

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة منتوري قسنطينة

قسم بيولوجيا حيوان

كلية علوم الطبيعة و الحياة

الرقم الترتيبي: 77/TS/2011
الرقم التسلسلي: 07/SN/2011

أطروحة

قدمت لاستفتاء نيل شهادة دكتوراه في العلوم
فرع فيزيولوجيا الحيوان
تخصص صيدلة و تسمم

العنوان

مفعول زيادة الحديد على الأوكسدة الفوقية لليبيدات لدى الجرذان الحوامل
وأهمية التزويد بالزنك

تقديم : زواغي يوسف

أعضاء لجنة المناقشة

جامعة منتوري قسنطينة	أستاذ دكتور	الرئيس: ساطا دليلة
كلية الطب قسنطينة	أستاذ دكتور	المقرر: بن لطرش شريفة
		المتحنون:
جامعة عنابة	أستاذ دكتور	عبد النور شريف
جامعة جيجل	أستاذ دكتور	لحول مصباح
جامعة قسنطينة	أستاذ محاضر	أمداح سعاد

نوقشت يوم:

السنة الجامعية: 2010-2011

التشكرات

أتقدم بالشكر الجزيل و التقدير الكبير إلى كل من الأستاذة المشرفة شريفة بن لطرش رئيسة مصلحة البيوكيمياء بالمستشفى الجامعي بقسنطينة و رئيسة وحدة البحث بالمعهد الوطني للطب و الأستاذ مساعد المشرف إبراهيم لهشيلي أستاذ دكتور بجامعة باتنة عن حسن إختيارهم لموضوع الرسالة و عن ما لقيت منهم من مساعدة علمية و توجيهية طوال فترة إنجاز الرسالة.

أتقدم بالشكر أيضا إلى الأستاذة دليلة ساطة أستاذة دكتورة بجامعة منتوري قسنطينة عن تفضلها بقبول ترأس لجنة مناقشة هذه الرسالة و عن الدعم المعنوي الذي أمدتني به لإستكمال هذه الرسالة كما أشكر أعضاء لجنة المناقشة: الأستاذة سعاد أمداح أستاذة محاضرة بجامعة منتوري قسنطينة، الأستاذ شريف عبد النور أستاذ دكتور بجامعة عنابة و الأستاذ مصباح حول أستاذ دكتور بجامعة صديق بن يحي جيجل عن تلبيتهم قبول مناقشة هذه الرسالة.

كما لا يفوتني أن أتوجه بالشكر الجزيل إلى الأستاذ الدكتور Alain FAVIER عميد كلية الصيدلة و مدير مخبر الجهد التأكسدي بالمستشفى الجامعي لـ Grenoble الذي أستضافني للعمل في مخبر بيولوجيا الجهد التأكسدي طوال فترات التربصات التي أجريتها في مستشفى Grenoble و التي مكنتني من إنجاز هذه الرسالة، دون أن أنسى الزميل الأستاذ Henri FAURE الذي ساعدني في إجراء معايرة الفيتامينات و في التحليل الإحصائي للنتائج و كذلك الأستاذة الدكتورة Cathrine Garrels التي قدمت لي يد المساعدة بوضع فريقها العامل بالمخبر في خدمتي طوال فترة تربصاتي.

كذلك أتوجه بتشكراتي الخالصة للأستاذة فاطمة الزهراء طبي رئيسة مصلحة التشريح المرضي التي وضعت إمكانيات مخبرها في خدمتي و مكنتني من إنجاز المحاضرات النسيجية. و أخيرا أوجه تشكراتي لجميع من ساعدني في إنجاز هذه الرسالة.

الفهرس

1.....	أولاً: المقدمة
3.....	ثانياً: إستعراض المراجع
3.....	I. الجذور الحرة و الجهد التأكسدي
3.....	1. تعريف الجذور الحرة
4.....	2. الأشكال النشطة للأوكسجين و مصادر إنتاجها
5.....	1.2. الميكانيزمات الإنزيمية
5.....	1.1.2. إختزال الأوكسجين الجزيئي بواسطة إلكترون في الميتوكوندري
6.....	2.1.2. تنشيط NADP-oxydase
6.....	3.1.2. تنشيط xanthine oxydase
7.....	2.2. الميكانيزمات غير الإنزيمية
7.....	1.2.2. الأكسدة الذاتية للعديد من الجزيئات الداخل خلوية
8.....	2.2.2. التفاعلات التأكسدية المحفزة بواسطة المعادن الإنتقالية
8.....	3.2.2. الإشعاعات المؤينة
9.....	3. منافع الجذور
11.....	4. سمية الجذور
11.....	1.4. الأكسدة الفوقية لليبيدات
11.....	1.1.4. الليبيدات الغشائية
13.....	2.1.4. الليبوبروتينات
14.....	3.1.4. العواقب الناجمة عن إرتفاع الأكسدة الفوقية لليبيدات
15.....	2.4. أكسدة البروتينات
16.....	3.4. أكسدة الـ ADN
17.....	4.4. أكسدة الجلوكوز
17.....	II. الأنظمة المضادة للأكسدة
17.....	1. الأنظمة الإنزيمية
18.....	1.1. إنزيمات superoxydes dismutases
19.....	2.1. إنزيمات catalases
19.....	3.1. إنزيمات glutathion peroxydases
20.....	4.1. إنزيمات hème oxygenases
21.....	5.1. إنزيمات thiorédoxines réductases و thiorédoxines
22.....	2. الأنظمة غير الإنزيمية
22.....	1.2. فيتامين E (tocophérol)
23.....	2.2. فيتامين C (حمض الأسكوربيك)
24.....	3.2. الكاروتينويدات (caroténoides)
24.....	4.2. بروتينات الميتالوثيونين (métallothionéines)
25.....	5.2. الجلوتاثيون المختزل (GSH)
25.....	6.2. حمض اليوريا

