديد من الدراسات الحديثة دور فيتامين د في تنظيم عمل جهاز المناعة بعد أن وجدت مستقبلات فيتامين د في خلاياه، حيث يحدث الخلل في استجابات جهاز المناعة مرض السكري من النوع الأول والتصلب اللويحي وأمراض الأمعاء الالتهابية، وينظم فيتامين د هذه الاستجابات. تدرس الأبحاث الحديثة أدواراً عديدة جديدة لفيتامين د في أنسجة لم يكن يُعلم سابقاً أن لفيتامين د علاقة به.

امتصاص فيتامين د وانتقاله وتخزينه

يتم امتصاص ما نسبته ٥٠% من فيتامين د مع الدهون عن طريق الانتشار السلبي إلى خلايا الأمعاء التي تحوّل الدهون إلى الكيلوميكرونات ويدخل فيتامين د معها، يتم بعدها امتصاصه إلى الجهاز اللمفاوي ثم يدخل البلازما. أما فيتامين د الذي يتم تصنيعه في الجلد فيدخل إلى الدم وينتقل إلى الأنسجة المختلفة، ويخزن الكبد كمية بسيطة فقط من فيتامين د.[١]

نقص فيتامين د

يعد النقص في فيتامين د من المشاكل الصحيّة الشائعة التي يتعرّض لها عدد كبير من الناس، ويسبب نقصاً في تكوين البروتينات الرابطة للكالسيوم في خلايا الأمعاء مما يؤثر في امتصاص الكالسيوم، بالتالي فإن نقص فيتامين د يسبب نقصاً في الكالسيوم حتى لو تم تناوله بكميات كافية. ويسبب نقص فيتامين د الكساح لدى الأطفال وتليّن العظام لدى الكبار

أسباب نقص فيتامين د

عدم التعرض الكافي لأشعة الشمس، كما يحصل في بعض البلدان التي تنقر إلى ضوء الشمس الساطع أو بسبب نمط الحياة الذي يمنع الشخص من التعرض الكافي لأشعة الشمس.[٢] البشرة الداكنة.[٢] رضاعة حليب الأم دون إعطاء الطفل مكملات فيتامين د.[٢] وجدت بعض الدراسات أنّ السمّنة تقلل من امتصاص فيتامين د، لذلك إذا كان الشخص يعتمد على المصادر الغذائيّة الطبيعيّة والمدعمة بدلاً من التعرض لأشعة الشمس فيمكن أن تسبب له السمّنة نقصاً في فيتامين د.[٨] أمراض الجهاز الهضمي التي تسبب سوء هضم وامتصاص الدهون تسبب أيضاً نقصاً في امتصاص فيتامين د.

أعراض نقص فيتامين د

الكساح وهو مرض يحدث بسبب عدم ترسيب كمّيات كافية من المعادن في العظام أثناء مرحلة النمو، ويسببه نقص فيتامين د كما يمكن أن يسببه نقص الكالسيوم ونقص الفسفور، وأعراضه تشمل:[١]،[٩] تشوهات في تركيب العظام وشكلها، حيث تصبح العظام ضعيفة ولا تستطيع حمل وزن الجسم أو تحمل الضغوطات الاعتياديّة، فينتج عن ذلك تقوّساً في عظام الساقين في العمر الذي يبدأ فيه الطفل

بالوقوف والمشي، كما ينتج نتوءات على شكل مسبحة في عظام القفص الصدري، وبروز عظام الصدر أو ما يسمى بصدر الحمام، وبروز عظم الجمجمة الأمامي. يحدث تضخم في الرسغ والكاحل بسبب فشل هذه المناطق في ترسيب المعادن، وبالتالي تستمر في النمو. ألم في العظام.

ليونة في العضلات.

تكزز العضلات (الانقباض والتشنج المستمر) بسبب نقص الكالسيوم. ارتفاع مستوى إنزيم الفوسفاتاز القلوي في الدم بسبب تحرره من الخلايا الهادمة لخلايا العظم. يتأخر ظهور الأسنان في الأطفال المصابين بنقص فيتامين د كما قد تظهر تشوهات وضعف في الأسنان. تلين العظام ويسبب هذا المرض نقصاً في كثافة العظام وظهور أشباه الكسور في العظام وخاصة في العمود الفقري وعظم الفخذ والعضد، مع ضعف في العضلات، ويرفع هذا المرض من خطر الكسور خاصة في عظام الحوض والرسغ، [١] وهو يصيب بشكل خاص النساء اللواتي يعانين من نقص الكالسيوم وعدم التعرض الكافي لأشعة الشمس، وقد يسبب تقوساً في القدمين وانحناء في الظهر.

