

دراسة تأثير زيت الزيتون في بعض مضادات الاكسدة (الكلوتاثيون والسيرولوبلازمين) والمؤكسدات (المالوندايديهايد وجذر البيروكسي نترت) في ذكور الجرذان السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي والمعرضة للإجهاد التأكسدي

وجدان ابراهيم عباس عبد الوهاب ، زيد محمد مبارك المهداوي ، موسى جاسم محمد الحميش

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة ، تكريت ، العراق

المخلص

تهدف هذه الدراسة اختبار ومعرفة تأثير إعطاء زيت الزيتون العذري الممتاز (Extra virgin olive oil) بجرعة (1.25 مل/كغم من وزن الجسم) عن طريق التغذية الانبوبية سوية مع فيتامين E (500 ملغم/كغم من وزن الجسم) في تركيز سكر الدم والحماية أو الحد من الإجهاد التأكسدي وتأثيراته والذي يعتبر من المسببات للعديد من الامراض ومنها داء السكر وأمراض القلب الوعائية وذلك من خلال قياس المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية الآتية كتركيز الكلوكوز، الكلوتاثيون (GSH)، السيرولوبلازمين، المالوندايديهايد وجذر البيروكسي نترت (ONOO) في مصل دم ذكور الجرذان البيض السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي المستحدث بالآلوكسان (100 ملغم/كغم من وزن الجسم) والمعرضة للإجهاد التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب وطيلة فترة التجربة البالغة (30) يوماً، ومقارنة هذه التأثيرات مع تأثيرات فيتامين E كمضاد للأكسدة إذ استخدم (65) من ذكور الجرذان البيض قسمت إلى (13) مجموعة. كما تم تعيين الجرعة الأكثر تأثيراً لزيت الزيتون (1.25 مل/كغم من وزن الجسم). إذ أدى إعطاء زيت الزيتون وفيتامين E للحيوانات المصابة بداء السكر التجريبي والمعرضة للإجهاد التأكسدي إلى انخفاض معنوي في تراكيز الكلوكوز، المالوندايديهايد وجذر البيروكسي نترت صاحبها ارتفاع معنوي في تركيز الكلوتاثيون والسيرولوبلازمين مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة بداء السكر التجريبي والمجموعة المعرضة للإجهاد التأكسدي بـ H_2O_2 فقط. وأن معاملة ذكور الجرذان البيض بزيت الزيتون وفيتامين E أدت إلى ارتفاع معنوي في تركيز الكلوتاثيون وانخفاض معنوي في تركيز المالوندايديهايد مقارنة مع مجموعة السيطرة ، في حين لم تظهر فرقاً معنوياً في تراكيز الكلوكوز، السيرولوبلازمين وجذر البيروكسي نترت مقارنة مع السيطرة السليمة. وقد استنتج من هذه الدراسة ان لزيت الزيتون وفيتامين E دوراً ذا أهمية كبيرة للحد من داء السكر ومضاعفاته، ومن نشوء وتطور التصلب العصيدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين من خلال دورها المضاد للأكسدة وإزالة الجذور الحرة .

الكلمات المفتاحية : زيت الزيتون ، داء السكر ، الإجهاد التأكسدي ، مضادات الأكسدة ، السيرولوبلازمين وجذر البيروكسي نترت .

المقدمة Introduction

للجذور الحرة تتكون خلالها مجموعة من المركبات السامة من الألكانات والألكينات والألديهايدات مثل المالوندايديهايد [5]. ويمكن تخفيف هذه التأثيرات وتثبيطها عن طريق مضادات الأكسدة التي تعمل على التدخل في هجوم الجذور الحرة عبر السيطرة عليها ومنع إنتاج جذور حرة جديدة وإيقاف تأثيراتها الضارة، وتعرف مضادات الأكسدة بأنها أي مادة عند وجودها بتركيز قليلة مقارنة مع المواد الأساسية المؤكسدة تستطيع أن تهب إلكتروناتها بسهولة فتعمل على إزالة أو تثبيط عملية الأكسدة للمواد الأساسية المؤكسدة وتعود هذه الجزيئات إلى ما كانت عليه بواسطة تفاعلها مع مضادات أخرى للأكسدة [6] ومنها الكلوتاثيون والسيرولوبلازمين، كما يعد فيتامين E أحد مضادات الأكسدة الرئيسة إذ يعمل على الحماية من بعض الأمراض التي يعد الإجهاد التأكسدي أساساً لتطورها ومنها التصلب العصيدي، إذ إن فيتامين E يعمل كأحد مضادات أكسدة LDL-C وذلك من خلال إزالة أنواع الأوكسجين الفعالة وبالتالي الحد من تكوين نواتج بيروكسيد الدهون وأهمها المالوندايديهايد MDA عن طريق كسر سلسلة تفاعلات الجذور الحرة [7;8] ويلاحظ أن هناك علاقة بين داء السكر وأمراض القلب الوعائية لذلك فإن السيطرة على تركيز سكر الدم