25.....	(coenzyme Q10) Ubiquinone .7.2
26.....	8.2. جزيئات أخرى
26.....	9.2. العناصر النادرة
28.....	III. ميتابوليزم الحديد
28.....	1. الإمتصاص
28.....	1.1. إلتقاط الحديد عبر الغشاء القمي
29.....	2.1. نقل الحديد داخل الخلية المعوية
29.....	3.1. نقل الحديد نحو الدورة الدموية عبر الغشاء القاغدي
29.....	4.1. تنظيم إمتصاص الحديد على مستوى الخلية المعوية
31.....	5.1. العوامل المؤثرة على الإمتصاص المعوي
32.....	1.5.1. العوامل المحفزة
32.....	2.5.1. العوامل المثبطة
33.....	2. النقل البلازمي
34.....	3. الطرح
34.....	4. التخزين
34.....	1.4. الفيريتين
34.....	1.1.4. الفيريتين النسيجي
35.....	2.1.4. الفيريتين البلازمي
35.....	2.4. الهيموزيدين
35.....	5. الحصص المزكاة و الحاجيات إلى الحديد
38.....	6. توزيع الحديد في العضوية
39.....	7. الإلتقاط الخلوي للحديد
40.....	8. دور الحديد في العضوية
40.....	1.8. الدور البيوكيميائي
42.....	2.8. الدور الفيزيولوجي
42.....	1.2.8. تشكل الكريات الحمراء (érythropoïèse)
44.....	2.2.8. المقاومة ضد الإصابة بالجراثيم
44.....	3.2.8. عمل العضلات
45.....	4.2.8. النمو الخلوي
45.....	5.2.8. السلوك
45.....	6.2.8. ميتابوليزم الجلد و الأغشية
45.....	9. الدور الباتولوجي للحديد
46.....	1.9. نقصان الحديد
46.....	1.1.9. تشخيص نقص الحديد
48.....	2.1.9. الأعراض السريرية
48.....	3.1.9. المعالجة الطبية لنقص الحديد
49.....	2.9. إفراط الحديد (les surcharges)
49.....	1.2.9. الهيموكروماتوز الوراثي(الأولي)

51.....	2.2.9. الهيموكروماتوز الثانوي
53.....	3.2.9. أعراض المرض و علاجه
54.....	4.2.9. الخطر التأكسدي للحديد
55.....	5.2.9. الحديد و أمراض تحلل العصبونات (Neurodégénératives)
58.....	IV. ميثابوليزم الزنك
58.....	1. توزيع الزنك داخل العضوية
58.....	2. حاجيات العضوية إلى الزنك
59.....	3. الزنك في الأغذية
60.....	4. الإمتصاص
60.....	1.4. الإلتقاط بواسطة الحافة المسننة
60.....	2.4. التوزيع داخل الخلية المعوية
60.....	3.4. تحويل الزنك نحو الدم
61.....	4.4. العوامل المغيرة لإمتصاص الزنك
61.....	1.4.4. العوامل الغذائية
62.....	2.4.4. العوامل الفيزيولوجية
63.....	5. النقل المصلي للزنك
64.....	6. دور الكبد في إستقلاب الزنك
64.....	1.6. الإستعمال و التخزين
64.....	2.6. تنظيم الإستقلاب الكبدي و تأثير الجهد و العدى
65.....	7. طرح الزنك
66.....	8. دور الزنك في العضوية
66.....	1.8. الدور البيوكيميائي
66.....	1.1.8. عمل الإنزيمات
67.....	2.1.8. إستقلاب الهرمونات
68.....	3.1.8. إستقلاب الأحماض النووية
68.....	2.8. الدور الفيزيولوجي
68.....	1.2.8. النمو و التكاثر الخلوي
69.....	2.2.8. الأوبوتوز
69.....	3.2.8. المناعة
70.....	4.2.8. إلتئام الجروح
70.....	5.2.8. حاسة الرؤية
71.....	6.2.8. الوظيفة المخية
72.....	7.2.8. التكاثر و الخصوبة
73.....	8.2.8. الحماية ضد الجذور الحرة
74.....	9. الدور الباتولوجي للزنك
74.....	1.9. نقص الزنك
74.....	1.1.9. حالة نقص الزنك الحاد
75.....	2.1.9. حالة النقص غير الحاد للزنك

76.....	2.9 إفراط الزنك
	ثالثا: الوسائل و الطرق المستخدمة
77.....	1. البروتوكول التجريبي
77.....	1.1 تربية الحيوانات
77.....	2.1 تحضير الأنظمة الغذائية
78.....	3.1 إجراء التزاوج
78.....	4.1 تشكيل المجموعات
79.....	2 أخذ العينات
79.....	1.2 أخذ الدم
80.....	2.2 أخذ الأعضاء
80.....	3.2 أخذ الأجنة
80.....	3 طرق المعايرة
80.....	1.3 تقدير عنصرى الحديد و الزنك في الغذاء
81.....	2.3 تقدير الهيموجلوبين و الهيماتوكريت
81.....	3.3 تقدير الحديد البلازمي
82.....	4.3 تقدير الفيريتين البلازمي
82.....	5.3 تقدير الزنك البلازمي
82.....	6.3 تقدير الكولسترول
83.....	7.3 تقدير الجليسيريدات الثلاثية
84.....	8.3 تقدير الأكسدة الفوقية للدهون
84.....	1.8.3 تقدير MDA في البلازما
84.....	2.8.3 تقدير MDA في الكبد
84.....	9.3 تقدير الجلوتاثيون
85.....	10.3 تقدير نشاط انزيم Glutathione peroxydase (GPx)
86.....	11.3 تقدير نشاط انزيم Superoxyde dismutase (SOD)
86.....	12.3 تقدير الفيتامينات A و E
86.....	4 تحضير المقاطع النسيجية
87.....	5 التحليل الإحصائي للنتائج
88.....	رابعا : النتائج
116.....	خامسا : المناقشة و الخاتمة
145.....	المراجع
173.....	الملحق
	الملخص بالفرنسية
	الملخص بالإنجليزية
	الملخص بالعربية