تحليل فيتامين د

يتحوّل فيتامين د الذي يتم تناوله أو تصنيعه في الجلد إلى ٢٥-هيدروكسيل الفيتامين د (بالإنجليزية: ٢٥(OH)-vitamin D)، ولذلك يعتبر أفضل تحليل لمعرفة مخزون الجسم من فيتامين د هو تحليل مستوى ٢٥-هيدروكسيل الفيتامين د الكامل، وهناك اختلاف على تعريف نقص فيتامين د وعدم كفايته، وبحسب مختبرات عيادة مايو، يعتبر الشخص مصاباً بنقص شديد بالفيتامين د إذا ما كانت نتيجة التحليل أقل من ١٠ نانوجرام/ملل، في حين يعتبر مصاباً بنقصه في حال كانت النتيجة تتراوح بين ١٠-٢٤ نانوجرام/ملل، أما إذا ما كانت النتيجة بين ٢٥-٨٠ نانوجرام/ملل فإنها تعتبر طبيعية وجيدة، وفي حال ارتفعت عن ٨٠ نانوجرام/ملل فإنها تعتبر في مستوى قد يسبب السمية.

متى يجب على المرء إجراء فحص فيتامين د

على الرغم من أن نقص فيتامين د يعتبر شائعاً، إلا أن تحليله لا يُطلب من الجميع بشكل روتيني بسبب ارتفاع تكلفته، ولكن يجب أن يتم فحصه في الأشخاص المعرضين لنقصه الشديد، كما في الحالات التالية: عدم الحصول على فيتامين د بشكل كافٍ بسبب عدم تناول كميات كافية منه، أو بسبب سوء التغذية، أو بسبب عدم التعرض الكافي لأشعة الشمس. مشاكل في الجهاز الهضمي، كالأضرار التي تسبب سوء الامتصاص، مثل متلازمة الأمعاء القصيرة (بالإنجليزية Short bowel syndrome)؛ والتهاب البنكرياس (بالإنجليزية Pancreatitis)؛ وأمراض الأمعاء الالتهابية (بالإنجليزية Inflammatory bowel disease)، والداء النشواني (بالإنجليزية Amyloidosis)؛ والداء البطني الذي يُعرف أيضاً باسم السيلياك (بالإنجليزية Celiac)؛ والعمليات الجراحية التي يتم إجراؤها لعلاج السمنة والتي ينتج عنها سوء الامتصاص (بالإنجليزية Malabsorptive bariatric surgery procedures)؛ بعض أمراض الكبد: مثل تناول بعض الأدوية المضادة للصرع والتي ترفع من نشاط الإنزيم ٢٤- هيدروكسيلاز (بالإنجليزية 24-hydroxylase) وفي حالات مرض الكبد الشديد أو فشل الكبد، والتي تُخفض من نشاط الإنزيم ٢٥-هيدروكسيلاز (بالإنجليزية 25-hydroxylase). بعض حالات الكلى، مثل التقدم في العمر والقصور الكلوي (بالإنجليزية Renal insufficiency) واللذين يرتفع فيهما نشاط الإنزيم ١-ألفا-هيدروكسيلاز (بالإنجليزية 1- α -hydroxylase)، وحالات المتلازمة الكلوية (بالإنجليزية Nephrotic syndrome) والتي ينخفض فيها مستوى البروتين الرابط لفيتامين د

Histological structure of liver التركيب النسيجي للكبد

الكبد يكون مغطى بغطاء مصلي coat serous مشتق من الغشاء البريتوني peritoneum، هذا الغشاء له غلاف ليفي يسمى كبسولة غيلسون (Gilssons capsule) التي تكون ملتصقة بصورة قوية ومحفوظة مكونة

من نسيج رابط Connective tissue capsule
(porth and Matfin,2009)

الكبد يتكون من نوعين من الاوعية الدموية الكبيرة وهما الشريان الكبدي hepatic artery والوريد البابي الكبدي hepatic partol vein، الشريان الكبدي يحمل الدم الغني بالأوكسجين من الشريان الاورتي aorta بينما الوريد البابي الكبدي يحمل الدم الغني بالمغذيات المهضومة من القناة الهضمية وكذلك من الطحال والبنكرياس، هذه الاوعية الدموية تنقسم الى شعيرات تعرف الجيبينات الدموية (Sinusoids) التي تؤدي الى الفصيص lobule.

المواد وطرق العمل

**MATERIAL AND
METHODS**

المواد وطرق العمل:-

The animal used in Experiment الحيوانات المستخدمة في الدراسة

تم الحصول على الجرذان البيض (Albino Rats (*Rattus norvegicus*) من البيت الحيواني في كلية العلوم جامعة القادسية. وتم تربية الحيوانات في البيت الحيواني لكلية العلوم جامعة القادسية حيث تم توزيعها في أقفاص خاصة مغطاة بأغطية معدنية مشبكة ومحكمة فرشت ارضية هذه الاقفاص بذشارة خشب نظيفة وتمت العناية بشكل جيد بنظافة الاقفاص وتبديل النشارة مرتين كل سبعة ايام وتم اخضاعها لظروف المختبرية نفسها من حيث التهوية والاضاءة وزودت بالماء بشكل مستمر على طول مدة التجربة .

