الجمهورية الجزائرية الديموقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement supèrieur et de la Recherche Scientifique

BC18/10 (A)

Université de Jijel

Faculté des Siences Exactes et Sciences de la Nature et de la vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

جامعة جيجل

كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزئية والخلوية

مذكرة التخرج لنيل شهادة الدراسات العليا في البيولوجيا

تخصص : بيوكيمياء

موضوع المذكرة :

دراسة تأثير بعض العوامل المؤكسدة على أكسدة الليبيدات الغشائية لكريات الدم الحمراء

لجنة المناقشة :

الأستاذ المشرف : حنديس محمد الصادق

الأستاذة الممتحنة : بوحفص ليلى

من إعداد الطلبة :

- زواغي مليكة
- روانة لبنى
- زنيفش ربيعة

السنة الجامعية 2010/2009

تشكرات

بداية نشكر المولى عز و جل الذي هدانا ووفقنا لطريق فيه خير لنا و أنار لنا درب العلم و أعاننا على إتمام عملنا

نتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ المشرف
محمد الصادق حنديس الذي لم يبخل علينا بنصائحه القيمة و إرشاداته الوجيهة التي إفادتنا و زادتنا
ثقة بالنفس و نحيي فيه روح الصبر و التواضع
التي لمسناها من خلال تواصلنا المستمر به
ونشكر الأستاذةالممتحنة " بوحفص ليلى"

كما نتقدم بالشكر إلى جميع أساتذة معهد البيولوجيا على المجهودات الجبارة التي يبدلونها في سبيل العلم و الطلبة
خاصة الأستاذ " العيد بحري"
كما لا ننسى كل من عمال كلية العلوم بجامعة جيجل
و نخص بالذكر حورية
نشكر كل من ساعدنا من قريب أو من بعيد و ساهم في انجاز بحثنا

مليكة ،ربيعة ،لبنى

بسم الله الرحمان الرحيم

أشكر الله سبحانه وتعالى الذي يسر أمري ورفع شأني وأنعم علي بالعقل

أهدي ثمرة جهدي هذا إلى من قال فيهما ربي

"واخفض لهما جناح الذل من الرحمة وقل ربي ارحمهما كما ربياني صغيرا"

إلى التي رآني قلبها قبل أن تراني عيناها....

إلى أحلى كلمة على لساني..وأعذب صوت على سمعي...

أمي الحبيبة " حفيظة " حفظها الله لي

إلى الذي ناضل من أجلنا...وتعب لنرتاح نحن وهيأ لنا أسباب النجاح

أبي العزيز " عمار "

إلى من غمروني بحبهم وأحاطوني بإهتمامهم إخوتي الأعزاء كل باسمه

إلى من قاسمني هذا العمل بكل صبر "مليكة و ربيعة"

إلى كل زميلاتي وصديقاتي في كلية العلوم وخارجها

إلى كل الذين يحبونني

لبنى

بسم الله الرحمان الرحيم

إهداء

يعجز اللسان عن التعبير و القلم عن التسطير

لكن إلى كل الأحباب قلبي يشير و أولهم

من سهرت على راحتي و كانت لي نعم الصديقة و الرفيقة و تتبعت

معي خطوات الحياة بكل تفاصيلها , إلى أستاذي الأول :

أمي الغالية " لوناسة "

إلى من يشقى لنسعد و يتعب لنعيش إلى من علمني معنى الصبر

و تحويل كل شيء في الدنيا إلى ابتسامة بريئة :

أبي العزيز " رابح "

إلى إخوتي و أخواتي كل بإسمه

إلى كل أصدقائي و صديقاتي

إلى كل من ضحى و مازال يضحي من اجل إن ترقى الجزائر

إلى كل الشعب الفلسطيني الصامد

إلى من قاسمني هذا العمل بكل صبر وثبات

"مليكة,لبنى"

إلى كل رفيقات دربي

إلى كل من يحب ربيعة و يعرفها

بسم الله الرحمان الرحيم

إهـــداء

قال تعالى «الرحمان علم القرآن، خلق الإنسان علمه البيان، الشمس و القمر بحسبان، والنجم والشجر يسجدان ». من سورة الرحمان عروس القرآن أهدي ثمرة جهدي إلى من كانت سبب نجاحي وفرحتي، إلى التي لولاها لما كبرت،لمانجحت، لمافي صحتي نعمت

إليك أمي "مسعودة" وإليك أبي"محمد"

إليك أختي الوحيدة "كنزة"

وإلىإخوتي كل بإسمه

إلى كل من ساعدني في إنجاز هذا العمل المتواضع "لبنى وربيعة"

إلى رفيقات دربي" حفيظة،مريم،حورية"

إلى كل الذين يحبونني

مليكة

العنوان	الصفحة
مقدمة.....	01
المحور الأول : الإجهاد التأكسدي	
I-1- تعريف الإجهاد التأكسدي.....	02
I-2- مصادره.....	02
I-2-1- مصادر خارجية	02
I-2-2- مصادر داخلية	03
I-3- الجذور الحرة.....	03
I-3-1- تعريفها.....	03
I-3-2- العوامل المشجعة للإجهاد التأكسدي.....	04
أ- عوامل خارجية.....	04
ب-عوامل داخلية.....	05
I-3-3- أقسام الجذور الحرة.....	08
I-3-4- تأثير الإجهاد التأكسدي	10
I-3-5- الدور الفسيولوجي للجذور الحرة.....	12
I-4- العوامل المانعة للإجهاد التاكسدي.....	12
I-4-1- تعريف مضاد الاكسدة.....	12
I-4-2- المصادر الطبيعية لمضادات الأكسدة.....	13
I-4-3- أنواع مضادات الأكسدة.....	14
أ- مضادات الأكسدة الإنزيمية.....	15
ب-مضادات الأكسدة غير الإنزيمية.....	17
I-5- المؤشرات البيولوجية للإجهاد التأكسدي.....	21
I-5-1- مؤشرات البيروكسيدات اللبيدية.....	22
I-5-2- مؤشرات أكسدة البروتينات.....	22
I-5-3- مؤشرات أكسدة الـ ADN.....	23
I-6- الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي.....	23
كريات الدم الحمراء: المحور الثاني	
II-1- الدم.....	26
II-1-1- تعريفه.....	26
II-1-2- مكوناته.....	26

أ- المكونات الخلوية..... 26
ب- المكونات اللا خلوية..... 27
II-2- الكريات الدموية الحمراء..... 27
II-2-1- تعريفها..... 27
II-2-2- غشاء الكريات الدموية الحمراء..... 28
II-2-3- وظيفة الكريات الدموية الحمراء..... 29
II-2-4- التخليق الحيوي لكريات الدم الحمراء..... 30
II-2-5- الموت الخلوي لكريات الدم الحمراء..... 32
II-2-6- ميتابوليزم كريات الدم الحمراء 33
أ- التحلل السكري..... 33
ب-التخمر اللبني..... 35
ت- منهج الـ Pentose Phosphate..... 36
II-3- الهيموغلوبين..... 37
II-3-1- تعريفه..... 37
II-3-2- وظيفته..... 37
II-3-3- أنواعه..... 37
II-4- الهيموغلوبين المجلكز..... 38
II-4-1- تعريفه..... 38
II-4-2- أنواع الهيموغلوبين المجلكز..... 38
II-4-3- تفاعل الجلكزة..... 38
II-4-4- أهمية الهيموغلوبين المجلكز..... 38
الجزء العملي
المحور الثالث : الوسائل والطرق..... 41
المحور الرابع : النتائج والتعاليق..... 46
الخاتمة..... 53
الملحق..... 54

الرقم	العنوان	الصفحة
شكل 01:	اختلال التوازن بين محفزات الأكسدة و مضادات الأكسدة	02
شكل 02 :	مختلف أنواع الجذور الحرة الأكسجينية	04
شكل 03:	أصل مختلف الجذور الحرة والأنواع الأكسجينية التفاعلية المؤثرة على العضوية	07
شكل 04 :	العلاقة بين الجذور الحرة الأكسجينية	10
شكل 05 :	تأثير الإجهاد التأكسدي	12
شكل 06 :	نموذج ملأ فراغي لمضاد التأكسد مُستَقلب غلوتاتيون	13
شكل 07 :	اختزال جزيئات الماء المؤكسج (H_2O_2) بواسطة تفاعلات إنزيمية مرتبطة بالـ Gpx و الـ Gr	17
شكل 08 :	ميثابوليزم الGSH ووظائفه كمضاد للأكسدة داخل الخلية	18
شكل09 :	الصيغة الكيميائية لحمض الأسكوربيك	19
شكل 10 :	الصيغة الكيميائية للفيتامينE	19
شكل 11:	مثال عن تفاعلات مضادات الأكسدة بالأخذ بعين الاعتبار الفيتامينات E و C	20
شكل 12:	الصيغة الكيميائية للفيتامين A	20
شكل 13 :	الصيغة الكميائية لحمض الغاليك	21
شكل 14 :	آلية أكسدة الليبيدات	22
شكل15 :	الكريات الدموية الحمراء	27
شكل16 :	غشاء الكرية الدموية الحمراء	29
شكل 17:	تنظيم سرعة تخليق الكريات الحمراء	31
شكل18:	التخليق الحيوي لكريات الدم الحمراء	32
شكل19:	الموت الخلوي لكريات الدم الحمراء	33
شكل20 :	تفاعلات التحلل السكري	35
شكل 21 :	تفاعل التخمر اللبني	36
شكل22:	منهج الـ Pentose Phosphate	36
شكل23 :	بنية الهيموغلوبين	37

الشكل24 : تفاعل الجلكزة..... 39

شكل25: طريقة أخذ الدم من الجرذ..... 42

شكل26: طريقة إرتباط أزرق الكوما سي مع البروتينات 45

شكل27 : تأثير H_2O_2 على تكوين المركبات ثنائية 46
الروابط الزوجية المترافقة.

شكل28: تأثير H_2O_2 في وجود حمض الغاليك على 47
تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة

شكل29: تأثير أول أكسيد الأزوت على تخليق 48
المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة

شكل30: تأثير H_2O_2 على البروتينات الكلية..... 49

شكل31: تأثير H_2O_2 على البروتيبات الكلية في وجود الفيتامين C 50

شكل 32 : المنحنى المعياري 54

الجدول	العنوان	الصفحة
01	مختلف الـ ROS الرئيسية والمقارنة مع القدرة التأكسدية لها	08
02	المعطيات العددية الخاصة بكريات الدموية الحمراء	28
03	العلاقة بين نسبة الهيموغلوبين المجلكز ومتوسط السكر في الدم	40
04	تأثير H_2O2 على تكوين المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة على..... مستوى أغشية كريات الدم الحمراء	46
05	تأثير H_2O_2 في وجود حمض الغاليك على تخليق المركبات ثنائية الروابط ..... الزوجية المترافقة	47
06	تأثير أول أكسيد الأزوت على تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية ..... المترافقة	48
07	تأثير H_2O_2 على البروتينات الكلية	49
08	تأثير H_2O_2 في وجود الفيتامين على البروتينات الكلية	50
09	جدول خاص بالمنحنى المعياري لمعايرة البروتينات	54

المقدمة :

إن التراكيز العالية للغلوكوز في الدورة الدموية تؤدي إلى إحداث خلل كبير في ميزان التوازن بين العوامل المؤكسدة والمضادة للأكسدة محدثة ما يسمى بالإجهاد التأكسدي [1] [2] الذي يستهدف بالدرجة الأولى كريات الدم الحمراء بحكم تواجدها المستمر و بحوالي 120 يوم في قلب هذا الوسط ذو الإجهاد التأكسدي المرتفع الذي يعمل على تخليق العديد من الجذور الحرة التي تهاجم مكونات أغشية كريات الدم الحمراء مثل الليبدات و البروتينات [3] مؤدية إلى تغير البنية الكيمائية لهذه الأغشية فتغير معها الخواص الفيزيوكيميائية و الميكانيكية للأغشية و بالتالي تعكس هذه التغيرات على الوظائف الحيوية لهذه الخلايا و أهمها نقل الأكسجين(O_2) [4].

إن الهدف من هذه الدراسة المتواضعة هو محاولة فهم تأثير بعض العوامل المحفزة للأكسدة مثل فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 وأول أكسيد الأزوت N0 على أهم مكونات الأغشية الحيوية لكريات الدم الحمراء و هي الليبدات و البروتينات من جهة و اختبار قدرة بعض المواد المضادة للأكسدة مثل حمض الغاليك و الفيتامين C على إبطال مفعول التأثير السام للعوامل المؤكسدة.

و من أجل ذلك تم تحضين كريات الدم الحمراء في أوساط تجريبية في وجود العوامل المؤكسدة و وجود أو غياب العوامل المضادة للأكسدة. بعد ذلك يتم تقدير مؤشرات الإجهاد التأكسدي على مستوى أغشية كريات الدم الحمراء مثل المركبات ثنائية الروابط الزوجية Diénes Conjuguées و تقدير البروتينات الكلية باستعمال الطرق اللونية Spectrophotométrie .

الجزء النظري

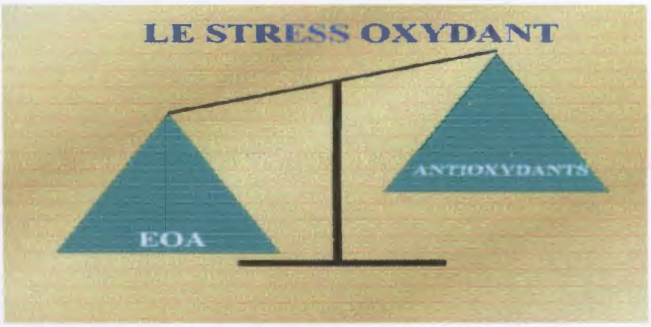
المحور الأول :
الإجهاد التأكسدي

I -1 - تعريف الإجهاد التأكسدي

هو اضطراب أو اختلال في نظام الأكسدة الداخل خلوية, ويحدث إما نتيجة الإفراط في إنتاج الجذور الحرة أو الانخفاض الشديد في القدرة الدفاعية لمضاد الأكسدة [5]، وهذا يدل على عدم التوازن بين القوى المضادة للأكسدة (Les antioxydants) و القوى المؤكسدة (Les prooxydants) [6] ,و نخص بالذكر المؤكسدات التي تحدث أضرار وخيمة من الناحية الوظيفية والبنيوية للجسم [2].

كما أن الإجهاد التأكسدي يشير إلى نظرية أن عملية الأيض الطبيعية (البناء والهدم) في الجسم تؤدي إلى تلف تراكمي للحمض النووي المنقوص الأكسجين (ADN), البروتينات و الدهون بمرور الزمن .

ويعتبر الالتهاب والإجهاد التأكسدي من عوامل الخطر في حدوث تصلب الشرايين و لذلك فإن النواتج البروتينية المؤكسدة قد تنبأ بحدوث تصلب الشرايين [6].



شكل 01: اختلال التوازن بين محفزات الأكسدة و مضادات الأكسدة [2]

I-2- مصادره

في الحالة العادية هناك اتزان بين محفز الأكسدة و مضاد الأكسدة و غياب هذا الإتزان يعود إما إلى نقص مضادات الأكسدة أو إفراط في إنتاج الأجسام المؤكسدة. اختلال هذا التوازن يرجع إلى عدة مصادر يمكن تصنيفها إلى قسمين داخلية وخارجية : [7]

I-2-1- مصادر خارجية

- **التغذية:** سمية المعادن الثقيلة (الزئبق والرصاص) والاستهلاك المفرط للكحول؛ التدخين....الخ [8].
- **الإشعاعات:** قادرة على تشكيل الجذور الحرة إما بتجزئة جزيئات الماء تحت تأثير الأشعة المؤينة إكسX أو قاما γ (ظاهرة التحلل الإشعاعي للماء), وإما بتنشيط الجزيئات الحساسة للضوء عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية (UV) والتي تحت تأثيرها يتم إنتاج أنيونات فوق الأكسدة وجزيئات الأكسجين الذري [9].

I-2-2- مصادر داخلية

- **الالتهابات**: تعتبر مصدر مهم للجذور الأكسيجينية التي تصنعها الخلايا البالعة النشطة مباشرة (Les cellules phagocytaires actif)، وهذه الخلايا هي مقر حدوث الالتهاب التأكسدي الذي يرتكز على تنشيط الـ NADPH oxidase ,وهو إنزيم قادر على استعمال جزيئات الأكسجين لإنتاج كمية كبيرة من أنيونات فوق الأكسجين على مستوى الغشاء الخلوي **[9].**
- بالإضافة إلى ذلك فان البالعات الكبيرة (Les macrophages) و بواسطة إنزيم Chloroperoxidase فإنها تخلق أيونات الإيبوكلوريث (OCL^-) للقضاء على البكتيريا الممرضة, و في نفس الوقت تؤدي إلى حدوث إجهاد تأكسدي داخل هذه الخلايا **[10].**
- النقص في مضادات الأكسدة ذات المصدر الغذائي مثل الفيتامينات(vitE,vitC,vitA) و بعض المعادن مثل الزنك (Zn) و السيلينيوم (Se).
- الطفرات الوراثية (التشفير الخاطئ للبروتينات) **[11].**

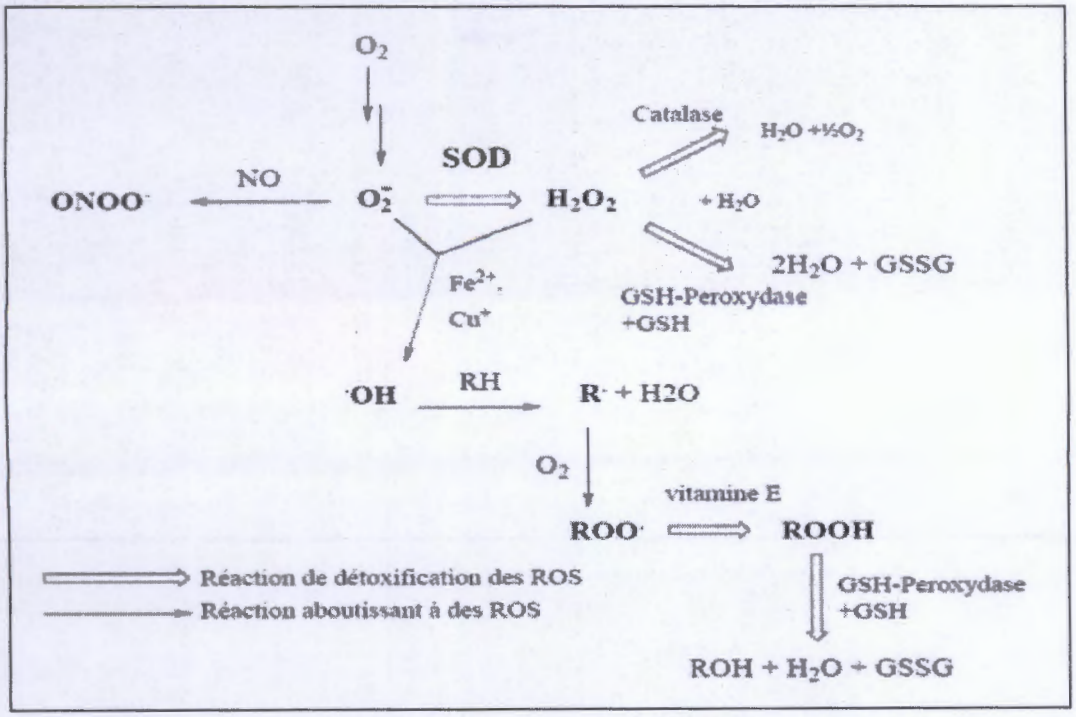
I-3- الجذور الحرة

I-3-1- تعريفها

في الكيمياء الجذور الحرة أو الشقائق هي عبارة عن ذرات أو جزيئات بها إلكترونات غير زوجية أو غلاف مفتوح وهذه الإلكترونات الغير مزدوجة والتي تتميز بشحنة سالبة غالبا ما تكون نشطة , وعموما فإن الجذر الحر يمكن أن يقع في مصيدة مذيب أو أن يكون مترابط .

تاريخيا فإن الجذور الحرة كانت تستخدم كمرجع لمجموعة من الذرات التي لا تتغير خلال التفاعل و أول جذر أكتشف هو جذر الـ Tri vinyl méthyle عن طريق موس جومبيرج عام 1900 **[12].**

بتعريف آخر: هي عبارة عن ذرات أو جزيئات غير مستقرة تتفاعل بسرعة مع مركبات أخرى محاولة اقتناص ما ينقصها من الإلكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي, وهذه الجذور يمكن أن تكون مشتقات الأكسجين (ROS) أو مشتقات الآزوت (RNS) . وعادة ما تهاجم الجذور الحرة أقرب جزيء ثابت إليها آخذة الإلكترونات التي تحتاجها, وفي هذه الحالة تتحول الجزيئات المهاجمة و التي فقدت إلكترونا إلى جذور حرة تبحث عن الاستقرار بادئة سلسلة من التفاعلات تتفاقم لتهاجم غشاء الخلية الحية ومكوناتها وحتى جزيء الـ ADN **[13].**



شكل 02 : مختلف مصادرأنواع الجذور الحرة الأكسجينية [14]

I-3-2- العوامل المشجعة للإجهاد التأكسدي

جسم الإنسان يولد مواد التأكسد (الجذور الحرة) بصفة دائمة نتيجة تعرضه المستمر لعوامل الأكسدة وتزيد مع زيادة الأكسجين حيث سجلت دراسة طبية أكثر من 120سببا يؤدي إلى تكونها داخل جسم الإنسان إذ يمكن تصنيفها في مجموعتين : داخلية وخارجية [15].

أ - عوامل خارجية

- **المضافات الغذائية**: إن زيادة استهلاك المواد المضافة للأغذية سواء كانت هذه المواد تستخدم للتلوين أو للتثبيت أوا لنكهة فإنها تساهم في زيادة الجذور الحرة .
- **طريقة إعداد الطعام** : إن رفع درجة الحرارة عند الإعداد خاصة القلي له تأثير في زيادة تأثير الجذور الحرة لذلك ينصح بالحد من الأغذية المقلية و الحرص على تناول الأغذية الطازجة مع عدم زيادة درجة حرارة الطبخ.
- **الرياضة** : إن زيادة استهلاك الأكسجين خلال الرياضة العنيفة سوف يزيد من إنتاج و تكوين الجذور الحرة و رغم ما يقال عن الرياضة الصحية إلاأنه يجب الحرص على استهلاك كميات مناسبة من مضادات الأكسدة والتي تلعب دورا في الحد من أثارها.