المختصرات

4-HNE : 4-hydroxynonenal
AGE : produits de glycation avancés.
AGNE :Acide gras non ésterifié
AGPI (PUFA): acide gras polyinsaturé
AMPc :adénosine monophosphate cyclique
ANC : apports nutritionnels conseillés
CCl₄ : carbon tetra chloride
CINC : cytoking induced neutrophile chemoattractant
COQ₁₀ : ubiquinone
CTF : capacité total de la fixation du fer
CTF:capacité total de fixation de la transferrine
Cybrd1: cytochrome b reductase1
CYP2E1 : cytochrome P4502E1
DAP: DMT1 associated protein
DCT1 : Divalent Cation Transporter 1
Dcytb: duodenum cytochrome-b-like
DMT1: di metal transporter1
DTNB: 5',5' dithiois 2-nitrobenzoid acid
EDTA : éthylène diamine tetraacetate
FNLT(NTBI) : fer non lié à la transferrine
HCP1: heme carrier transporter1
HDL: high density lipoprotein
HO : hème oxygenase
HSP: heat chock protein
ICAM : intercellular adhesion molecule
IRC : insuffisance rénale chronique
IRE: iron responsive elements
IRP: iron regulatory proteins
LDL: low densitty lipoprotein
MP : maladie de Parkinson
MDA: malondialdehyde
MIP-2 : macrophage inflamatory protein-2
MOPS: 3(N-Mopholino)propane sulfonic acid
MP : maladie d'Alzheimer
MT : métallothionéines
NADPH : nicotinamide adenine phosphate
NASH : non alcoholic steatohepatitis
NFKB: nuclear factor kappa B
NOS:NO-synthese
Nramp1/2 : naturel resistance associated macrophage
OMS (WHO) : organisation mondiale de la santé
Pank2 : pantothénate kinase 2
PLO(LPO): lipoperoxidation
PPE : protoporphyrine érythrocytaire

RBP: retinol binding protein
RDA : recommended dietary allowance
ROS : reactive oxygen species
RPE (EPR) : electron paramagnetic resonance
RTf : récepteur de transferrine
SHS : syndrome d'Hallervorden-Spatz.
SLA : sclérose latérale amyotrophique
SOD : superoxyde dismutase
SRH : système réticulo-histocytaire
TBP : tocopherol binding protein
TGFβ : transforming growth factor-β
TNB: 5-thio 2- nitrobenzoid acid
TNF-α : tumor necrosis factor-α
TRx: thioredoxin
TRxR : thiorédoxine réductase
UCP : uncoupling protein
VGM : volume globulaire moyen
VLDL : very low density lipoprotein
XDH. Xantine dehydrogenase
XO : xantine oxydase

أولاً: المقدمة

يعتبر الحديد من أهم العناصر النادرة في الجسم، حيث يساهم في العديد من الوظائف الخلوية منها نقل، تخزين و إستعمال الأوكسجين، خصوصا على مستوى الهيموغلوبين و الميوغلوبين، و أيضا في عملية نقل الإلكترونات في السلسلة التنفسية. كما يدخل الحديد كعامل مساعد في نشاط العديد من الإنزيمات و منها الكatalاز.

يعتبر الحديد سلاحا ذو حدين، إذا كان يوجد بكميات قليلة و مرتبطا ببروتينات النقل، فإنه يكون ضروريا للتضاعف و التنفس الخلوي ومهما في تحسين المؤشرات الهيماتولوجية. لكنه إذا كان حرا و غير مرتبط، فإن تأثيره يصبح ساما، حيث يساهم في إنتاج الأشكال الجذرية النشطة (OH°). الحديد الحر أثناء إنتقاله من أماكن تخزينه، يصبح عاملا محفزا للأكسدة (Kadiska et al., 1995). فهو يشارك في حلقة Haber-Weiss و يولد جذور الهيدروكسيل (OH°) السامة خلال تفاعل Fenton التي هي مصدر التصلب الشرياني الناجم عن الأكسدة الفوقية للـ LDL على مستوى الشرايين (Mastié et al., 1996). لقد لوحظ ارتفاع في تركيز الحديد البلازمي لدى الأشخاص المصابين بالأمراض القلبية و كان هذا الارتفاع مرفوقا بزيادة الأكسدة الفوقية للبيبيدات. كما لوحظ إنخفاض في تركيز الفيتامين C و إختزال نشاط superoxyd dismutase (Salonen, 1992).

يمتلك الزنك فعلا مضادا للأكسدة تم إظهاره في العديد من الدراسات المجراة على نماذج مختلفة من الحيوانات، فهو على سبيل المثال يحمي الجرذان من سمية رابع كلوريد الكربون (CCl_4). رغم أن اكتشاف دور الزنك في الحماية ضد سمية CCl_4 كان في سنة 1973 من طرف Chvapil و آخرون، غير أنه في السنوات الأخيرة فقط أخذ بعين الإعتبار أهميته في الوقاية من المفعول السام للجذور الحرة (Wilson, 1998). يبدو أن الفعل الأساسي للزنك يرتكز على أخذ مكان الحديد على المواقع البروتينية وحمايتها من الأكسدة *in-situ* (Favier, 1998).