المعاملات الغذائية:-

استعملت نوعين من العلائق التجريبية التي تمثل معاملات التجربة وكالاتي :-

العليقة الاولى لمقارنة (عليقة حيوانات السيطرة Control) تكونت هذه العليقة من ماء مقطر فقط (Ward,1970)

العليقة الثانية تكونت من 40مغم/مللتر فيتامين د مع مكونات العليقة الاخرى

Histological study الدراسة النسيجية

تم تحضير المقاطع النسيجية من الاعضاء الاتية

(الكبد Liver، الكلية Kidney) وبحسب طريقة (Bancroft et al,2013) لعمل المقاطع النسيجية وكما يأتي :-

1- التثبيت Fixation :- تم تثبيت العينات مباشرة بعد اخذها من الحيوانات في محلول الفورمالين 10% ولمدة لا تقل عن يومين.

2- سحب الماء (الأنكاز) Dehydration :- تم تمرير العينات بسلسلة تصاعدية التركيز من محاليل الكحول الايثيلي (70%، 90%) ولمدة ساعتين لكل تركيز وساعة واحدة لتركيز (100%)

3- الترويق Clearing: روقت العينات بمادة الزايلين النقي لمدة (2-3) ساعة .

4-التشريب Filtersion :- تم تشريب العينات بشمع البرافين الذائب بدرجة حرارة (58

-63 م) لمدة ثلاث ساعات مع تبديل الشمع في كل مرة.

٥- الطمر Embedding :- نقلت العينات الى قوالب محتوية على شمع البرافين بدرجة انصهار (58-63 م) ثم طمرت العينات بشكل مناسب للحصول على المقاطع النسيجية الملائمة وتركت القوالب في درجة حرارة الغرفة لحين تصلب الشمع ثم وضعت في الثلجة لحين التقطيع.

٦- التقطيع Sectioning :- استعمل جهاز المشراح الدوار Rotary Microtome لغرض

عمل المقاطع النسيجية بسمك (5-6) مايكرومتر، اذا قطعت العينات على شكل اشربة ثم تم نقلها الى حمام مائي بدرجة حرارة (45-50 م) لغرض فرش المقاطع وانبساطها ثم نقلت الى شرائح زجاجية وتركت لتجف وبدرجة حرارة الغرفة ولمدة يوم كامل.

٧- التلوين Staining :- تم تلوين المقاطع النسيجية بصبغة الهيموتوكسلين - ايسين على

و-وكما يأتي (Wood and Ellis 1994) وفق خطوات

أ- تمت ازالة الشمع من الشرائح الزجاجية وذلك بغمرها بالزايلين لمدة (15) دقيقة حتى تتم ازالة الشمع نهائياً.

ب - تم وضع الشرائح الزجاجية في محلول الكحول المطلق والزايلين بنسبة 1:1 لمدة دقيقتين.

ت - مررت الشرائح بسلسلة تنازلية التركيز من الكحول الايثيلي (100%، 90%، 70%، 50%) لمدة دقيقتين لكل تركيز وضعت في الماء المقطر بعدها.

ث - غمرت الشرائح بصبغة الهيماتوكسلين لمدة 12دقيقة.

ج - غسلت الشرائح بالماء الجاري بشكل جيد حتى تزال الصبغة الزائدة.

ح - تم استكمال ازالة الصبغة باستعمال الكحول المحمض Acid-Alcohol والمحمض من (5.0-1 حامض الهيدروكلوريك (HCL) في 70% كحول لمدة ثواني قليلة لكي يتحول لون صبغة الهيماتوكسلين الزرقاء الى حمراء بفضل الحامض.

خ - وضعت الشرائح الزجاجية في الماء الجاري لمدة 3 دقائق لحين عودة اللون الازرق اليها.

د - غسلت الشرائح بالماء الجاري.

ذ - تم تصبغ الشرائح بصبغة الأيوسين المائية ذات تركيز 1% لمدة (3-5) دقائق.

ر - غسلت الشرائح بالماء الجاري.

ز - سحب الماء من الشرائح الزجاجية بسلسلة تصاعدية التركيز من الكحول الأتلي (50%، 70%، 90%، 100%) لمدة دقيقتين لكل تركيز.

س - غمرت الشرائح في محلول الكحول المطلق والزايلين بنسبة (1:1) لمدة دقيقتين.

ش - روقت العينات بمادة الزايلين النقي لمدة (15) دقيقة.

ص- وضعت قطرات من مادة D.P.X اللاصقة وغطيت الشرائح بأغطية زجاجية وتركت لتجف لكي تكون جاهزة للفحص.

التصوير المجهرى: -

صورت الشرائح المجهرية بعد فحصها بالمجهر الضوئي المركب Compound Light Microscope من نوع Nikon Eclipse 50i واستعمل المجهر الضوئي المزود بكاميرا تصوير للمقاطع النسيجية من نوع Nikon Digital Sight DS-L1 . المثبتة على جهاز الحاسوب الالكتروني.