- **المبيدات الحشرية** : إن لإستخدام المبيدات و الأسمدة الكيمائية تأثيرا مباشرا في إنتاج الجذور الحرة لذلك لابد من الحرص على إنتاج و استهلاك الأغذية العضوية و التي لا تستخدم فيها المبيدات الحشرية و العديد من المواد الكيمائية.
- **التلوث**: إن عيش الإنسان في بيئة ملوثة بالعوامل المؤكسدة ومصادر التلوث مثل:السيارات , المصانع... له دور كبير في زيادة الجذور الحرة في جسم الإنسان مما يكون له الأثر الأكبر في حدوث المضاعفات والمشاكل الناتجة عن تجمع وزيادة تركيزها .
- **التدخين:** إن المدخنين أنفسهم أو من يعيش معهم يكون أكثر عرضة لارتفاع نسبة الجذور الحرة في دمائهم ,لذلك يجب عليهم تناول بعض مضادات الأكسدة (فيتامين C) **[16].**

ب - عوامل داخلية

تملك الخلايا عدد كبير من الأنظمة الإنزيمية المسؤولة على الإنتاج الجوهري لـ ROS والذي يكون مقترن بطرق فسيولوجية كتصنيع ATP **[17].**

في العضوية هناك عدة مصادر لـ ROS والتي لها أهمية متغيرة حسب الأنسجة , منها ما هو إنزيمي ومنها ماهو غير إنزيمي **[18].**

- **الأكسدة الذاتية**

الأكسدة الذاتية للدوبامين , الأدرينالين, الفلافين و الهيدروكينون, تعتبر مصدرا مهما للأنواع الأكسوجينية التفاعلية (ROS) **[19].** المادة الناتجة مباشرة عن الأكسدة الذاتية غالبا ما يكون الـ $O_2^{\cdot -}$ كما أن الأكسدة الذاتية للدوبامين هي جزء متضمن في عمليات الموت المبرمج في حالة الأمراض العصبية وخصوصا مرض باركينسون (شلل اهتزازي) **[18].**

- **إنزيم الـ Xanthine oxydase**

هو إنزيم محفز لأكسدة الـ Hypoxanthine إلى Xanthine وبإمكانه تحفيز أكسدة هذا الأخير إلى حمض البولة ,كما أن هذا الإنزيم يلعب دورا مهما في هدم الـ purine .

$$\text{Hypoxanthine} + O_2 + H2O \xrightarrow{\text{Xanthine oxydase}} \text{Xanthine} + H_2O$$

$$\text{Xanthine} + H_2O + O_2 \longrightarrow \text{Acide urique} + H_2O \quad \textbf{[20] [21]}$$

في هذا التفاعل جزئية الأكسجين تسلك سلوك مستقبل الإلكترونات وتعطي الـ O_2^{-} حسب التفاعل التالي :

$$Xanthine + H_2O + 2O_2 \longleftrightarrow Acide\ urique + 2O_2^{\cdot -}$$ **[22] [23]**

- **إنزيم الـ NADPH oxydase**

هذا الإنزيم مرتبط بالغشاء البلازمي, ويوجد بالخلايا البلعمية أين يقوم بدور أساسي في الرد المناعي و مكافحة العضيات الدقيقة , و يعتبر هذا الإنزيم البلعمي مصدر أساسي لإنتاج الـ ROS في الرئتين و ذلك في إطار الإستجابة المناعية.

$$2O_2 + NADPH \longleftrightarrow 2O_2^{\cdot -} + NADPH^{+} + H$$ **[21]**

- **الشبكة الأندوبلازمية الملساء**

تحتوي على إنزيمات محفزة لسلسلة تفاعلات نزع سمية الجزيئات الذهنية المذابة و مواد أيضية سامة أخرى **[24]** . من أهم هذه الإنزيمات الـ cytochrome P_{450} الذي يؤكسد الأحماض الذهنية الغير مشبعة وxéno biotique المنتج كذلك للـ ROS **[25]**.

- **إنزيم الـ NO synthase**

العديد من الخلايا لها القدرة على إنتاج أكسيد الآزوت (NO) انطلاقا من الـ Arginine والأكسجين في التفاعل المحفز بإنزيم الـ NO synthase حسب التفاعل التالي :

$$L\text{-}arginine + O_2 + NADPH \xrightarrow{NO\ synthase} L\text{-}citruline + NO + NADP$$ **[26] [17]**

وهناك شكل ثاني للـ NOs تحت تأثير السيتوكين والسمية الداخلية , هذا الشكل يحث على إنتاج كمية كبيرة من الـ NO **[27]**.

- **الأيونات المعدنية**

الأيونات المعدنية الجديرة بالملاحظة مثل :الحديد و النحاس هي المحركات الأولى لعملية تشكل الجذور الحرة , حيث أن الـ H_2O_2 يتحول إلى جذر هيدروكسيلي (OH) الأكثر سمية في الوضعيات الفسيولوجية أين التركيز الحر للحديد أو النحاس يكون منخفضا جزئيا . هذه المعادن تحفز بواسطة بروتينات خاصة , و نوع هذا التفاعل لا يتعلق بمكان حدوثه على العكس فإن التخريب الخلوي هو ممارسة لتحرير هذه المعادن التي يمكنها التسبب في الإجهاد التأكسدي **[28]**.

- **الميتوكوندري**

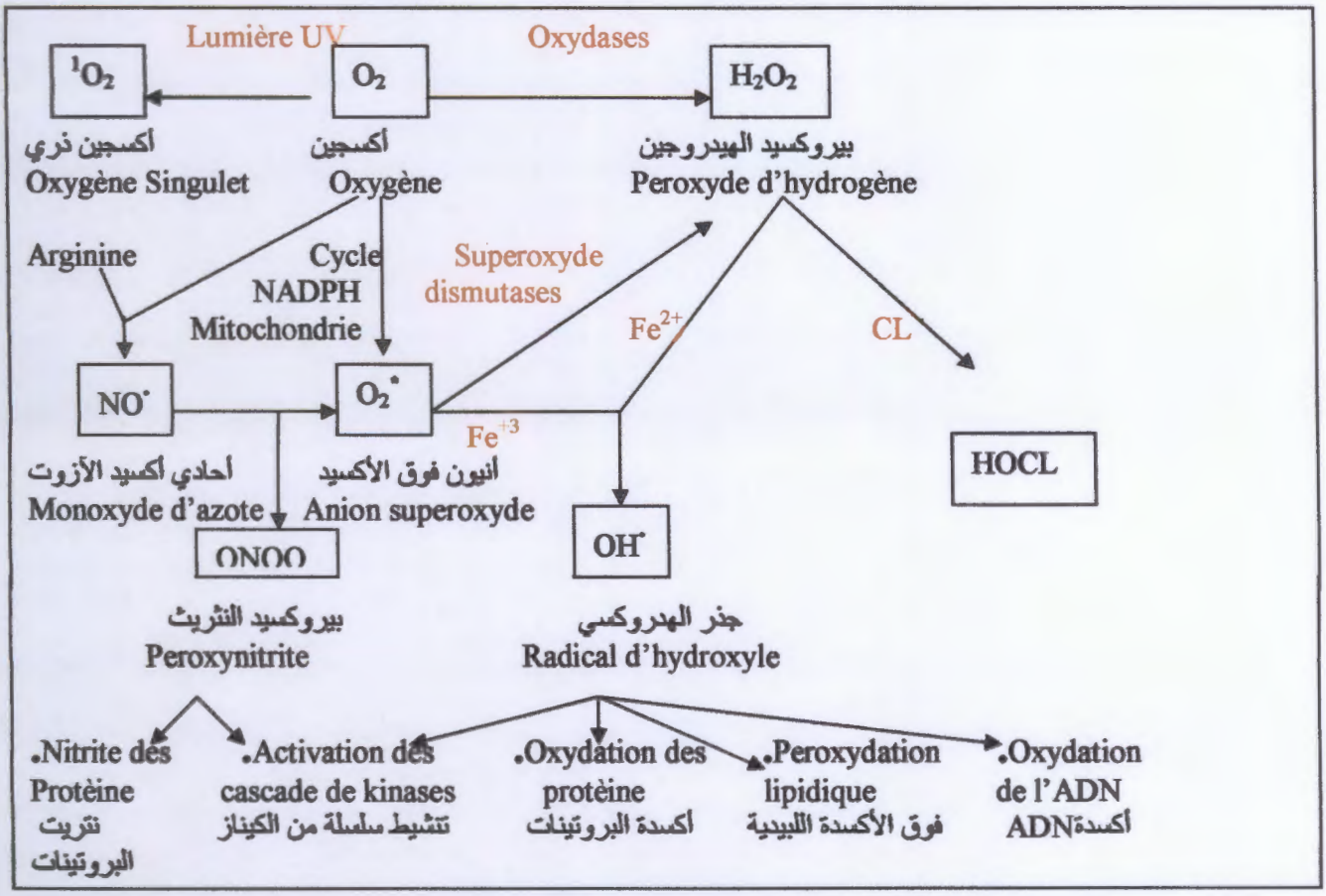
الغشاء الداخلي للميثوكوندري يحتوي على سلسلة نواقل الإلكترونات , حوالي 3% من الأكسجين يحدث له تفاعل إرجاع (أحادي التكافؤ) يؤدي إلى تشكيل الـ $O_2^{\cdot-}$ خلال تحول semi-quinone إلى ubiquinone , هذا الإنتاج الجذري يساهم في الهجوم على ADN الميتوكوندري , لأن هذا الأخير خاص بتدفق مستمر للـ ROS [29].

- **النواة:**

مثل غشاء الميتوكوندري , الغشاء الخلوي المحيط بالنواة يحتوي كذلك على سلسلة نواقل للإلكترونات , هذه السلسلة يمكن أن تترك للتخلص من بعض أعداد الإلكترونات المختزلة للأكسجين(O_2) إلى $O_2^{\cdot-}$, يمكن ملاحظة النتائج الضارة بجوار الـ ADN النووي [29].

- **البيروكسيزومات**

يعتبر البيروكسيزوم مصدر مهم في الإنتاج الخلوي لـ ROS لأن هذه العضية تضم عددا من الإنزيمات الهامة , في كل مرة هذه الأخيرة تستعمل كمادة مرجعية لمحفز البيروكسيزومات في نهاية عمليات نزع السمية من الكبد والكلية [30]



شكل 03 : أصل مختلف الجذور الحرة والأنواع الأكسجينية التفاعلية المؤثرة على العضوية [14].

I-3-3-أقسام الجذور الحرة

من بين الأنواع الجذرية المتشكلة داخل الجسم بإمكاننا أن نميز مجموعة تلعب دورا رئيسيا و بصفة خاصة في الفيزيولوجيا , تسمى بالجذور الأولية. هذه الأخيرة تعتبر كمواد أساس لإنتاج الجذور الثانوية[10] حيث يتم إنتاج العديد من المواد المؤكسدة القوية خلال عمليات الأيض في كل من الخلايا الدموية الحمراء و معظم خلايا الجسم الأخرى , وهذه المواد المؤكسدة تتضمن جذر فوق الأكسجين ($O_2^{\cdot -}$) و فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) و جذور البيروكسيل($ROO^{\cdot}$) والهيدروكسيل ($OH^{\cdot}$) [31] , بالإضافة إلى أنواع أخرى منها الأكسجين الذري ($^1O_2$) , نيتروبيروكسيد (ONOON)..... , التي تعتبر مواد أساس و ليست جذور حرة ,هذه اللأخيرة تفاعلها مع الجذور المشكلة يسمى بالتفاعل الأكسوجيني النوعي (ERO) (Espèces Réactifs Oxygénées) .[14]

جدول1 : مختلف الـ ROS الرئيسية و المقارنة مع القدرة التأكسدية لها [10]

الصيغة الكيميائية	الجـــــذر الحـــــر	
$O_2^{\cdot -}$	أنيون فوق الأكسيد	Anion superoxide
$OH^{\cdot}$	جذر الهيدروكسيل	Radical hydroxyle
$HOO^{\cdot}$	جذر الهيدروكسيد	Radical hyroxyde
$ROO^{\cdot}$	جذر البيروكسيل	Radical peroxyle
$RO^{\cdot}$	جذر الألكوكسيل	Radical Alkoxyle
H_2O_2	بيرو كسيد الهيدروجين	peroxyl d'hydrogène
$NO^{\cdot}$	جذر أكسيد النتريك	Radical oxyde nitrique
$ONOO^{\cdot}$	بيروكسيد النتريث	peroxonitrit
CLO	الإيبوكلوريث	Hypochlorite
القدرة التأكسدية	OH>RO>HOO>ROO>NO	

أ- أنيون فوق الأكسيد Superoxyde($O_2^{\cdot-}$)

يتم تكوينه في خلايا الدم الحمراء عن طريق الأكسدة الذاتية للهيموغلوبين (Hémoglobine Hb) إلى ميثهيموغلوبين (Méthymogobine) , وفي الأنسجة الأخرى يتم تكوين هذا الجذر الحر عن طريق عمل إنزيمات cytochrome P_{450} و xanthine oxydase و الـ reductase [31] , حسب التفاعل التالي:

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\cdot-} \quad [32]$$

ب- أنيون فوق أكسيد الهيدروجين Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

و هو أحد جذور الأكسجين الحرة الفعالة المتكونة داخل الجسم و بشكل مستمر خلال عمليات اللأيض الخلوية في بيوت الطاقة و الجسيمات الحالة [33] . فإنزيم الـ catalase الموجود في العديد من أنواع الخلايا يحوله إلى ماء(H_2O) و أكسجين (O_2). كما أن الخلايا الدموية البيضاء المتعادلة تملك إنزيم فريد يسمى Meyclopéroxydase يحول الماء و الهاليدات إلى أحماض [31] , و يمكن الحصول على الـ H_2O_2 بالتفاعل التالي :

$$2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \xrightarrow{\text{Superoxyde dismutase}} H_2O_2 + O_2 \quad [32]$$

ت- جذور الهيدروكسيل($OH^{\cdot}$) و أنيونات الهيدروكسيل (OH^-)

هو جزيء نشط جدا , يمكن أن يتفاعل مع البروتينات , الأحماض النووية , اللبيدات و غيرها من الجزيئات ليغير من تركيبها و يسبب تلفا للأنسجة [31] . و حسب تفاعل Weiss -Haber تتحصل على ما يلي:

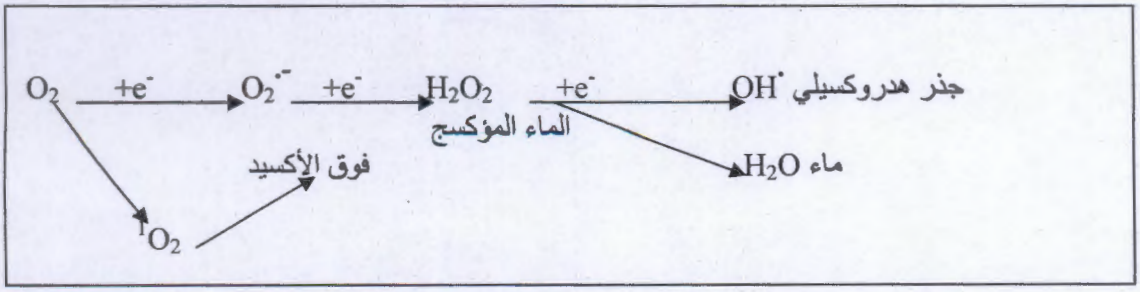
$$O_2^{\cdot-} + H_2O \longrightarrow O_2 + OH^{\cdot} + OH^- \quad [32]$$

ث- أحادي الأكسجين ($^1O_2$)

لا نستطيع الكشف عنه بالطرق الفيزيائية المعقدة و لهذا فالكشف عنه داخل الأنسجة الحية أمر صعب, أما في الوسط الخارج خلوي فإنه يمكن الحصول عليها سواء بالطرق الفيزيائية أو حسب التفاعل التالي :

$$O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \longrightarrow OH^{\cdot} + {}^1O_2 [32]$$

و المخطط الموالي يوضح العلاقة بين الجذور الحرة الأكسيجينية و ذلك بواسطة التثبيت المتتالي للإلكترونات :



شكل 04 : العلاقة بين الجذور الحرة الأكسجينية [32]

ج- أيونات الإيبوكلوريت Ion hypochlorite (OCL^-)

إن فوق الأكسيد (superoxyde) المتشكل يستطيع أن يتحول إلى الماء المؤكسج (H_2O_2), و ذلك في وجود إنزيم الـ Superoxyde dismutase (SOD) أو إلى جذر الهيدروكسيل , كما أنه يتفاعل مع الهالوجينات خاصة كلور الصوديوم لتشكيل Hypochlorite. فإنزيم Myeloperoxydase يؤكسد الهالوجينات المتشكلة مع أيون الـ Speroxyde حسب التفاعل التالي :

$$2CL^- \longrightarrow CL_2$$

$$CL_2 + O_2^{\cdot-} \longrightarrow 2CLO^- \quad [32]$$

ج-أحادي أكسيد الآزوت Monoxyde d'azote ($NO^\cdot$)

هو عبارة عن جذر حر لكنه لا يتفاعل كثيرا ,حيث أن إعادة النشاطية الكيميائية هي تقريبا نفسها للأكسجين الجزيئي [34] , فالكثير من الخلايا قادرة على إنتاج الـ $NO^\cdot$ إنطلاقا من الحمض الأميني Arginine و الأكسجين تحت تأثير إنزيم الـ NO synthase [35].

ح- Peroxio nitrite ($ONOO^\cdot$)

الـ $O_2^{\cdot-}$ قادر على التفاعل مع أحادي أكسيد الآزوت ("Monoxyde d'azote"NO") داخل الميتوكوندري من أجل تشكيل مؤكسد قوي هو $ONOO^\cdot$ [36] حسب التفاعل التالي:

$$O_2^{\cdot-} + NO^\cdot \longrightarrow ONOO^\cdot \quad [37]$$

الذي بإمكانه أن يتفكك إلى أكسيد آخر (OH,NO, ...الخ) .

I-3-4- تأثير الإجهاد التأكسدي

الأنواع الأكسجينية التفاعلية (ROS) تهاجم كل المكونات الخلوية المحتوية على مجموعة النيكليوفيل , فالجذور الحرة تشوه خصائص الأغشية الخلوية بحيث تغير نشاط المستقبلات و كنتيجة لذلك وظيفة الرسائل الثانوية , زيادة على ذلك تؤدي إلى تسرب المكونات الداخل خلوية مثل : Lactate déshydrogénase

(LDH) [38]. كما تحدث أضرار تأكسدية غالبا ما تكون غير عكوسة على مستوى العديد من المكونات البيولوجية (إنزيمات , بروتينات ,ADN , ليبيدات ... الخ) [3].

- **البروتينات**

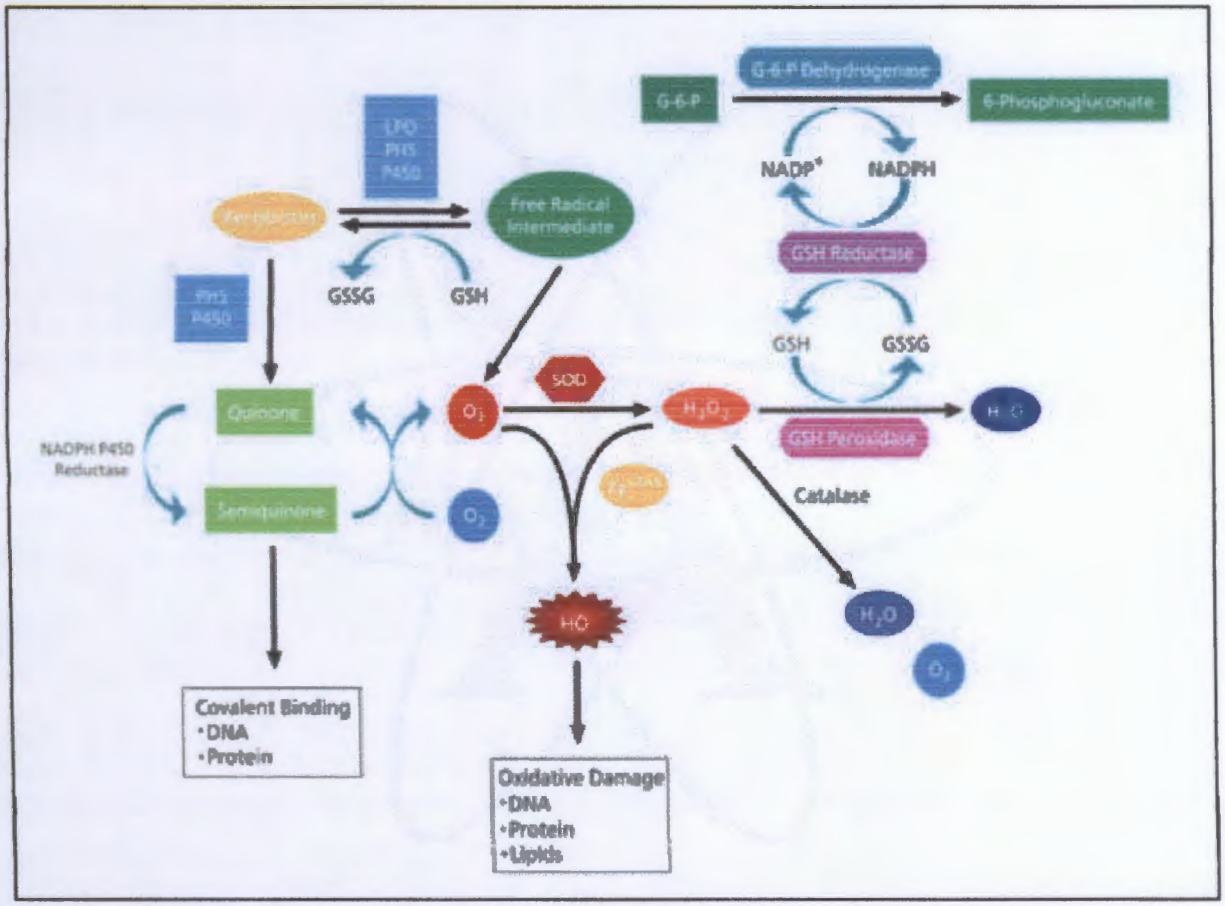
البروتينات قد تتخرب , تتجزأ , أو تفقد بنيتها الأولية و الثانوية [39]. و الأكثر تحسس للجذر الحر تلك المحتوية على جذر الثيول (SH-) , فأكسدة أحماضها الأمينية تؤدي إلى تغيير بنيوي للإنزيمات الخلوية و بروتينات النقل و بالتالي التأثير على المستوى الوظيفي إذ تصبح حساسة لإنزيمات البروتياز [40].

- **الـ ADN**

يعتبر الـ ADN النووي والميتوكوندري الهدف الرئيسي للجذور الحرة , حيث أن تأثيرها يكون مباشر على الـ ADN تحديدا على مستوى الريبوز منقوص الأكسجين (désoxyribose) أو القواعد الآزوتية و بالتالي قطع سلسلة أو سلسلتي الـ ADN ,كذلك الإجهاد التأكسدي يؤدي إلى توقيف تعبير جينات الدورة الخلوية , وخلال هذا التوقف الخلايا باستطاعتها مراقبة مادتها الوراثية لتدخل في الموت الخلوي المبرمج (Apoptose) [4].