الجذر الحر Free radical هو أي ذرة أو جزيئة يحتوي مدارها الخارجي على واحد أو أكثر من الإلكترونات المنفردة غير المزدوجة؛ مما يجعلها جزيئات فعالة وغير مستقرة إذ تميل إلى اكتساب الكترون من الجزيئات المحيطة، وعندما تزداد الجذور الحرة بأعداد كبيرة بحيث يصبح الجسم غير قادر على إزالتها، وتظهر حالة الإجهاد التأكسدي Oxidative stress إذ يحدث الإجهاد التأكسدي نتيجة اضطراب في التوازن بين الجذور الحرة وبين الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة [1;2] الذي يؤدي إلى تخريب الخلايا وتحطيم مكوناتها من الجزيئات الحيوية الكبيرة مؤدية إلى ظهور العديد من الأمراض والطفرة الوراثية مثل أمراض السرطان وتصلب الشرايين وداء السكر وأمراض الكلى والكبد واعتلال شبكية العين والتهاب المفاصل وأمراض الشيخوخة [3]، وتؤثر الجذور الحرة على الأمرة المزدوجة في الكاربوهيدرات والبروتينات فتغير من تراكيبها ونفاذية الأغلفة الخلوية [4] كما تعمل الجذور الحرة على تسليط تأثيراتها السامة على الدهون المفسفرة الموجودة في غشاء الخلية فتعمل على تجزئة الأحماض الدهنية متعددة الأواصر المزدوجة بعملية تسمى بيروكسدة الدهون Lipid peroxidation والتي تتضمن سلسلة من تفاعلات التحفيز الذاتي

لظروف مناسبة لتربية الجرذان من درجة الحرارة ($22 \pm 2^\circ \text{C}$) وفترة إضاءة (12) ساعة و (12) ساعة ظلام، فضلاً عن تقديم العلف الموزون والملائم لتربية الحيوانات المختبرية، إذ قدم العلف والماء للحيوانات بشكل مستمر (*adlibitum*) وبكميات كافية طوال فترة التربية ومعاملة الحيوانات .

استحداث داء السكر التجريبي:

تم استحداث داء السكر التجريبي في ذكور الجرذان من خلال حقنها تحت الجلد Subcutaneous بمادة الألوكان *Alloxan* (شركة BDH البريطانية) الذي تم تحضيره وقت الحقن بجرعة 100 ملغم/كغم من وزن الجسم، إذ تمت إصابته بواقع 1 غم من الألوكان في 10 مل من محلول الملح الفلجي *Normal saline* والمحضرة انياً، بعد تجويع الحيوانات لمدة 24 ساعة قبل إحداث داء السكر فيها، وبعد الحقن زودت مباشرة بالغذاء ومحلول الكلوكون 5% مع ماء الشرب ولمدة 24 ساعة لمنع الهبوط الحاد في مستوى سكر الدم نتيجة تحطم خلايا بيتا البنكرياسية وتحرر كميات كبيرة من الإنسولين الذي يعمل على خفض مستوى السكر في الدم.

تصميم التجربة:

وزعت حيوانات التجربة عشوائياً بأعداد متساوية إلى ثلاث عشرة مجموعة ضمت كل مجموعة خمسة حيوانات وعوملت الحيوانات ولمدة 30 يوماً وكما يأتي: مجموعة السيطرة السليمة: اعطيت هذه المجموعة ماء الشرب الاعتيادي والغذاء يومياً، مجموعة بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 : عوملت هذه المجموعة بـ (0.5%) بيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب يومياً وعدت سيطرة معاملة H_2O_2 فقط، مجموعة مصابة بداء السكر التجريبي كسيطرة: عوملت بـ 0.4 مل من الماء المقطر يومياً عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية، مجموعة مصابة بداء السكر + H_2O_2 : مجموعة مصابة بداء السكر ومعاملة بـ (0.5%) بيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب يومياً، مجموعة زيت الزيتون: عوملت بـ 1.25 مل/كغم من وزن الجسم من زيت الزيتون يومياً بالتجريع عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية، مجموعة زيت الزيتون + H_2O_2 : عوملت بـ 1.25 مل/كغم من وزن الجسم من زيت الزيتون عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية مع اعطاء (0.5%) من H_2O_2 مع ماء الشرب يومياً، مجموعة مصابة بداء السكر + زيت الزيتون: عوملت بـ 1.25 مل/كغم من وزن الجسم من زيت الزيتون عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية، مجموعة مصابة بداء السكر + معاملة بزيت الزيتون + H_2O_2 : عوملت بـ 1.25 مل/كغم من وزن الجسم من زيت الزيتون يومياً عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية مع اعطاء (0.5%) من H_2O_2 مع ماء الشرب، مجموعة فيتامين E: عوملت بـ 500 ملغم/كغم من وزن الجسم من فيتامين E يومياً بالتجريع عن طريق الفم بوساطة التغذية الانبوبية، مجموعة زيت الزيتون + فيتامين E: عوملت بـ 1.25 مل/كغم من وزن الجسم من زيت الزيتون عن طريق الفم مع اعطائها 500 ملغم/كغم من وزن الجسم من فيتامين E يومياً بوساطة التغذية الانبوبية، مجموعة زيت الزيتون +