النتائج والمناقشة

RESULTS AND
CONCLUSION

النتائج والمناقشة

الوظيفة التقليدية البارزة لفيتامين D3 هي المحافظة على التوازن الحيوي للكالسيوم والذي يتم الحفاظ عليه في المقام الأول عن طريق تكوين العظام ، هذا التوازن يمكن المحافظة عليه من خلال تفاعل فيتامين D3 مع الغده جار الدرقية والكلية والنسيج المعوي (L) فيتامين D3 يمكن تناوله عن طريق الفم أو يتكون طبيعيا في النسيج الجلدي بعد التعرض لأشعة فوق البنفسجية نوع (B)

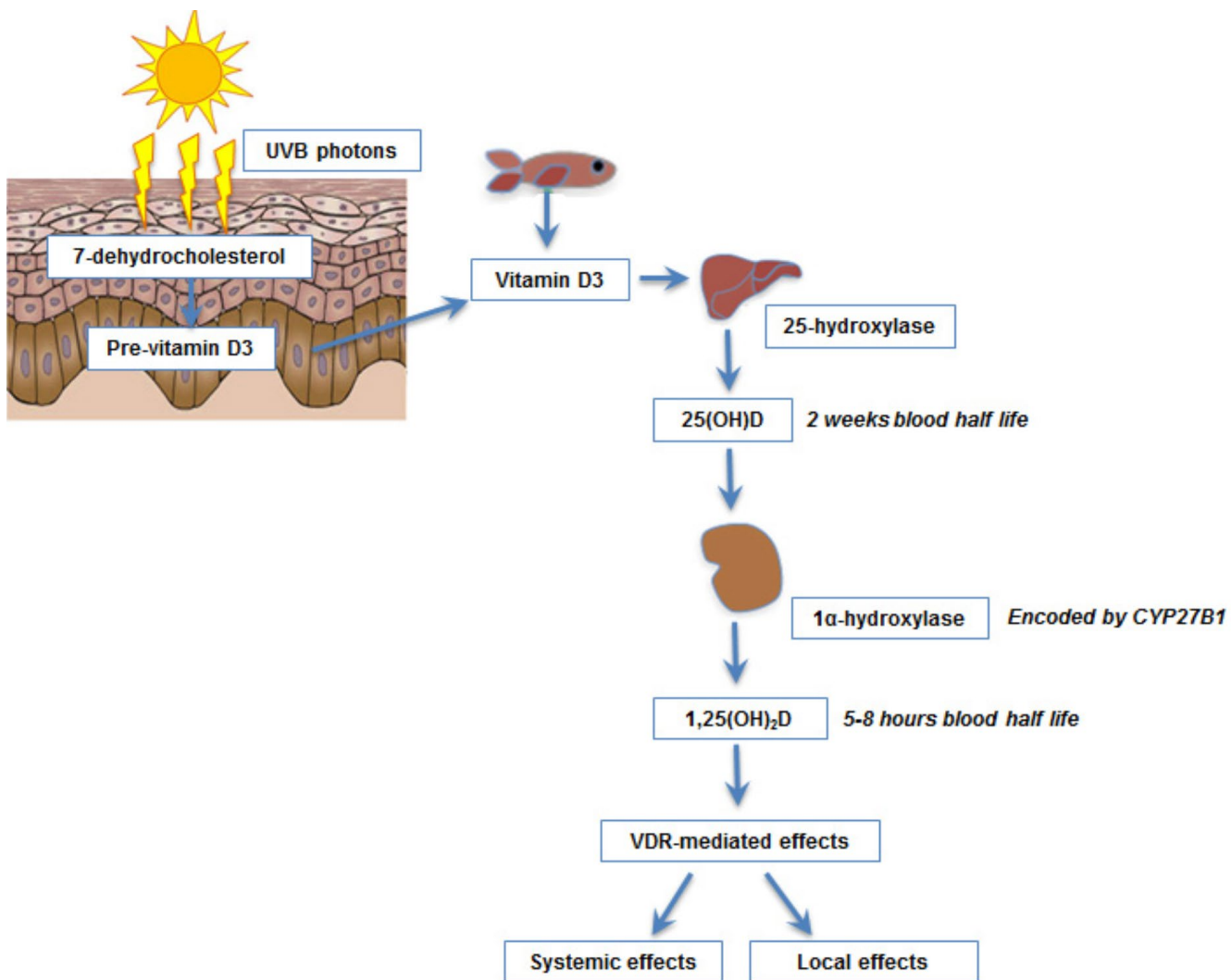
فيتامين D3 من كلا المصدرين يتأيض بواسطة الكبد الى 25 Hydroxyl vitamin D(25(OH)D) وهو الشكل الأكثر فعالية والأكثر تداولاً لفيتامين D3 هذا الشكل من فيتامين D3 يقاس من قبل الأطباء لتحديد مستوى فيتامين D3 في مصل الدم .

