

قابلية بيروكسيد الهيدروجين على احداث الاجهاد التاكسدي ونشوء آفات التصلب العصيدي مع دراسة تأثير بعض مضادات الاكسدة المتمثلة بالاستراديول وفيتامين هـ والثوم الطازج في اناث الجرذان المستأصلة المبايض

*أنصار رحيم الكناني و **أسرار اسماعيل الخفاف
*فرع علم الامراض، كلية الطب البيطري، ** كلية التمريض، جامعة الموصل.
الموصل-العراق.

(الأستلام: 11 نيسان، 2006؛ القبول: 31 تشرين الأول 2006)

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة معرفة امكانية بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5% في ماء الشرب على احداث الاجهاد التاكسدي ودوره في نشوء وتطور آفات التصلب العصيدي في اناث الجرذان المستأصلة المبايض. بينت الدراسة انخفاضاً معنوياً في مستوى GSH ، رافقه ارتفاعاً معنوياً في مستوى MDA لانسجة الابهر والقلب والكبد عند الجرذان المستخدمة في هذه الدراسة . حيث ظهرت آفات التصلب العصيدي في اناث الجرذان مستأصلة المبايض بعد مرور 45 يوماً من المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين. كما تم اختيار بعض مضادات الاكسدة المتمثلة بفيتامين هـ والاستروجين المصنع المتمثل بالاستراديول (Oestradiol benzoate) والثوم الطازج في الحد من نشوء وتطور آفات التصلب العصيدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين ، واطهرت هذه المضادات الثلاثة تأثيرات متشابهة ولكنها غير متماثلة حيث سببت انخفاضاً في مستوى صورة الدهن وزيادة الدهون ، يقابلها ارتفاع ملحوظ في مستوى الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية والكلوتاتيون في حيوانات الدراسة . الا ان النتائج الحالية بينت افضلية فيتامين هـ .

CAPABILITY OF HYDROGEN PEROXIDE TO INDUCE OXIDATIVE STRESS AND INITIATION OF ATHROMATOUS LESIONS AND TO STUDY EFFECT OF SOME ANTIOXIDANTS REPRESENTED BY ESTRADIOL, VITAMIN E AND FRESH GARLIC IN OVERICTOMIZED RATS

E. R. Al-Kennany¹ and A.Y. Al-Khafaf²

¹ Department of pathology, College of Veterinary Medicine;

² Nursing Collage; University of Mosul. Mosul-Iraq

ABSTRACT

This study was conducted to determine the possibility of 0.5% if H₂O₂ on drinking water for the induction of oxidative stress status overictomized rats, moreover, this study deal with role of the stress in initiation & development

atheromatus lesions. In these animal for improvement the oxidation status, this status deal with some antioxidant agents mainly: Vitamin E, Oestradiol Benzoate and Fresh garlic. The result remarks the similar (but not identical) effect of these agents (Vit E as superior) via its lowering effect on lipid profile as well as lipid peroxidation index, and its ameliorating effects on HDL-c, tissue GSH level. Moreover, these agents show a reduction in fatty depositions in aorta of treated rats.

المقدمة

لاحظ الباحثون زيادة خطورة التعرض لامراض القلب التاجية من خلال استئصال المبايض في مرحلة النضوج واوزوها الى انخفاض مستوى هرمون الاستروجين في الدم والذي يعد عامل حماية Protective factor (1). اوضحت العديد من الدراسات الوابائية قابلية الاستروجين في التقليل من الخطورة الأولية لأمراض القلب الوعائية عند النساء السليمات في مرحلة سن اليأس بنسبة 35 - 50% (2). وذلك من خلال استخدام الاستروجين بوصفه علاجاً يقلل من تطور آفات التصلب العصيدي بعد النضوج ، الا ان الية الحدوث لازالت مبهمة (3). ويعتقد بعض الباحثين ان للاستروجين تأثير على الدهون والاسترادايول (الاستروجين المصنع) تأثيراً على البروتينات الدهنية في البلازما ، وعوامل منع النزف والكلوكوز والانسولين والعوامل المشتقة من البطانة الداخلية المتمثلة بالاندوثيلين Endothelin E-1 (زيادة Nitric Oxide و البروستاكلاندين) فضلاً عن تثبيط تكاثر وهجرة الخلايا العضلية الملساء الوعائية (4) . وبهذا يقلل خطور التصلب العصيدي عند النساء في سن اليأس Postmenopause (5) ، حيث تزداد امراض القلب الوعائية عند النساء المستأصلة المبايض في مرحلة النضوج (6) وهذا يعود الى زيادة مستوى الكوليسترول من نوع الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة LDL -C و apo-B وانخفاض مستوى الكوليسترول من نوع الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية HDL-C وخفض مستوى الفايبرينوجين (5). كما وان استعمال العلاج بالاستروجين يزيد مستوى الكليسيريدات الثلاثية Triglycerides وذلك بزيادة إنتاج الكوليسترول من نوع الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جدا VLDL-C الكبدية (7) . مما يساعد الاسترادايول في منع اكسدة LDL-C و VLDL-C ويحمي الجهاز الوعائي ، كما انه يقلل تراكم LDL-C و ox- LDL-C في جدار الشريان (8) . فضلاً عن ذلك اشار بعض الباحثين الى قابلية الاسترادايول في تثبيط تكاثر الخلايا العضلية الملساء الوعائية من خلال تحفيز تحرير NO ولهذا فان هذه الالية قد تساهم في عملية تثبيط هجرة الخلايا العضلية المحفزة بالاسترادايول (9).

ومن هنا جاءت هذه الدراسة للوقوف على تأثير استئصال المبايض في نشوء وتطور آفات التصلب العصيدي مع استخدام بعض مضادات الاكسدة للحد من تطور تلك الآفة .

المواد وطرائق العمل

تم استخدام 30 أنثى من الجرذان البيضاء نوع albino بعمر 3-4 أشهر وبوزن 300-350غم وربيت في أقفاص بلاستيكية وتحت ظروف ملائمة وقدم لها العلف والماء العاديين لحين البدء بالتجربة . وقد اجريت لها عملية استئصال المبايض حيث

تمت العملية بعد التخدير بعمل شق طولي من الجهة البطنية وتم ربط المبايض من الجهة القريبة من الرحم ثم استئصالها . وقد استخدم بيروكسيد الهيدروجين (Belgium-Degussa, H₂O₂ 50% AK menk, Rheinfelden) وفيتامين هـ (الشركة المتحدة لصناعة الادوية البيطرية المساهمة الخصوصية المحدودة يوفيدكو الاردنية) والثوم الطازج والاستروجين المصنع (Intervet international, B.V.) (Boxmeer-Holland) حيث قسمت حيوانات التجربة بشكل عشوائي الى المجماميع التالية .

المجموعة الاولى: (مجموعة سيطرة) وضمت خمس إناث من الجرذان غير الحوامل ممن استهلكن العلف والماء العاديين بصورة حرة طيلة فترة التجربة.

المجموعة الثانية: وضمت خمس إناث من الجرذان الحوامل ممن استهلكن العلف والماء العاديين لمدة 21 يوما أي طيلة فترة الحمل.

المجموعة الثالثة: وضمت خمسة إناث من الجرذان الحوامل ممن استهلكن العلف العادي والماء المضاف اليه بيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% بصورة حرة لمدة 21 يوما أي طيلة فترة الحمل.

المجموعة الرابعة: وضمت خمس إناث من الجرذان الحوامل ممن استهلكن العلف المضاف اليه فيتامين E (600 ملغرام / كغرام من وزن الجسم) والماء المضاف اليه بيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% لمدة 21 يوما أي طيلة فترة الحمل.