- **الليبيدات**

تعتبر اللأغشية الخلوية الهدف الأول للجذور الحرة خاصة الليبيدات و ذلك لغناها بالأحماض الذهنية غير المشبعة [4] , والتي تكون جد حساسة للأكسدة [41], فهذه الجذور تخفض من ميوعتها ؛ تنقص من نشاطيتها الإنزيمية , تغير من بنيوية مستقبلاتها السطحية و تزيد من نفاذيتها لأيونات H^+ ؛ Ca^{++} [42]. على مستوى الميتو كوندري , الأكسدة الحادة للفوسفولسيدات الغشائية تغير من وظيفتها [43].



شكل 05 : تأثير الإجهاد التأكسدي [44]

I-3-5- الدور الفسيولوجي للجذور الحرة

الجذور الحرة تنتج بشكل طبيعي من بعض الأنظمة داخل الجسم و تكون لها آثار مفيدة لا يمكن التغاضي عنها, حيث أن جهاز المناعة هو النظام الرئيسي الذي يستخدم الجذور الحرة لتحديد أي من الأنسجة التالفة أو اللافتة للعوامل الضارة الخارجية [45].

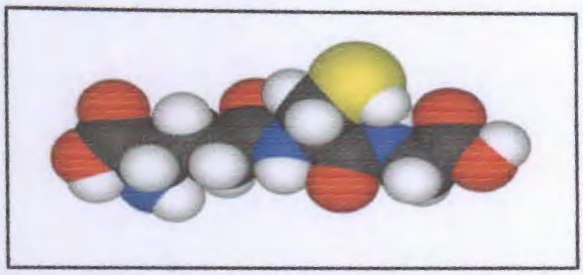
كما أنها تشارك في مراقبة الاتزان الخلوي , فهي قادرة على تغيير التضاعف , التمايز , و تستطيع أيضا أن تتفاعل كوسائط للدخول في الموت الخلوي المبرمج [46].

I-4- العوامل المانعة للإجهاد لتأكسدي

نظام الدفاع ضد الإجهاد التأكسدي موجه خاصة للحد من تفاعلات الجذور لحرة التي هي في الغالب غير عكوسة .

I-4-1- تعريف مضادات الأكسدة

مصطلح مضاد الأكسدة كان يستخدم بشكل خاص للإشارة إلى مادة كيميائية تمنع نقصان الأكسجين [47] , إذا فمضادات الأكسدة يمكن تعريفها على أنها كل المواد التي توجد بتراكيز ضعيفة مقارنة بالمواد القابلة للتأكسد القادرة على إبطاء أو تثبيط أكسدة هذه المواد [48], و إذا كان التأكسد يقوم بتحويل الإلكترونات من مادة معينة إلى عامل مؤكسد متلف للخلايا فإن مضادات الأكسدة تنهي هذه السلسلة من التفاعلات بإزالة الوسيط الأساسي تماما (الشكل 06) [49] .



شكل 06 : نموذج ملأ فراغي لمضاد التأكسد مُستقلب غلوتاثيون , الجسم الكروي الأصفر هو محفز لتأكسد ذرة الكبريت والتي تدعم نشاط مضاد التأكسد ، بينما الأحمر والأزرق والأبيض والرمادى الغامق هي ذرات تمثل الأكسجين ، النيتروجين ، الهيدروجين وذرات الكاربون على التوالي [48].

I-4-2- المصادر الطبيعية لمضادات الأكسدة

هناك العديد من الأغذية و الأعشاب التي كشف العلماء غناها بمضادات الأكسدة منها :

- **الشاي الأخضر**

بينت العديد من الدراسات أن مضاد الأكسدة الموجود في الشاي الأخضر يحافظ على صحة و سلامة القلب و الرئتين و ذلك من خلال الإنقاص من مستوى الكولسترول في الدم و من ناحية أخرى فإن مضاد الأكسدة الأبيكاتشن يعمل على تنشيط إفراز الأنسولين وتقليل امتصاص السكر والدهون مما يحول دون السمنة المفرطة التي تنتج عنها معظم الأمراض [50].

- **الطماطم**

أكسدة قوي يلعب دورا مهما في حماية الأنسجة من الأكسدة بالشوارد الحرة التي تتكون مع عمليات التمثيل الغذائي [51].

- **زيت فول الصويا**

يحتوي مستخلص بروتين الصويا على الـ Iso-flavonoide التي أصبحت تسوق كمضادات غذائية و قد أجرى الباحثون تجارب مخبرية عديدة لمعرفة دور مضادات اللأكسدة في فول الصويا في منع حدوث الجلطات .

- **الميرامية**

تستعمل بالأخص في الطب الشعبي لعلاج حالات المغص و التسمم الغذائي و من وقت قريب أكتشف العلماء مضاد للأكسدة في الميرامية يسمى الثوجون يعمل على حماية الخلايا العصبية و الدماغية من الإصابة بالأمراض إذ يسهل حركة الخلايا العصبية و يحول دون إصابتها بالشيخوخة المبكرة كما يمنع الإصابة بمرض الزهايمر .

- **ثمار العنابية**

تحتوي على كمية كبيرة من مضادات الأكسدة تسمى الأنتوسيانين , و بعد الدراسات المكثفة التي أجرت على مستخلص العنابية تبين أن للأنتوسيانين دورا واضحا في تقوية الخلايا الدماغية والعصبية كما أنه يحول دون إلتصاق الجراثيم بالجهاز البولي وبالتالي حمايته من الالتهابات الجرثومية [52].

- **العسل**

نشرت دراسة في شهر مارس 2003 في إحدى المجلات الطبية قورن فيها بين تأثير1,5 غ/كلغ من وزن الجسم من شراب الذرة أو من العسل على الفعالية المضادة للأكسدة , فقد ازدادت محتويات البلازما من مضادات الأكسدة الفينولية الموجودة في العسل , و يمكن أن تزيد من مقاومة الجسم ضد الإجهاد التأكسدي [53].

- **الحمضيات**

مثل الليمون,البرتقال المعروفة بغناها بالفيتامينات خاصة (vitamine c) [54].

I-4-3- أنواع مضادات الأكسدة

تتواجد مضادات الأكسدة في كل أقسام العضوية التي تكون إما داخل خلوية غشائية أو خارج خلوية كما أنها قد تكون إنزيمية أو غير إنزيمية [55].

أ - مضادات الأكسدة الإنزيمية

و تلعب دورا هاما وأساسيا في حماية الخلية من الإجهاد التأكسدي , و تعتبر هذه المضادات كخط دفاعي أولي للعضوية ضد الأنواع الأكسجينية التفاعلية (ROS) [31].

- **فوق أكسيد الديسموتاز Superoxide dismutase (SOD)**

يعتبر هذا الإنزيم أحد أهم الإنزيمات الفاعلة كمضاد للأكسدة , فهو محفز لعملية تحويل الأكسجين الذري ($O_2^{\cdot-}$) إلى ماء أكسوجيني (H_2O_2) و ذلك بتسريع معدل إزالته بحوالي أربع مرات بمساعدة بعض المعادن مثل : السلنيوم , الحديد و النحاس حسب المعادلة :

$$2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} O_2 + H_2O_2 \qquad [56]$$

يتواجد هذا الإنزيم في كل الأنسجة الهوائية (المتوكوندري و الستوزول) تحت ثلاث أشكال مختلفة التمركز بمرافقاتها المعدنية :

-الشكل السيتوزولي و النووي المرتبط بأيونات النحاس و الزنك (Cu-SOD ,Zn-SOD)

-الشكل الميتوكوندري المرتبط بالمنغنيز (Mn-SOD)

-الشكل خارج خلوي (مثل SODex) [31] [57].

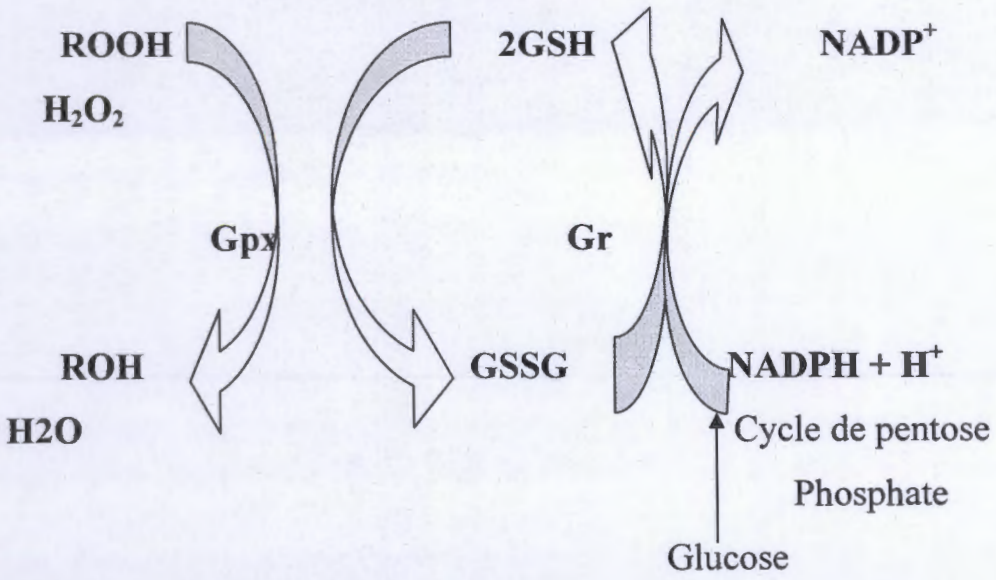
- **إنزيم الكاتالاز Catalase**

يوجد في الأجسام البيروكسيزومية في خلايا أنسجة الكائنات الراقية كالدم و نخاع العظام و الأغشية المخاطية و الكلى و الكبد...، هذا الإنزيم يحول جزيئتين من الماء الأكسوجيني إلى الماء و الأكسجين التي تعتبر مستقرة و ثابتة و لا ضرر منها حسب التفاعل التالي :

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2H_2O + O_2 \qquad [57]\ [31]$$

- **جلوتاثيون بيروكسيداز و الريدوكتاز Glutathion peroxydase et Reductase (Gpx ,Gr)**

الـ Gpx يتفاعل متحدا مع الـ SOD لأن دوره يتمثل في تسريع تفكيك الماء اللأكسجيني إلى الماء و الأكسجين , و خلال هذا التفاعل جزيئتين من glutathion المختزل (GSH) تؤكسد إلى glutathion ثنائي الكبريت (GSSG) [58], يتواجد هذا الإنزيم في السيتوبلازم و الميتوكوندري [31] [57].



شكل 07 : اختزال جزيئات الماء المؤكسج بواسطة تفاعلات إنزيمية مرتبطة بالـ Gpx و الـ Gr [59]

- **Peroxyredoxine**

Thioredoxine peroxidase هي بروتينات تملك نشاط مؤكسد مرجع , و تتجمع في السيتوزول الميتوكوندري , البيروكسيزوم [60], هذه البروتينات تلعب دور الحماية ضد الإجهاد التأكسدي و من خصائصها اقتناص الجذور الحرة خاصة الهدروبيروكسيدات , و هذا بالرغم من فعاليتها التحليلية الضعيفة مقارنة بإنزيم الكاتالاز و الـ Gpx [57] [61].

- **(GST) Glutathion-S- transférase**

هي أحد أقسام الإنزيمات و تشمل خاصة الإزو إنزيمات , حيث أن هذا الإنزيم يعمل على تحويل المركبات الإلكتروفيلية إلى أزواج الجلوتاثيون المختزلة . هذه الأزواج المتشكلة تخضع لتفاعلات الميثابوليزم حيث يتم اختزال جزيئتي glutarate والجلوكوز , و إضافة جذر الأستيل إلى مجموعة الثيول (-SH) الخاصة بالحمض الأميني سيستيين .

مشتقات الأحماض المركبتورية (Acide mercapturique) الناتجة عن تفاعلات الميثابوليزم يتم طرحها .

إن إنزيم GST يملك نشاطية بيروكسيدية ضد البيروكسيدات العضوية باستثناء الماء الأكسجيني [58][62].

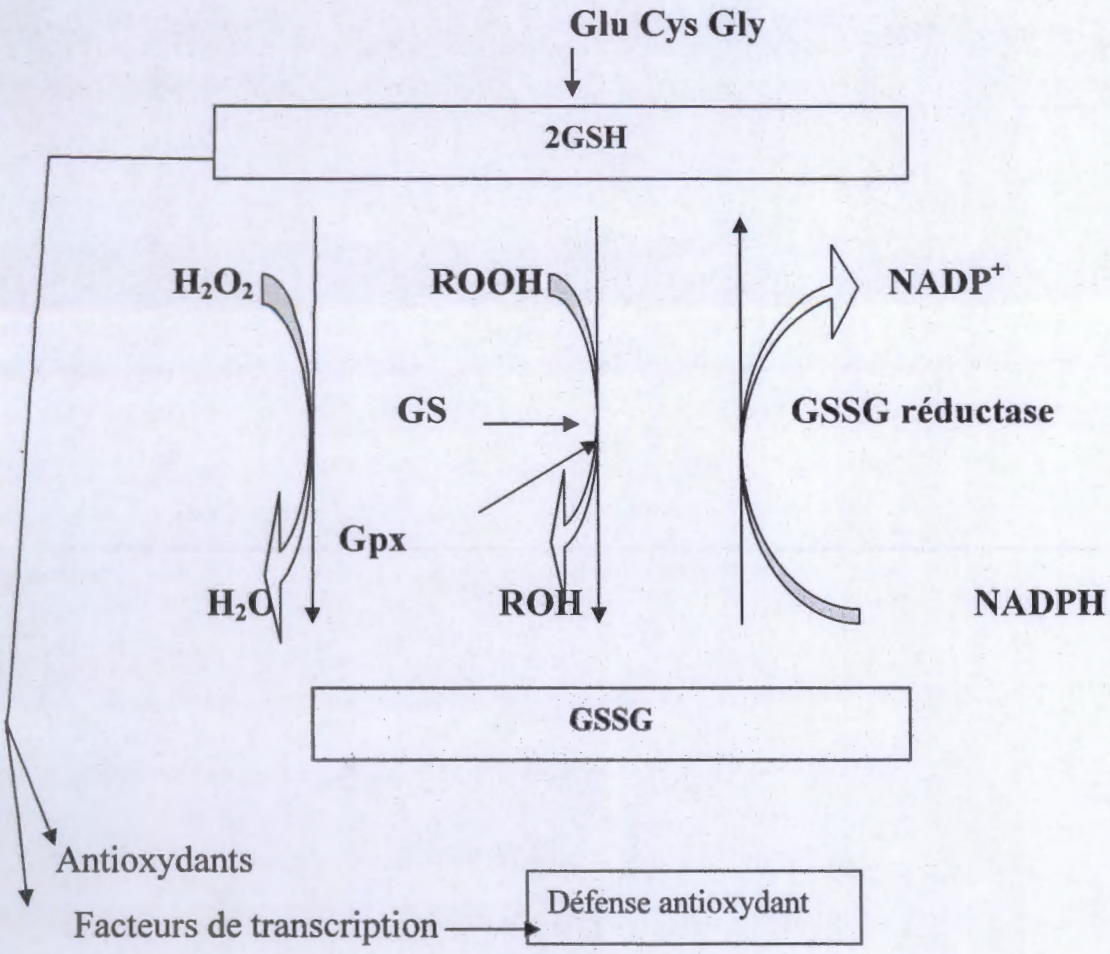
ب ـ مضادات الأكسدة غير الإنزيمية

مضادات الأكسدة غير الإنزيمية تتفاعل مباشرة مع العوامل المؤكسدة و تثبطها حيث أن هذه المضادات بعضها يخلق داخل خلايا الجسم مثل glutathion , و أغلبيتها عبارة عن فيتامينات ذات مصادر غذائية (vitA ,vitC,vitE) و فلافونيودات و كاروتينويدات **[63]** , و هذه المضادات تكون ذاتية إما في الدهون (Lipophiles) مثل الفيتامين E و A؛ carotène ...الخ و إما في الماء (Hydrophiles) مثل الفيتامين C و الغلوثاتيون **[63] [64]** .

- **الغلوثاتيون Glutathion**

هو ببتيد قصير مكون من ثلاثة أحماض آمينية و هي: السيستئين , الجلوثاميك , و الغلايسين , يوجد في الأنسجة الحيوانية , يلعب دور مهم كمضاد للأكسدة حيث يحمي الخلية من التلف التأكسدي ويثبط تكوين الجذور الحرة داخل الخلية , كما يحفز اختزال البيروكسيداز , يعاد تكوين الجلوثاتيون المختزل (GSH) من الغلوثاتيون المؤكسد (2GS) بتحفيز إنزيم الـ GR الذي يعتمد على تواجد الـ NADPH **[58]** .

و هناك العديد من المواد السامة الغريبة المحبة للإلكترونات التي ترتبط مع GSH الذي يوجد بكميات عالية في الكبد و بكميات أقل في الأنسجة الأخرى . إذا لم يتم ارتباط المواد الغريبة بالغلوثاتيون فإنها سترتبط مع ADN أو ARN أو بروتينات الخلية مما ينتج عنه دمار خلوي كبير و لهذا فإن للـ GSH دورا مهما كآلية دفاعية ضد المركبات السامة مثل العقاقير و المواد المسرطنة **(الشكل 08)** **[31] [65]**



شكل 08 : ميثابوليزم الـ GSH ووظائفه كمضاد للأكسدة داخل الخلية [66]

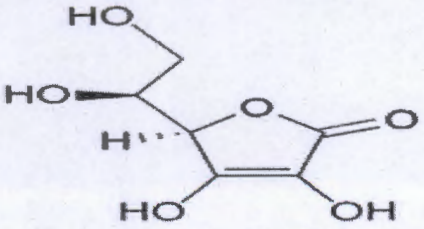
- **الفيتامينات Les vitamines**

الفيتامينات هي مواد كيميائية لا يستطيع الجسم تخليقها , تلعب في أغلب الأحيان دور عوامل مساعدة في الأنظمة الإنزيمية و الغشائية , حيث أن غياب أحد أنواع الفيتامينات يؤدي إلى توقف النمو و الإصابة بأمراض نقص التغذية [67].

أ- الفيتامين C

يسمى كذلك بحمض الأسكوربيك و هو مضاد أكسدة يذوب في الماء و يعمل داخل الخلايا و يستطيع اختزال الجذور الحرة من معظم مصادرها كما يعمل على مساندة النظام الدفاعي للجسم , و يستخدم أيضا في آليات الجسم لإزالة سمية بعض المواد الكيميائية , و له دور هام في عملية الأكسدة و الاختزال في الجسم كما أن لهذا الفيتامين دورا مضادا للموت الخلوي المبرمج و يؤثر أيضا على بعض المواد المضادة للتكاثر.

ولأن جسم الإنسان لا يستطيع إنتاج هذا الفيتامين يجب تناول الأطعمة التي تحتوي عليه,كالحمضيات ,الخضر,الحليب الغير مبستر ...الخ [31] [68].



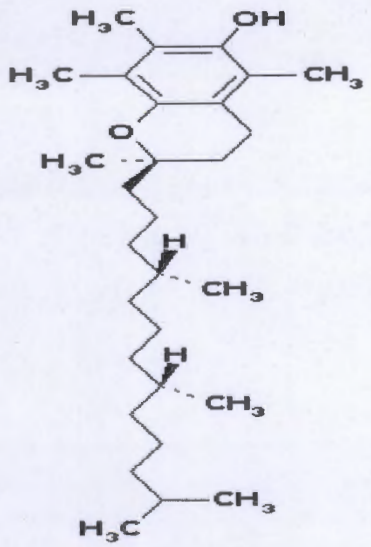
شكل09 : الصيغة الكيميائية لحمض الأسكوربيك [67]

ب- الفيتامين E

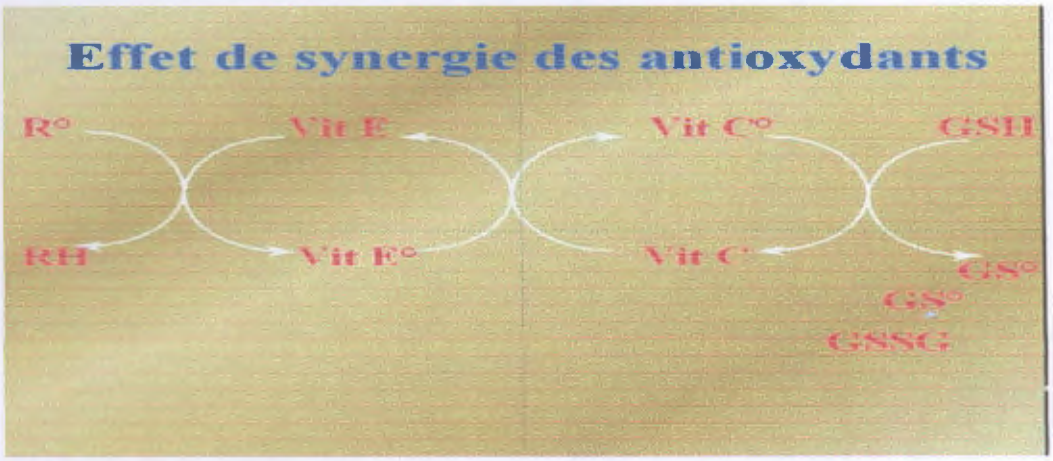
يعتبر الفيتامين هذا الفيتامين من أكثر مضادات الأكسدة ذوبانية في الدهون و تعرف مركباته بالتوكوفيرولات و التوكوترينولات و من أهم مركباتها ألفا توكوفيرول [31].

و الفيتامين E يلعب دورا حيويا في حماية الأغشية الخلوية من التلف التأكسدي و بالتالي منع الكولسترول من الالتصاق بجدران الشرايين حيث أن هذا الفيتامين يقوم باقتناص الجذور البيروكسية في الأغشية الخلوية و لذلك يطلق عليه كاسح الجذور . كما تعمل مركبات الفيتامين E على منع أكسدة بعض العناصر الغذائية و إعاقة سلسلة التفاعلات التي تؤدي إلى أكسدة الدهون و الزيوت و ذلك بمعادلة مركبات الأنواع الأكسجينية التفاعلية [66] [67].

و من المصادر الغنية بهذا الفيتامين : زيت النخيل و الذرة , الفول السوداني , الخضروات الخضراء , بعض الفواكه ,...إلخ [69].



شكل 10 : الصيغة الكيميائية للفيتامين E [70]

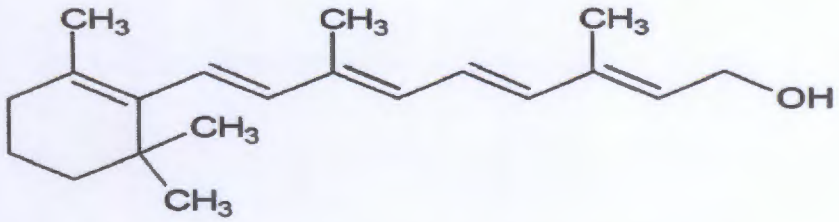


الشكل 11: مثال عن تفاعلات مضادات الأكسدة بالأخذ بعين الاعتبار الفيتامينات E و C [69]

ت- الفيتامين A

و هو من المركبات القابلة للذوبان في الدهون , يلعب دور مهم في الرؤية الليلية , نمو العظام , الإنجاب ... إلخ . والفيتامين A من مشتقات الكاروتينويدات , و ثبت أن هذه الفيتامينات تعمل كمضادات للأكسدة في التجارب المخبرية كما تحمي الخلايا من الجذور الحرة [71].