أصبح التزويد بالحديد شائعا و معمولا به خلال فترة الحمل في العديد من الدول خصوصا في الثلاثي الأخير من الحمل، نظرا لزيادة حاجيات المرأة لهذا العنصر في هذه الفترة. تتراوح الجرعات المسموح بتناولها أثناء الحمل من 30 إلى 120 مغ/اليوم. فالمجموعة العالمية لفحص فقر الدم (INACG, 1998) توصي بالتزويد من 60 إلى 120 مغ حديد في اليوم خلال فترة الحمل. إذا علمنا بأن المرأة في فترة الحمل تعاني من إنخفاض في نسبة المغذيات الصغيرة المضادة للأكسدة و أن هذه العناصر متوفرة في حدود العتبة لتغطية

حاجياتها، فإن التزود بالحديد في هذه الفترة قد يعرض الأمهات إلى خطر الجهد التأكسدي. في دراسة سابقة أجريت على نساء حوامل تم تزويدهن بالحديد (100مغ/يوم) خلال الثلاثي الأخير من الحمل بعد التشخيص الإكلينيكي لفقر الدم، لوحظ ارتفاع في الأوكسدة الفوقية للبيبيدات (Lachili, 1997). نظرا للدراسات القليلة جدا التي تناولت مفعول التزويد بالحديد على الجهد التأكسدي خلال فترة الحمل و أيضا للنتائج المتناقضة، أقترحنا في هذا البحث إجراء دراسة تجريبية على جردان حوامل لهدف معرفة:

- 1- مفعول التزويد بالحديد على الأوكسدة الفوقية للبيبيدات
- 2- أثر التزويد بالحديد على الأنظمة المضادة للأوكسدة خلال الحمل
- 3- أثر التزويد بالحديد على نمو الأجنة
- 4- أهمية دور الزنك في الحماية ضد الفعل التأكسدي الضار لعنصر الحديد أثناء الحمل

ثانياً: إستعراض
المراجع

I. الجذور الحرة و الجهد التأكسدي

وجود الجذور الحرة داخل العضوية، هو اكتشاف كان له أثر على تغير مفهومنا للآليات المسببة للعديد من الأمراض. تنتج هذه الجذور بطرق فيزيولوجية مختلفة (تنفس، مكافحة ضد العدوى، نشاطات إنزيمية...) لأنها ضرورية بالنسبة للعضوية. لكن إنتاج الزائد يصبح مضرا مما يتطلب من العضوية استعمال أنظمة مضادة للأكسدة. يؤدي الإنتاج المفرط للجذور الحرة أو الإنخفاض في النظام المضاد للأكسدة إلى أكسدة الجزيئات البيولوجية الضخمة (ليبيدات، بروتينات، ADN...) و بالتالي حدوث خلل في الأيض الخلوي و هذا ما يعرف بالجهد التأكسدي (stress oxydant). فالجهد التأكسدي ناتج عن فقد الإتزان بين كفة مضادات الأكسدة و كفة محفزات الأكسدة لصالح هذه الأخيرة. تلعب التغذية دورا أساسيا في الحفاظ على هذا التوازن، حيث توفر جزيئات مضادة للأكسدة كما توفر في نفس الوقت مشتقات سامة مولدة للجذور الحرة أو مواد محفزة للأكسدة. فالسير الحسن لعمل العضوية و انتظامه يكون ناتجا عن التوازن بين هذه الأنظمة.

1. تعريف الجذور الحرة

الجذر الحر في الكيمياء، عبارة عن ذرة أو جزيئة تحمل إلكترونات حرة أو أكثر في مدارها الخارجي يرمز له بنقطة " ° ". تنتج الجذور الحرة في تفاعلات الأكسدة و الإرجاع نتيجة انكسار الروابط الكيميائية و يمكن أن يحدث إنتاجها في بعض الحالات تحت تأثير الحرارة المرتفعة، الإشعاعات المؤينة و الأشعة فوق البنفسجية. إن المجال المغناطيسي الناتج عن دوران الإلكترون الحر لا يوازنه دوران في الإتجاه المعاكس من قبل إلكترون متزاوج. هذه الميزة تجعل الجذور الحرة شديدة التفاعل مع الجزيئات الأخرى لذلك فمدة حياتها قصيرة جدا حيث تتراوح بين 10^{-3} إلى 10^{-6} ثانية (Kerpen, 1998). تختلف قابلية تفاعل الجذور الحرة حسب طبيعتها، فـجذور السبيروكسيد ($O_2^{\cdot-}$) و المونوكسيد (NO^{\cdot}) لا تكون شديدة التفاعل لكنها تشكل مصدرا لأنواع جذرية نشطة، بينما جذور البيروكسيد (ROO^{\cdot}) وخصوصا الهيدروكسيل (HO^{\cdot}) تكون نشطة جدا مع معظم جزيئات الأنسجة الحية.