المجموعة الخامسة : تضمنت خمس اناث من الجرذان المستأصلة المبايض ممن استهلكت العلف العادي المضاف اليه بيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% بعد عملية الاستئصال بـ 15 يوم. بعد مرور 45 يوم من المعاملة اعطين العلف المضاف اليه فيتامين هـ بجرعة 600 ملغرام / كغم من وزن الجسم ولمدة 28 يوما.

المجموعة السادسة : وضمت خمس اناث من الجرذان المستأصلة المبايض ممن استهلكت العلف العادي والماء المضاف اليه بيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% بعد عملية الاستئصال بـ 15 يوم . بعد مرور 45 يوما اعطين العلف المضاف اليه الثوم الطازج بنسبة واحد غرام / كغم من وزن الجسم يوميا ولمدة 28 يوما.

وقد تم اعتماد المعايير التالية في تقييم الدراسة:

أولا : التحري عن مستويات كلا من ما يأتي في مصل الدم باستخدام عدة الاختبار الجاهز (Kit) والمصنع من شركة Radox ، وعند الطول الموجية 500 نانوميتر:

1- الكوليستيرول الكلي.

2- الكليسيريدات الثلاثية.

3- الكوليستيرول من نوع الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية HDL.

4- الكوليستيرول من نوع الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة LDL.

5- الكوليسترول من نوع الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جدا VLDL.

6- دليل التعصد.

ثانيا : اجراء الصفة التشريحية ودراسة الآفات العيانية والنسجية ان وجدت على كل من الابهر والقلب والكبد والسخذ وباستخدام تقنيات نسجية مختلفة تضمنت ما يأتي:

- صبغة الهيماتوكسلين - أيوسين.

- صبغة PAS (Periodic-acid shiff's).

- صبغة الاليشيان الزرقاء (Alcian blue pH2.5).

ثالثاً : تقدير مستوى المالونداي الدهيد MDA والكلوتاتايون GSH لانسجة الابهر والقلب والكبد لكافة المجاميع ، حيث استخدمت طريقة (6) لتقدير مستوى GSH، كما استخدمت الطريقة المعروفة بـ (Thiobaibutric Acid Reaction) (TBA) لقياس مستوى زناخة الدهن في الانسجة وحسب الطريقة التي اتبعها الباحثون (7).

التحليل الاحصائي: تم اجراء التحليل الاحصائي بواسطة اختبار التباين One Way analysis of variance واستخدام دنكن لتحديد الاختلافات الاحصائية بين المجاميع المختلفة ، وقد تم احتساب الفروقات المعنوية عند مستوى احتمالية $p < 0.05$.

النتائج

1- التأثير على مستوى صورة الدهن في مصل الدم :

اظهر الجدول (1) وجود ارتفاع معنوي في مستوى الكوليسترول الكلي (مجموعة الاناث مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين) ، والكليسيريدات الثلاثية وLDL-C وVLDL-C ودليل التعصد . في حين كان الارتفاع غير معنوي في مستوى الكوليسترول الكلي لمجموعة الاناث مستأصلة المبايض فقط ، مع وجود انخفاض غير معنوي في مستوى HDL-C في مجموعتي الاناث مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ومجموعة الاناث مستأصلة المبايض فقط مقارنة مع مجموعة السيطرة .

اما مجموعة اناث الجرذان مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والاستراديول 0.15 ملغم/حيوان (اسبوعيا بالعضلة) فقد اظهرت انخفاضاً معنوياً لمستوى الكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية وLDL-C وVLDL-C ودليل التعصد ، وارتفاع غير معنوي في مستوى HDL-C الا انها لم تصل الى المستويات عند مجموعة السيطرة ومجموعة الاناث المستأصلة المبايض فقط .

اما بالنسبة لمجموعة الاناث مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% لمدة 45 يوماً وفيتامين هـ 600 ملغم / كغرام من وزن الجسم ، فقد بينت النتائج وجود انخفاض معنوي في مستوى كل من الكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية وLDL-C وVLDL-C ودليل التعصد ، في حين لوحظ ارتفاع غير معنوي في مستوى الـ HDL-C مقارنة مع مجموعة اناث الجرذان مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين. في حين اظهرت نتائج مجموعة اناث الجرذان مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% لمدة 45 يوماً والمعاملة بالثوم الطازج 1 غرام / كغرام من وزن الجسم يومياً لمدة 28 يوماً ، انخفاضاً معنوياً في مستوى الكوليسترول الكلي ، وLDL-C ودليل التعصد وانخفاض غير معنوي في مستوى الكليسيريدات الثلاثية وVLDL-C مع ارتفاع غير معنوي في مستوى HDL-C مقارنة مع مجموعة اناث الجرذان مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين . ولكنه لم يصل الى مستواه في مجموعة السيطرة ومجموعة اناث الجرذان مستأصلة المبايض فقط.

2-التاثير على مستوى GSH و MDA:

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي لهذه التجربة وجود انخفاض معنوي في مستوى GSH الابهر والقلب والكبد في مجموعة اناث الجرذان مستأصلة المبايض مقارنة مع مجموعة السيطرة وكذلك الحال بالنسبة لبقية المجاميع مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة الاناث مستأصلة المبايض فيما عدا مجموعة الاناث المستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين 0.5% وفيتامين هـ والمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والثوم الطازج. وقد اظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي في مستوى GSH في نسيج الكبد لمجموعة الاناث مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وفيتامين هـ ومجموعة الاناث المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والثوم الطازج مقارنة مع مجموعة اناث الجرذان مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين. وقد كان الانخفاض المعنوي لمستوى GSH في نسيج الابهر اكثر وضوحاً في مجموعة اناث الجرذان مستأصلة المبايض المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين في حين كان الانخفاض في مستوى GSH في نسيجي القلب والكبد للنفس المجموعة ايضا اكثر وضوحاً من بقية المجاميع مقارنة مع مجموعة السيطرة. (جدول 2).

كما بين الجدول (2) وجود ارتفاع معنوي في مستوى MDA في نسيج الابهر لمجموعة الاناث مستأصلة المبايض دون المجاميع الاخرى مقارنة بمجموعة السيطرة. في حين اظهرت النتائج وجود ارتفاع غير معنوي في مستوى MDA لنسيج القلب لكافة المجاميع. بينما بين الجدول وجود ارتفاع معنوي في مستوى MDL لنسيج الكبد لمجموعة اناث مستأصلة المبايض ومجموعة الاناث مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والاستراديول والاناث مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وفيتامين هـ مقارنة مع مجموعة السيطرة.

3- التغيرات المرضية النسجية:

لم تلاحظ أي من التغيرات المرضية النسجية في كل من الابهر والكبد لمجموعة السيطرة. في حين تميزت المقاطع النسجية لآبهر اناث الجرذان المستأصلة المبايض بوجود القليل من الفجوات الدهنية في البطانة مع تضخم خلايا البطانة والخلايا العضلية الملساء الوعائية في الطبقة المتوسطة، وتموضع للخثار في التجويف وعلى جدار الشريان (الشكل 1).

في حين تمثلت الآفات النسجية للقلب في اناث الجرذان مستأصلة المبايض بالتغير الدهني الشديد فضلاً عن الاحتقان الشديد في الاوعية الدموية. كما واطهرت التفاعل الموجب الشديد عند استخدام تقنية الاليشيان الزرقاء عند الدالة الحامضية PH2.5 (الشكل 2).

كما بينت نتائج الفحص النسجي للقلب لاناث الجرذان المستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين 0.5% تغير دهني شديد في هيولي العضلات القلبية مع احلال الدهن محل الخلايا العضلية القلبية، فضلاً عن الاحتقان الشديد والوذمة (الشكل 3).