الشكل 25 Hydroxyl vitamin D(25(OH)D) هو حامل بايولوجيا ويحتاج الى مجموعة هيدروكسيل إضافيه داخل الكلية ليتحول الى الشكل الفعال (1,25(OH)₂D₃) وهذا الشكل من الفيتامين ذائب بالدهون يتفاعل مع مستقبلات فيتامين D في الأمعاء الدقيقة هذا التفاعل يؤدي الى زياده فعالية قنوات الكالسيوم من خلال البروتينات المرتبطة بالكالسيوم وبقية البروتينات التي تساعد على نقل الكالسيوم من الطبقة المعوية الى مجرى الدم

(1,25(OH)₂D₃) يتفاعل أيضا مع المستقبلات الموجودة على أسطح الخلايا العظمية وكنتيجه لهذه السلسلة من التفاعلات التي تؤدي نضوج مستقبلات الخلايا العظمية وتفاعلها مع فيتامين D3 الى أخذ كميته من الكالسيوم المخزون في العظام للمحافظة على مستوى الكالسيوم في الجسم أو التوازن الحيوي للكالسيوم

أنزيم $25(\text{OH})\text{D}_3\text{-}1\text{-}\alpha$ Hydroxylase هو الذي يحول $25(\text{OH})\text{D}$ إلى $(1,25(\text{OH})_2\text{D}_3)$ في الكلية والذي يؤدي إلى تفعيل الخلايا البلعمية ، على النقيض من ذلك في الخلايا الكلوية الأنزيم لا يستجيب للتنشيط أما من خلال هرمونات الغده جار الدرقية أو $(1,25(\text{OH})_2\text{D}_3)$ وبدلا من ذلك في هذه الخلايا يحفز بعدد من العوامل مثل الأنترفيرون. نقص فيتامين D_3 يوجد بشكل كبير في البلدان التي من الصعب أن تتعرض للأشعة فوق البنفسجية وخاصة في أشهر فصل الشتاء وبالتالي سوف يعتمدون بشكل رئيسي في الحصول عليه من خلال الاعتماد على نظام غذائي غني بفيتامين D_3 .()

المستوى المثالي ل $25(\text{OH})\text{D}$ لصحة العظام يبدأ من $75\text{nmol}(30\text{ngm/ml})$ وأن التركيز المثالي هو $(90\text{-}100)\text{nmol}$ بما يعادل ml غير أن مستوى فيتامين D_3 المطلوب لأجل أدامة الاستجابة المناعية غير معروف أو مثبت لحد الآن).



شكل رقم (٢): تخليق فيتامين D3 في جسم الإنسان.

فيتامين D3 يتفاعل مع الجهاز المناعي ويساهم في تنظيم ونضوج خلايا الجهاز المناعي بصورة مباشرة أو غير مباشرة ،الدراسات الأولية وجدت علاقه بين أيض فيتامين D3 وانتشار أمراض المناعة الذاتية والتي تختلف اختلافا كبيرا باختلاف الظروف. على سبيل المثال العلاقة اكتشفت من خلال الانتشار الكبير نسبيا لتصلب الشرايين والتهاب الأمعاء للأشخاص الذين يعيشون في المناطق الشمالية ونقص فيتامين D3 والتعرض القليل لأشعة الشمس والأشعة فوق البنفسجية نوع B على وجه الخصوص

البحوث الحديثة وجدت علاقه بين نقص فيتامين D3 مع الكثير من أمراض المناعة الذاتية مثل التصلب المتعدد ، الالتهاب المعوي ، والتهاب المفاصل الروماتيدي والسكري من النوع الأول.