يصاحبه خفض تركيز الكوليسترول في الدم، وهذيجاً د من الإصابة بحالات التعصد القلبية [9]. لقد وجد مؤخراً أن داء السكر يمكن أن يكون سبباً في إرتفاع مستوى بيروكسيد الدهون؛ بسبب زيادة تحرر الأحماض الدهنية الحرة (FFA) من النسيج الدهنية لتستخدم كمصدر للطاقة بدلاً من سكر الكلوكون والتي تتأكسد بوساطة الجذور الحرة الناتجة عن الإصابة بداء السكر وتحفز بيروكسيد الدهون، التي تعد نواتجها من الأسباب الرئيسة للإصابة بأمراض القلب والشرايين [10;11]. يعد زيت الزيتون العذري الممتاز هو مزيج معقد من مواد ومركبات وعناصر مختلفة، ومن هذه المركبات الرئيسة هي الأحماض الدهنية (المشبعة وغير المشبعة)، وتعد الأحماض الدهنية غير المشبعة من أهم مركباته التي يلاحظ لها تأثيرات وفوائد صحية تنعكس على خصائص الزيت ككل، ومن أبرزها حامض الأوليك (*Oleic acid*) وهو حامض دهني غير مشبع أحادي *Monounsaturated fatty acids* (MUFA)، ويشكل نسبة (55-85%) من الأحماض الدهنية غير المشبعة في زيت الزيتون، وكذلك حامض لينولييك (*Linoleic acid*) ولينولينيك (*Linolenic acid*) إضافة إلى أحماض دهنية أخرى [12]. كذلك يحتوي زيت الزيتون على مدى واسع من المحتويات الفينولية وبتراكيز عالية منها مركبات الأولوروبين *Oleuropein* والتيروزول *Tyrosol* والهيدروكسي تيروزول *Hydroxytyrosol* ومشتقاتهما أوليكانتال *Oleocanthal* و *Flavonoids* وحامض الكافينيك *Caffeic acid* و السكوالين *Squalene* وغيرها [12;13]، وهي تساهم بشكل كبير من الجانب الصحي كمضادات أكسدة من خلال إزالة الجذور الحرة والتقليل من تأثير الاجهاد التأكسدي، وظهرت أهمية زيت الزيتون الصحية والتغذوية من خلال الدراسات الوبائية التي اجريت على مناطق مختلفة من العالم، حيث لوحظ تدني نسب الإصابة بأمراض القلب والشرايين وأمراض السرطان بشكل واضح وملحوظ في منطقة حوض البحر المتوسط، إذ أن زيت الزيتون يمثل المصدر الأساسي للدهون في الوجبة الغذائية اليومية لسكان حوض البحر المتوسط بالإضافة إلى تناولهم للخضار الورقية والبقوليات ذات المحتوى المرتفع من الألياف الغذائية [14]. وتهدف هذه الدراسة لبحث ومعرفة دور تفاعلات الجذور الحرة في بيروكسيد الدهون، التصلب العصيدي وداء السكر وذلك من خلال قياس بعض المتغيرات الكيموحيوية ومضادات الأكسدة مثل تراكيز السيروبولازمين والكلوتاثاين، والعوامل المؤكدة والسامة كالمالوندايديهايد وجذر البيروكسي نترت في مصل دم الجرذان.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

أجريت التجربة في بيت الحيوانات التابع لكلية التربية - جامعة تكريت، حيث استخدم في هذه التجربة (5) جرذاً ذكراً بالغاً أبيض *Albino Rats* تراوحت أعمارها بين (3-4) أشهر وأوزانها (300-350 غم) . وضعت حيوانات التجربة (كل مجموعة لوحدها) في أقفاص معدنية خاصة لتربية الجرذان - وقد خضعت الحيوانات

تقدير تركيز السيرولوبلازمين في مصل الدم:

تم تقدير تركيز السيرولوبلازمين في مصل الدم باستخدام الطريقة المحورة للباحثين [18] المعتمدة على استخدام كاشف البارفينلين ثنائي الأمين (PPD) (Para-Phenylendiamine) العديم اللون ليعطي ناتج ملون (أزرق - بنفسجي) يتم قياس شدة الامتصاص له عند (530) نانوميتر بواسطة جهاز المطياف الضوئي وتم حساب تركيز السيرولوبلازمين وفق القانون الخاصة به.

تقدير تركيز جذر البيروكسي نترت في مصل الدم:

تم تقدير تركيز جذر بيروكسي نترت Peroxynitrite radical في مصل الدم باستخدام الطريقة المحورة للباحثين [19] المعتمدة على قيام جذر (ONOO⁻) بنترجة (Nitration) الفينول إلى نايترافينول الذي يمكن قراءة شدة الامتصاص له عند طول موجي (412) نانوميتر بواسطة جهاز المطياف الضوئي وتم حساب تركيز جذر البيروكسي نترت وفق القانون الخاصة به.

التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج أحصائياً وفق اختبار تحليل التباين (ANOVA) الاحادي One-way analysis of variance اختبرت المتوسطات الحسابية للمعاملات باستخدام اختبار دانكن متعدد الحدود Duncun multiple rang بمستوى معنوية (p<0.05) لتحديد الاختلافات المعنوية الخاصة بين المجموع.

النتائج The results

المخططات البيانية (5,4,3,2,1) تبين أن استحداث داء السكر التجريبي بالالوكسان والاجهاد التأكسدي بـ H₂O₂ في ذكور الجرذان البالغة أدبا إلى ارتفاع معنوي (P<0.05) في تراكيز الكلوكوز، المالوندايديهايد وجذر البيروكسي نترت مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة، بينما أدت إلى انخفاض معنوي (P<0.05) في تركيز الكلوتاثيون والسيرولوبلازمين بالمقارنة مع السيطرة السليمة. أما معاملة ذكور الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي والمعرضة للاجهاد التأكسدي بزييت الزيتون وفيتامين E فقد أظهرت انخفاضاً معنوياً في تراكيز الكلوكوز، المالوندايديهايد وجذر البيروكسي نترت صاحبها ارتفاعاً معنوياً في تركيز الكلوتاثيون والسيرولوبلازمين عند مقارنتها بمجموعة السيطرة المصابة بداء السكر التجريبي والمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين فقط، في حين أن معاملة ذكور الجرذان البيض السليمة بزييت الزيتون وفيتامين E أدت إلى ارتفاع معنوي في تركيز الكلوتاثيون وانخفاض معنوي في تركيز المالوندايديهايد مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة، بينما لم يظهر فرقاً معنوياً في تراكيز الكلوكوز، السيرولوبلازمين وجذر البيروكسي نترت مقارنة مع السيطرة السليمة.