بينما تمثلت الآفات في الكبد بوجود التغير الدهني والتكسب الفجوي في هيولي الخلايا الكبدية مع ارتشاح طفيف للخلايا للمفية حول الوريد المركزي فضلاً عن تضخم خلايا كوفر. في حين تمثلت الآفات النسجية في القلب لاناث الجرذان المستأصلة المبايض التغير الدهني الشديد فضلاً عن الاحتقان الشديد للاوعية الدموية كما اظهرت التفاعل الموجب الشديد عند استخدام تقنية الاليشيان الزرقاء عند الدالة الحامضية PH2.5 (الشكل 2).

كما بينت النتائج الفحص النسجي لقلب اناث الجرذان المستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين 0.5% تغير دهني شديد في هيولي العضلات القلبية مع احلال

الدهن محل الخلايا العظمية القلبية ، فضلا عن الاحتقان الشديد والوذمة والتكس الزجاجي Hyaline degeneration في الالياف العضلية (الشكل 3) .

بينما اظهرت اناث الجرذان المستأصلة المبايض والمستهلكة لبيروكسيد الهيدروجين 0.5% لمدة 60 يوماً ، المعاملة بالاستراديول 0.15 ملغرام / حيوان (اسبوعياً بالعضلة) ، افات مرضية نسجية في الابهر تمثلت بالافات الدهنية تمثلت بتموضع فجوات الدهن والخلايا الرغوية في البطانة والطبقة المتوسطة مع تحطم في خلايا البطانة (الشكل 4). اما في الكبد فقد اظهرت المقاطع النسجية وجود التغير الدهني مع احتقان وتوسع الجيبانيات فضلا عن التكس الفجوي.

كما تمثلت التغيرات المرضية النسجية في ابهر اناث الجرذان المستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين 0.5% والمعاملة بفيتامين هـ 600 ملغرام / كغرام من وزن الجسم، باختزال لافات الدهنية مع تكاثر الخلايا العضلية الملساء الوعائية (الشكل 5) . بينما اظهرت المقاطع النسجية للكبد توسع الاوردة المركزية مع تكثف الخلايا اللمفية حول الاوعية الدموية والقنوات الصفراوية ، فضلا عن التغير الدهني والتكس الفجوي وتضخم خلايا كوفر .

في حين بينت المقاطع النسجية لابهر اناث الجرذان مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين 0.5% والثوم الطازج ، بوجود الافات الدهنية مع تكاثر الخلايا العضلية الملساء الوعائية في الطبقة المتوسطة باتجاه طبقة البطانة ، فضلا عن تضخم الخلايا العضلية الملساء الوعائية وخلايا البطانة وتضييق في التجويف وتصلب للشريان arteriosclerosis . كما وظهرت تفاعل موجب شديد مع تقنية PAS و AB عند الدالة الحامضية pH 2.5 (الشكل 6 و 7).

كما اظهرت المقاطع النسجية للكبد بوجود تغير دهني مع تكس فجوي في هيولي الخلايا الكبدية ، فضلا عن توسع الاوردة المركزية وتكثف الخلايا اللمفية حول الوريد المركزي وتضخم خلايا كوفر (الشكل 8).

الجدول (1): يوضح تأثير المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والاستراديول وفيتامين هـ والثوم الطازج على مستويات الكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية و HDL-C و LDL-C و VLDL-C ودليل التعصد في اناث الجرذان مستأصلة المبايض

المجاميع	المعاملات	الكوليسترول الكلي (mg/dl)	الكليسيريدات الثلاثية (mg/dl)	الشحوم البروتينية ذات الكثافة العالية HDL-C (mg/dl)	الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة LDL-C (mg/dl)	الشحوم البروتينية ذات الكثافة الواطئة جداً VLDL-C (mg/dl)	دليل التعصد
الاولى	السيطرة	93.55 ± 0.409 ac	61.73 ± 0.272 a	62.61 ± 1.0 a	18.60 ± 1.034 a	12.34 ± 0.38 a	1.49 ± 0.04 a
الثانية	الاناث المستأصلة المبايض	110.14 ± 0.328 a	72.10 ± 0.264 b	58.11 ± 0.498 ab	37.61 ± 0.277 b	14.42 ± 0.24 b	1.89 ± 0.13 b
الثالثة	الاناث المستأصلة المبايض معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%)	172.63 ± 0.280 b	83.87 ± 0.306 c	53.79 ± 0.286 ab	102.07 ± 1.84 c	16.77 ± 1.059 c	3.2 ± 0.222 c
الرابعة	الاناث المستأصلة المبايض معاملة ببيروكسيد الهيدروجين والاستراديول	150.33 ± 0.320 ac	70.71 ± 1.78 b	55.77 ± 0.226 ab	80.42 ± 0.707 d	14.14 ± 0.319 ab	2.6 ± 0.114 d
الخامسة	الاناث المستأصلة المبايض معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) وفيتامين هـ	92.70 ± 0.721 ac	71.49 ± 0.368 b	58.50 ± 0.646 ab	19.91 ± 0.379 a	14.29 ± 0.57 ab	1.59 ± 0.05 ab
السادسة	الاناث المستأصلة المبايض ومعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والثوم الطازج	88.02 ± 0.90 c	77.33 ± 0.656 bc	56.57 ± 0.613 b	15.98 ± 0.643 a	15.46 ± 0.84 bc	1.56 ± 0.07 ab

الحروف المختلفة عمودياً تعني فرقاً معنوياً عند مستوى احتمالية $p < 0.05$ القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي عدد الجرذان خمسة / مجموعة

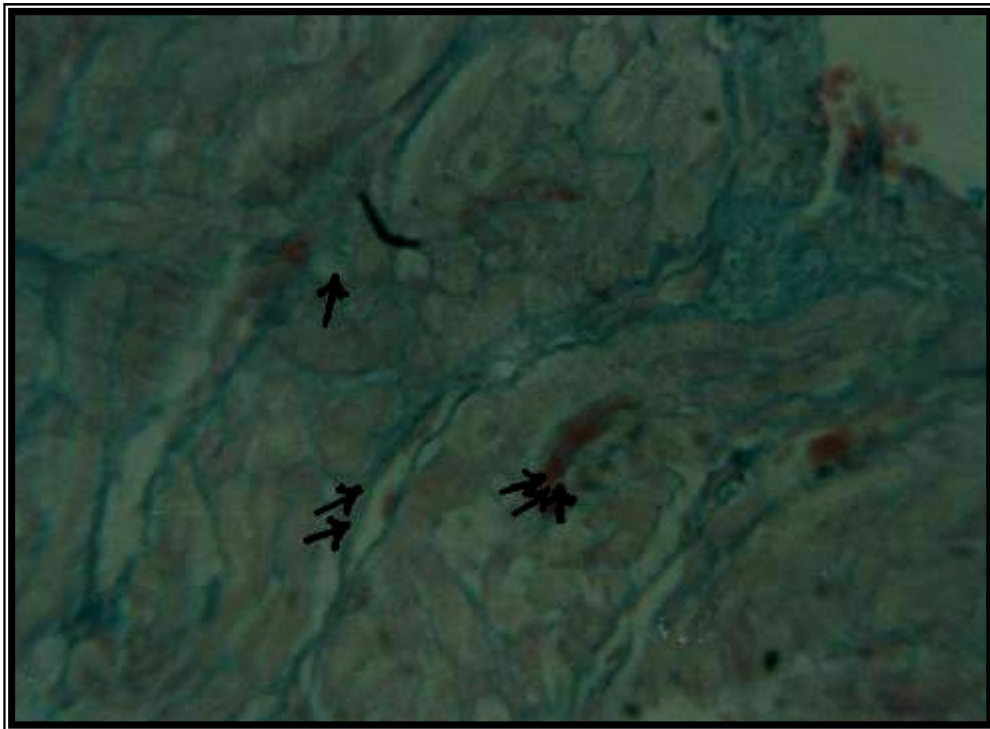
الجدول (2) يوضح تأثير المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والاستراديول وفيتامين هـ والثوم الطازج على كمية الكلوتاثايون GSH والمالونداي الدهايد MDA في اناث الجرذان مستأصلة المبايض.