إن الجذور المتشكلة في الخلايا والتي تلعب دورا مميذا في وظائف العضوية، تعرف بالجذور الأولية. أما الجذور الأخرى فتعرف بالجذور الثانوية و هي تنتج من تفاعلات الجذور الأولية مع المركبات البيوكيميائية للخلية. تشتق الجذور الأولية من الأوكسجين عن طريق إختزاله بالإلكترون مثل السبيروكسيد ($O_2^{\cdot-}$) و جذر الهيدروكسيل (OH^{\cdot}) أو تشتق من الأزوت مثل مونوكسيد الأزوت (NO^{\cdot}) (Yoshikawa et al., 2000). هناك أنواع أخرى

تشتق من الأوكسجين مثل الأوكسجين المفرد (1O_2)، بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) و نيتروبيروكسيد ($ONOOH$)، وهي ليست بجذور حرة، لكنها نشطة و يمكنها إن تكون مواد طلائعية للجذور (Precursors). تستطيع الجذور الحرة أن تتفاعل مع جزيئات أخرى بعدة طرق: التفاعل بين حذرين يسمح بتزاوج إلكتروناتها الحرة مشكلة رابطة تكافؤية، كمثال على ذلك التفاعل بين جذري السيبيروكسيد ($O_2^{\circ-}$) أو بين السيبيروكسيد ($O_2^{\circ-}$) و مونوكسيد الأزوت (NO°)، حيث يعطي التفاعل الأول بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) والثاني بيروكسينيتريت ($ONOO^-$). تتفاعل الجذور مع جزيئات غير جذرية إما بتسليمها الإلكترون الحر أو بنزعها لإلكترون حيث تصبح الجزيئة بدورها جذرا يتفاعل بنفس الطريقة مولدا بذلك سلسلة من التفاعلات (Halliwell et al., 1989).

2. الأشكال النشطة للأوكسجين و مصادر إنتاجها

الأشكال النشطة للأوكسجين (جدول 1)، بعضها عبارة عن جذور حرة، مثل أنيون السيبيروكسيد ($O_2^{\circ-}$) و جذور الهيدروكسيل (OH°) و البير هيدروكسيل (HO_2°). بعضها ليست جذرية، مثل الأوكسجين المفرد (1O_2) و بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2). هذه الأشكال قابلة للتحويل فيما بينها بواسطة تفاعلات منها تفاعل Fenton و تفاعل Haber-Weiss المحفزين بواسطة المعادن الإنتقالية مثل الحديد و النحاس.

جدول 1: أهم الأشكال النشطة للأوكسجين (ROS)

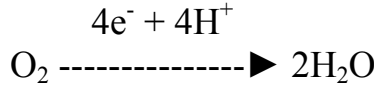
الرمز	الإسم
$O_2^{\circ-}$	- أنيون السيبيروكسيد
OH°	- جذر الهيدروكسيل
1O_2	- الأوكسجين المفرد*
NO°	- مونوكسيد الأزوت
H_2O_2	- بيروكسيد الهيدروجين
NOO°	- نيتروكسيد
$ONOO^{\circ}$	- بيروكسينيتريت
ROO°	- جذر البيروكسي
RO°	- جذر الألكوكسيل

يتم إنتاج ROS داخل العضوية بواسطة العديد من الميكانيزمات (شكل 1 و 4)

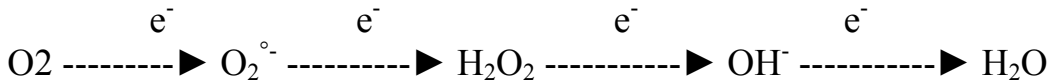
1.2. الميكانيزمات الإنزيمية

1.1 2. إختزال الأوكسجين الجزئي بواسطة إلكترون داخل الميتوكوندري

أثناء الإستقلاب الخلوي العادي، هناك أكثر من 95% من الأوكسجين الجزئي المستهلك من قبل الخلية يختزل إلى ماء على مستوى السلسلة التنفسية المندمجة في الغشاء الداخلي للميتوكوندري وذلك بواسطة إنزيمات Cytochrome oxydases. تنقل الإلكترونات الواردة من أكسدة الجزيئات البيولوجية عبر السلسلة التنفسية بواسطة Ubiquinones و Cytochromes التي يتم فيها على التوالي إختزال ثم إعادة أكسدة ذرات الحديد. عند وصول هذه الإلكترونات إلى نظام Cytochrome oxydase تحول أربعة منها على جزيئة الأوكسجين التي تختزل إلى ماء .



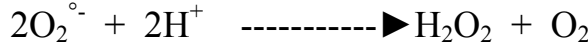
يكون إنتقال الإلكترونات عبر السلسلة التنفسية مرفوقا بتشكيل جزيئات الـ ATP. يحدث خلال هذا النقل فقد للإلكترونات (من 2 إلى 5%) التي يمكنها أن تتفاعل مع الأوكسجين و تختزله وفق سلسلة من التفاعلات وحيدة الإلكترون (إلكترون بالكاترون) مؤدية في كل مرحلة إلى إنتاج وسيط جذري كالسيبيروكسيد والهيدروكسيل. (Kerkeni,1998 ;Sjodin et al.,1990)



تشكل السلسلة التنفسية الموقع الأهم لإنتاج جذر $O_2^{\bullet -}$ وتشكيله يتناسب مع النشاط الفيزيائي والضغط الجزئي للأوكسجين وأيضا عند حدوث إختلالات وراثية، إتهابية في المتوكوندري (مفعول $TNF-\alpha$) أو غذائية (نقص Ubiquinone). هناك العديد من الباحثين أشاروا أن نقص الكمون الغشائي للميتوكوندري يكون مرفوقا بنقص الإنتاج الجذري . فيزيولوجيا، البروتينات التي تنتمي إلى عائلة UCP (uncoupling protein) المكتشفة حديثا في أنواع الميتوكوندريلت والقادرة على خفض الكمون الغشائي الميتوكوندري يمكنها أن تلعب دورا في تنظيم الإنتاج الميتوكوندري للجذور الحرة (Negre-salvayr et al.1997).