فيتامين E + H₂O₂: عوملت بـ 1.25 مل/كغم من وزن الجسم من زيت الزيتون عن طريق الفم مع اعطائها 500 ملغم/كغم من وزن الجسم من فيتامين E يومياً بواسطة التغذية الانبوبية مع إعطاء (0.5%) من H₂O₂ مع ماء الشرب، مجموعة مصابة بداء السكر + زيت الزيتون + فيتامين E: عوملت بـ 1.25 مل/كغم من وزن الجسم من زيت الزيتون عن طريق الفم مع اعطائها 500 ملغم/كغم من وزن الجسم من فيتامين E يومياً بواسطة التغذية الانبوبية، مجموعة مصابة بداء السكر + فيتامين E: عوملت بـ 500 ملغم/كغم من وزن الجسم من فيتامين E يومياً عن طريق الفم بواسطة التغذية الانبوبية. مع مراعاة تبديل (0.5%) ببيروكسيد الهيدروجين مرة كل يوم أو يومين لضمان المحافظة على تركيزه.

بعد انتهاء فترة المعاملة لمجاميع التجربة، جوعت الحيوانات لمدة 24 ساعة ثم خدرت بواسطة الكلوروفورم، ثم سحبت عينات الدم عن طريق قطع الوريد الودجي Jugular Vein في الرقبة ووضعت في أنابيب اختبار خالية من مانع التخثر تركت لمدة ربع ساعة تقريباً في حمام مائي بدرجة 37 °م، وبعدها تم الحصول على المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة تمهيداً لإجراء الاختبارات الكيموحيوية.

الاختبارات الفسلجية والكيموحيوية:

شملت الاختبارات تقدير كل من المعايير المذكورة في أدناه:

تقدير تركيز الكلوكوز في مصل الدم:

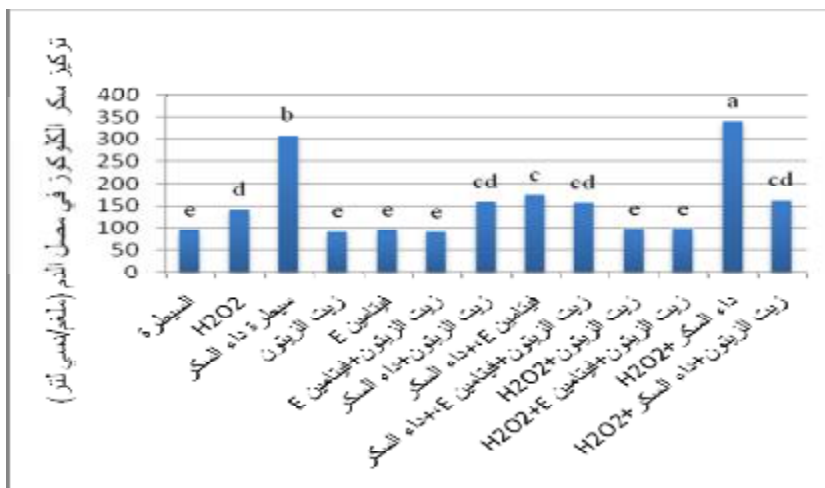
تم تقدير تركيز كلوكوز مصل الدم إنزيمياً باستخدام عدة التحليل (Kit) الخاصة بشركة (Plasmatec) البريطانية وفقاً لطريقة [15] والمعقد اللوني الناتج تم قياس امتصاصه الضوئي عند طول موجي (505nm) نانوميتر بواسطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer وتم حساب تركيز الكلوكوز وفق القانون الخاصة به.

تقدير تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم:

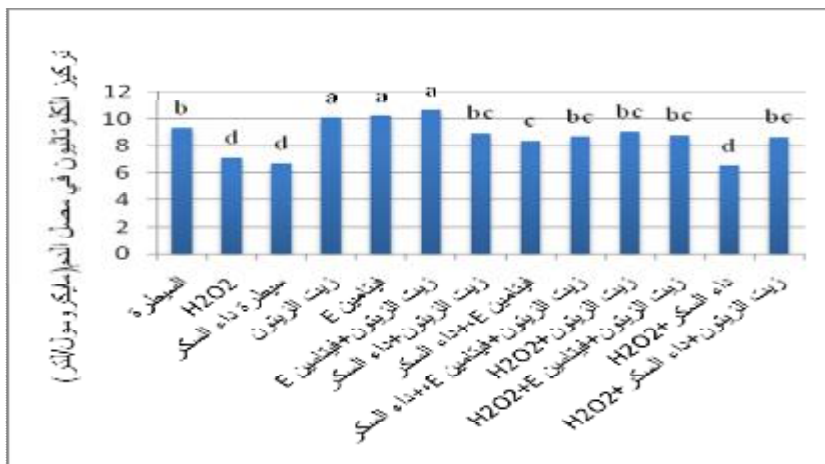
تم تقدير تركيز الكلوتاثيون مصل الدم باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل الباحثين [16] والمعتمدة على استخدام كاشف إلمان إذ ينتج مركب أصفر اللون يتم قراءة الامتصاص له عند طول موجي (412) نانوميتر بواسطة جهاز المطياف الضوئي وتم حساب تركيز الكلوتاثيون وفق القانون الخاصة به.