MDA (نانومول / غم نسيج رطب)			GSH (مايكروغرام / غم نسيج رطب)			المعاملات	المجاميع
الكبد	القلب	الابهر	الكبد	القلب	الابهر		
268.49 ± 1.415 a	529.85 ± 0.452 a	543.92 ± 0.614 a	3.45 ± 0.23 a	1.53 ± 0.17 a	2.11 ± 0.14 a	السيطرة	الاولى
441.60 ± 0.734 c	633.04 ± 0.421 a	661.75 ± 0.456 b	1.27 ± 0.17 b	1.00 ± 0.02 b	1.03 ± 0.07 b	الاناث المستأصلة المبايض	الثانية
490.39 ± 0.648 ab	694.58 ± 0.895 a	690.11 ± 0.590 ab	0.95 ± 0.09 b	0.85 ± 0.19 b	0.75 ± 0.13 b	الاناث المستأصلة المبايض معاملة بببروكسيد الهيدروجين (0.5%)	الثالثة
430.32 ± 0.641 c	650.52 ± 0.863 a	640.13 ± 0.580 ab	1 ± 0.035 b	0.93 ± 0.03 b	0.95 ± 0.03 b	الاناث المستأصلة المبايض معاملة بببروكسيد الهيدروجين والاستراديول	الرابعة
391.09 ± 1.314 bc	594.19 ± .0375 a	632.434 ± 0.98 ab	2.07 ± 0.32 c	1.51 ± 0.30 a	1.97 ± 0.03 a	الاناث المستأصلة المبايض معاملة بببروكسيد الهيدروجين (0.5%) وفيتامين هـ	الخامسة
290.42 ± 0.8162 a	611.52 ± 0.967 a	640.84 ± 0.393 ab	1.94 ± 0.10 c	1.472 ± 0.21 a	1.83 ± 0.37 a	الاناث المستأصلة المبايض ومعاملة بببروكسيد الهيدروجين بالثوم الطازج	السادسة

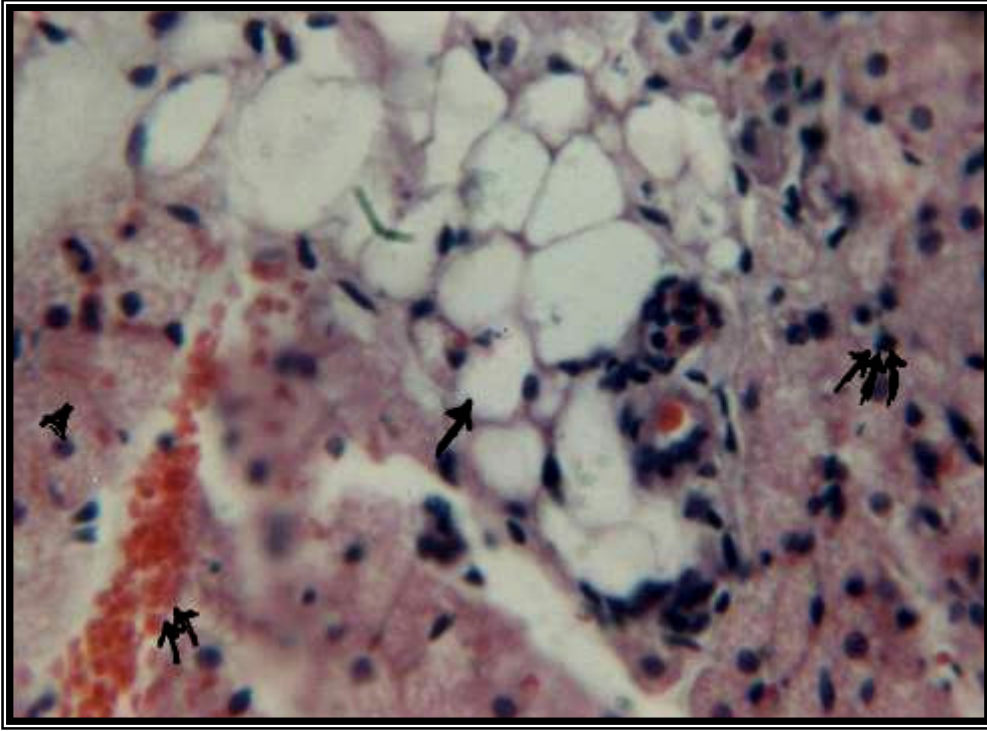
الحروف المختلفة عموديا تعني فرقا معنويا عند مستوى احتمالية $p < 0.05$
القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي
عدد الجرذان خمسة / مجموعة



الشكل (1) : صورة فوتوغرافية في نسيج الابهر لانثى جرذي مستأصلة المبايض يوضح تموضع للخثار في تجويف الوعاء مع تموضع القليل من فجوات الدهن تحت البطانة ، الصبغة (H. and E.) . 100x



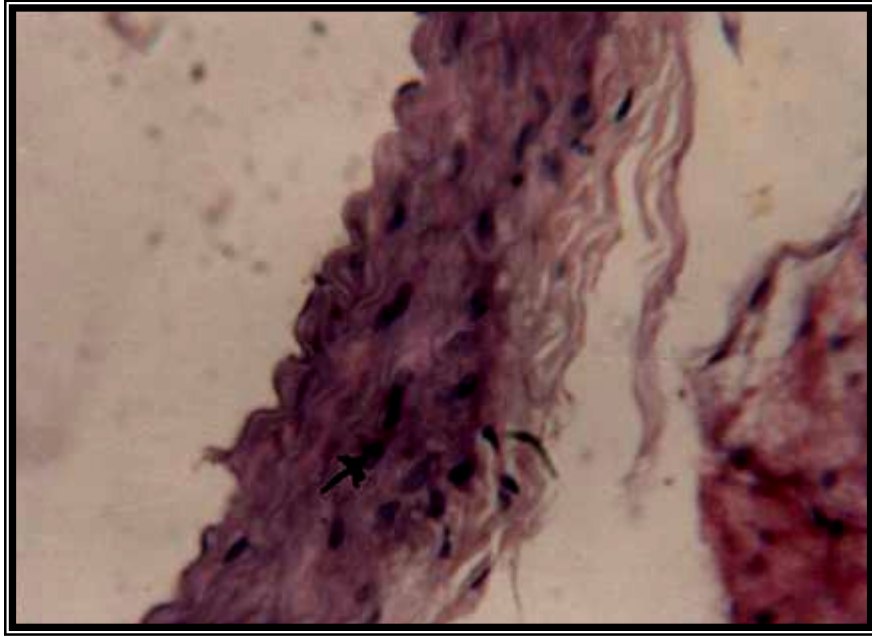
الشكل (2) : صورة فوتوغرافية لمقطع في نسيج قلب انثى جرذي مستأصلة المبايض يوضح التغير الدهني الشديد (←) مع التفاعل الموجب الشديد لتقنية أزرق الاليشيان عند الدالة الحامضية pH2.5 (AB) . فضلاً عن الاحتقان الشديد للاوعية الدموية (←) . الصبغة (A. B.) . 400x