و من أهم مصادره النباتية : الخضروات , الفواكه , الكاروتينويدات , و مصادر حيوانية مثل : الزيت , الحليب و البيض [68].



الشكل 12: الصيغة الكيميائية للفيتامين A [67]

- السيتوكروم C

يتواجد السيتوكروم C في الفراغ البين غشائي بكمية و يمكن أن تختزل كميته تحت تأثير إلكترونات السلسلة التنفسية و جزيئات البيروكسيدات , كما أن غياب أو نقصان السيتوكروم C يؤدي إلى إنتاج كمية كبيرة من الـ ROS و من هنا نستخلص دور السيتوكروم C كمضاد للأكسدة [69].

- **الفلافونويدات**

هي عبارة عن مركبات متعددة الفينول تملك بنية كيميائية ثنائية تعتبر كمضاد للأكسدة الأكثر فعالية في الوسط الخارج الخلوي [72] , حيث تعمل على تثبيت الجذور البيروكسيدية ,لكن تستطيع أيضا تثبيط الـ ROS مثل أيون $O2^{\cdot-}$, الجذر $OH^{\cdot}$ و الأكسجين الذري .

تتواجد بكثرة في العديد من الأنواع النباتية , الأوراق , الأزهار ,حبوب الطلع , الفواكه و تركيزها يتزايد حسب درجة تعرضها للشمس [73].

- **NADPH**

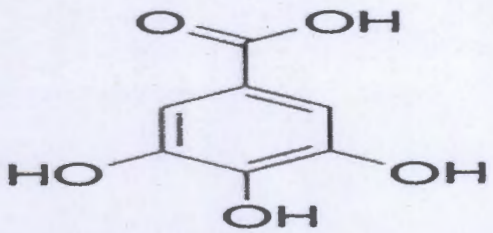
أكد العديد من العلماء أن NADPH مضاد أكسدة غير إنزيمي , يتواجد بتراكيز عالية في ميتوكوندريات الثدييات , ويتمثل دوره بصفة عامة في تثبيط عمل الأنواع الأكسوجينية التفاعلية (ROS) بمنع الأضرار التي يمكن حدوثها على مستوى البروتينات و ADN الميتوكوندري [69] .

- **حمض البولة L'Acide Urique**

وهو الناتج النهائي لميتابوليزم البيورينات (Les purines) , له خاصية أساسية كمضاد للأكسدة بإمكانه تثبيط عمل الجذور الحرة بتراكيز فسيولوجية و خاصة $O2^{\cdot-}$, $OH^{\cdot}$, إذ يمكن اعتباره كمضاد أكسدة بلازمي الأكثر فعالية في منع إعادة تنشيط الـ ROS و في الغالب يكون غير نشط ضد الجذور الحرة الليبيدية [74].

- **حمض الغاليك Acide Gallique :**

يسمى أيضا حمض 5.4.3 ثلاثي هدر وكسي بنزوتيك, متعدد فينول له لون أصفر.يعمل على إبطال مفعول الأنواع الأكسوجينية التفاعلية , يتواجد في النباتات , الفواكه وكذلك في أوراق الشاي الأخضر والأسود [75] .



الشكل 13 : الصيغة الكميائية لحمض الغاليك [75]

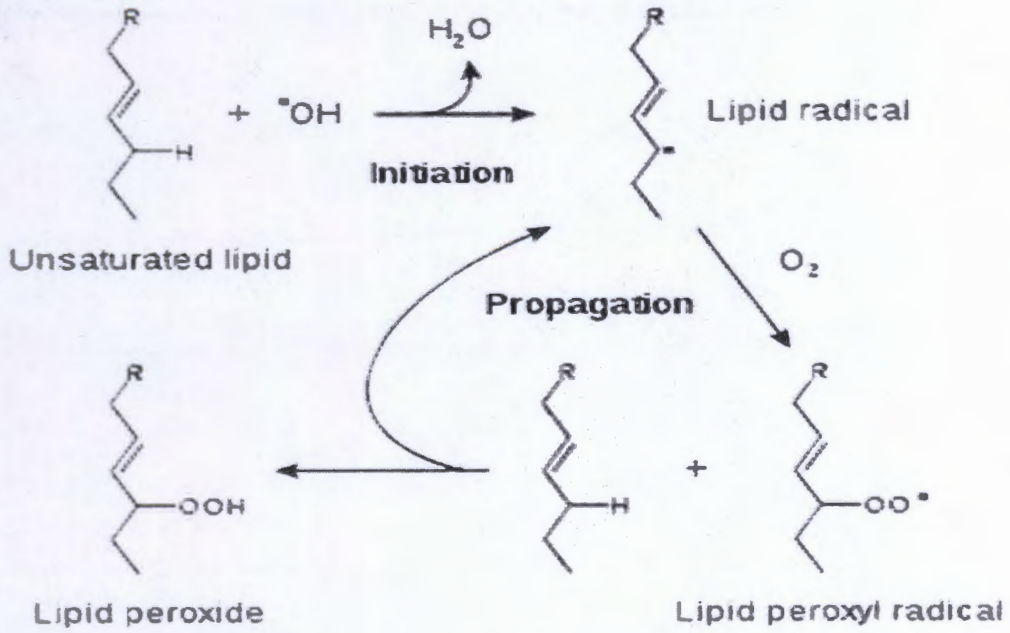
I-5- المؤشرات البيولوجية للإجهاد ألتأكسدي

تتفاعل الجذور الحرة مع كل مواد الأساس البيولوجية مثل :البروتينات , الليبيدات و حتى الحمض النووي منقوص الأكسجين معطية بذلك مشتقات يمكن اعتبارها كمؤشرات لوجود إجهاد تأكسدي [76].

I-5-1- مؤشرات البيروكسيدات اللبيدية

تعتبر الأحماض الذهنية غير المشبعة المكونة للغشاء الخلوي الهدف الرئيسي للجذور الحرة و التي تؤدي إلى تكوين البيروكسيدات اللبيدية (LipoPéroOxyde : LPO) بواسطة إنزيم بيروكسيداز, يمكن قياسها في البلازما أو الدم بالأخذ بعين الاعتبار كل من الحساسية و النوعية [77] , كما هو موضح في الشكل الموالي (13) .

يتفكك الـ LPO إلى Malonyl Dialdehyde (MDA) , 4-hydroxynomeral (4MNE) , Ethane و pentane التي تشير إلى الإجهاد التأكسدي . إضافة إلى تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة Diènes Conjuguérs الذى يتم على مستوى جزيئة الفسفوليبيد (الجذرين 1 و 2الكارهين للماء) المشكلة للغشاء [78].



الشكل14 : ألية أكسدة اللبيدات [68]

I-5-2- مؤشرات أكسدة البروتينات

إن قياس المجاميع الكربونيلية على مستوى البروتينات المؤكسدة , هي العملية الأكثر استعمالا [79] . ففي وجود 2-4- nitrophenylhydrazine (DNPH) هذه المشتقات الكربونيلية نستطيع معايرتها بيولوجيا بواسطة spectrophotometre و High-performance liquide chromatography (HPLC) أو بواسطة الأجسام المضادة أحادية أو متعددة [80].

I-5-3- مؤشرات أكسدة ADN

يوجد العديد من نواتج تفاعل الجذور الحرة على ADN إذ نميز : 8- hydroxy guanine, , cytosine glycol , 8-hydroxy-guanosine , thymidine glycol 8-hydroxy-adenine , 8-hydroxy-mèthyl-uracil [81] , حيث أن كل من (8-OH-DG) 8-hydroxy-2desoxyguanosine و thymidine glycol على التوالي تعتبر مؤشرات جد مهمة [82].

حاليا نستطيع تحديد 8-hydroxy-2-desoxyguanosine بواسطة تقنية مناعية سهلة الإستعمال سواء في البلازما أو في البول [3].

I-6- الأمراض الناتجة عن الإجهاد التأكسدي

أغلب الأمراض المرتبطة بالجهد المؤكسد تظهر مع تقدم السن ,فالشيخوخة تنقص بفعل مضاءات الأكسدة و تزيد بإنتاج الميثوكوندري للجذر الحر. [83].

- **الشيخوخة**

يمكن تعريفها بأنها المرحلة التي تقل فيها مقدرة الفرد على تجديد خلاياه مما يؤدي إلى الموت الخلوي وهدا راجع للأكسدة على مستوى الميثوكوندري, و هناك عدة نظريات لظهور الشيخوخة أهمها تأثير الجذور الحرة على الخلايا و الأنسجة التي تضعف من وظائفها و كمثال على ذلك عتمة عدسة العين, فالتأثير يكون في العين و شبكية العين الذي له علاقة بإنخفاض تركيز مادة الغلوثاثيون [84].

- **الأمراض العصبية**

كثير من أمراض الجهاز العصبي و خاصة النوبة الدماغية , قلة الدم الذي يروي الدماغ , التصلب المتعدد , الشلل الرعاشي ,...الخ لها علاقة بعوامل التأكسد , و قد اكتشف بأن كل من أحادي الآزوت (NO)

, و أنيونات فوق الأكسيد ($O_2^{\cdot-}$) هي من أهم العوامل التي تتلف خلايا الدماغ و الأعصاب بعد التعرض للنوبات الدماغية [83].

- **أمراض الكلى و السكري**

هناك علاقة بين ارتفاع ضغط الدم , أمراض الكلى و الإجهاد التأكسدي , حيث أكدت الأبحاث أن الإجهاد التأكسدي هو سبب الخلل الحاصل في شرايين الكليتين حيث تساعد عوامل الأكسدة على حدوث الالتهابات داخل هذه الشرايين , إذن فالتأكسد هو المسؤول عن ضرر الكلى بداء السكري ,هذا الأخير يعتبر من

الأمراض الواسعة الانتشار حيث يؤدي إلى زيادة في إنتاج مادة أكسيد النتريك مؤديا إلى الزيادة في مضاعفاته والحث على إنتاج الجذور الحرة و عوامل التأكسد في معامل إنتاج الطاقة (الميتوكوندري) [85].

- **أمراض القلب و الأوعية الدموية**

يكون تأثير الأكسدة بطريقتين : الأولى تطور تصلب الشرايين على المدى الطويل , و الثانية التخريب المفاجئ الذي يحدث خلال النوبة القلبية فالأكسدة التي تحدث بواسطة الجذور الحرة يمكن أن تساهم في نشوء تصلب الشرايين و ذلك عن طريق أكسدة الشحوم البروتينية منخفضة الكثافة (LDL) .

- **العدوى بالسيدا**

العدوى بالسيدا (Virus d'immuno deficience humain , VIH) تحرض على تحرير الـ TNF (Tumor Nicrosis Factor) , و إنتاج الجذور الحرة يكون متبوع بنشاط بعض الجينات و ارتفاع التعبير المورثي لـ VIH , و نلاحظ عند الأفراد ذات المصل الإيجابي نقص في الفيتامين E , السيلنيوم و الغلوتاتيون التي تدخل في نشاط الغلوثاتيون بيروكسيداز ؛و في مرحلة متقدمة من المرض نسجل ارتفاع فوق الأكسدة الليبيدية (MDA). بصفة عامة يجب معرفة أن الـ ROS تخل من الرد المناعي و تحث على نقصان التعبير الوراثي للأنترلوكين2 (IL2) [84].

- **السرطان**

من أهم العوامل المسببة للأمراض السرطانية : استعمال المضافات الغذائية المحظورة الاستعمال مثل مادة برومات البوتاسيوم , و هي مادة مبيضة و مساعدة على النضج . حيث من المعروف أن الدقيق الحديث الطحن الذي يميل لونه إلى الصفرة ينضج مع طول مدة التخزين و يتحول ببطيء إلى اللون الأبيض, و لهذه

المادة خاصية زيادة سرعة التبييض و المساعدة على النضج في وقت أقل مما يوفر النفقات المترتبة عن التخزين , حيث أن مادة برومات البوتاسيوم تؤدي دور عامل مؤكسد في عجينة الخبز, أين تعمل على زيادة مرونتها , و ظهر أخيرا أن لهذه المادة تأثير مسرطن سام للجينات لذا تم حذفها من قائمة المضافات الغذائية عام 1920م [86].

المحور الثاني :

كريات الدم الحمراء

II-1 الـــــدم

II-1-1 تعريفه

هو عبارة عن عضو لكنه بدون حدود ثابتة [87], وهو الجزء السائل من الجهاز الدوراني الذي يعتبر بمثابة جهاز التوصيل داخل جسم الكائن الحي [88], كما يتكون من مجموعة متنوعة من الخلايا تسبح في سائل لزج هو البلازما,وظيفته هي المساعدة في الحفاظ على الحالة الفيزيائية و الكيميائية للمحيط الداخلي للخلايا ثابتة, ويسمى ثبات الاتزان (homéostasie)من أجل ذلك يجب أن يدور طوال فترة الحياة [89] , كما يقوم بنقل الغازات (CO_2,O_2) و العناصر المغذية, نقل نواتج عملية الأيض من وإلى خلايا الجسم [90].

II-1-2 مكوناته

يتكون الدم من مكونات خلوية ولاخلوية تتألف من مادة سائلة هي البلازما وجسيمات صغيرة يطلق عليها الصفيحات الدموية [89].

أ - المكونات الخلوية

- **الكريات الدموية الحمراء**

هي خلايا غير متحركة عديمة النواة والميثوكوندري, تكون في شكل أقراص مقعرة الوجهين, يصل قطرها إلى حوالي 7,5 مكرومتر وهي أكثر الخلايا وفرة في الدم, تكون نسبتها في الدم حوالي 43%-55% بمعدل 4,5 – 6 مليون/ ملم^3 من الدم [88].

- **الكريات الدموية البيضاء**

تختلف كريات الدم البيضاء عن الحمراء في جميع الصفات والوظائف, فهي لا لون لها. وسميت بيضاء لعدم إحتوائها على الهيموغلوبين, لها أنوية وأكبر حجما من كريات الدم الحمراء وأقلها عددا [89], يبلغ معدلها الطبيعي في الدم حوالي 7000 خلية/ملل من الدم, ويزداد عددها في الحالات المرضية , وعمرها قد يصل إلى عام كامل [91].

ب - المكونات اللاخلوية

- البلازما

تحتل 55-75% من حجم الدم, وهي عبارة عن محلول مائي(90%) تحتوي على الإلكتروليتات ,الجزيئات الغذائية, البروتينات,الفيتامينات والهرمونات. في معظم الحالات تكون عديمة اللون [88] [92].

- الصفيحات الدموية

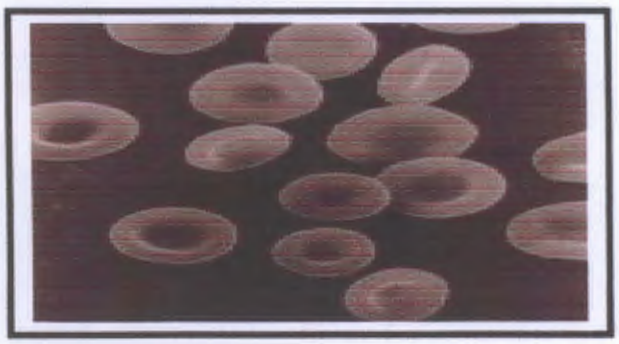
هي عبارة عن جسيمات صغيرة لا تحتوي على أنوية في جميع مراحل تكوينها, تتواجد على شكلين : دائري وعصوي, متجانسة, لا يحتوي سيتوبلازمها على أي نوع من الحبيبات, يتراوح عددها عند الإنسان مابين 150-350 ألف صفيحة دموية لكل ملل من الدم , لها وظائف هامة مثل: إفراز إنزيم الترومبوكيناز اللازم لعملية تخثر الدم, تلتصق بسبب لزوجة أسطحها فتشكل سدادة صفيحة دموية تغلق الجرح وبذلك يتشكل مايعرف بالخثرة البيضاء [89].

II-2 الكريات الدموية الحمراء

II-2-1 تعريفها

تعتبر الكريات الدموية الحمراء من أكثر الخلايا انتشارا في الدم,تكون في شكل أقراص مقعرة الوجهين, عديمة النواة و تفتقد للعضيات (جهاز كولجي, الميتوكوندري...) [93].

تظهر تحت المجهر الضوئي على شكل قرص فاتح اللون ذو سمك صغير مقارنة بالحواف [94], تحتوي على صبغة حمراء تدعى خضاب الدم أو الهيموغلوبين (Hb) الضرورية للتبادلات الغازية [95] .



الشكل15 : الكريات الدموية الحمراء [96]

جدول 02 : المعطيات العددية الخاصة بالكريات الدموية الحمراء [93]

الخصـــــائص	التـــعداد
• نسبتها في الدم	• 40 %
• عددها	• 5-4 مليون /ملم3
• قطرها	• 9-6 مكرومتر في الحواف
• سمكها	• 1 مكرومتر في المركز
• عددها الكلي في الدم	• أكثر من 25 بليون
• مدة حياتها	• 120 يوم
• تركيز هامن الهيموغلوبين	• 140غ/ل للرجال 120غ/ل للنساء
• محتواها من الهيموغلوبين	• 30 بيكوغرام للكرية الواحدة
• الإنتاج اليومي	• $2*10^{11}$ كرية
• مكان التخليق	• النخاع الأحمر للعظام.

II-2-2 غشاء الكرية الدموية الحمراء

تتكون كريات الدم الحمراء من قسمين : الغشاء البلازمي و المحتوى الداخلي المتمثل في : 63% ماء, 33% هيموغلوبين, 4% إنزيمات.

غشائها البلازمي عبارة عن غلاف مرن يلعب دور أساسي في إعطائها شكل خلية (البروتينات) و التحكم في خاصية تغيير الشكل. و على مستوى هذا الغشاء تتفاعل معظم العوامل الفيزيائية أو الكيميائية التي تؤدي إلى حدوث اضطرابات مورفولوجية أو وظيفية للكريات الدموية الحمراء **[87].**

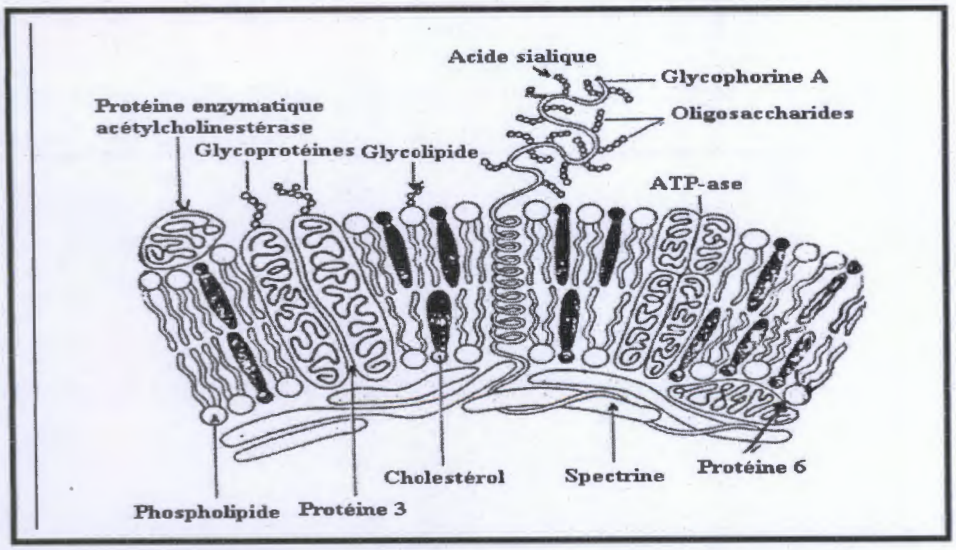
و يعود الشكل المقعر لهذه الأخيرة إلى وجود الهيكل الخلوي و إلى محتواها من الماء الذي يسمح بالتبادلات الغازي **[90].**

من الناحية التركيبية : الغشاء البلازمي يتكون من شبكة مضغوطة من بروتينات نوعية (50% بروتينات) (الهيكل الخلوي) و طبقة ثنائية لبيدية خارجية (50 % لبيدات) .

الأربع بروتينات المكونة للهيكل الخلوي هي على التوالي : السباكترين (Spectrine) , اللاكتين (Lactine), البروتين 4 , 1 4,1 (Proteine) و الآنكيرين (Ankyrine).

يمثل السباكترين أهم بروتين في الهيكل الخلوي حيث يتكون من سلسلتين ألفا و بيتا مرتبطة مع بعضها البعض. خيوط السباكترين تلتف فيما بينها بواسطة خيوط الأكتين القصيرة مشكلة هيكل مرن , و بالإتحاد مع البروتين4 ,1 يتثبت على بقية الغشاء بواسطة الآنكيرين الذي يلف السلسلة بيتا للسباكترين مع الجهة السيتوبلازمية لبروتين غشائي يدعى : الشريط 3 .

أما الطبقة الليبيدية الثنائية تمنحه الخاصية الكارهة للماء وتتكون أساسا من فسفوليبيدات تتخللها جزيئات الكلسترول بطريقة تسمح بتماسك الغشاء مع المحافظة على الميوعة بين الطبقتين [93] [96].



الشكل 16: غشاء الكرية الدموية الحمراء [96]

II-2-3 وظيفة كريات الدم الحمراء

تقوم خلايا الدم الحمراء بنقل الأكسجين(O_2) من الرئتين الى خلايا الجسم و نقل ثاني أكسيد الكربون من خلايا الجسم إلى الرئتين و بذلك تحافظ على أيون الهيدروجين (pH) بواسطة انزيم Annhydrase Carbonique الذي يتواجد على سطح كريات الدم الحمراء و الذي يحول البيكاربونات (HCO_3^-) إلى ثاني اكسيد الكربون (CO_2) أو العكس حسب احتياج الجسم [97].

- **نقل الأكسجين**

ينتقل الـ O_2 في صورتين ذائبا في البلازما بكمية ضئيلة جدا أو مرتبط مع الهيموغلوبين و بالضبط مع الحديد مكونا أكسيد الهيموغلوبين, وهو ارتباط ضعيف جدا وعكوس .