تقدير تركيز المالوندايديهايد في مصل الدم:

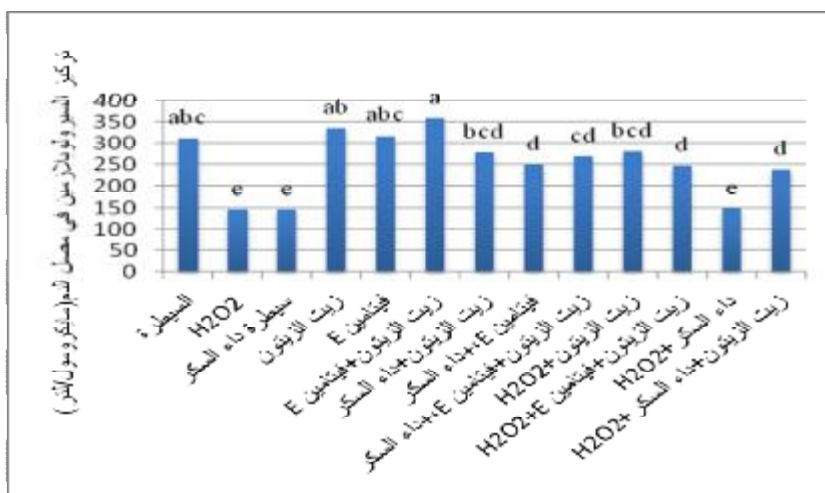
تم قياس تركيز المالوندايديهايد في مصل الدم باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل الباحثين [17] والمعتمدة على التفاعل مع حامض ثايوباربوتريك Thiobarbituric acid (TBA)، يتكون ناتجاً ملوناً يتم قياس شدة الامتصاص له عند (532) نانوميتر بواسطة جهاز المطياف الضوئي وتم حساب تركيز المالوندايديهايد وفق القانون الخاصة به.



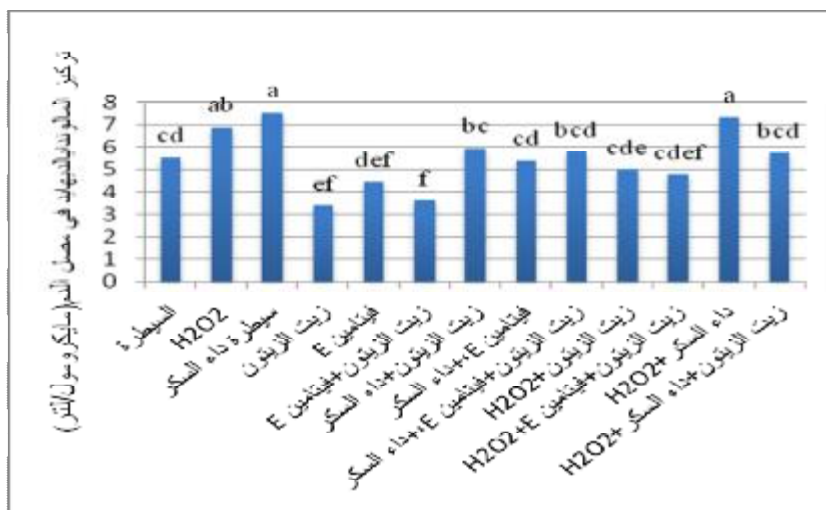
شكل (1) تأثير المعاملة لمدة (30 يوماً) بزيوت الزيتون (1.25 مل/كغم وزن الجسم) وفيتامين E (500 ملغم/كغم وزن الجسم) في تركيز سكر الكلوكوز في
مصل الدم في ذكور الجرذان المعوضة للاجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي



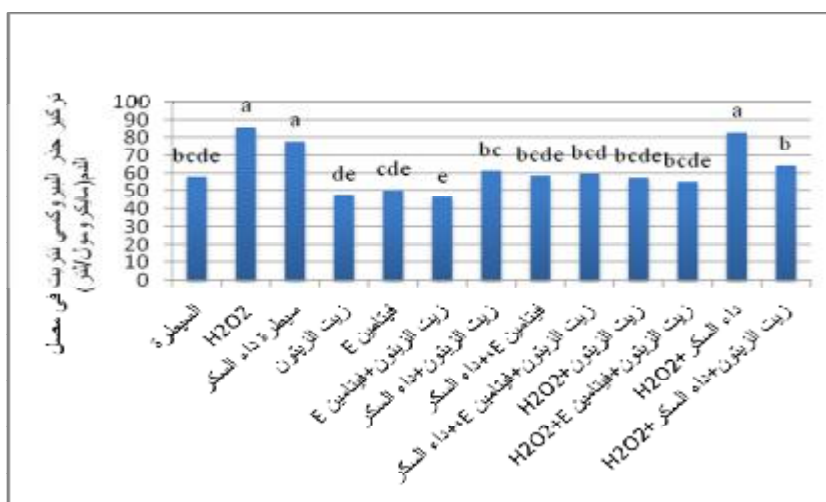
شكل (2) تأثير المعاملة لمدة (30 يوماً) بزيوت الزيتون (1.25 مل/كغم وزن الجسم) وفيتامين E (500 ملغم/كغم وزن الجسم) في تركيز الكلوتاثيون في مصل دم ذكور الجرذان المعوضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي



شكل (3) تأثير المعاملة لمدة (30 يوماً) زيت الزيتون (1.25 مل/كغم وزن الجسم) وفيتامين E (500 ملغم/كغم وزن الجسم) في تركيز السيروبولوبلازمين في مصل دم ذكور الجرذان المعوضة للاجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي .



شكل (4) تأثير المعاملة لمدة (30 يوماً) بزيت الزيتون (1.25 مل/كغم وزن الجسم) وفيتامين E (500 ملغم/كغم وزن الجسم) في تركيز المالوندايديهايد في مصل دم ذكور الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي



شكل (5) تأثير المعاملة لمدة (30 يوماً) بزيت الزيتون (1.25 مل/كغم وزن الجسم) وفيتامين E (500 ملغم/كغم وزن الجسم) في تركيز جذر البيروكسي نترت في مصل دم ذكور الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي .

كما أن الإصابة بداء السكر أو المعاملة بـ H_2O_2 تؤدي إلى زيادة تكوين الجذور الحرة التي تهاجم الدهون ومركباتها في الجسم وخاصة في الأغشية الخلوية وتعمل على أكسدة وتلفها وتسمى هذه العملية بيروكسيده الدهون والتي تؤدي إلى تكوين سلسلة من النواتج الخطرة أهمها MDA [22;21] إضافة إلى أن زيادة تكوين الجذور الحرة وخاصة اصناف الاوكسجين الفعالة (ROS) وحدث حالة الإجهاد التأكسدي تؤدي إلى أكسدة السيرولوبلازمين والكلوتاثاينون نتيجة فعاليتها كمضادات للأكسدة . كما يتحول الكلوتاثاينون عند اكسدته إلى الشكل المؤكسد ثنائي الكبريت GSSG والذي يكون سام ويعمل على تحفيز إنتاج أصناف جديدة من الجذور الحرة [23;24]. كما تستهلك كميات كبيرة نسبياً من الكلوتاثاينون بسبب دوره في إعادة الفعالية لبعض مضادات الأكسدة مثل فيتامين C والذي لوحظ أنه يتأكسد بشدة ويكميات كبيرة في الأشخاص المصابين بداء السكر [24]. ومن الجدير

المناقشة Discussion

أدى استحداث داء السكر التجريبي في ذكور الجرذان البيض بوساطة حقن الألوكسان تحت الجلد وكذلك معاملتها بـ H_2O_2 إلى ارتفاع في تراكيز الكلوكوز، المالوندايديهايد وجذر البيروكسي نترت صاحبها انخفاض في تركيز الكلوتاثاينون والسيرولوبلازمين وهذا قد يعزى إلى أن الألوكسان المعطى يهاجم خلايا β -Cells البنكرياسية ويعمل على إنتاج كميات كبيرة من الجذور الحرة التي تتراكم وتكون سامة ومحفمة لخلايا بيتا المنتجة للإنسولين كما تؤدي إلى تطور حالة مقاومة الإنسولين Insulin resistance واضطراب في وظائف المستقبلات الخلوية للإنسولين وبذلك تتوقف عملية أخذ الخلايا للكلوكوز وتنشط عمليتي تحليل الكلايوجين Glycolysis وتكوين الكلوكوز من مصادر غير كاربوهيدراتية Gluconeogenesis [20;21].

تعمل على إزالة الجذور الحرة (ROS، RNS) مثل جذر البيروكسي نترتيت وبشكل خاص أصناف ألووكسجين الفعالة وبالتالي تقليل من حالة الإجهاد التأكسدي وزيادة تراكيز مضادات الأكسدة وتنشيطها [29;30]، كما تعمل على تنشيطها للإنزيمات المضادة للأكسدة في مصل الدم والخلايا وخاصة إنزيمات سووير اوكسايد دسميوتيز (SOD) Superoxide dismutase، كاتاليز Catalase وگلوتاثيون بيروكسیدیز Glutathione peroxidase وبالتالي رفع تراكيز مضادات الأكسدة في الجسم [31;30] وتنشيط أكسدة وبيروكسيدة الدهون وتمنع إنتاج المالوندايديهايد MDA [32;33] إضافة إلى أن محتوى زيت الزيتون من الأحماض الأمينية قد يؤدي إلى بناء ورفع تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم . أو قد يعود السبب إلى وجود تراكيز عالية من الأحماض الدهنية الأحادية غير المشبعة وخصوصاً حامض الأوليك (Oleic acid) والتي تعمل على تقليل تركيز الدهون المشبعة في الجسم وبالتالي خفض مستويات الإجهاد التأكسدي وبيروكسيدة الدهون ونواتجها مثل MDA [31;34] وزيادة تركيز وفعالية المركبات المضادة للأكسدة في الجسم.

كما أن فيتامين E يعمل على التقليل من حالة الإجهاد التأكسدي من خلال إزالة الجذور الحرة (ROS, RNS) وخاصة ($O_2^{\cdot-}$, $OH^{\cdot}$, H_2O_2) وبذلك يمنع أكسدة البروتينات وفقدانها ويقلل من استهلاك مضادات الأكسدة، كما يعمل على تثبيط عملية بيروكسيدة الدهون من خلال كسر سلسلة الانتشار لها [35;36].

بالذكر أن زيادة تركيز جذر (ONOO $^{\cdot}$) وأنواع أخرى من الجذور الحرة في حالة التعرض لـ H_2O_2 تسبب حالات التهابية والتي تؤدي إلى زيادة تحرر الساييتوكينات وهذه الأخيرة تعمل على تثبيط فعالية الإنسولين في الخلايا وقد تؤدي إلى تطور داء السكر [25] .

أدى إعطاء زيت الزيتون وفيتامين E للحيوانات المصابة بداء السكر التجريبي والمعرضة للإجهاد التأكسدي إلى انخفاض في تراكيز الكلوكوز، المالوندايديهايد وجذر البيروكسي نترتيت بينما أدى إلى ارتفاع معنوي في تركيز الكلوتاثيون والسيرولولوبلازمين وهذا قد يعزى إلى احتواء زيت الزيتون على تراكيز عالية من المركبات الفينولية المتعددة Polyphenols وخاصة مركب الأوليروبين والتي تعمل على تنشيط إفراز هرمون الإنسولين إلى الدم [26] ، وقد يعود السبب إلى فعالية الكلايكوسيدات على تثبيط الامتصاص المعوي للكلوكوز من خلال تثبيطها لعملية النقل الفعال Active transport للكلوكوز في الامعاء الدقيقة [27]. إضافة إلى أن الفلافونيدات Flavonoids تلعب دوراً فعالاً في خفض عملية تكوين الكلوكوز في الكبد، وكذلك تثبيط عملية تكوين الكلوكوز من مصادر غير كاربوهيدراتية (Glucose-6-phosphate) عن طريق تثبيط إنزيم Glucose-6-phosphate في الكبد [28]. كما أن احتواء زيت الزيتون على تراكيز عالية من المركبات الفينولية المتعددة Polyphenols وخاصة مركبات التيروزول، الهيدروكسي تيروزول، الأوليروبين، الأبينين Apigenin والفلافونيدات التي تمتاز بفعاليتها كمضادات أكسدة إذ