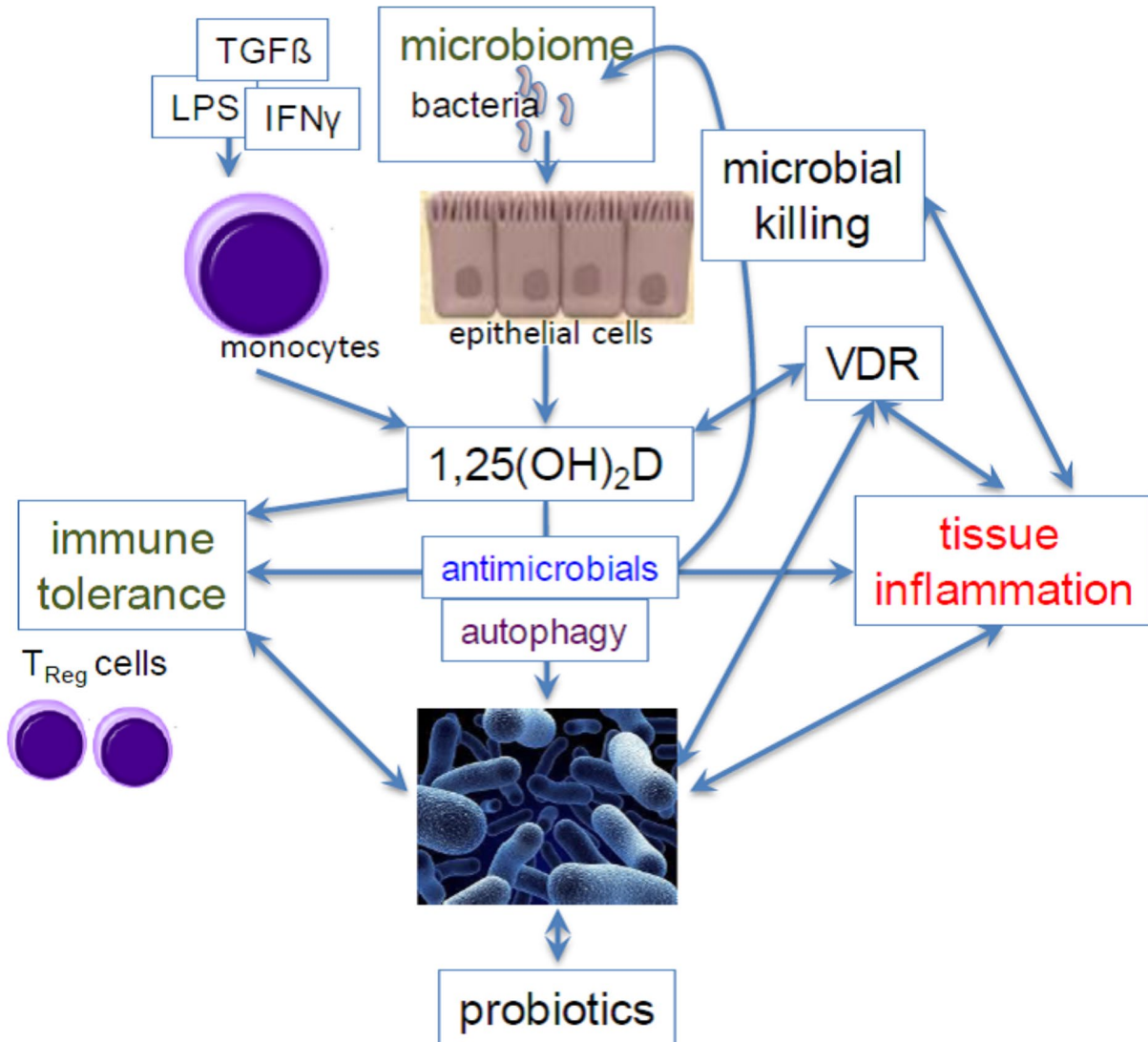
الخلايا اللمفاوية lymphocytes

فيتامين D3 له تأثير على خلايا T,B من خلال تنشيط الاستجابة المناعية لهما التأثير المباشر لفيتامين D3 يكون من خلال الشكل $1,25(OH)_2D_3$ الذي يحفز أنضاج خلايا T وتنشيط استجابتها المناعية وتحفيز خلايا B لإفراز الأجسام المضادة (Hewison M و ٢٠٠٣).

أ- الخلايا البلعمية Macrophages

وجد أن فيتامين D3 يعزز تحفيز الخلايا وحيد النواه للتحويل الى الخلايا البلعمية ، أن النقص في فيتامين D3 سوف يعيق أو يمنع الخلايا البلعمية من النضج و انتاج المواد السطحية المتخصصة مثل بيروكسيد الهيدروجين والأنزيمات المحللة والتي لها فعالية ووظيفة مناعية ضد الجراثيم التي تدخل الجسم

بعض الخلايا المناعية وبالتحديد الخلايا البلعمية تحتوي على أنزيم 1α -Hydroxylase المهم جدا في تحويل فيتامين D3 الى الشكل الفعال بايولوجيا $1,25(OH)_2D_3$ لذلك فإن هذه الخلايا تملك القدرة على تكوين وإفراز $1,25(OH)_2D_3$.