هذه العملية تسمى بالأكسجة (Oxygénation) [89] [98].

$$Hb4 + H_2O \Longleftrightarrow Hb(O_2)_4 \qquad [89]$$

- نقل الـــ CO_2

ينتقل ثاني أكسيد الكربون بثلاث صور:

- ذائبا في البلازما بنسبة بسيطة لا تتعدى 5% من الحجم الكلي للغاز.
- متحدا مع الهيموغلوبين مشكلا مركب كاربامين هيموغلوبين الذي يتفكك بدوره في الرئتين معطيا ثاني أكسيد الكربون [89] [98].
- على هيئة بيكاربونات غير عضوية حسب التفاعل التالي:

$$CO_2 + H_2O \Longleftrightarrow H_2CO_3 \Longleftrightarrow HCO_3^- + H^+ \qquad [89]$$

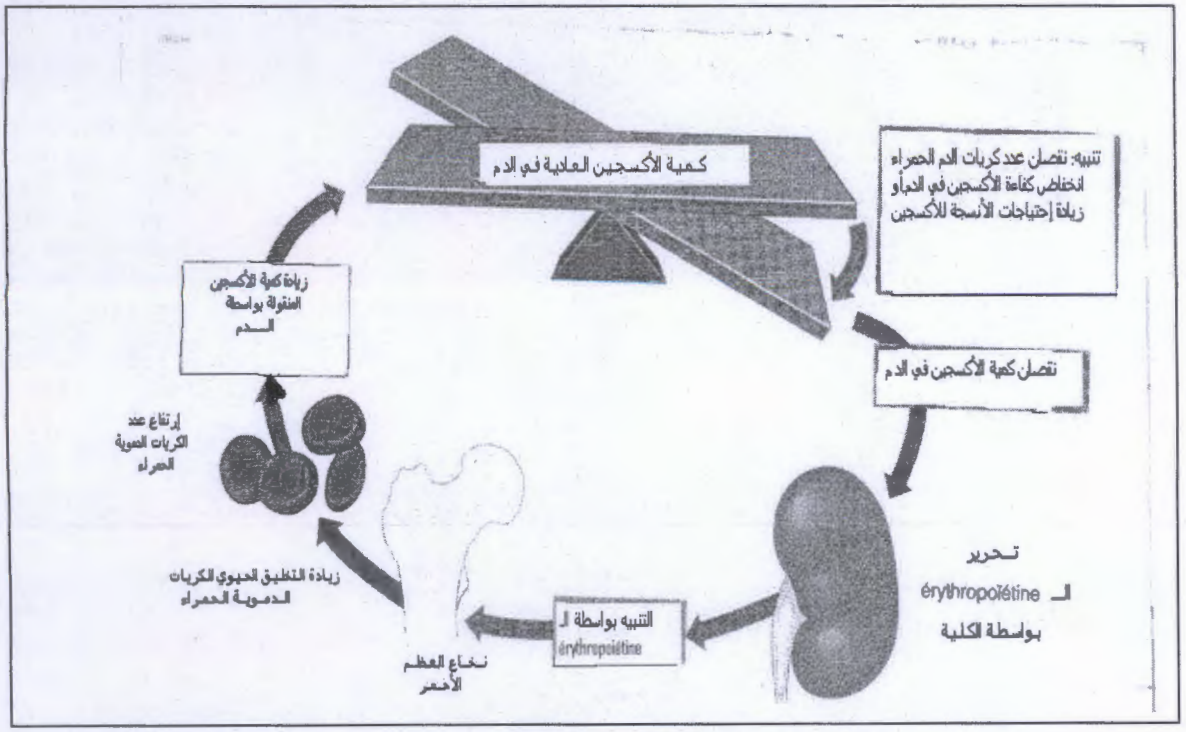
II-2-4 التخليق الحيوي لكريات الدم الحمراء Erytropoièse

في المراحل الجنينية تخلق الكريات الحمراء في الكيس المحي , الكبد, الطحال , العقد اللمفاوية, الغدد التيموسية و بعدها في نخاع العظم [88].

عملية التخليق هي عبارة عن تمايز كريات الدم الحمراء إنطلاقا من خلايا أولية تدعى: Proérythroblaste خلال مراحل متتالية نلاحظ عدة تغيرات مرفولوجية تلخص فيما يلي :

- نقصان في حجم الخلايا.
- زوال النويات .
- طرد النواة .
- الفقد المتتالي للعضيات الخلوية (نقص عدد متعدد الديوزومات يؤدي إلى انخفاض الخلايا القاعدية).
- الزيادة في تركيز الهيموغلوبين السيتوبلازمي المسؤول على تخليق Eosinophile [93].

يحفز عملية تصنيع الكريات الحمراء نقص الأكسجين وعدد الكريات وذلك من أجل تعويض المتحطمة منها [89] , ويتم التحكم في هذه العملية هرمون يسمى : Erythropoïétine الذي يفرز من الكلية و يحفز تمايز الخلايا الجدعية (توجد في النخاع العظمي) إلى خلايا الأرومة الحمراء الأولية Proérythroblaste [99].

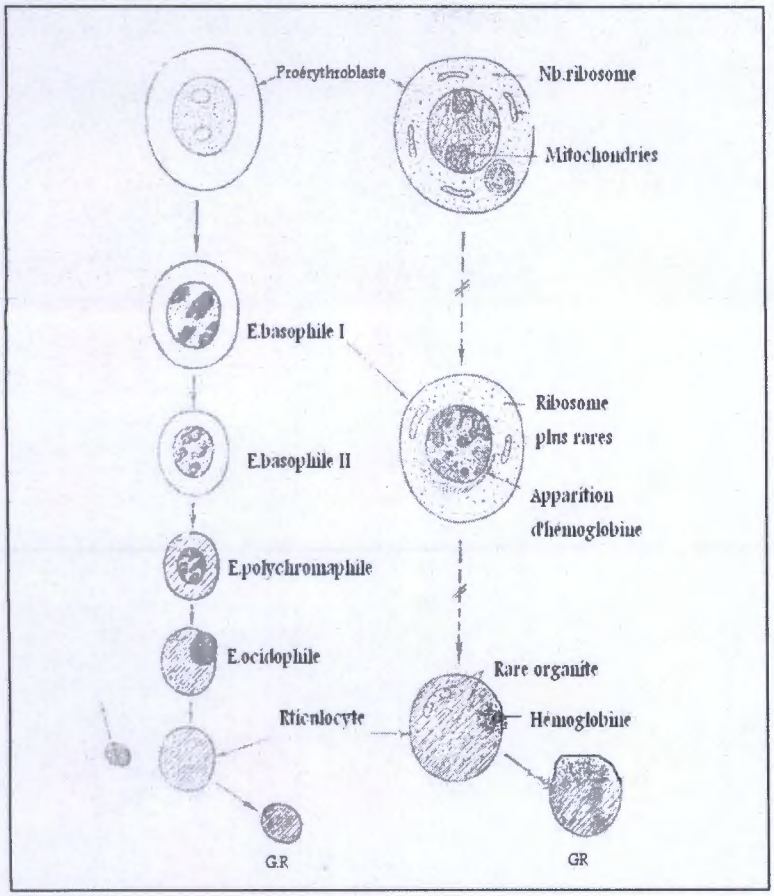


الشكل 17: تنظيم سرعة تخليق الكريات الحمراء [91]

ونلخص عملية التخليق في المراحل التالية:

بعد تمايز الخلايا الجدعية إلى خلايا الأرومة الحمراء الأولية كل مرحلة تليها تمثل انقسام خيطي متساوي (Mitose) معطية خليتين تسمى كل منهما أرومة الكريات الحمر القاعدية النوع I (Erythroblastes basophile Type I)ثم أربع خلايا النوع II , هذه الأخيرة تتمايز إلى ثمانية أرومات متعددة الأصباغ النوع I (8 Erythroblastes polychromaphiles type I), تنقسم بدورها إلى 16 أرومة متعددة الأصباغ النوعII .

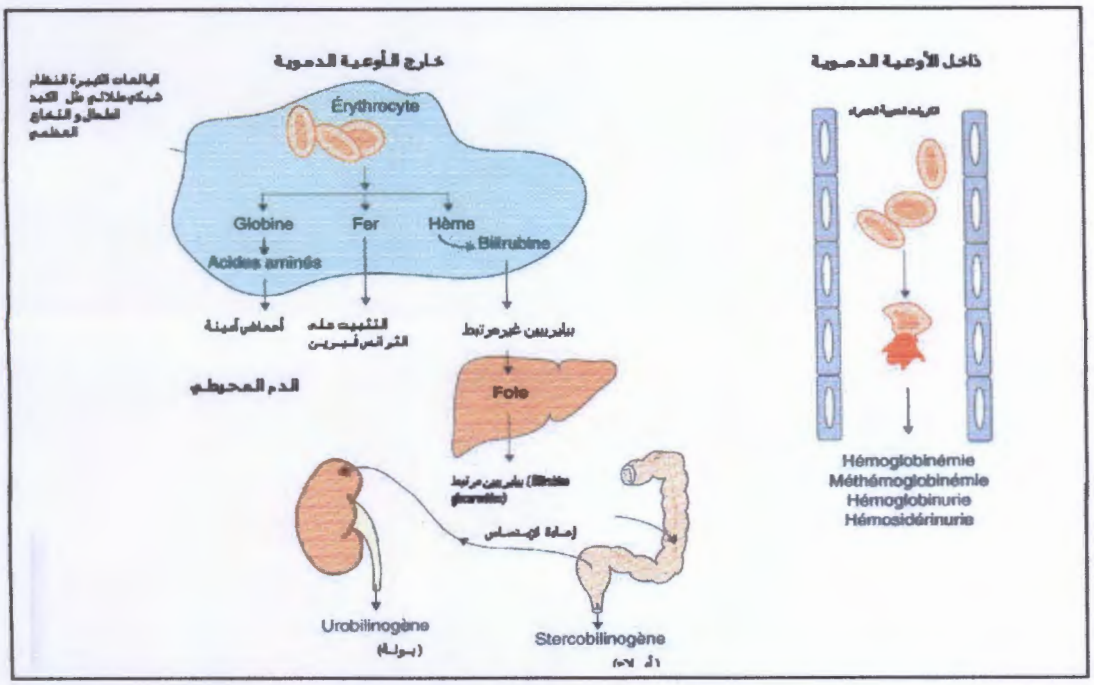
تستمر عملية تصنيع الهيموغلوبين وتنكمش أنوية الكريات متعددة الأصباغ وتسمى المرحلة اللاحقة الأرومة الحمراء السوية (Nomablastes) لما تصل نسبة الهيموغلوبين في هذه الخلايا إلى حوالي 34 % تختفي النواة , تسمى هذه الخلايا العديمة النواة بالخلايا الشبكية (Réticulocytes) لاحتوانها على جزء من الشبكة الأندوبلازمية وتبقى بهذا الشكل لمدة 48 ساعة خلالها يتم ضمور هذا الجزء من الشبكة معطية بذلك كرية حمراء مكتملة النمو (Erythrocytes) لا تتكاثر لعدم احتوائها على نواة **(الشكل 16)** **[100] [101].**



الشكل18: التخليق الحيوي لكريات الدم الحمراء [102].

5-2-II الموت الخلوي لكريات الدم الحمراء

بعد مرور 100يوم من عمر كريات الدم الحمراء , تظهر عليها إشارات دالة على شيخوختها خاصة الانخفاض في عملية التحلل السكري مع فقدان مرونة اللبيدات الغشائية ليتم إلغائها من الدورة الدموية بواسطة البالعات الكبيرة الموجودة في الكبد والطحال والنخاع العظمي (Extravasculaire) . الجزء الأكبر من الهيموغلوبين يتفكك إلى الحديد (Fe) الذي يعاد استعماله وإلى الـ Protoporferrine الذي يتحول إلى صبغة صفراء (Bilirubine) و يطرح جزء منه على شكل غازات بعد تعرضه لسلسلة من التحولات , أما الجزء المتبقي فيطرح كما هو (لايتفكك) في البول ويمكن أن يعاد امتصاص جزء منه بواسطة الأنابيب الكلوية متفككا إلى (Hémosiderine) , كما يمكن لكريات الدم الحمراء أن تتعرض للانفجار داخل الأوعية الدموية (Intravasculaire) مؤديا إلى ارتفاع الهيموغلوبين البلازمي والبولي **[96][103] .**



الشكل 19: موت كريات الدم الحمراء [103]

II-2-5 ميثابوليزم كريات الدم الحمراء

يهدف الميثابوليزم الطاقوي لكريات الدم الحمراء إلى تجديد الأنظمة الدفاعية ضد العوامل المؤكسدة مثل الغلوتاثيون المرجع (Glutathion réduit) والمثهيموغلوبين ريدوكتاز(Méthémoglobine réductase) إضافة إلى تصنيع الـ ATP عن طريق منهج التحلل السكري وإنتاج المرافقات المرجعة ($NADH,H^+$)عن طريق المنهج السابق والـ $NADPH,H^+$ بواسطة منهج البنتوز فوسفات (Pentose phosphate) [104].

ولكون كريات الدم الحمراء لا تحتوي لا على العضيات ولا على الميتوكوندري فهي تفتقد إلى السلسلة التنفسية (الفسفرة التأكسدية) , إذن فالمصدر الوحيد لإنتاج الطاقة [ATP] هو التحلل السكري في وسط لا هوائي انطلاقا من تفكك الغلوكوز إلى حمض البيروفيك ومنه إلى حمض اللبن [105].

أ- التحلل السكري

ويسمى أيضا منهج Embden-Meyerhof (90%)[106], هو مجموع التفاعلات التي تؤكسد الغلوكوز إلى حمض البيروفيك داخل السيتوبلازم أين تتواجد الإنزيمات الذائبة الضرورية وذلك على 10 مراحل, كما أنه لا يتطلب وجود الأكسجين (الشكل 18) [107].

ويمكن تلخيص هذه التفاعلات في ثلاث مراحل رئيسية :

- **المرحلة 01**

يتحول الغلوكوز إلى فراكتوز 1-6 ثنائي الفوسفات وهي مرحلة تتطلب الطاقة بصورة ATP في التفاعلين الأول والثالث والمغنيزيوم كمرافق إنزيم , وتشمل ثلاثة تفاعلات ثانوية : الفسفرة , التماكب , فسفرة ثانية. وهذه المرحلة تحفزها ثلاث إنزيمات هي على التوالي : Hexokinase , Phospho-gulcose isomerase , Phospho-fructokinase .

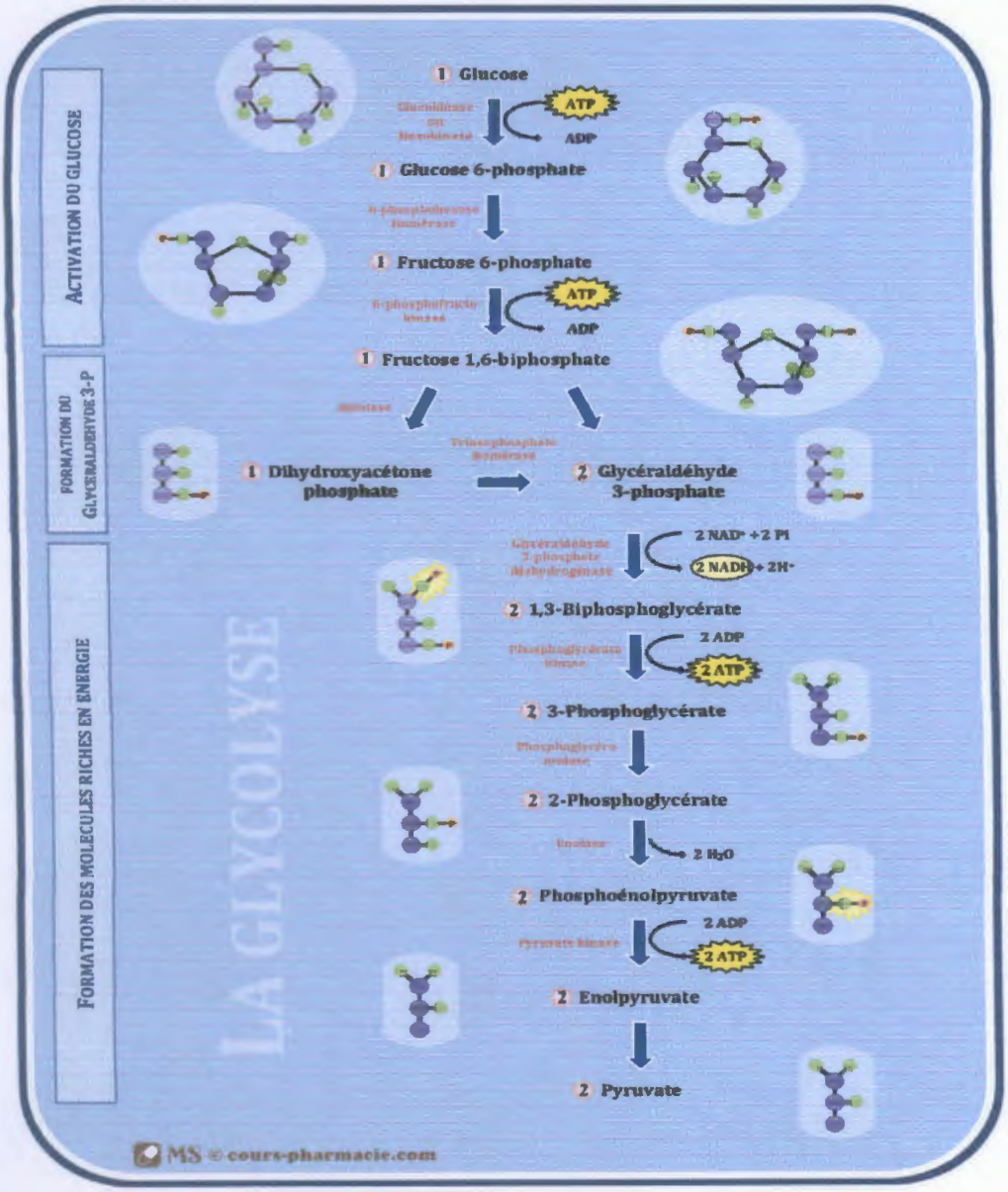
- **المرحلة02**

وهو تفاعل غير عكوس يحفز بواسطة إنزيم الـ Aldolase الذي يقوم بتجزئة الفراكتوز1-6 ثنائي الفوسفات إلى جزيئتين ثلاثية الكاربون : غليسر ألدهيد 3 فوسفات (GA3P) , ثنائي هدروكسي أسيتون فوسفات (DHAP) الذي يتحول إلى GA3P بواسطة إنزيمات الـ Triose phosphate isomérase

- **المرحلة 03**

أكسدة السكر الثلاثي إلى حمض البيروفيك التي تتضمن خمسة تفاعلات متتالية :

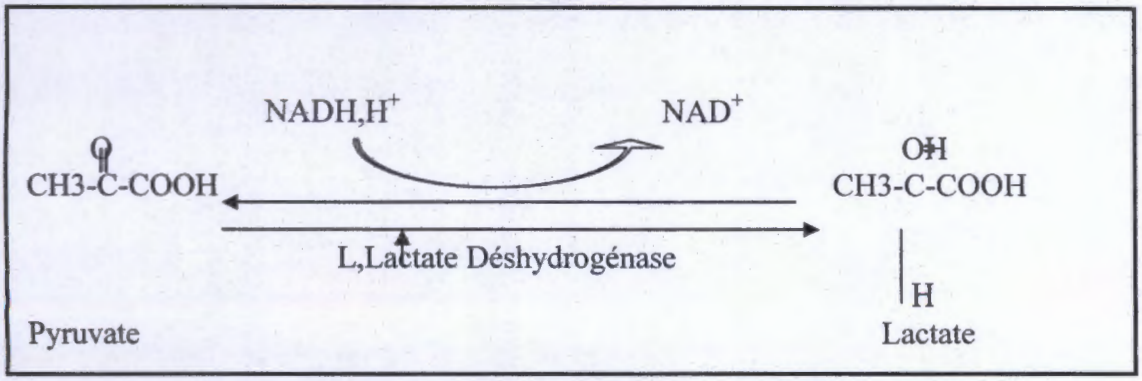
- **التفاعل الأول:** وهو تفاعل الفسفرة التأكسدية , يحفزه إنزيم Glycer Aldehyde 3 phosphate الذي يحول الـ GA3P .إلى 3,1 ثنائي الفوسفات غليسيرات(1,3 DPG) مع اختزال المرافق الإنزيمي NAD^+ (Nicotine Amide Adénine Dinucleotide).إلى الـ $NADH,H^+$.
- **التفاعل الثاني :** يحفزه إنزيم Phosphoglycérate Kinase الذي يعمل على تخليق جزئية الـ ATP انطلاقا من تحول الـ 1,3 DPG .إلى 3- فوسفوغليسرات (3PG) .
- **التفاعل الثالث :** خلاله يتغير موضع مجموعة الفوسفات من ذرة الكربون رقم 3 إلى ذرة الكربون رقم 2 معطيا 2PG (2Phosphoglycérate) بواسطة إنزيم Phosphoglycerate mutase .
- **التفاعل الرابع :** يتكون مركب فينولي هو Phosphoénole pyruvate وذلك عن طريق نزع جزيئة ماء بواسطة إنزيم الـ énolase .
- **التفاعل الخامس :** تفاعل فسفرة لا تأكسدي ينتج عنه حمض البيروفيك مع تخليق جزيئة ATP بواسطة إنزيم Pyruvate Kinase **[107] [108] [109].**



الشكل20 : تفاعلات التحلل السكري .[107]

ب- التخمر اللبني

يتم خلاله اختزال حمض البيروفيك إلى حمض اللاكتيك بواسطة إنزيم L,Lactate Déshydrogénase [LLD] في وجود الـ NADH الذي يؤكسد بدوره إلى الـ NAD^+ [105]



الشكل21 : تفاعل التخمر اللبني [105]

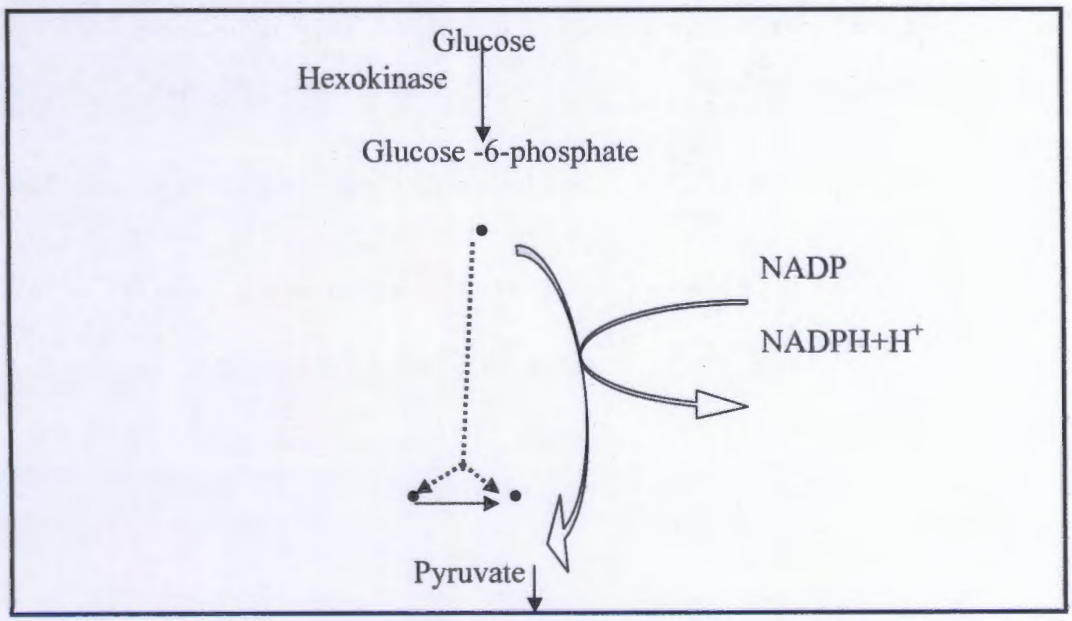
الناتج النهائي للتحلل السكري اللاهوائي هو حمض اللبن الذي يطرح في الدورة الدموية وجزيئتين ATP .
ويمكن التعبير عن عملية تحول الغلوكوز إلىحمض اللبن بالتفاعل التالي :

$$Glucose + 2Pi + 2ADP \longrightarrow 2\ Lactate + 2\ ATP + 2\ H_2O \quad [109]$$

ت- منهج الـ Pentose phospha

منهج مكمل , له دور أساسي في إزالة سمية الأكسجين ويزداد نشاطه عند تراكم المركبات المؤكسدة في الخلية [96], حيث لا يستهلك سوى 10 % من الغلوكوز المتحول إلى غليسرألديهيد 3 فوسفات بواسطة إنزيم Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase , خلال هذا التفاعل يتم اختزال جزيئتين من NAD^+ وخروج $3CO_2$.