2. 1. 2. تنشيط الـ NADP-oxydase

تستهلك البالعات الكبيرة والكريات البيضاء متعددة النوى المتعادلة المنبهة (بواسطة الأنترلوكينات او الأندوتوكسينات...) كمية كبيرة من الأوكسجين الذي يتحول في معظمه تقريبا إلى جذر السيبيروكسيد بواسطة إنزيم يوجد على غشائها البلازمي NADPH-oxydase. هذه الظاهرة تعرف بـ " flambée respiratoire " أو " explosion oxydative " (Favier, 1998).



يتحول أنيون السيبيروكسيد المتشكل فيما بعد بواسطة Superoxyde dismutase (SOD) إلى ماء أوكسجيني (H_2O_2) و بعد ذلك إلى جذر هيدروكسيل (شكل 1). في وجود إنزيم myéloperoxydase المحرر من قبل الكريات البيضاء متعددة النوى في الوسط الخارج خلوي، يتحول الماء الأوكسجيني إلى مبيد بكتيري قوي يعرف بـ hypochlorite (ماء جافيل) الذي بدوره يمكنه التفاعل مع جزيئات الوسط الحاملة لوظائف أمينية أو أيون الأمونيوم لإعطاء جزيئات chloramines RNHCl (سائل Dakin المطهر) (Kerkeni, 1998).

يتطلب عمل NADPH oxydase استهلاك كمية كبيرة من NADPH، لذلك يجب أن تتوفر الخلية إما على NADPH reductase وإما على منهج إستقلابي مثل حلقة البنتوز كما هو في حالة الخلايا الحبيبية المتعادلة (Takeya et al., 2003). إنتاج الجذور الحرة من قبل هذه البالعات يشكل العنصر المفتاح في آلية دفاع عضويتنا ضد غزو الجراثيم. بعض الخلايا كالمفاويات B تحمل على أغشيتها أنظمة مشابهة لـ NADPH oxydase تنتج جذور بكمية أقل تستعملها كوسائط بين خلوية. بالإضافة إلى ذلك، فإن الخلايا الإلتهابية و المناعية يمكنها إنتاج سيتوكينات مثل $\text{TNF-}\alpha$ الذي هو قادر على حث إنتاج الجذور بواسطة ميتوكوندريات الخلايا المستهدفة (Favier, 2003).

2. 1. 3. تنشيط الـ xanthine oxydase

Xanthine oxydase (XO) هو إنزيم معدني يتشكل موقعه الفعال من molybdène. يوجد في الخلايا على شكل xanthine dehydrogenase (XDH) لكن أكسدة مجموعة SH تحوله إلى XO. الفرق الأساسي بين الإنزيمين هو أن XDH يستعمل NADP^+ كمستقبل للإلكترونين الواردين من البيورين المؤكسد، بينما XO يحول هذين الإلكترونين إلى جزيئي

الأوكسجين. حالياً، يطلق على الشكلين تسمية xanthine oxydo-reductase (XOR). ينتج إزيم XO انطلاقاً من الـ hypoxanthine، الأوكسجين، حمض البولة وجذر السيبيروكسيد. في الحالة العادية، تحتوي الأنسجة على كمية قليلة جداً من XO (Wright et al.2004). خلال فقر الدم (Ischemie)، جزيئة الأدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP) تهدم إلى hypoxanthine و إنزيم XDH يتحول إلى XO عن طريق بروتياز منشط بواسطة ارتفاع تركيز الكالسيوم الداخل خلوي. إعادة حقن (reperfusion) لعضو مفتقر للدم (ishémique)، يؤدي إلى إنتاج عنيف وغزير للجذور الحرة و إلى تفاقم الأضرار الخلوية (Kerkeni,1998).

هناك العديد من الأنظمة الإنزيمية المنتجة للجذور الحرة خلال التفاعلات البيوكيميائية منها hème-oxygénase، cytochrome p450، و Nosynthase .

يوجد نوع حذري آخر هو مونوكسيد الأزوت (NO°) يتم إنتاجه انطلاقاً من الأرجنين و الأوكسجين بواسطة النظام الإنزيمي NO-synthase (شكل 1)، وهي مجموعة من الإنزيمات الهيمية (NOS) الموجودة في العديد من الخلايا (الخلايا الطلائية المبطنة للأوعية، المونوسيت، الخلايا الحبيبية، الخلايا الكبدية...). يصبح ارتفاع تركيز NO° مضراً بالخلايا خصوصاً عند تفاعله مع جذر السيبيروكسيد ($O_2^{\circ-}$) لتشكيل مؤكسد قوي هو peroxynitrite ($NO^{\circ} + O_2^{\circ-} \rightarrow ONOO^{\circ-}$) وهو جذر جد نشط. بالإضافة إلى ذلك، فإن peroxynitrite يمكن أن يتفكك إلى مؤكسدات أخرى (NO_2° ، OH°) (Augusto et al.,2002).

2.2. الميكانيزمات غير الإنزيمية

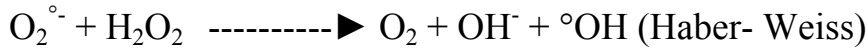
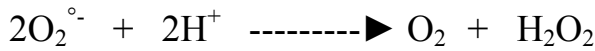
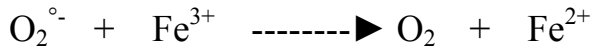
2.2.1. الأكسدة الذاتية للعديد من المواد الداخل والخارج خلوية