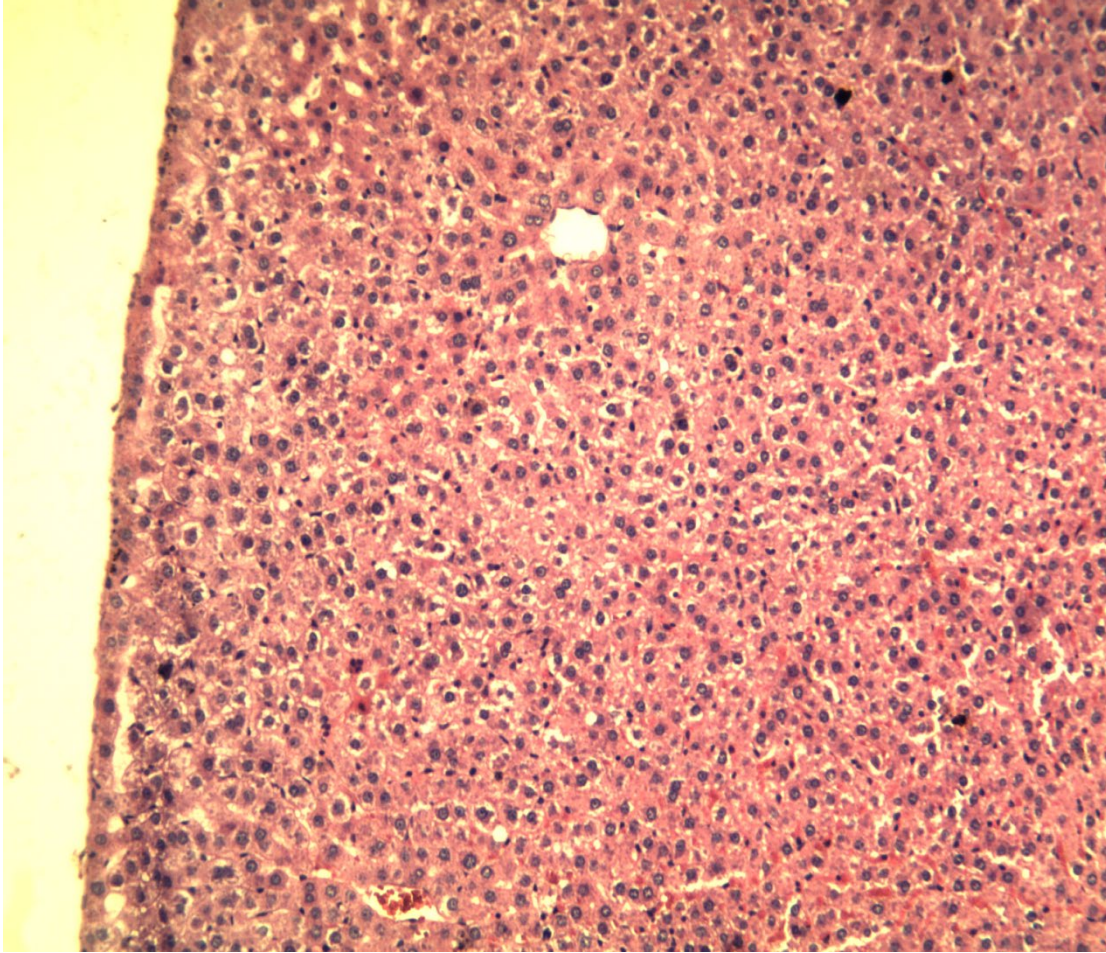


شكل رقم (٣): دور فيتامين D3 في تنظيم الاستجابة المناعية.

تمت قراءة النتائج النسيجية من قبل الدكتور خليل كزار جلاب المعاون الإداري لعميد كلية
الطب البيطري حيث أوضحت النتائج ما يلي