انطلاقا من السكر الثلاثي الناتج تستكمل تفاعلات المرحلة الثالثة للتحلل السكري .



الشكل22: منهج الـ Pentose Phosphate [102]

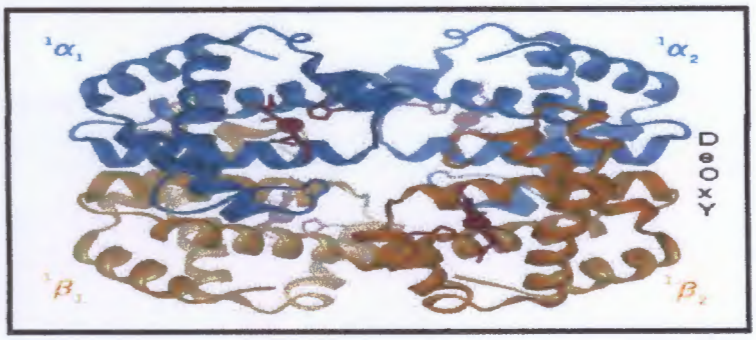
II-3 الهيموغلوبين

II-3-1تعريفه

الهيموغلوبين (Hb) أو ما يعرف بخضاب الدم هو المكون الأساسي للكرية الدموية الحمراء [99] , بروتين غير متجانس ذو وزن جزيئي يقدر بحوالي 64500 Da , يحتوي على جزء غير بروتيني هو الهيم وجزء بروتيني هو الغلوبين.

يتألف من أربعة سلاسل متعددة الببتيد متحدة مع بعضها بروابط غير تكافؤية هي : 2 ألفا (ألفا1 و ألفا2) 2 بيتا (بيتا1 و بيتا2) كل واحدة تحتوي جزيئة هيم وموقع واحد للارتباط مع الأكسجين.

تتراوح نسبة الهيموغلوبين مابين 14-16 غ/ 100مل من الدم عند الرجال أما عند النساء فهي تتراوح ما بين 13-15 غ/ 100مل من الدم [105] [110].



الشكل23 : بنية الهيموغلوبين [111]

III-3-2- وظيفته

وظيفته الأساسية يسمح للخلايا بحمل الأكسجين وثاني أكسيد الكربون , وإلى جانب هذه الوظيفة فإن الهيموغلوبين هو الصبغة التي تكسب الدم لونه الأحمر , فعندما يكون الدم في الرئتين فإن الهيموغلوبين يتحد مع الـ O2 ليشكل خضاب الدم المؤكسج وينقله للخلايا أين يزودها بالـ O2 ويأخذ منها الـ CO2 الذي يتحد مع الخضاب ليشكل كربامين خضاب الدم ليتخلص منه بعملية الزفير [89].

II-3-3 أنواعه

عند البالغ هناك عدة أنواع من الهيموغلوبين :

- **الهيموغلوبين A:** يمثل 97 % من الهيموغلوبين الكلي يتكون من سلسلتين ألفا و سلسلتين بيتا (2Alpha + 2 Bêta).

- **الهيموغلوبين A_2 :** يمثل حوالي 20 % من المجموع الكلي للهيموغلوبين, يتكون من 2 ألفا و 2دلتا (2Alpha + 2Delta).
- **الهيموغلوبين F :** نسبته أقل من 0,5 % , يتكون من 2 ألفا و 2 قاما (2Alpha + 2Gamma) **[87] [112].**

II-4 الهيموغلوبين المجلكز

II-4-1 تعريفه

هو نوع من خضاب الدم ينتج عن التثبيت غير الإنزيمي للجلوكوز أو أحد السكريات البسيطة ,وجلكزة الهيموغلوبين تتم تلقائيا عند تعرضه لتراكيز عالية من السكر في الدم. تتراوح نسبة الهيموغلوبين المجلكز في الدم ما بين 4 % - 6 % من الهيموغلوبين الكلي **[113]** .

II-4-2 أنواع الهيموغلوبين المجلكز

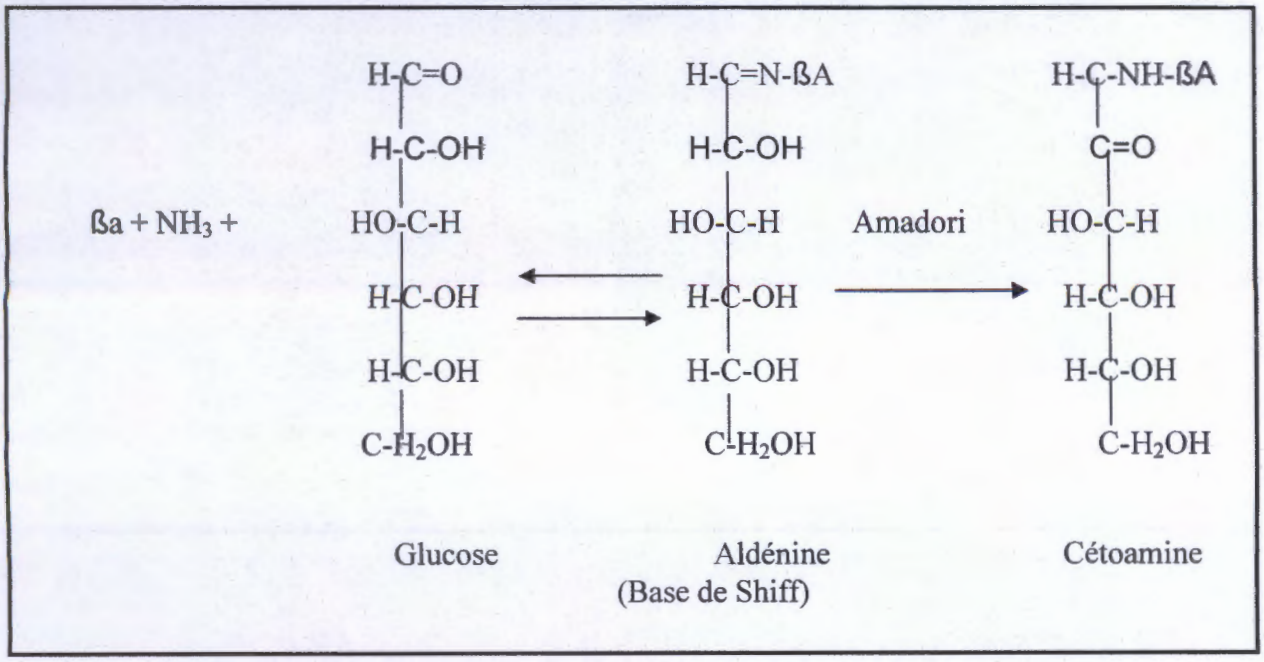
كجميع البروتينات جزيئة الهيموغلوبين قابلة للتعديل بواسطة تثبيت جزيئة غلوكوز أو أحد مشتقاته , وحسب نوع الجزيئة المرتبطة نميز الأنواع التالية :

- **HbA_1a_1 :** ناتج عن تثبيت جزيئة الغلوكوز -1-6 ثنائي الفوسفات.
- **$HbA_1\ a_2$:** ناتج عن تثبيت جزيئة الغلوكوز- 6-فوسفات.
- **HbA_1b :**ناتج عن تثبيت جزيئة البيروفات .
- **HbA_1c :** ناتج عن تثبيت جزيئة الغلوكوز **[114].**

II-4-3 تفاعل الجلكزة La Glycation

هو ظاهرة فزيولوجية بطيئة ومستمرة **[115]** تنتج عن تفاعل الغلوكوز مع الأحماض الآمينية في النهاية الآمينية (عند الإنسان يرتبط بالحمض الآميني فالين) للسلسلة بيتا للهيموغلوبين A (HbA) لتشكيل هيموغلوبين يسمى HbA_1 , هذا الارتباط لا يتطلب تدخل أي إنزيم فهو تفاعل غير إنزيمي , يمتاز بأنه بطيء ومستمر يحدث طوال فترة حياة كريات الدم الحمراء (120 يوم) **[64].**

يتم تفاعل الجلكزة على مرحلتين : أولا يتثبت الغلوكوز مباشرة بطريقة عكوسة على مجموعة الآمين النهائية [$-NH_2$] للهيموغلوبين مشكلة هيموغلوبين غير ثابت (Hb Labile) يسمى Aldenine , هذا المركب يحدث له إعادة ترتيب بطيء وغير عكوس (Amadori) معطيا هيموغلوبين مجلكز **[115].**



الشكل24 : تفاعل الجلكزة **[63]**

II-4-4 أهمية الهيموغلوبين المجلكز

يعتبر الهيموغلوبين المجلكز قيمة بيولوجية تسمح بتحديد تراكيز السكر في الدم (إرتفاع السكر في الدم) [117], حيث أنه إذا إرتبطت جزيئة الهيموغلوبين بالسكر فإنها ستبقى مرتبطة به . لذلك فإن قياس الهيموغلوبين المجلكز يعطي فكرة عن تركيز السكر في الأشهر الثلاثة السابقة(خلال 120 يوم) [118] . إضافة إلى أنه يعتبر مؤشر محدد خاص بالمتابعة العلاجية لمرضى السكري نوع I ونوع II, كما يسمح بتوجيه القرارات الطبية ويعطي فكرة عن خطورة الإصابة بالأمراض التي تحدث كمضاعفات للإصابة بمرض السكر مثل أمراض القلب والأوعية الدموية,أمراض الكلية وأمراض العين [119] [120].

توجد علاقة بين نسبة الهيموغلوبين المجلكز وتركيز السكر البلازمي في الدم.

جدول 03 : العلاقة بين نسبة الهيموغلوبين المجلكز(HbA1c) ومتوسط السكر في الدم [121] [122].

نسبة الـ HbA1c	متوسط السكر البلازمي (ميلي مول/ ل)	متوسط السكر البلازمي (غ/ل)
% 6	7.5	1.35
% 7	9.5	1.70
% 8	11.5	2.05
%9	13.5	2.40
% 10	15.5	2.75
% 11	17.5	3.10
% 12	19.5	3.45

المحور الثالث :

الوسائل والطرق

III -1- الوسائل

III-1-1- الوسائل البيولوجية

- **الجرذان**: استعملنا في هذه الدراسة جرذان بيضاء من سلالة Albinos Wistar مصدرها معهد باستور. تمت تربيتها في مستودع للحيوانات لقسم البيولوجيا داخل أقفاص حديدية , تتغذى أغدية عادية في ظروف عادية من درجة الحرارة والإضاءة (12/12سا).

III-1-2-الأدوات والاجهزة المستعملة

- أنابيب.
- ماصات دقيقة.
- محقنة.
- حامل.
- ميزان.
- حمام مائي.
- حاضنة.
- جهاز الطرد المركزي.
- جهاز قياس الكثافة الضوئية.

III-1-3- المحاليل والكواشف المستعملة

❖ **المحاليل**

-الماء الفسيولوجي : ندوب 9غ من الـ NaCl مدابة في 1000ملل من الماء المقطر.

- الكلوروفورم: 20 ملل.

- الميثانول: 10 ملل.

- محلول الـ SBA : Serum Albomine Boouvine(ألبومين المصل البقري) 1غ.

- الماء المقطر: 500ملل.

-محلول فوق أكسيد الهيدروجين :($H_2 O_2$) : بتركيز 2 ميلي مول /ل.

- SNP (Nitro Prociate de Sodium): 1ميلي مول / ل.

- حمض الغاليك.

❖ **الكواشف المستعملة**

- محلول أزرق الكوماسي

ندوب 20ملل من أزرق الكوماسي G 250 في 25 ملل إيثانول (95%), نضيف 50ملل من حمض الفوسفوريك (85%) . نكمل الحجم بالماء المقطر(400ملل) . نقوم بالرج جيدا بواسطة مخلاط حوالي 3 ساعات.يحفظ في الظلام تحت درجة حرارة المخبر [123] .

- الـ Cyclohéxane

III – 2- الطرق المتبعة

III-2-1- أخذ عينات الدم

تؤخذ عينات الدم بلطف على مستوى الشعيرات الدموية المغذية للعين (جيب المسار الخلفي أو الزاوية الخلفية) الغنية بالدم.بإستعمال أنبوب شعري يدخل إلى العمق في الجهة الأنسية للعين,يصعد الدم بفضل الخاصية الشعرية ويجمع في أنابيب تحتوي على الـ EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) أو الهيبارين.

الشكل 25: طريقة أخذ الدم من الجرذ

2-2III تحضير معلق كريات الدم الحمراء

تأخذ عينات الدم في أنابيب إختبار(5ملل) تحتوي على مانع التخثر EDTA . توضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000د/د لمدة 10دقائق,نتخلص من الطور الطافي الذي يمثل البلازما والكريات الدموية البيضاء ونسترجع الطور السفلي (الراسب) الذي يمثل كريات الدم الحمراء ونقوم بغسله بالماء الفسيولوجي أو الـ PBS (Phosphate Breffered Salin) ذو pH7.4 , نعامله بالطرد المركزي عند 3000د/د

لمدة 10دقائق.نكرر العملية مرتين إلى ثلاث مرات , وفي الأخير نحضر معلق كريات الدم الحمراء(10%) بإضافة 4,5 ملل من الماء الفسيولوجي إلى 0,5 ملل من راسب كريات الدم الحمراء.

III-2-3- تحضيرأغشية كريات الدم الحمراء

يتم تحضير أغشية الكريات الدموية الحمراء حسب طريقة Hanahan et Ekholm **[124]** حيث استعمل المحاليل التالية : محلول منظم متعادل PBS ذو Ph=7,4 أو الماء الفسيولوجي , الماء المقطر.

بعد الحضن نقوم بالطرد المركزي بسرعة 3000 د/ د لمدة 10 دقائق .

نتخلص من الطورالطافي و نسترجع الطور السفلي المتمثل في كريات الدم الحمراء, نقوم بتفجير هذه الأخيرة وذلك بإضافة حجم من الماء المقطر (4,5 ملل) نتركها جانبا لمدة 5دقائق ثم نعاملها مرة أخرى بالطرد المركزي , نغسل أغشية كرات الدم الحمراء على الأقل 4 مرات بالماء الفسيولوجي وذلك للتخلص من كل بقايا الهيموغلوبيين حتى تصبح ذات لون أبيض.

نحضر محلول الأغشية بإضافة 2ملل من الماء الفسيولوجي للأغشية المتحصل عليها.

III-3- تقدير مؤشرات الإجهاد التأكسدي على أغشية كريات الدم الحمراء

III-3-1- معايرة المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة Dièns conjuguées

معايرة المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة تقنية لونية تسمح بمعايرة نواتج الأكسدة الأولية, بالإضافة إلى ذلك فإن أكسدة الأحماض الذهنية متعددة الروابط الزوجية تؤدي إلى تشكيل بنيات زوجية التي تمتص بشكل خاص و متميز الأشعة فوق البنفسجية بطول موجة تتراوح ما بين 232-234 نانومتر فهي طريقة بسيطة وسريعة وغالبا ما تفتقد للنوعية **[125]** .

❖ **المبدأ و طريقة العمل**

تتم معايرة المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة بطريقة Buege et Aust **[125]** , انطلاقا من 1ملل من محلول الأغشية **(أنظر III-2-3)** نضيف 5ملل من محلول كلوروفورم / ميثانول (2 :1 حجم إلى حجم) , ثم نرج جيدا لمدة 5 دقائق , نتخلص من الطور العلوي ونسترجع الطور السفلي المحتوي على الكلوروفورم الذي يتم تجفيفه و الجزء المتبقي يضاف إليه 1,5 ملل من الـ Cyclohéxane وتتم قراءة الكثافة الضوئية على طول الموجة 234 نانومتر باستعمال الـ Cyclohéxane كشاهد .

أ- دراسة تأثير الـ H_2O_2 على تخليق الـ Diénes Conjugées

نأخذ أربع أنابيب إختبار , نضع في كل منها 0,5 ملل من معلق الكريات الدموية الحمراء **(أنظر III - 2-2)** ثم نضيف إليها أحجام متزايدة من H_2O_2 (60 , 80, 100 مكرولتر) بتركيز 2 ميلي مول / ل مع أنبوب شاهد

(H_2O_2=0) ثم نقوم بالتحضين عند درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة . بعد الحضن نحضر محلول الأغشية **(أنظرIII-2-3)**.

ب- دراسة تأثير H_2O_2 في وجود حمض الغاليك Acide Gallique على تخليق الـ Dièns Conjugées

نحضر أربعة أنابيب إختبار بإضافة لكل منها 0,5 ملل من معلق كريات الدم الحمراء , ثم نضيف أحجام متزايدة من حمض الغاليك (60 , 80 , 100 مكرولتر) مع كمية ثابتة من H_2O_2 (100 مكرولتر) مع أنبوب شاهد (H_2O_2 =100µL , AG = 0µL) توضع جميع الأنابيب في الحاضنة تحت درجة 37°م لمدة 24 ساعة ونقوم بتحضير محلول الأغشية الذي تقدر على مستواه الـ Diénes.

ج- دراسة تأثير الـ NO على تخليق الـ Diénes Congugées

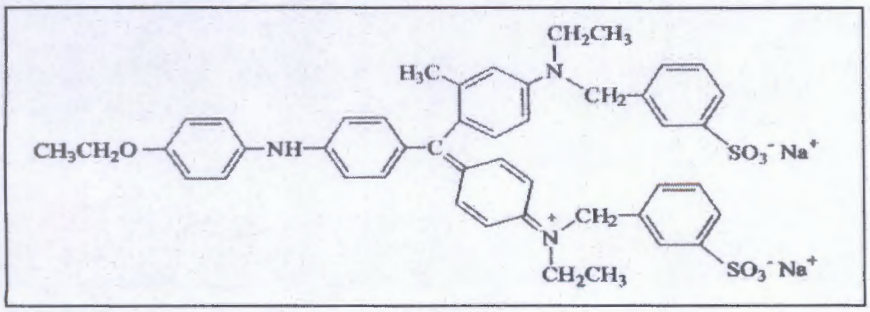
نأخذ خمس أنابيب إختبار , نضع في كل منها 0,5 ملل من معلق كريات الدم الحمراء ثم نضيف إليها أحجام متزايدة من(Nitro Prociate de Sodium) SNP) المستعمل كمصدر للـ NO (100 , 250 , 500 , 750 مكرولتر) مع أنبوب شاهد (لايحتوي على الـ NO) . تحضن الأنابيب عند درجة حرارة37°م لمدة 24 ساعة ,نحضر محلول الأغشية ثم نقوم بمعايرة الـ Diénes.

III-2-3- معايرة البروتينات الكلية حسب طريقة Bradford

هي طريقة لونية سريعة وبسيطة , أقل حساسية للتداخلات بواسطة مختلف العوامل الموجودة في عينات البروتين ماعدا المنظفات و القواعد القوية. تتغير بواسطة الـ pH و تعطي نتائج إيجابية مع البوليفينول الكاره للماء ذو الوزن الجزيئي الكبير.

❖ **المبدأ**

ترتكز طريقة Bradford **[127]**على التغيرات في الإمتصاصية تظهر على شكل تغيرات في لون أزرق الكوماسي وذلك بعد الإرتباط مع الأحماض الآمينية المكونة للبروتينات خاصة مع الآرجنين وبدرجة أقل مع الهيستدين , الليزين والأحماض الآمينية العطرية.



الشكل 26: طريقة إرتباط أزرق الكوما سي مع البروتينات [128].

❖ **طريقة العمل**

نأخذ 0,5 ملل من محلول الأغشية , ثم نضيف 2 ملل من كاشف أزرق الكوماسي. نرج ببطء ثم تحضن لمدة 5 دقائق تحت درجة حرارة المخبر (التفاعل يتم في الظلام) . ثم نقوم بقراءة الكثافة الضوئية بطول موجة 612 نانومتر مع استعمال أزرق الكوماسي كشاهد.

أ- دراسة تأثير الـ H_2O_2 على البروتينات الكلية

نأخذ خمس أنابيب إختبار (5ملل) ونضع في كل منها 0,5 ملل من معلق كريات الدم الحمراء, نضيف إليها تراكيز متزايدة من الـ H_2O_2 (40 , 60 , 80 , 100 مكرولتر) مع أنبوب شاهد (H_2O_2 = 0µL0) , نقوم بالحضن لمدة 24 ساعة تحت درجة حرارة 37°م , بعدها نحضر محلول الأغشية ثم نقوم بتحضير البروتينات الكلية.

ب- دراسة تأثير الـ H_2O_2 على البروتينات الكلية في وجود الفيثامين C

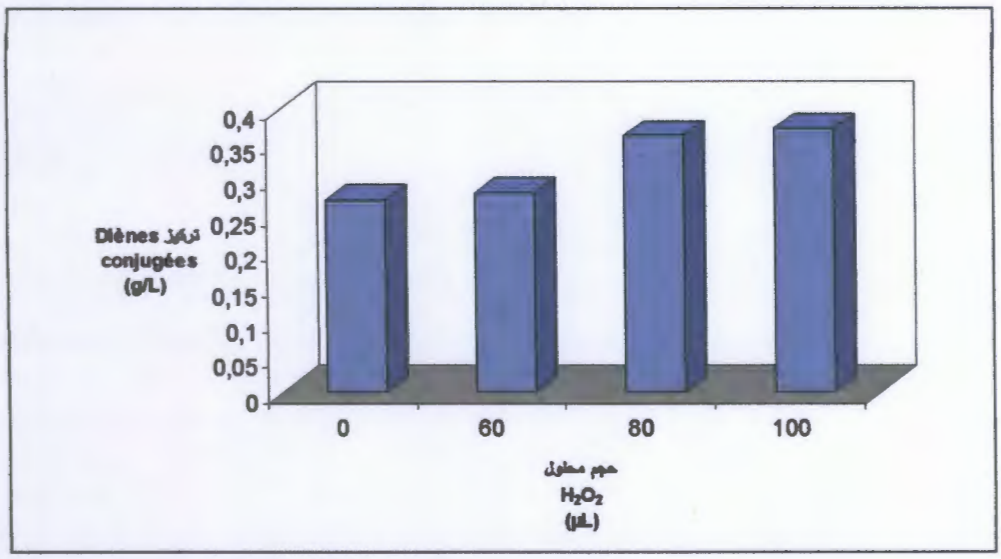
نأخذ خمس أنابيب إختبار , نضع في كل منها 0,5 ملل من معلق كريات الدم الحمراء , نضيف أحجام متزايدة من الفيثامين (40 , 60 , 80 , 100 مكرولتر) مع إضافة حجم ثابت من الـ H_2O_2(80ميكرولتر) مع أنبوب شاهد . توضع جميع الأنابيب في الحاضنة . بعد 24 ساعة نقوم بتحضير محلول الأغشية لكل أنبوب .