المصادر References

- 1-Matkovics, A. (2003). An overview of free radical research. *Acta Biologica Szegediensis*; 47: 93-97.
- 2-Huang,D., Ou,D. and Prior,D. (2005). The chemistry behind antioxidant assays. *J. Agric Food Chem*; 53: 1841-1856.
- 3-Agil,A., Duran,R. and Barrero,F.(2006).Plasma lipid peroxidation in sporadic Parkinson's:Role of the L-dopa.*JNeuroScien*;240: 6-31.
- 4-Michael,L. (2001). The peroxy radical. Department of chemistry, University of Iowa, Iowa city, IA 52242.
- 5-Krishnamoorthy,P., Vaithinathan,S., Vimal,A. and Bhuvanewari, A. (2007). Effect of *Terminalia chebula* fruit extract on lipid peroxidation and antioxidative system of testis of albino rats. *African J. of Biot*; 6: 1888-1891.
- 6-Devasagayam,T.B. A., Tilak,J. C., Boloor,K. K., Sane,K. S., Ghaska dbi,S. S. and Lele,R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. *Bhabha Atomic Research Centre,Mumbai. JAPI*; 52: 794-804.
- 7-Bishop,M. L., Fody,E. P. and Schoeff,L. (2005). Clinical chemistry. 5thed. Lippincott Williams & Wilkins, Awolters Kluwer Company: 205-626.
- 8-Luis,A., Carlos,F., Salvador,M., Oscar,O., Carlos,G., and Joel, H. (2009). Incidencia de patologías uterinas y fertilidad de vacas Holstein tratadas con selenio y vitamina E antes y después del parto. *J.Vet.Méx*; 40(2): 133-140.
- 9-Sorrentino,S. A., Besler,C., Rohrer,L., Meyer,M., Heinrich,K., Bahl mann,F. H., Mueller,M., Horvath,T., Doerries,C. and Heinemann,M. (2010). Endothelial-vasoprotective effects of high-density lipoprotein are impaired in patients with type 2 diabetes mellitus but are improved after extended-release niacin therapy. *Circulation*; 121: 110-122.
- 10-Salmenniemi,U., Ruotsalainen,E., Pihlajamäki,J., Vauhkonen,I., Kainulainen,S., Punnonen,K., Vanninen,E. and Laakso,M. (2004). Multiple abnormalities in glucose and energy metabolism and coordinated changes in levels of adiponectin, cytokines and adhesion molecules in subjects with metabolic syndrome. *Circulation*; 110: 3842-3848.
- 11-Oba,S., Nagata,C., Nakamura,K., Takatsuka,N. and Shimizu,H. (2008). Self-reported diabetes mellitus and risk of mortality from all causes, cardiovascular disease and cancer in Takayama: a population-based prospective cohort study in Japan. *J Epidemiol*; 18: 197-203.
- 12- ندادف، محمد ديب (2007). دراسة وتحديد أنواع ونسب المركبات الفينولية الطبيعية في زيت الزيتون البكر ومدى تأثير طريقة استخلاص الزيت على محتواه من هذه المركبات بهدف تحسين

الجودة، المؤتمر العربي الدولي السادس للزيوت والدهون الغذائية .
قسم علوم الاغذية- كلية الزراعة ، جامعة تشرين.

13-Assy,N., Nassar,F., Nasser,G. and Grosowski,M. (2009). Olive oil consumption and non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol*; 15(15): 1809-1815.

14-De Lorgeril,M. and Salen,P. (2006). The Mediterranean diet in second-ary prevention of coronary heart disease. *Clin Invest Med*; 29: 154-158.

15-Tietz,N. W. (1995). Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rded. W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA. Pp: 266-273.

16-Sedlak,J. and Lindsay,R. H. (1968). Analytical biochemistry. Pp: 192. Cited by Al-Zamly(2001).

17-Guidet,B. and shah,S. V. (1989). *Am J. Physiol*; 257(26):440. cited by Muslih,R. K., Al-Nimer,M. S and Al-Zamely,O. Y. (2002) . The level of Malondialdehyde after activation with H₂O₂ and CuSO₄ and inhibition by deferoxamine and Molsidomine in the serum of patient with acute Myocardial infarction. *National journal of chemistry*; 5: 139-148.

18-Sunderman,F. W. and Nomato,S. (1970). Measurement of human serum ceruloplasmin by its para-phenylenediamine oxidase activity. *J.Clin Chem*; 16(11): 903-910.

19-Vanuffelen,B. E., VanDerzec,J, Dekoster,B. M. (1998). Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidants status in the Serum of patients with acute myocardial infraction national. *Biochem. J*; 330:719. Cited by Al-Zamely *et al* (2001).

20-Jay,D., Hitomi,H. and Griendling,K. K. (2006). Oxidative stress and diabetic cardiovascular complications. *Free Rad Biol Med*; 40: 92-183.

21-Alhazza,I. M. (2007). Antioxidant and hypolipidemic effects of olive oil in normal and diabetic male rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*; 14(1): 69-74.