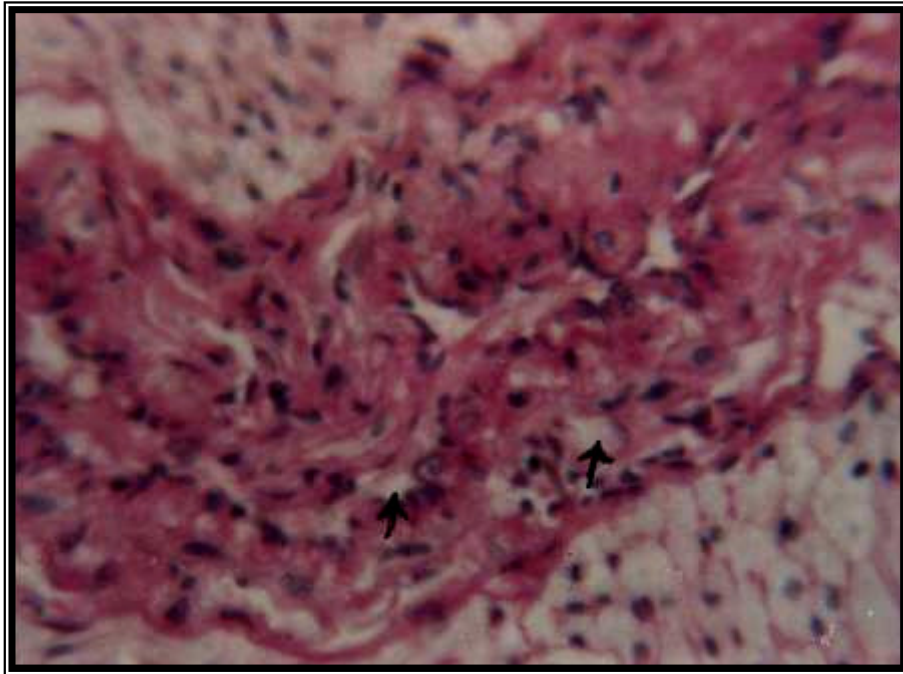
الشكل (3): صورة فوتوغرافية لمقطع في نسيج قلب لانتى جرذي مستأصلة المبايض ومعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% لمدة 60 يوماً يوضح التغير الدهني الشديد مع الاحتقان الشديد (←) وارتشاح الخلايا الالتهابية اللمفية في العضلات القلبية فضلاً عن التنكس الزجاجي لبعض الألياف العضلية (راس السهم) .
الصيغة (H. and E.) . 400x



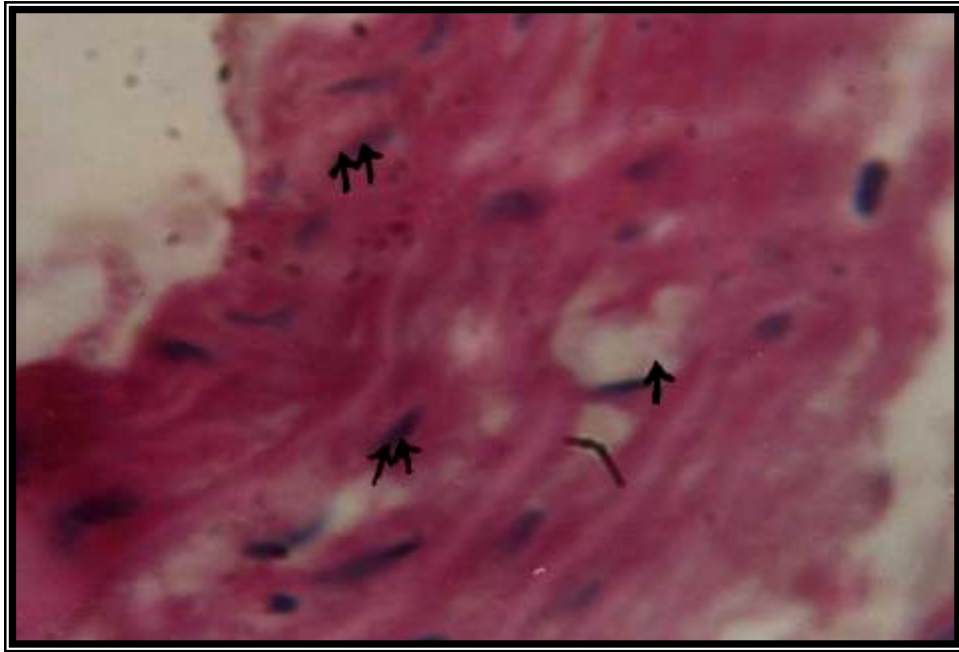
الشكل (4) : صورة فوتوغرافية لنسيج الأبر الصخري في انتى جرذي مستأصلة المبايض ومعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والاستراديول يوضح تحطم خلايا البطانة مع تموضع لفجوات الدهنية في البطانة والطبقة المتوسطة (←) .
الصيغة (H. and E.) . 100x



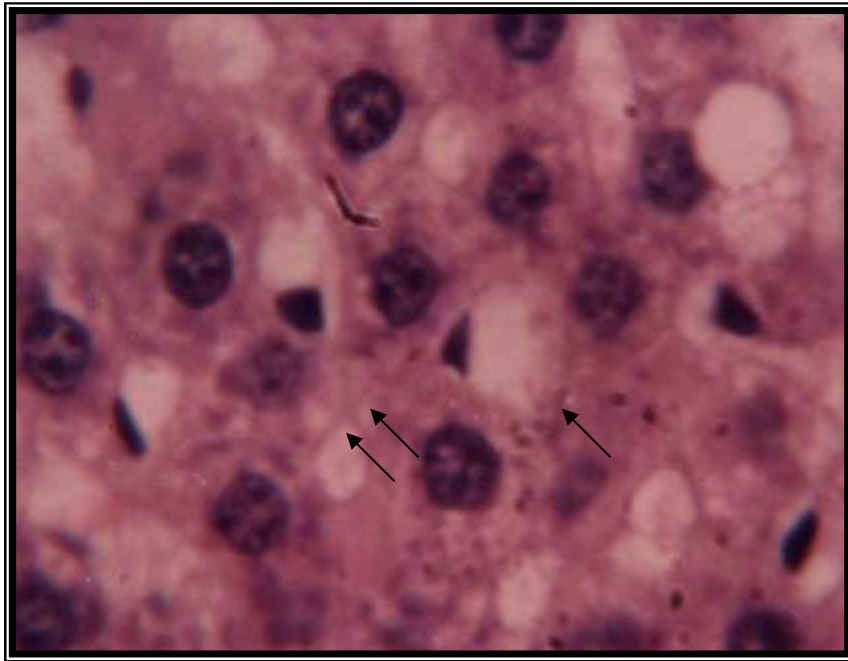
الشكل (5) : صورة فوتوغرافية لمقطع في نسيج الابهر الصدري لانثى الجرذ المستأصلة المبايض معاملة ببيروكسيد الهيدروجين ، 0.5% وفيتامين هـ يوضح اختزال الأفات الدهنية مع ضخامة وتكاثر في خلايا العظلية الملساء الوعائية (←) . الصبغة (H and E) . 100x



الشكل (6) : صورة فوتوغرافية لمقطع في نسيج الابهر الصدري لانثى الجرذ المستأصلة المبايض ومعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والثوم الطازج توضح تضيقا في التجويف مع نخثن في جدار الشريان وتموضع فجوات الدهن في البطانة والطبقة المتوسطة (←) الصبغة (PAS) . 400x (عدسة زيتية)



الشكل (7) : صورة فوتوغرافية لمقطع في نسيج الابهر الصدري لانثى الجرذ المستأصلة المبايض ومعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والثوم الطازج يوضح تموضع لفجوات الدهون (←) مع ضخامة وتكاثر الخلايا العضلية الملساء (←) فضلاً عن التفاعل الموجب مع تقنية PAS الصبغة (PAS) . 1000x (عدسة زيتية)



الشكل (8) : صورة فوتوغرافية لمقطع في نسيج الكبد لانثى الجرذ المستأصلة المبايض ومعاملة ببيروكسيد الهيدروجين 0.5% والثوم الطازج يوضح التغير الدهني في هيولي الخلايا الكبدية (←) فضلاً عن تضخم الخلايا كوفر (←) الصبغة (H. and E.) . 1000x (عدسة زيتية).