المحور الرابع :
النتائج و التعاليق

IV -1- النتائج الخاصة بمعايرة المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة "Diènes Conjuguées"

الجدول 4: تأثير H_2O_2 على تكوين المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة على مستوى أغشية ك.د.ج.

محلول الأغشية (ملل)	1	1	1	1
محلول H_2O_2 (µL)	0	60	80	100
الكثافة الضوئية (DO)	0,153	0,161	0,209	0,214
تركيز "Diènes Conjuguées" (غ/ ل)	0,27	0,28	0,36	0,37

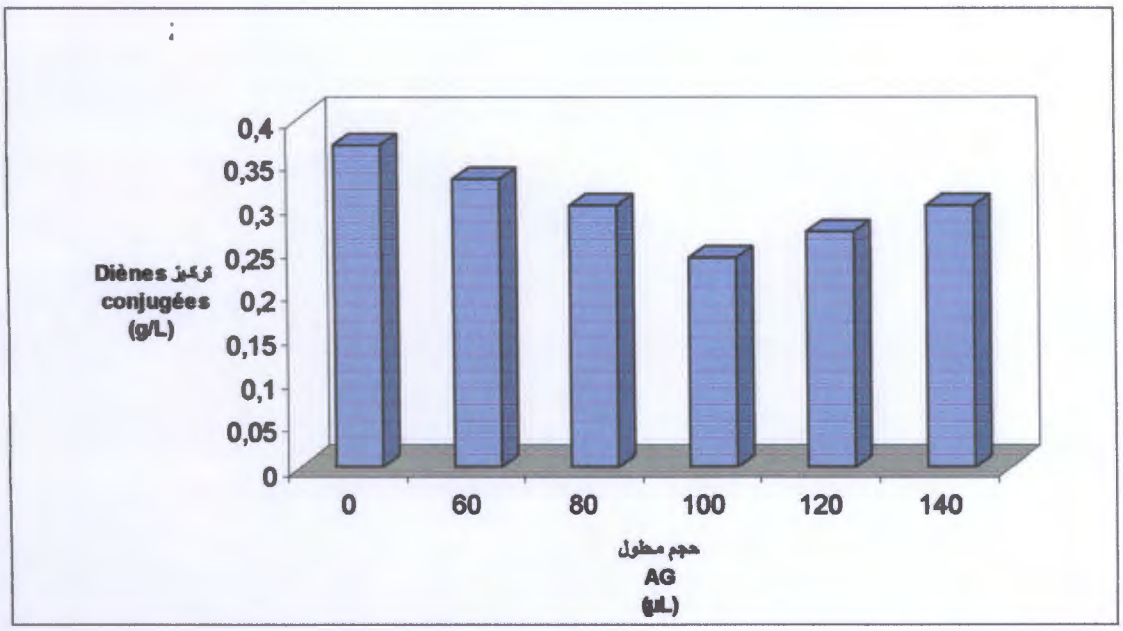


الشكل27: تأثير H_2O_2 على تكوين المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة

نلاحظ من الجدول (4) والمدرج التكراري الموافق له بأن تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة يتناسب طرديا مع حجم H_2O_2 المضاف إلى معلق كريات الدموية الحمراء حيث كان تركيزها يقدر بـ 0.27غ/ل في العينة الشاهدة ثم يتزايد تدريجيا إنطلاقا من 0.28غ/ل إلى غاية 0.37غ/ل عند حجم 60 إلى 100 ميكرولتر من H_2O_2 المضاف على الترتيب.

الجدول 5: تأثير H_2O_2 في وجود حمض الغاليك على تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة.

محلول الأغشية (مل)	1	1	1	1	1	1
محلول H_2O_2 (µL)	100	100	100	100	100	100
محلول AG (µL)	0	60	80	100	120	140
الكثافة الضوئية (Do)	0,214	0,187	0,170	0,165	0,153	0,174
تركيز الـ DiènesConjugées (غ /ل)	0,37	0,33	0,30	0,24	0,27	0,30

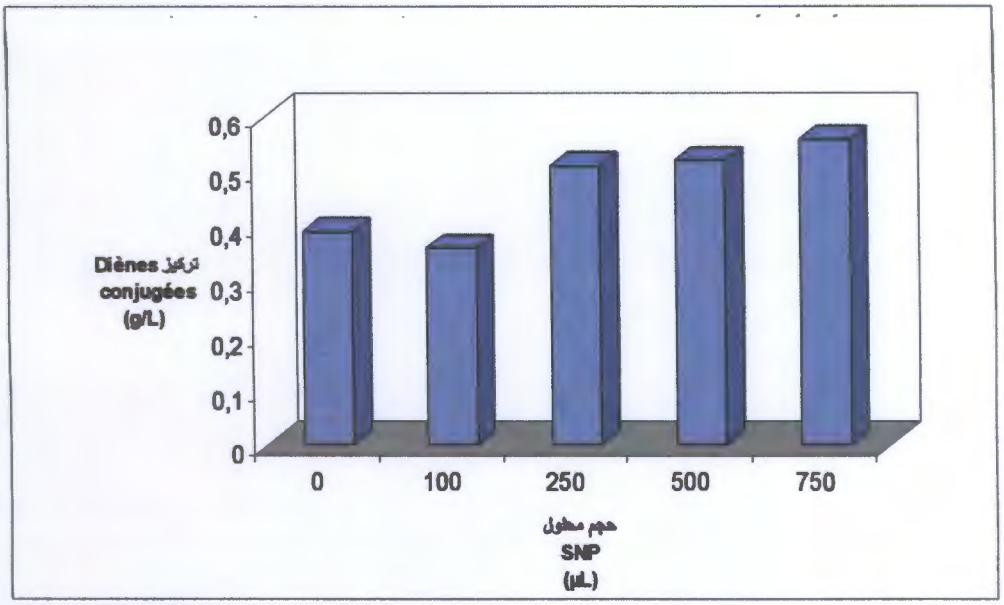


الشكل28: تأثير H_2O_2 في وجود حمض الغاليك على تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة.

من الجدول (5) والمدرج التكراري الموافق له مدى قدرة حمض الغاليك على منع أكسدة الأحماض الذهنية لأغشية كريات الدم الحمراء وتخفيض تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة حيث كانت تقدر بـ 0.37غ /ل في العينة الشاهدة ثم انخفضت تدريجيا من 0.33 إلى 0.27غ /ل عند الأحجام من 60 إلى 120 ميكرولتر من حمض الغاليك المضاف , لكنها ارتفعت من جديد إلى 0.30 غ /ل عند حجم 140 ميكرو لتر.

الجدول 6: تأثير أول أكسيد الآزوت على تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة.

محلول الأغشية (مل)	1	1	1	1	1
محلول SNP (µL)	0	100	250	500	750
الكثافة الضوئية(DO)	0,225	0,209	0,294	0,300	0,319
تركيز Dièns Conjuguèes (غ/ ل)	0,39	0,36	0,51	0,52	0,56



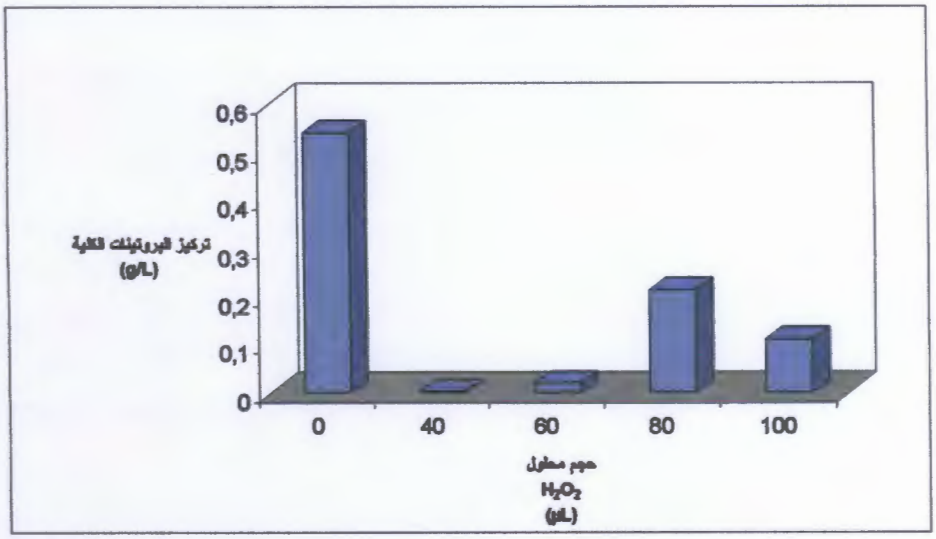
الشكل29: تأثير أول أكسيد الأزوت على تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة

من الجدول (6) والمدرج التكراري الموافق له, نلاحظ أن إضافة محلول SNP(مصدر NO)يعمل على تحفيز تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة التي كانت تقدر بـ 0.39 غ/ل عند العينة الشاهدة ثم ارتفعت تدريجيا من 0.51 إلى 0.56 غ/ل عند الأحجام 250-750 ميكرولتر من محلول SNP المضاف كما نلاحظ انخفاض التخليق لهذه المركبات إلى 0.36 غ/ل عند حجم 100 ميكرولتر.

IV-2- النتائج الخاصة بمعايرة البروتينات الكلية

الجدول 7: تأثير H_2O_2 على البروتينات الكلية.

محلول الأغشية (ملل)	1	1	1	1	1
محلول H_2O_2 (µL)	0	40	60	80	100
الكثافةالضوئية (DO)	0,0301	0,0022	0,014	0,1215	0,0645
تركيز البروتينات الكلية (غ/ ل)	0,54	0,003	0,02	0,215	0,11

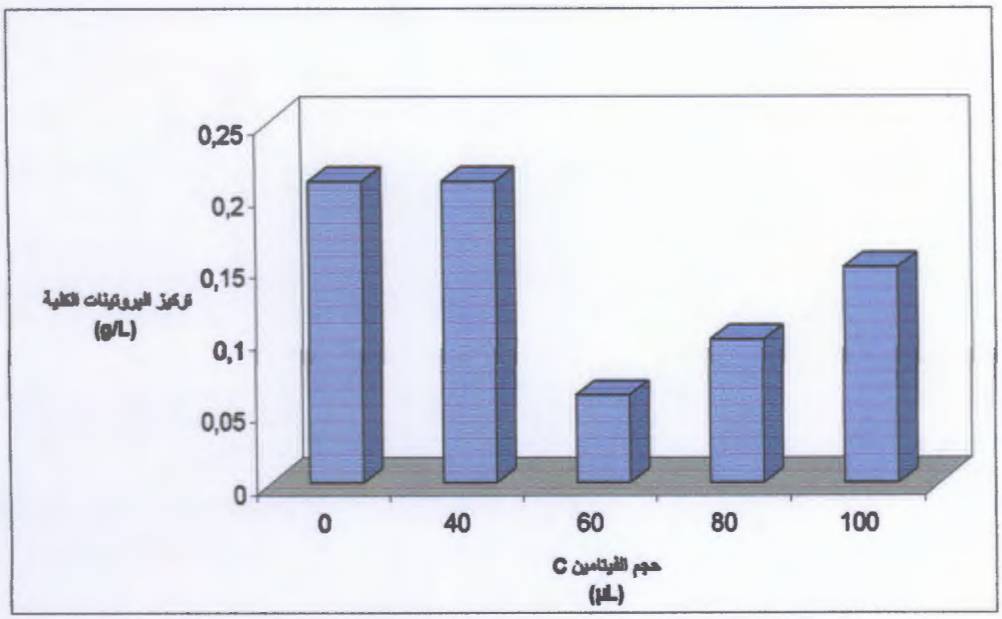


الشكل30: تأثير H_2O_2 على البروتينات الكلية

من الجدول (7) والمدرج التكراري الموافق له نلاحظ أن هناك تناقص متزايد لمحتوى أغشية كريات الدم الحمراء من البروتينات بزيادة حجم محلول H_2O_2 المضاف ، حيث كانت 0.54 غ/ل عند العينة الشاهدة، ثم انخفضت إلى 0.003 غ/ل عند 40 ميكرولتر ثم ارتفعت بعد ذلك تدريجيا حتى بلغت 0.215 غ/ل عند 8 ميكرولتر ، ثم انخفضت من جديد إلى 0.11 غ/ل عند 100 ميكرولتر.

الجدول 8 : تأثير H_2O_2 في وجود الفيتامين C على البروتينات الكلية.

محلول الأغشية (ملل)	1	1	1	1	1
محلول H_2O_2 (µL)	80	80	80	80	80
الفيتامين C (µL)	0	40	60	80	100
الكثافة الضوئية (Do)	0,1215	0,1206	0,0366	0,0574	0,0865
تركيز البروتينات (غ/ ل)	0,21	0,21	0,061	0,1	0,15



الشكل31: تأثير H_2O_2 على البروتيبات الكلية في وجود الفيتامين C

نلاحظ من خلال الجدول (8) والمدرج التكراري الموافق له أن الفيتامين C عمل على منع تخريب البروتينات الغشائية لكريات الدم الحمراء تحت تأثير الـ H_2O_2 مقارنة مع الجدول (7) خاصة عند إضافة الحجم 40 ميكرولتر , بينما كانت منخفضة عند الحجم 60 ميكرولتر ثم إرتفعت من جديد إلى 0.15 عند حجم 100 ميكرولتر.

IV-3 المناقشة

إن نتائج دراستنا هذه والتي أنجزت على معلقات لكريات الدم الحمراء بنسبة 10% ثم إخضاعها إلى إجهاد تأكسدي تجريبي بإضافة أحجام مختلفة من عوامل محفزة للأكسدة مثل الـ H_2O_2 (2ميلي مول/ل) والـSNP (بتركيز 1 ملي مول/ ل) كمصدر للـ NO في وجود بعض العوامل المضادة للأكسدة مثل حمض الغاليك والفيتامينC.

إن أهم مؤشرات الإجهاد التأكسدي على مستوى أغشية كريات الدم الحمراء هو أكسدة اللبيدات الغشائية وتخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة Diènes Conjuguées بالإضافة إلى تخريب البروتينات الغشائية.

إن النتائج المدونة في الجدولين (4), (6) والمدرجين التكراريين الموافقين لهما توضح بأن إضافة فوق أول أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) والـ SNP كمصدرللـ NO إلى معلق كريات الدم الحمراء تعمل على إحداث خلل كبير في ميزان الأكسدة القائم بين العوامل المانعة للأكسدة والمحفزة لها [6] , هذا الخلل أدى إلى تخليق كمية معتبرة من الجذور الحرة [15] التي تعمل على تنشيط سلسلة من التفاعلات, تستهدف بالدرجة الأولى السلاسل الهيدروكربونية للأحماض الذهنية للفوسفولبيدات الغشائية [43] مكونة روابط زوجية متناوبة مع روابط فردية تسمى هذه المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة Diènes Conjuguées والتي يزداد معدلها على مستوى الأغشية بعد معاملتها بالعوامل المؤكسدة مثل H_2O_2 أو الـ NO .

إن قدرة H_2O_2 على تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة كان في حدود 37,03 % أي أقل من قدرة NO على تخليق نفس المركبات التي كانت تقدر بـ 43,58 % وهذا يتوافق مع

نتائج (L Fourat et All) [129] وسبب ذلك هوأن سمية H_2O_2 يتم إبطالها بواسطة إنزيم الـ Catalase المتواجد بكريات الدم الحمراء.

إن تأثير المواد المضادة للأكسدة كان واضحا على مستوى النتائج المدونة في الجدول (5) والمدرج التكراري الموافق له , حيث وجد بأن حمض الغاليك عمل على تخفيض إنتاج المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة بنسبة 35 % عند إضافة 100ميكرو لتر وذلك لأن هذا الحمض يعمل كمصيدة يتم على مستواها تعديل وإبطال مفعول الجذور الحرة , التي يتم إنتاجها بواسطة العوامل المؤكسدة.وكذلك بالنسبة للفيتامين C . في المقابل كان تأثير العامل المؤكسد H_2O_2 على البروتينات الكلية لأغشية كريات الدم الحمراء واضحا لكنه متذبذبا أي أنه عمل على تخفيض محتوى هذه البروتينات بنسبة حوالي 99% عند إضافة 40 ميكرولتر من H_2O_2 لكن هذه النسبة تنخفض من جديد لتصل إلى 61% عند إضافة 80 ميكرولتر من H_2O_2 , وهي نفس الملاحظات التي نسجلها عند إستعمال الفيتامين C كمضاد للأكسدة . ولا يمكن تفسير ذلك إلا بأخطاء تقنية تم إرتكابها في مرحلة معينة من مراحل التقدير الكلي للبروتينات وتحضير أغشية كريات الدم الحمراء.

الخاتمة

الخـــاتـــمـــة

إن نتائج دراستنا هذه تظهر ما يلي :

- معلق كريات الدم الحمراء يمكن إعتماده كنموذج لدراسة الإجهاد التأكسدي على مستوى أنابيب الإختبار (In vitro) .
- العوامل المؤكسدة تختلف قدرتها على أكسدة اللبيدات الغشائية لكريات الدم الحمراء , حيث لاحظنا أن أول أكسيد الأزوت NO أكثر تاثير من فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) .
- تقدير المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة إختبار بسيط لكنه ذو أهمية كبيرة يمكن إعتماده كمؤشر بيوكميائى لتقدير الإجهاد التأكسدي على مستوى الخلايا ذاخل الجسم (In vivo) أو في أنابيب إختبار (In vitro) .
- يمتاز حمض الغاليك والفيتامين C بقدرتهما العالية على إبطال سمية الجذور الحرة وبالتالى التقليل من الأثار السلبية للإجهاد التأكسدي .

وبالتالي تبقى البحوث المستقبلية وحدها هي التي تحدد إمكانية إستعمال مثل هذه المركبات المضادة للأكسدة كعوامل مساعدة لتخفيض التأثير التأكسدي القوي لبعض الأدوية (مثل الأدوية المضادة للسرطان) أو تخفيض التأثير التأكسدي .

- **رسم المنحنى المعياري**

نحضر أولا المحلول الأم : 2غ /ل أي 2غ من SBA مذاب في 1ل من الماء المقطر .

إذن فمن أجل 0.5 ل نذوب 1غ من SBA , ثم نقوم بعملية التخفيف في عشر أنابيب وذلك بتراكيز محصورة بين 0-2 غ/ ل .

الجدول 09 : جدول خاص بالمنحنى المعياري لمعايرة البروتين

رقم الأنبوب	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
التركيز (غ/ ل)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2
حجم المحلول الأم (ملل)	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
الماء المقطر(ملل)	5	4.5	4	3.5	3	2.5	2	1.5	1	0.5	0
حجم أزرق الكوماسي (ملل)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
الكثافة الضوئية	0.020	0.174	0.220	0.335	0.453	0.494	0.552	0.613	0.613	0.677	0.635

حسب قانون المعايرة $C1.V1 = C2.V2$

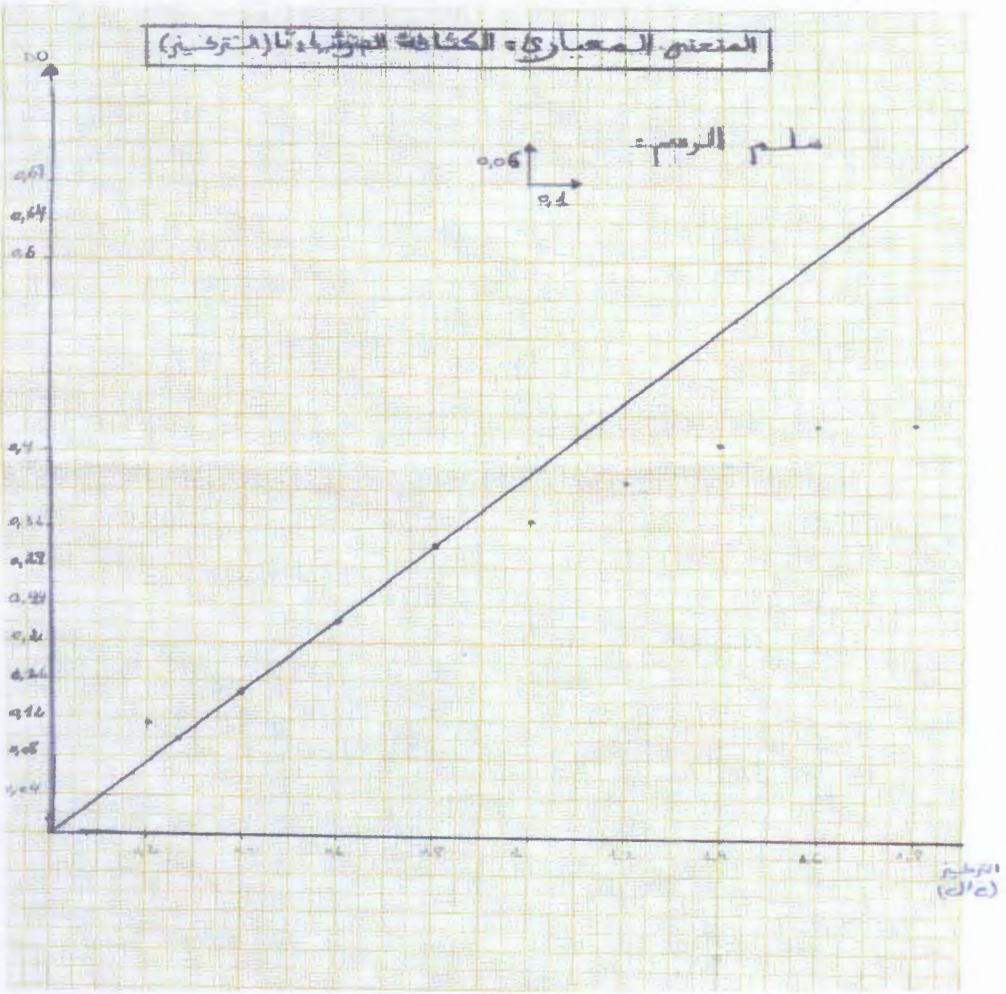
$C1 = 2\ g/l$

$V2 = 5ml$

فإن : $C1.V1 = C2.V2 \Rightarrow V1 = \frac{C2.V2}{C1}$

ومنه : $V1 = \frac{0*5}{2} = 0ml$

$V2 = 0.5\ ml$



الشكل 33 : المنحنى المعياري

المـراجـــع

المـراجع باللغة الأجنبية

[1] Larsen ML , Horder M , Mogensen EF .1990 . Effect of long-term monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulino-dependent diabetes mellitus .N .Engl .J . Med.323(15) : 1021-5.