هناك مصدر آخر مهم للجذور يتمثل في ميكانيزمات حلقات الـ redox التي ينتج عنها في العضوية أكسدة الجزيئات مثل المركبات الكينونية. تتم حلقة الـ redox إما تلقائياً بتفاعل الجزيئات داخلية المنشأ أو خارجية المنشأ مع الأوكسجين فتتأكسد مؤدية إلى تشكل الـ $O_2^{\circ-}$ أو خصوصاً خلال أكسدة هذه المركبات على مستوى cytochrome P450. فهذا الميكانيزم هو الذي غالباً ما يفسر سمية الكحول، بقايا دخان التبغ أو بعض الأدوية منها Chloroquine Acetaminophène, Adriamycine (Kerkeni, 1998). عند التسمم برابع كلورور الكربون (CCl_4)، فإنه يتحول إلى جذر بواسطة السيتوكروم الكبدي P450 وهذا الجذر يتفاعل مع الأوكسجين ليعطي جذر البيروكسيل النشط الذي هو بمثابة محرك للأكسدة الليبيدية. يحدث

ذلك أيضا مع المركبات الداخلية المنشأ مثل Glutathion, Ascorbate, Flavines, Catécholamines، Lévulinales، Oxyhémoglobine، مثل الأدرينالين و خصوصا الـ ferrithémينية / O₂^{°-} معقد إلى تشكيل معقد O₂^{°-} ثم يتحرر الـ O₂^{°-} فيما بعد بواسطة أنيون Cl⁻ أو جزيئة ماء (Kerkeni,1998; Favier,1998). يكون هدم الدوبامين مرفوقا بإنتاج الجذور الحرة لذلك يمكن أن تكون هي مصدر تخريب العصبونات المسؤولة عن مرض Parkinson (Fahn et al.,1992). بصفة عامة كل تفاعل بيوكيميائي يتطلب تدخل الأوكسجين الجزيئي فهو قابل أن يكون مصدرا لإنتاج الجذور الحرة الأوكسجينية.

2.2.2. التفاعلات التأكسدية المحفزة بواسطة المعادن الإنتقالية

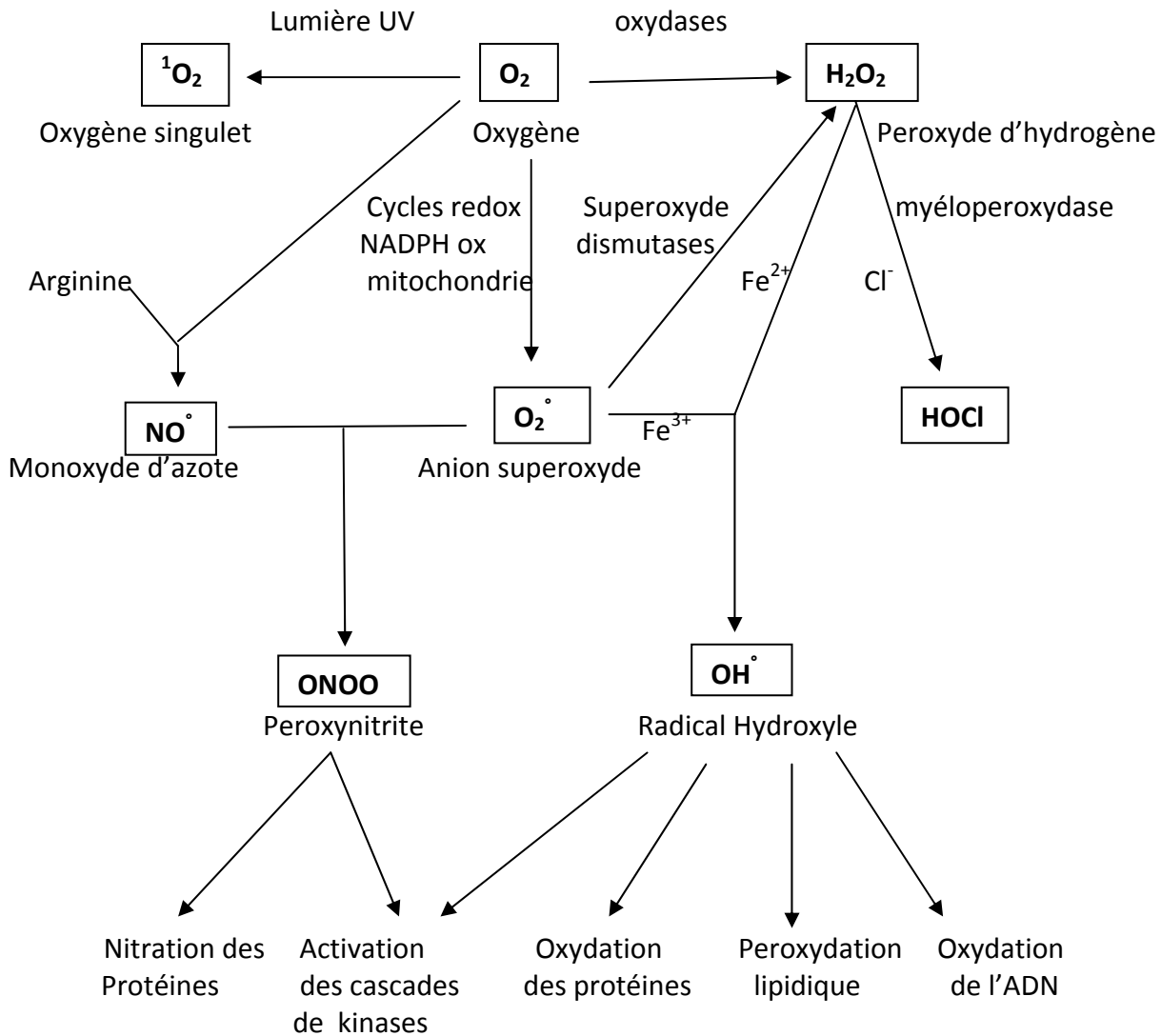
المعادن السامة (الكروم، الفناديوم...) كذلك النحاس والحديد الحر تولد جذور الهيدروكسيل النشطة إنطلاقا من النوع الأوكسيجيني H₂O₂ الأقل نشاطا بواسطة تفاعلات Fenton و Haber-Weiss



الجسيمات المستنشقة أو (amiant, silice) تعتبر هي الأخرى مصدرا للجذور، من جهة، لأنها تزيد من إثارة البلعمة و من جهة أخرى لأنها تحمل على سطحها أملاح الحديد (Favier, 2003).