المناقشة

أهتمت هذه الدراسة بحدوث الاجهاد التاكسدي من خلال استئصال المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع استخدام بعض مضادات الاكسدة في اناث الجرذان ، لمعرفة قابليتها في الحد من حدوث الاجهاد التاكسدي ونشوء افات التصلب العصيدي. حيث اظهرت نتائج الفحص المصلي وجود ارتفاع معنوي في مستوى الكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية و LDL-C و VLDL-C ودليل التعصد في مجموعة الاناث المستاصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% في ماء الشرب مقارنة مع مجموعة السيطرة غير المستاصلة المبايض ومجموعة اناث الجرذان المستاصلة المبايض فقط . ان حدوث الارتفاع المعنوي في مستوى صورة الدهن قد يعود الى انخفاض مستوى الاستروجين خاصة عند اناث الجرذان مستاصلة المبايض. حيث ذكرت العديد من الدراسات اهمية الاستروجين بوصفه عامل حماية يحد من نشوء افات التصلب العصيدي في سن النضوج بينما تزداد تلك الافات عند مرحلة سن الياس ، نتيجة لانخفاض هرمون الاستروجين وذلك لما له تاثيرات بوصفه عاملاً وقائياً يحافظ على العمليات الايضية للبروتينات الدهنية والتي ينتج عنها انخفاض مستوى apo-B LDL-C وزيادة مستوى HDL-C في البلازما ، وهذا ما ذكره الباحثان (13). كما انه يؤثر على الفعالية الانزيمية التي تشترك في تحول الكوليسترول الى احماض الصفراء بواسطة الانزيم Cholesterol 7- α hydroxylase (14). أن هذه النتائج تؤكد على صحة الاعتقاد بان للاستروجين ولو بنسبة ضئيلة يعد عاملاً وقائياً ضد افات التصلب العصيدي الناجمة عن فرط الكوليسترول عند مقارنتها مع مجموعة اناث الجرذان غير المستاصلة المبايض وهي في مرحلة النضوج حيث يمتلك الاستروجين المفرز من قبل المبايض قابليته على الحد من نشوء وتطور امراض القلب الوعائية مقارنة مع مراحل سن الياس وهذا ماكدته العديد من الدراسات (15).

اما عند مجموعة اناث الجرذان المستاصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% ، التي أظهرت ارتفاع في مستويات صورة الدهن تشير الى قابلية ببيروكسيد الهيدروجين بوصفه عاملاً مؤكسداً في احداث ترنخ الدهون ونشوء افات التصلب العصيدي ، قد ناتج من خلال قابليته في التأثير على خلايا البطانة في ابطال فاعليتها على افراز الاستروجين عند مرحلة سن الياس (والتي يمثلها استئصال المبايض) فضلاً عن فقدان المصدر الاساسي لافراز الاستروجين بالرغم مما اكدته بعض الدراسات في ان الاستروجين داخلي المنشأ عند سن الياس يظهر بهيئة استرون (estron ناتج من تحول androstenedione داخل النسيج الدهني الى استروجين داخلي المنشأ (16) الا ان كميته كانت غير كافية للحفاظ على مستوى صورة الدهن. كما اظهرت هذه الدراسة وجود انخفاض معنوي في مستوى الكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية و LDL-C و VLDL-C ودليل التعصد يقابلها ارتفاع في مستوى HDL-C عند مجموعة اناث الجرذان المستاصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% والاستراديول بجرعة 0.03 مللتر مقارنة مع مجموعة اناث الجرذان المستاصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين الا انها لم تصل الى مستوياتها عند مجموعة

اناث الجرذان المستاصلة المبايض فقط ، حيث استخدم الاستراديول بوصفه مضاداً للاكسدة وهي تتفق مع مذكرته العديد من الدراسات السابقة عل ان الاستراديول يقلل من خطورة التصلب العصيدي عند الاناث في مرحلة سن الياس من خلال خفضه LDL-C والشحوم البروتينية نوع B (apo-B) . في حين يزيد من مستوى HDL-C والفايبرينوجين فضلاً عن زيادة مستوى الكليسيريدات الثلاثية عن طريق زيادة انتاج وافراز VLD-C في الكبد . حيث ان التخلص من VLD-C والمحفز بواسطة الاستراديول يشاركه زيادة في فاعلية الانزيم Haptic lipase و Lipoprotein lipase وزيادة التعبير الجيني genetic expression لمستقبلات LDL-C (17). ومما يدعم صحة هذه النتائج وجود بعض الدراسات التي اثبتت فاعلية الاستراديول بوصفها مضادة للاكسدة وذلك لاحتوائه على مركبات الفينول مع بعض المكونات المانعة للاكسدة حيث تعمل جميعها على منع اكسدة LDL-C و VLDL-C وتحويلها الى ox LDL-C و VLDL-C ، مما يساعد في التقليل من التأثيرات الضارة المؤكسدة في الجهاز الوعائي (18) ، فضلاً عن ان الاستراديول يمنع تجمع LDL-C و ox LDL-C في جدار الشريان (8) . ان جرعة الاستراديول المستخدمة في هذه الدراسة كانت كافية الى حد ما في خفض مستويات صورة الدهن وهذا يعني تقليل التأثيرات الضارة والسمية لبيروكسيد الهيدروجين بالرغم من فقدان المصدر الرئيس لانتاج الاستروجين (المبايض). مما يؤكد صحة هذا الافتراض النتائج التي تم الحصول عليها عند قياس مستويات الـ GSH و MDA للابهر والقلب والكبد ، حيث اظهرت النتائج ارتفاع في مستويات GSH الابهـر و القلب والكبد يقابله انخفاض في مستويات MDA في تلك الانسجة الا انه لم يصل الى مستواه عند مجموعة اناث الجرذان المستاصلة المبايض فقط . مما يؤكد ارتباط تأثير الاستروجين الوعائي مع مكونات مضادات الاكسدة ، حيث وجد ان للاستراديول قابلية في تقليل انتاج الجذور الحرة في الخلايا العضلية الملساء الوعائية من خلال زيادة فعالية السوبر اوكسايدديسيمونيز SOD ومنغنيز السوبر اوكسايدديسيمونيز MnSOD والتي تكبح جذور الاوكسجين الحرة مما يسبب زيادة في مستوى GSH الانسجة (19) ، اما فيما يتعلق بالمقاطع النسجية لم تظهر وجود تغيرات تشير الى قابلية الاستراديول المستخدم بهذه الجرعة في اختزال الفجوات الدهنية والحد من نشوء افات التصلب العصيدي مقارنة مع المجموعة المعاملة بفيتامين هـ رغم ان الاستراديول يعمل على زيادة بناء NO الذي يعد احد مضادات الاكسدة لطبقة البطانية (20)، كما ان الاستروجين يزيد من التوسع الوعائي ، ويقلل من ضغط الدم عن طريق خفض كمية بناء الانجيوتنسين والاندوثيلين (21) الا ان الجرعة المستخدمة قد تكون غير كافية للحد من تطور افات التصلب العصيدي بالرغم من خفضها لمستويات صورة الدهن في مصل الدم.