[2] Morly ., Bromiki . 1999. pression of gene expressin by oxidative stress 342 . P:476.

[3] Pincemail J.,Lecamte J.,Collent E.,CastianseJ.P.,Defraigne J.2001.Stress oxydant ,antioxydant et exercice physique vaisseaux , cœur ,poumons 6 (5) :1-3.

[4] Borg J., Reeber A.2204.Les cours du PEMC .Biochimie Metabolique IBSN 2-7298-7.Ellipse Edi.S.A.Paris.p :217-229.

[5] Sammans ., Wall, P.H.L ., Cook N . 1999. Flavonoides and caronay heart disease , dietary, pers , ectiv in : Flavonoides in healt and disease kice-even CoA packen .

[7] Yoochikawa T ., Yamamotoy and Naitoy . 2002. free radicls is the physiological control of cells function . 82.47.

[8] Siesh . 1991. Oxydative stress : Introduction in oxidative stress oxidant and antioxidant . M .Siesed , London academic press XII . XIII

[9] Dalton T.p ., Shertzer H.G ., Pugn A . 2002. Regulation of gene expressin by active oxygen – Signalli –ng , 14, P:879.

[10] Current . 2005. Medicinale chemistry , Volume 12 , Number 10, May , PP. 1161-1208 (48) Metals , oxidative stress.

[11] Siesh .1997. Antioxidant in disease mecanisme and heapy , advance in pharmacology. Advance press . Niew yourk 38.

[14] Favier A . 2003. Le stress oxydant . interet concepuel et experimental dans la comprehension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique l'actualité clinique . PP ;108-115.

[17] Hatoc . 2008 . Effet des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction des cellules épithéliales intestinales , thése de doctorat Université Paris VI pierre et Marie Curie -43-58.

[18] Thanic Kal V.J ., Fanbury B .L.2000. Reactive Oxygen Specices in cell signalling . Am.J.Physiol 279 . PP: 1005-1028.

[19] Freeman B.A ., Crapoj D . 1981. Hyperoxyde increases oxygen radical production in rat langs an lungs mitochondria J . Biol.Chem.256. PP:10986-10992.

[20] Hille R . 2005 . Moly bdenum-Contaminz Hydroxalase arch. Biochem Biophys 433(1) PP:16-107.

[21] Harrisson R .2002. Structure and Function of xanthine oxidoreductase where are we now ? Free Radic.Biol.Med .33(6) PP:97-774.

[22] Landher M. , Jone H.P.1988.Mechanismes of conversion of xanthine deshydrogenase to xanthine oxydase in chimic rat livre and kidney.AnJ, physiol .254.pp :753.760.

[23] Parrksda A. ,Willians T.K. ,Bechem J.S.1988.Conversion of xanthine deshydrogenase to oxydase in chemc rat intestine .areevalentim AnJ.physiol ,254.pp :768.774.

[24]Freeman B.A. ,Young S.L.,GrapoJ.D.1983.Liposome mediated augmentatio of superoxyde dismutase in endothlial cell prevents oxgen in jeny.J.biol .chem.258.pp :12534-12542.

[25] Moral T.,Mermod N., Barouki R .1999. An autoregulation loop conthing cyp.1.11.gene expession :role of H_2O_2 and NFI mol cell biol.19 :6832.

[26] Xia T.T. ,Sai A . Berkar . ,Zweier J.L.1998. Superoxid generatio from endothelial *mitric.oxide syntase* .Aca^+ /cal modiolism dependantand tetrahydrodispterien regulatory process.J.biochem .273 :25804-25803.

[27] Halliwe B. ,GytteridzeJ.M.C.1984.Oxygen toxicyty ovygen radical .transitin metal and diseases .biochemie.214 :9-14.

[28] Burent S .1999 .Vue sin les mecanismes de control du cholesterol hepatique suit an stress peroxydatif par le ferithise de doctora maureal canada .pp :4-24.

[29] Dallate G. ,Darand G . ,Jardillier G.C.2003.Biochemie pathologique aspect moleculaire .medecine-science flammarine.france.pp :57-81.----

[30] Servais S.2004.Alterations mitochondrials et stress oxydant pulmonaire en reponse à l'onage : l'effet et donné suplementatims en oméga-3-thèse de doctorat de l'université Claud Bernard de lysi 1.france.pp :19-35,138.

[32] Borel. Marquant.,Ramblox. GIRLLY.,Dallon. Mouboiss.,1997.Biochimie Dynamique. P :688,689 ,690.

[33] Wills E.D.,1985. The role of diety compaund in oxidative stress , in tissue.Academic press .London.probability 197,218.

[34] Beckman. Tassai J,H.1994.reactive and diffusion of nitric oxyde and peroxy nitrite . biochimist .oct/nov :8-10.

[35] Linsoain.T.,Moro.M.A.,Knowels.R.G.,Darly.Usmar.V.,Moncada.S.1996.nitric oxide and peroxy nitrite exert distinct .effects by glutathione or glucose.Biochem.J.314 :877-.880.

[36] Stamler.J.S., Hauslamdem.A.1998.oxidative modification in nitrostative stress .nature struct. Biol-5 :247-249.

[37] Prior,W A.., Squdrition.G.L.1995.The chemistry of peroxy nitrite a product from the reactin of nitric oxide with super oxide AmJ-Physiol-268 :2699-2799.

[38] Korthuis R.J., GrangerD.N.1993.reactive oxygen metabolite neutrophiles and the pathologie nesse of is chimic-tissue/reper fusion Chim cardil-16 :119-126.

[39] Davies V.J.,Fu S.,Wony M.,Dean R.T.1999.Stable merkers of oxidant domage to proteins and their application in the study of human disease . Free radic Biol Med 27 (11-12) :1151-1163.

[40] Senick.2001.Antioxidant and redox regulatin of cellular signaling .Introduction .Med sa sports exer 33 (3) :368-370.

[41] Huber A.J.2005.On the importance of fatty acide compositin of membrannes for aging .J. Theor Biol.3-235 :277-288.

[42] Dobret sov .G., Bossch Ebskaya.T.,Petrov.V.,Uladimirov.1997.The increase of phospholipideq bilayer rigidity after lipid peroxy-oxidatin .FERS Lett.48 :125-129.

[43] Echtay .K.S.,ESTEVERS .T.C., Pakay .J.L.,Jakabsious.M.B.,Lambert.A.J.,Portiro-dim.U.Pamrlona.R., Vidal .Puig ,A.J.,Wang.S.,Roebusk.s.l.,Brand.M.D.2003.A singnaling role for 4-hydroxy-2-none nal in regulation of mitockodrial uncupling EmbJ.22/4103-4110.

[44] Nicholles .D.G.,Budd S.L.2000.Mitochondria and neuronal surval.Physiol .Rev 80.315-360.

[45] Baily Acroworth.IN et B.1997.Especes oxygenèse reactives in : le manuel du métabolisme oxydatif .Massachisctts :ESAT.nc.

[46] kamata H., Hirata H.1999.Redox regulatin of cellular signaling .Cell.Signal .11(1) :1-14.

[47] Sies 17.1997. Oxidative stress : Oxidants and antioxidants.Exp Physiol 82 (2) : 291-5.PMID 9129943.

[48] Ré D.B .,Nafia I., Nieoullon A.., Kerkirian Legoff L., Aissomi l.2005.stress oxidatif cérébral.les Astroytes sont vulhérables aux faible concentration intracellulaires de glutamate ? Imlication sur la suivi neuronale .annales françaises d'Anestésies et de réanisation .24 :502-509.

[53] Journaie de : Nutr J.November 2002.Journale de : Chem J.Agrie food.Mars 2003.

[54] Fontane E., Bernard D., Schiwebel C., Levervese.2002.Places des antioxidants dans la nutrition du patient septique .Réanimation .11 :411-420.

[55] Okado Mastsumado A., fridovish J.2001.Subcellular distribution of superoxide dismutase in Rat livre Cu-Zn SOD Mitochondri.J.Biochem .276 :38338-38393.

[56] Jasques B., André R.2008.Biochimie Métabolique.2 ème .Paris .p :257-258.

[57] Dr Hicham .Abduasamad .2003.The effect of hemodralyzer dialyser biocompatibility on érythrocyte glutathion and related enzymes in uremic patents.Journal of basic medical.science 3 :2.

[58] Abdulsamad H.2003.The effect of hemodrelysis and dialyzer biocompatibity on érythrocyte glutathion and related enzymes in uriemic patients .Journal of basic medical science .3.2.

[59] Andry ev A.Y.,Kushnareva Y.V.E.,Revien A.2005.Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species.Biochimistry.70 :200-214.

[60] Tamguchi A..Y., Taniyushi-Meday y., morik., Yodion J .A.1996.Novel promotor sequence involved in the oxidative stress – induced sxpression of the adults.cell l'Ankemia-Derived Factor (ADF) himas thioredoxine gene nitric acide Res.,24 :2746-2752.

[61] Kim H.S., Kanz S.W., Rhee S.G., Clearth L.B.2001.Rat lung peroxy redoxines I and II are differentially regulated during development and by hyporoxia .Am.J.Physiol .280 :L1212-L1217.

[62] Mates J., Perz M.,Gomery C., Nuez D.,Gastro I.1999.Antioxidant enzymes and human diseases .Clin.Biochemp.32 :295.603.

[63] Laurent C .2004. Effet d'un hydroperoxyde lipidique et de LDL oxydées sur les enzymes impliquées dans la libération de l'acide arachidonique des phospholipides plaquetaires ,Thèse de doctorat Institut national des siences appliquées de lyan,pp :59-73.

[64] Peter N., Camphell A ., Anthny D . 2002. Biochemie illustré maloine. Ed , pp : 213-238. France.

[65] Martin F . 2003 .Vaninn -1, un nouveau regulateur moléculaire du stress et du l'inflammation . Thèse de doctorat de l'université de la méditerranée centre de l'immunologie de Marseille – Tyming nser mv 136-cnv-sumer 6102 , pp :17.

[66] Cillard J ., Cilard P . 1980 . Prpoxydant effect of alpha tocophérol on essential Fatty acides in aque media , Anm –Nutr-Aliment . 34 : 579-591.

[67] Moulin M ., Coquerel A .2007. Pharmacologie .2ème édition ., p :683 .

[68] Marlène F ., Elisabeth V . 2004. Biochimie des aliments dietétique du sujet bien portant . 2ème édition , p :162.

[69] Wisseman S.A ., Balentine A ., Frei B .1997. Antioxydants in tea , crit Rev Food Sci Nutr , 37 : 705-718.

[70] Charles A ., Gnylinben . 1997. Biochimie Alimentaire . 4ème édition ., np :111.

[71] Krinsky N.E . 1992. Mechanisme of action of biological : I aspects biologiques antioxidants . proc SOC Exp: Bio-Med , 200: 248-258.

[72] Rice E ., Miller N ., Paganga G . Antioxidant properties of phenolic compounds . Trends plant Sci . 2(4) : 152-159.

[73] Samba R.D . 1998. The role of vitamins Arand related retiniods in immune function pub Med abstract .Nutr Rev ; 56: 5-38-48.

[74] Lioc Girre .2000. les plantes et les medicaments : l'origine vegetal de nos medicaments . p : 30,31.

[75]

[76] Pencemail J .2004. Comment evaluer votre et a de stress oxydant ? ; Université de Liege Belgique.

[77] Meagher E.A. ,Fitz .,Geral G.A.2000.Indices of lipid peroxidatim ivivo :stenghes and limitatins .free rad biol med :28.pp :174550.

[78] Benedetti .A. ,Comporti.M. ,Esterbauer.E.1980.Identificatio of 4-hydroxinonenol as a cytotoxic prodect originating from the peroxidatio lives micro somal lipide biochem ,biophys Acta.620 :281-296

[79] Pantke U.,Volk .,Schumutzlez .M.,Etal .1999. Oxidized proteins as a marker of oxidatve stress during coronary heat surgery free.rad.bio.commun . 28 :122-130.

[80] Leving .G.,Cogan.V. ,Mokady .1994. Riboflavin de ficie and the function and fluidity of rat erothrocyte membane ;J.Nutr ; 120(8) : 857-861.

[81] Demple B .1991. Regulation of bacterial oxidative stress gene Annu . Rev. Gen net ; 25-31-337.

[82] Faibain D.W., Olive P.L ., Omeill K .1995. The coment assy a comprehensive revien; Mutat .Rev ; 339 ;37-59.

[83] Sohal R .S ., Mockehr J., ORR, W.C. 2001. Mechanismes of Radi-Biol-Med , Vol 33(5) , pp:575.

[85] Karpatic G ., klassen G ., Tanser P . 1979. The effets of patial chronic denervatim on foream métabolisme. Can J.Neveral 86 : 105-112.

[86] Rahman ., Mac N .1996. Free Rad-Biol-Med . Vol 21:669-681.

[87] Smaili F .2003. Abrégé d'hématologie . p :7,26,27. Alger.

[90] Richard P ., Young B ., Health J . Histologie fonctionnelle . 4ème edition . p: 46,47. paris.

[91] Elaine N ., Rien UA . 2000. Biologie humain « Anatomie et physiologie ». 6éme édition . p : 301. Américain.

[92] Koolman J ., Rohm K .1999. Biochimie. 2ème édition . p :260 .France.

[93] Norbert U .2006. Précis d'histologie . P : 81,84 ,85 . France.

[94] Aukett M ., Park Y., Scott P ., Harton B . 1986. Treatement with iron increases weight gain and psychomotor development. Arch Dishild , 61 : 849-857.

[95] Zetoune R ., Samama M ., Mary J .1998. Manuel d'hématologie . 5ème edition . p:66-67.

[96] Martin R ., Peter J . Hamilton .2004. Hématologie . p : 4-5

[97] Youchikawa T ., Haruhisa . 1997. Cellular and molecular biology of erythrocyte . Baltimore / Tokyou . University , Park press.

[98] Lubert S ., Jeremy M ., Trymoczko . 2003. Biochemie . 5ème edition . p : 270.France.

[99] Rosa R ., Prehumo ., Rosa J .1978. The first case of a complate dificiency of diphospho-glycerate mutase in human erythrocytes . ;62 .907-915.

[100] Sylvain , Choquet .V.2007.Hématologie.nouvelle édition ,p :6.

[101] Harald .T.2000. Atlas de poche d'ématologie .Rance .p :23,316.

[102] Bernard.J. ,Plevy .J., Rain.J.D. 1976. Abrégé d'hématoiogie .3éme p :32.

[103] Atul .B ,Mehta., Victor.A. ,Brand.,H.2003.Hématologie.1ère édition .p :32 ,67.

[105] Kamoun .P.,Laoinne.A.,Devernenil.H.2003.Biochemie et biologie moléculaire .France .p :303.

[106] Audigie.CL., Zonszain.F. Biochemie métabolique .3ème édition .Paris .p :147,149.

[107] Serge.W.,Puire.M.2004. Toute la biochemie .Paris .p :164,165.

[108] Bory.J., Reeder.A. .2008. Biochemie métabolique .2ème édition .paris.p :257,258.

[110] Lubert.S.1988.La biochemie de Lubert Stryer.3ème édition .Paris.p :150,642.

[111] Kuo . Chen chou . 1989 . Low – Frequency resonance and cooperativity of hémoglobine . Trends in biochemucal science , 14 . 212.

[112] Bunn.H.F.,Shapipor.M ,Manus.M.et al.1979.Structuraal hétérogenecity of human hémoglobine a due to non enzymatic glycosylation .J.biol.chem

[113] Ahmed N,Furt AJ.Failure of common glycation assays to detect glycation by fructose.Clin Chem1992;38:1301-3 PMID 1623595

[114] P.Gillery.Laboratoire de biologie et de recherche pédiatrique . American Memorial Hospital, Centre hospitalier universitaire de Reims, 47,Rue Cognacq-Jay,51092 Reims cedex,France.2009 Elsevier Masson SAS.

[115] Doelman , Sieblder C., Nij Hofw., Weykamp PC.,Janssens J., Penders T.1997.Capillary electrophoresis system for hemoglobine A,C determinations evaluated .Clin . Chem (43) : 644-8.

[116] International Exept Committrr , Internationa exept committee repot on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes, Diabetes Care , 2009;32:1327-34.

[117] Yoh.Rohan T.2000.Role of the insulin –like grouth factor family in cancer development and pregression .Journal of the national cancer institute;92:1472-89.

[118] Huisman TH, Martis EA , Dozy A (1958) . Chromatography of haemoglobin types on PMID 13564011 carboxy methylcellulose.J.Lab .Clin . 52 (2):312-27.

[119] Afssaps: traitement médicamenteux du diabète de type 2.Recommandation de l'Agence française de sécurité sanitaire des produit de santé 2006.

[120] DCCT Research Group, The effect of intensive treatement of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin –dependant diabetes mellitus, New Engl J Med 329 (1993), pp.977-986.

[121] Rohfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennil A, Goldstein DE, Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c : analysis of glucose profiles and Hb1Ac in the Diabetes Control and Complications Trial.Diabetes Care 2002;25:275-8.

[122] Recommandations SFC/ALFEDIAN sur la prise en charge du patient diabétique vu par le cardiologue ,B.Charbonnel, B.Bouhanick, C. le feuvre et le Groupe de travail, Archives des maladies du Coeur et des vaisseaux , tome 97, n°3, mars 2004, p234.

[123] Michel.G., Marie-Josèphe.M.,Jean.W.Manipulation d'analyse biochimique . p:173.

[124] Hanahan, DJ., Ekholm , JE . The preparation of red cell ghosts (membrane) . In fleischer , S., Packer, L. , eds. Subcellular fraction and derived membranes .part A . Methods in enzymology , volum 331. San Diego : Academic press ; 1974 : 168-172.

[125] Delacharlerie S . , de Biourge S. , Sindic M., Deroamec C.2008 : HACCP organoleptique , Gide pratique .Belgique . p :61.

[126] Buege , JA., Aust , SD.1978.Microsomal lipid peroxidation .Methods Enzymol 52 :302-310.

[127] M.M.Bradford. Arapid and sensitive méthod for the quantification of microgram quantifies of protein utilizing the principal of protein-dye binding , Anal . Biochem .72(1976) , pp :248-254.

[128] L. Tinoco , K. Saver, J.C.Wang, Physiol Chemistry : Principales et Applications in Biological Science , 3ème edition , 1995.

[129] Fourrat L., Errafiy N., Iddar A et all.2006.Contribution à l'etude de la reponse des levures au stress oxidatif: cas de Yarrowia lipolytica, Saccharomyces Cervisiae et pichia pastoris, congrés international de la biochimie.Agadir.

المراجع باللغة العربية

[12] عبد الخالق عفيفي . 2000 . قمصاني المدني . 2006 . Svitha and pannée reselvan .

[49] نوري الوائلي.مارس .2008 , بقلم32.عظمة الله تجلى في قدرة مخلوقاته الجزء الاول ,عوامل التاكسد القاتل الأول لالنسان.

[54] مجلة قاما الطبية,فبراير 2005.

[51] سهام بنت هاشم عبد الجواد,2008.دراسة تأثير الليكوبين المستخلص من الطماطم على الإجهاد التأكسدي وتمثيل العظام في الجردان,جامعة الملك سعود .كلية علوم الأغذية و الزراعة .قسم علوم الأغذية و الزراعة.

[85] المجلة المختصة بالأبحاث الطبية وأبحاث المسالك البولية .2002.المجلة 3.ص 35.

[88] عبد الله عبدالرحمان زايد., عبد الرحمان حوجلى مبارك .1995.علم وظائف الاعظاء العام . الفزيولوجيا العامة.ص100,99,98,95.

[89] كمال شرقاوى غزالى .الفزيولوجيا .علم وظائف الاعظاء .19995.السكندرية .ص 140,138,1136,132,129.

[109] عمر عبد الرحمان البنا ,محمد محمود يوسف ,عماد الدين جمعة .2002.الكمياء الحيوية العامة .الإسكندرية.ص328,320.

مـواقـع الأنترنـيث

[6] www. Ems.org.eg / Metal-1dok.

[13] www.orwaha . net / module / new bb / vievtopic php.

[15] www. Mareth. Org / news. Php.

16] www. Alrgadh .com/ 2007/or/06.

[31] www. Masareha . com.

[52] www.restz . hooxs .com.

[50]www. Th 3 diq .com.

[104] www. Forums . futura – science . com / biologie/181665- «Catabolisme – Glucidique . Globule ».-htmt.

من إعداد : زواغي مليكة
زنيفش ربيعة
روانة لبنى

الأستاذ المشرف : حنديس محمد الصادق
الأستاذة الممتحنة : بوحفص ليلى
تاريخ العرض: 2010-07-06

مذكرة التخرج لنيل شهادة الدراسات التطبيقية

عنوان المذكرة :

دراسة تأثير بعض العوامل المؤكسدة على أكسدة الليبيدات الغشائية لكريات الدم الحمراء

الملخص

الإجهاد التأكسدي الناتج على مستوى الدورة الدموية تحت تأثير بعض الأمراض : السكري مثلا أو بعض الأدوية تسبب أكسدة الليبيدات الغشائية لكريات الدم الحمراء , مؤديا إلى تخليق المركبات ثنائية الروابط الزوجية المترافقة Diènes Conjuguées يمكن اعتمادها كمؤشرات لتقدير الإجهاد التأكسدي على مستوى الدورة الدموية . بالإضافة إلى البروتينات الكلية .

بعض العوامل المضادة للأكسدة مثل حمض الغاليك والفيتامين c لها قدرة عالية على إبطال المفعول السام للجذور الحرة (ROS) .

الكلمات المفتاحية : الإجهاد التأكسدي , العوامل المحفزة للأكسدة , العوامل المضادة للأكسدة , مؤشرات الإجهاد التأكسدي , الجذور الحرة .

Résumé

Le stress oxydatif qui résulte au niveau de la circulation sanguine sous l'effet de certaines maladies : diabète par exemple, ou certains médicaments induit l'oxydation des lipides membranaires des globules rouges, provoquant la formation des diènes conjuguées et les proteines totaux qui peuvent être utilisé comme des marqueurs de stress oxydatif au niveau de la circulation sanguine.

Certains facteurs antioxydants tel que l'acide gallique et la vit c possèdent une grande puissance pour inhiber l'effet toxique des radicaux libres (ROS).

Mots Clés: stress oxydatif – prooxydants – antioxydants – marqueurs de stress oxydatif – radicaux libres.

Abstract

Oxidative stress resulting in the bloodstream as a result of certain diseases: diabetes, for example, or certain medications caused the oxidation of lipid membranes of red blood cells, causing the formation of conjugated dienes that can be used as markers to measure oxidative stress in the bloodstream. In addition to the total protein.

Some factors antioxidants such as gallic acid and vit c have great power to stop the toxic effect of free radicals (ROS).

Keywords: oxidative stress - prooxidant - antioxidant - markers of oxidative stress - free radicals.