المجموعة الأولى: مجموعة السيطرة Control

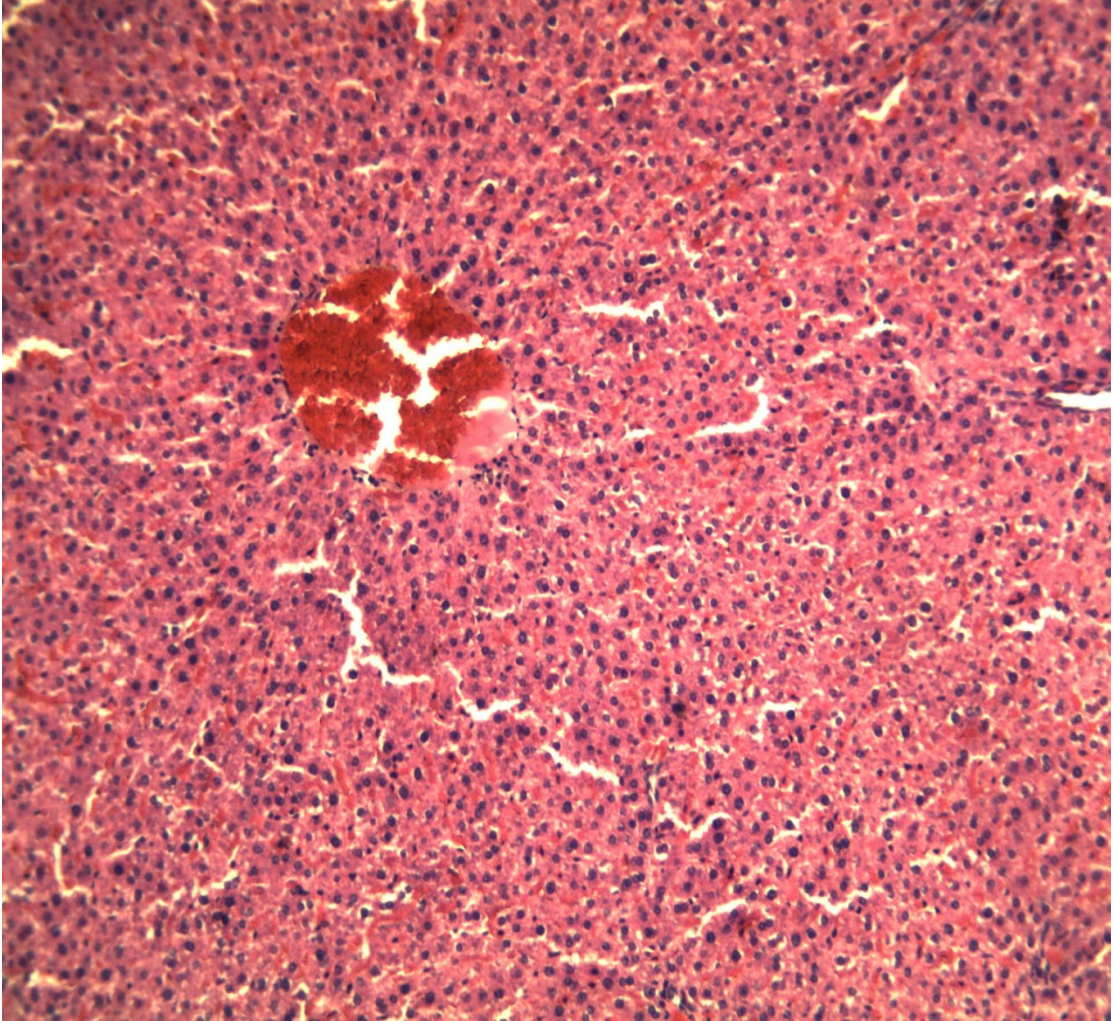
-الكبد liver



في كبد Liver جردان السيطرة نلاحظ نسيج طبيعي للكبد حيث تظهر الخلايا الكبدية مرتبة
بشكل شعاعي حول الوريد المركزي والخلايا الكبدية ذات شكل سداسي طبيعي وذات نواة
مركزية

المجموعة الثانية:- المجموعة المجرعة بفيتامين د

-الكبد liver



نلاحظ في كبد الجرذان المجرعة بفيتامين د احتقان الوريد المركزي مع نزف النسيج الكبدي وتوسع بسيط للجيبانيات الكبدية.

الخلايا الكبدية تظهر طبيعية وبعض منها يحتوي نواتين Bineucleated مع وجود ارتشاح بسيط للخلايا الالتهابية وخاصة خلايا Macrophage اما القنوات الصفراوية فتظهر طبيعية

المصادر

REFERENCES

المصادر

- 1-Beiderbeck-Noll A, Sturkenboom M, Van Der Linden P, et al. Verapamil is associated with an increased risk of cancer in the elderly: the Rotterdam study. *Eur J Cancer* 39: 98-105, 2003.
2. Tadeusz R, Agnieszka W. Current and Emerging Therapies for Acute Myeloid Leukemia. *Clin Ther* 31: 2349-2370, 2009.
3. Roderick HL, Cook SJ. Ca²⁺ signalling checkpoints in cancer: remodelling Ca²⁺ for cancer cell proliferation and survival. *Nat Rev Cancer* 8: 361-375, 2008.
- 4 Chaube S, Tripathi A, Khatun S, et al. Extracellular calcium protects against verapamil-induced metaphase-II arrest and initiation of apoptosis in aged rat eggs. *Cell Biol Int* 33: 337- 343, 2009.
5. Cheng S, Wu Q, Yang F, et al. Influence of DL-β-hydroxybutyric acid on cell proliferation and calcium influx. *Biomacromolecules* 6: 593-597, 2005.
6. Yedjou GC, Moore P, Tchounwou P. Dose- and time-dependent response of human leukemia (HL-60) cells to arsenic trioxide treatment. *Int J Environ Res Public Health* 3: 136-140, 2006.
7. Ghaffari S. Oxidative stress in the regulation of normal and neoplastic hematopoiesis. *Antioxid Redox Signal* 10: 1923- 1940, 2008.

8. Durmaz R, Deliorman S, Uyar R, et al. The effects of anticancer drugs in combination with nimodipine and verapamil on cultured cells of glioblastoma multiforme. *Clinical Neurol Neurosurg* 101: 238-244, 1999.
9. Elledge SJ. Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science* 274: 1664-1672, 1996.
10. Estey E, Döhner H. Acute myeloid leukaemia. *Lancet* 368: 1894-1907, 2006.

11- عبد الفتاح، رشدي فتوح عبد الفتاح (1988). كتاب اساسيات عامة في علم الفسيولوجيا، دار السلاسل لطباعة والنشر والتوزع (ص 377).

12-Anne, W. and Allison, G, (2006). *Anatomy and Physiology in Health and Illness*, 10th Ed, Ross and Wilson, Churchill Livingstone. pp.490.

13-Despoules, A. and Silbernag.(2003). *Color Atlas of Physiology*, 5th Ed. Completely revised and expanded.

14-Porth, C.M. and Matfin, G(2009). *pathophysiology, concepts of Altered Health states*, 8th Ed. Wolters Kluwer Health and Lippincott Williams and Wilkins, 1686 P