اما بالنسبة لمجموعة اناث الجرذان المستاصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% وفيتامين هـ 600 ملغرام / كغرام وزن الجسم ، فقد اظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي في مستوى الكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية LDL-C و VLDL-C ودليل التعصد يقابله ارتفاع معنوي في مستوى HDL-C مقارنة

مع مجموعة اناث الجرذان المستاصلة المبايض المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والمستاصلة المبايض فقط وذلك لكون فيتامين هـ من مضادات الاكسدة المذابة في الدهون لها القابلية على كسر سلاسل جذور الاوكسجين الحرة التي تهاجم اغشية الخلايا . حيث اكدت العديد من الدراسات بان فيتامين هـ له القابلية على منع تخزين الدهون المحدث من قبل الجذور الحرة (22) . لقد اكدت هذه الدراسة وجود علاقة بين مستوى فيتامين هـ ونشوء افات التصلب العصيدي وهي تتفق مع مذكرته العديد من الدراسات السابقة على ان اعطاء فيتامين هـ يقلل من اكسدة الـ LDL-C من خلال منع تكون الخلايا الرغوية وبالتالي اختزال الافات الدهنية . فضلاً عن ان استخدام فيتامين E يحافظ على التوازن بين الاجهاد التاكسدي وموانع الاكسدة في بلازما الدم وليس في افات التعصد (23) . وبذلك فان اعطاء فيتامين هـ مع بيروكسيد الهيدروجين ادى الى خفض مستوى الكوليسترول في البلازما ، وهذا يتفق مع ما وجد سابقاً في الجرذان (24) ، والدجاج (25) . وفي دراسات اجريت على الانسان ظهر ان استخدام فيتامين هـ يخفض من اكسدة الـ LDL-C ، حيث وجد ان استخدام 400 ملغرام / يوم من فيتامين هـ ينتج عنه تاثيرات مفيدة على الـ LDL-C (26) . ومما يؤكد صحة هذه النتائج هو الانخفاض الحاصل في تخزين الدهون من خلال قياس مستوى المالمونداي الدهايد والارتفاع في الكلوتاثايون في انسجة الابهر والقلب والكبد حيث ان GSH هو عامل مضاد للاكسدة وعند استخدام مضادات الاكسدة كفيتامين هـ والثوم الطازج فانها خفضت الاكسدة مما ادلى الى خفض كمية الـ GSH المستخدم وبالتالي ارتفاع مستواه في الانسجة التي تم فحصها كذلك فان استخدام فيتامين هـ والثوم الطازج ادى الى تقليل مستوى المالمونداي الدهايد الناتج من عملية الاكسدة ، وهذا يبين اهمية فيتامين هـ في كسر سلاسل الاوكسجين الحرة . والذي يدعم هذه النتائج ويؤكد صحتها النتائج التي تم التوصل اليها في دراسة المقاطع النسجية في ابهر وقلب وكبد اناث الجرذان المستاصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وفيتامين هـ ، والتي اظهرت اختزال الافات الدهنية مع تكاثر للخلايا العضلية الملساء الوعائية . وهذا قد يعود الى امكانية فيتامين هـ في التقليل من تكون الخلايا الرغوية ، اذ وجد الباحثون (27) ان فيتامين هـ يمنع قصور البطانة الناتجة من اكسدة الـ LDL-C . فضلاً عن ان عملية اختزال الخلايا الرغوية قد تكون ناتجة من فعل فيتامين هـ حيث له قابلية الحفاظ على حالة الانبساط الوعائي Vaso-relaxation (28) ، فضلاً عن قابليته في التقليل من تجمع والتصاق الصفائح الدموية ، اذ لوحظ ان لفيتامين هـ تأثير في الحد من تكاثر الخلايا العضلية الملساء الوعائية ، من خلال تأثيره على بناء الحامض النووي الرايبوزي اللاوكسجيني DNA لتلك الخلايا وبهذا فانه يدعم نظرية كون الدهون المؤكسدة تحفز عملية فرط التنسج Hyperplasia عن طريق اما تثبيط عملية الاكسدة او تثبيط تكون مواد الاكسدة في الخلية ومع ما توصلت اليه هذه الدراسة من نتائج جيدة الى انها لم تحد كلياً من افات التصلب العصيدي .

اهتمت هذه الدراسة باستخدام الثوم الطازج بوصفه مضاداً للاكسدة بالاعتماد على دراسات سابقة (29) في الحد من حدوث الاجهاد التاكسدي في اناث الجرذان غير المستاصلة المبايض وذلك لملاحظة علاقته مع الاستروجين . حيث ذكرت بعض الدراسات بان الثوم يمتلك مواد شبيهة بالاستروجين تتحول الى استروجين داخل الجسم (30) . وهو يتفق مع ما توصلت اليها هذه الدراسة من خلال الانخفاض المعنوي في

مستوى الكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية و LDL-C ، و VLDL-C وارتفاع معنوي في مستوى HDL-C مقارنة بمجموعة مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين رغم وجود بعض التفاوت في القيم مع مجموعة الاناث مستأصلة المبايض والسيطرة خاصة فيما يتعلق بمستوى الكليسيريدات الثلاثية و VLDL-C ، قد يعود ذلك الى الدور الذي يلعبه الثوم في تثبيط تصنيع الكوليسترول في الكبد . وبما ان الثوم يحتوي على مادة (DAS) diallylsulfied والتي تعد مادة مضادة لفرط الكوليسترول في الدم ، وهو يتفق مع ما وجدته الباحثون (31) حيث اشاروا الى ان اعطاء مستخلص الثوم المعتق لمدة ستة اشهر ادى الى خفض الكوليسترول الكلي والـ LDL-C بمقدار 6% و 4% على التوالي . وايضاً يتفق مع ماتوصل اليه الكناناي والعلاف (26) حيث ذكر بان الارانب المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والثوم الطازج بجرعة 1 غم / كغرام وزن الجسم لمدة 60 يوماً ادى الى انخفاض مستوى الكوليسترول والـ LDL-C في مصل الدم. ان قابلية الثوم في خفضه مستوى صورة الدهن ورفع مستوى HDL-C يؤكد على كونه مضاداً للاكسدة وذلك من خلال اصطياده لانواع الاوكسجين الفعالة ، ويحفز زيادة انزيمات الخلية المضادة للاكسدة مثل السوبر اوكسايد ديسميوتيز والكاتاليز والكلوتاتايون ببيروكسيديز وهذا ينعكس على مستوى الكلوتاتايون في الابهر الذي اظهر ارتفاعاً معنوياً عند الاناث مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 0.5% والثوم الطازج 1غم / كغرام وزن الجسم . يقابله انخفاض في مستوى المألونداي الدهايد مقارنة مع مجموعة اناث الجرذان مستأصلة المبايض والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ولكنها لم تصل الى المستوى الطبيعي لاناث الجرذان المستأصلة وغير المستأصلة المبايض يشير ذلك الى قابلية الثوم في تثبيط بيروكسدة الدهون والتحول التاكسدي لـ LDL-C وذلك لاحتوائه على S-allylcystein التي توفر حماية للخلايا البطانية من الضرر بواسطة منع استنزاف الكلوتاتايون داخل خلوي وخفض تحرير بيروكسيدات خلايا البطانة والخلايا البلعمية (32) ، وبالرغم من وجود انخفاض في قيم GSH في القلب والكبد ، والذي قد يعود الى ان الاذى المحدث في القلب والكبد شديد جدا لم يستطع هذا التركيز من الحد من تطور الاذى. اما فيما يتعلق بنتائج المقاطع النسجية للابهر تؤكد هذه الدراسة على قابلية الثوم كونه مضاداً للاكسدة والتعصد وذلك من خلال اختزاله للافات الدهنية ، وهذا يعني قابليته في الحد من اكسدة LDL-C في نسيج الابهر ومنع تحور الخلايا العضلية الملساء الوعائية الى خلايا رغوية بعد التهامها للدهون . فضلاً عن ذلك امتلاك الثوم لبعض المواد الشبيهة للاستروجين قد يكون لها الدور في الحد من تكون الخلايا الرغوية او نشوء افات التصلب العصيدي . الا ان هذا يحتاج الى دراسة تفصيلية اكثر للبحث في الكشف عن تلك المواد في الثوم .