22-Atalay,M. and El-Aaksonen,D. (2002). Diabetes oxidative stress and physical exercise. *J. of Spo Sci and Med*; 1: 1-14.

23-Fisher,C. J. (2003). Organoselenium compounds as glutathione peroxi-dase mimics. B-180 Medical Laboratories Free Radical and Radiation Biology Program, University of Iowa. 77: 222.

24-Park,E. and Giacca,A. (2007). Mechanisms underlying fat-induced hepatic insulin resistance. *Future Lipidol*; 2: 503-512.

25-Postic,C. and Girard,J. (2008). Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and

insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J. Clin Invest*; 118: 829-838.

26-Gonzalez,M., Zarzuelo,A., Gamez,M. J., Utrilla,M. P., Jimenez,J. and Osuna,L. (1992). Hypoglycemic activity of olive leaf. *J.Planta Med*; 58: 313-315.

27-Johnston,K., Sharp,P., Clifford,M. and Morgan,L. (2005). Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal Caco 2 cells. *FEBS Lett*; 579: 1653-1657.

28-Jung,U. J., Lee,M. K., Jeong,K. S. and Choi,M. S. (2006). The hypo- glycemic effects of hesperidin and naringin are paetly mediated by hepatic glucose-regulating enzymes in C57 BL/KSJ-db Mice. *J. Nutr*; 134(10): 2499-2503.

29-Paiva-Martins,F., Fernandes,J., Rocha,S., Nascimento,H., Vitorino, R., Amado,F., Borges,F., Belo,L. and Santos-Silva, A.(2009). Effects of olive oil polyphenols on erythrocyte oxidative damage. *Mol Nutr.Food Res*; 53: 609-616.

30-Visioli,F., Wolfram,R., Richard,D., Abdullah,M. I. C. B. and Crea, R. (2009). Olive phenolics increase glutathione levels in healthy volunteers. *J.Agric.Food Chem*; 57: 1793-1796.

31-Han,X., Shen,T. and Lou,H. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *Int. J.Mol.Sci*; 8: 950-988.

32-Jemai,H., Fki,I., Bouaziz,M., Bouallagui,Z., EL-Feki,A., Isoda,H. and Sayadi,S. (2007). Lipid lowering and antioxidant effects of hydroxytyrosol and its triacetylated derivative recovered from olive tree leaves in cholesterol-fed rats. *J.Agric.Food Chem*; 74: 440 452.

33-Cicerale,S., Lucas,L. and Keast,R. (2010). Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. Deakin university, *Int.J.Mol.Sci*; 11: 458-479.

34-Rezq,A. A., Labib,F. A. and Attia,A. M. (2010). Effect of some dietary oils and fats on serum lipid profile,calcium absorption and bone mineralization in mice. *Pakistan Journal of Nutrition*; 9(7): 643-650.

35-Liu,M.L. (2006). LDL oxidation and LDL particle size in the develop- ment of atherosclerosis. PhD.Thesis.College of Medicine, University of Helsinki, Finland. Pp: 27-37.

36-Roche,M., Dufour,C., Loonis,M., Reist,M., Carrupt,P. A. and Dangles,O. (2009). Olive phenols efficiently inhibit the oxide-tion of serum albumin-bound linoleic acid and butyrylcholine esterase. *Biochimica et Biophysica Acta General Subjects*; 1790(4): 240-248.

**Study the effect of Olive oil in some antioxidants
(Glutathione&Ceruloplasmin) and oxidants (Malondialdehyde
&Pyroxinitrate) in intact and induced experimental diabetes male rats
exposed to oxidative stress**

Wijdan I.A.Abd-alwahab , Zaid M.M.Al-Mahdawi , Mousa J.M.Al-Humesh

Dept. of Biology , Science College , Tikrit Univ. , Tikrit , Iraq

Abstract:

The objective of this study was examined and investigate the effect of extract the extra virgin olive oil administration (1.25 ml/Kg of body weight, orally) concomitantly with vitamin E administration (500 mg/Kg of body weight) in concentration of the blood sugar and for protection or prevention from the oxidative stress and his effects which caused to many diseases such as the diabetes mellitus and cardiovascular diseases(CVD) by measurement of Some biochemical and physiological parameters as the concentrations of glucose, glutathione (GSH), ceruloplasmin, malondialdehyde and peroxynitrite radical (ONOO⁻) in normal, alloxan-induced diabetic albino rat males (100 mg/kg body weight) and in rats exposed to oxidative stress induced by hydrogen peroxide (0.5%) with drinking water alonge the period of experiment (30) days, and comparison the effects of olive oil with vitamin E effects as well antioxidant, then use (65) albino rat males divide into 13 groups. As well as to determination the most effective dose of olive oil and it was (1.25 ml/Kg body weight). The treatment of alloxan-induced diabetic rats and exposed to oxidative stress by olive oil and vitamin E caused a significant decrease in concentrations of the glucose, malondialdehyde and peroxynitrite radical (ONOO⁻) accompanied with a significant increase ($P<0.05$) in concentrations of the glutathione(GSH) and ceruloplasmin comparison with diabetic control and the group treated only with H₂O₂ . Treatment the normal albino rats by olive oil and vitamin E showed significant increase in concentration of glutathione and significant decrease in concentration of malondialdehyde compared with the normal control group, whereas no significant variations were showed in concentrations of glucose, ceruloplasmin and peroxynitrite radical compared with the normal control group. It could be concluded of this study that to extra virgin olive oil and vitamin E play an important role against to diabetes mellitus and its complications, in addition to limit of the initiation and development of atherosclerosis induced by H₂O₂ through important antioxidant roles and removal of the free radicals.