المصادر

1. Folsom AR, Mc Govern PG, Nabulsi AA, Shaher E, Kahn ES, Winkart SP, White AD. Change in plasma lipids and Lipoproteins associated with starting or stopping Postmenopausal hormon replacement therapy. Atherosclerosis risk in communities study Am Heart J 1996; 132: 952 – 958.
2. Barrett – Connor E, Bush TL. Estrogen and Coronary heart disease in women. JAMA 1991; 265: 1861 – 1867.

3. Barrett – Connor E. Sex differences in coronary heart disease: Why are women so superior. The 1995 Ancel Keys lecture. *Circulation* 1997; 95: 252 – 264.
4. Foegh ML, Ramwell PW. Cardiovascular effects of estrogen: Implications of the discovery of the estrogen receptor subtype β . *Curr Opin Nephrol Hyperten* 1998; 7: 83 – 89.
5. Joles JA, Bijleveld C, Tol AV, Geelen MJH, koomans HA. Effects of estrogen or estrogen / Progestin regimens on heart disease risk factors in Postmenopausal women. *JAMA* 1995; 273: 199 – 208.
6. Berliner JA, Navab M, Fogeiman AM, et al. Atherosclerosis: basic mechanisms: oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995; 91: 2488 – 96.
7. Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravniker V, Sacks FM. Effects of Postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins . *N Engl J Med* 1991; 325: 1196 – 1204.
8. Gardner G, Banka CL, Roberts KA, Ullick AE, Rutledge JC. Modified LDL – mediated increases in endothelial layer permeability are attenuated with 17 - β estradiol . *Atheroscler . Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 754 – 861.
9. Fischer GM, Cherian K, Swain ML. Increased synthesis of aortic collagen and elastin in experimental atherosclerosis: inhibition by contraceptive steroids. *Atherosclerosis* 1981; 39: 463 – 467.
10. Moron MS, Depierre JW, Mennervik B. Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rats lung and liver. *Biochem Biophys Acta* 1979; 582: 67-78.
11. Gillbert Stump DD, Roth EFJr. A method to correct for errors caused by generation of interfering compounds during erythrocyte lipid peroxidation. *Anal Biochem* 1984; 137: 282-286.
12. Drury RAB, Willington EA. Carleton's Histological Technique, 5th ed., Oxford University Press. 1080; pp: 129, 167, 178, 206-212.
13. Knopp RH, Zhu X. Multiple beneficial effects of estrogen on lipoprotein metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3952-3954.
14. Ferreri LF, Naito HK. Effect of estrogens on rat serum cholesterol concentration: consideration of dose, type of esterogen, and treatment duration. *Endocrinology* 1987 ; 102: 1621-1672.
15. Kaul N, Devaraj S, Jialal I. α -Tocopherol and atherosclerosis. *Exper Biol Med* 2001; 226: 5-12.
16. Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri RL. Reproductive endocrinology. 4th ed. Philadelphia: Saunders 1999; 110-133; 301-319; 751-784.
17. Demacker PN, Staels B, Stalenhoef AF, Auwerx J. Increased removal of beta-very low density lipoprotein after increased mRNA levels for hepatic lipase, lipoprotein lipase and low density lipoprotein receptor in watanabe hyperlipidemic rabbit. *Arterioscler. Thormb Vesc Biol* 1991; 11: 1652-1659.
18. Martin C, Barturen K, Martinez R, Lacort M, Ruiz-Larrea MB. In vitro inhibition by estrogens of the oxidative modification of human lipoproteins. *J Physiol Bioch* 1998; 54: 195-202.

19. Strehlow K, Rotter S, Wassmann S, Adam O, Grohe C, Laufs K, Nickenig G. Modulation of estrogen . *Circulation Research* 2003; 93: 170.
20. Hodgin JB, Knowles Jw, kim HS, Smithies O, Maeda N. Interactions between endothelial nitric oxide synthase and sex hormones in vascular protection in mice. *J Clin Invest* 2002; 109 (4): 541 – 548.
21. Best PJM, Berger PB, Miller VM, Lerman A. The effect if estrogen replacement therapy on plasma nitric oxide and endothelial-1 levels in Postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1998; 128: 285-288.
22. Devaraj S, Jialal I. Oxidized LDL and atherosclerosis. *Int J Clin Lab Res* 1996; 26: 178-184.
23. Micheletta F, Natoli S, Misuraca M, Sbarigia E, Diczfalusy U, Iuliano L. Vitamin E supplementation in patients with carotid atherosclerosis. Reversal of altered oxidative stress status in plasma but not in plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24-136.
24. عبد الرحمن ، صائب يونس. تأثير الجوع وداء السكري التجريبي على مستويات الكلوتاثاينوزناخة الدهن في انسجة الجرذان. رسالة دكتوراه في الفلسفة البيطرية . كلية الطب البيطري / جامعة الموصل 1995.
25. الكناني ، انتصار رحيم عبيد. دراسة قابلية الاذى التأكسدي لبيروكسيد الهيدروجين في احداث افات التصلب العصيدي تجريبيا في افراخ الدجاج . رسالة دكتوراه في علم الامراض البيطرية. كلية الطب البيطري / جامعة الموصل 1998.
26. Devaraj S, Adams-Hunet B, Fuller CJ, Jialal I. Dose-response comparison of RRR- α -tocopherol and all-rac- α -toco. pherol on LDL oxidation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2273-2279.
27. Keaney JF, Jr Guo Y, Cunningham D, Shwaery GT, Xu A, Vita JA. Vascular incorporation of α -tocopherol prevents endothelial dysfunction due to oxidized LDL by inhibition protein kinase C stimulation. *J Clin Invest* 1996; 98: 386-394.
28. Heitzer T, Yia Herttualla S, Wild E, Luoma J, Derxter H. Effect of vitamin E on endothelial vasodilator function in patients with hypercholesterolemia, chronic smoking, or both. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 499-505.
29. الكناني والعلاف ، ايناس شيت مصطفى. تأثير الثوم وفيتامين هـ في امراضية التصلب العصيدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين في الارانب . رسالة ماجستير في الامراض البيطرية . كلية الطب البيطري/جامعة الموصل 2004 .
30. الصراف، عباس محمد جواد. دراسة بعض الصفات الكيميائية والدوائية لبصلة الثوم . رسالة ماجستير في الفلسفة البيطرية (الفارماكولوجي) . كلية الطب البيطري/جامعة بغداد 1982.
31. Steiner M, Khan AH, Holbert D, Lin RI. A double-blind crossover study in moderately hypercholesterolaemia men that compared the effect of aged garlic extract and placebo administration on blood lipids. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 866-870.
32. Ide N, Lau BHS. Garlic compounds minimize intracellular oxidative stress and inhibit nuclear factor – keppa B activation. *J Nutr* 2001; 131 (suppl. 3): 1020S – 1026S.