3. 2. 2. الإشعاعات المؤينة

للإشعاعات القدرة على توليد الجذور الحرة، إما بشرط جزيئة الماء إلى جذرين في حالة الأشعة المؤينة X أو gamma، إما بتنشيط الجزيئات المحسوسة بالضوء (photosensibilisantes) عندما يتعلق الأمر بالأشعة فوق البنفسجية التي تؤدي بهذا الميكانيزم إلى إنتاج جذور السيبيرروكسيد و الأوكسجين المفرد (Favier,1998).



شكل 1: مصدر الأنواع النشطة للأوكسجين وتأثيراتها داخل العضوية (Favier, 2003).

3. منافع الجذور الحرة

سمح مجيئ البيولوجيا الجزيئية بتوضيح أن الأنواع الأوكسجينية الحرة لها دور فيزيولوجي هام. عند التراكيز الضعيفة فهي تعمل كرسل ثانوية لها القدرة على تنظيم ظاهرة الموت المبرمج للخلايا (Apoptose) المتطورة نحو حالة سرطانية (Curtin et al., 2002). كذلك تنشيط عوامل النسخ (MAPkinase , P38 ,NFKB) المسؤولة بدورها عن تنشيط المورثات المتدخلة في الاستجابات المناعية (Owver et al., 2002). كما أن الجذور الأوكسجينية الحرة لها دور في تعديل وتنظيم مورثات البنية الشافرة للإنزيمات المضادة للأكسدة (Holgem, 2003).

إن بلعمة البكتيريات و الطفيليات من طرف البالعات الكبيرة أو متعددة النوى، تكون مرفوقة بإنتاج الأنواع الأوكسجينية الحرة بشكل مكثف و يطلق على هذه الظاهرة التي أشير إليها لأول مرة في أعمال Badridge على الخلايا متعددة النوى في سنة 1933 بإسم « burst oxydatif » ، بمعنى الانفجار التنفسي. على مستوى الـ phagosome ، تنشيط NADPH oxydase وفعل superoxydes dismutases (SOD) و مجموعة انزيمات NOS يؤدي إلى تشكيل مزيج متلف مكون من HO° , $ONO^{\circ}OH$, H_2O_2 , $O_2^{\circ-}$ بالإضافة إلى HOCl و O_2^1 في الخلايا متعددة النوى. هذا المزيج التفاعلي الذي قلده الإنسان بإستعماله كمطهر مثل ماء جافيل أو الماء الأوكسيجيني الذي يخرب بواسطة الأوكسدة مجموعة المكونات البكتيرية (Favier, 2003).

تشكل الجذور الحرة أيضا نظاما لنقل الإشارات، فهي تعمل كرسول داخل و خارج خلوية تسمح بحث الإستجابة الخلوية للعديد من حالات الجهد (الحراري، الأشعة فوق البنفسجية، xenobiotique) سامحة بتعبير مورثات الدفاع المضاد للأوكسدة. لدى البكتيريا، تنتظم مورثات الدفاع ضد الجهد التأكسدي في شكل *réglon* : مورثة تعبر عن عامل نسخ الذي بعد تنشيطه بمشتق أوكسجيني، سينشط مورثة شافرة لعامل نسخ ثاني له دخل في مجموعة من الأنظمة المضادة للأوكسدة (Delattre, 2005). كذلك، يوجد العديد من مجموعات المورثات تستعمل خلال الجهد التأكسدي لدى *E. coli* : فالمنظم *oxyR-oxyS (réglon)* الذي ينشط بواسطة H_2O_2 ، يؤدي تعبيره إلى تخليق العديد من الإنزيمات المضادة للأوكسدة منها *Mn-SOD* ، *glucose 6 phosphate déhydrogénase* ، *endonucléase IV* الذي يوفر NADPH الضروري لإنزيم *glutathion réductase* ، *paraquat réductase* الذي ينتج تناقضيا الـ $O_2^{\circ-}$ ، البروتين الريبوزومي S6، و البورين الغشائي (Favier, 2003).

لدى الإنسان، المورثات المضادة للأوكسدة الأكثر تنبيها بواسطة الجهد التأكسدي هي المورثات الشافرة لـ *Mn-SOD* ، *catalase* ، *الفيريتين* ، *γ glutamyl-hème oxygénase* ، *cystéine synthase* ، *iNO synthase* ، *thioredoxine* ، *HSP70* ، *métallothionéines* ، بينما مورثات *Cu-ZnSOD* و *glutathion peroxydase* هي أقل تنبيها (Dalton et al., 2002). كذلك لأنواع النشطة للأوكسجين إمكانية تنشيط مورثات أخرى غير تلك الخاصة بمكافحة الجذور، وهذا عن طريق وساطة عوامل الـ redox الحساسة مثل *AP1* ، *HHF-1* أو *NF-κB* (Haddad, 1999). أيضا، مورثات السيتوكينات *TNF* ، *IL1* ، *IL6* ، *lipoprotéine* ، *lipase* ، *collagénase* ، *aldose réductase* ، *tyrosine protéine phosphatase* ، *β actine* أو *ornithine décarboxylase* تنشط بواسطة الأنواع الأوكسجينية (favier, 2003).

تستخدم الجذور الحرة أيضا كأداة للنقل الفيزيولوجي بين الخلايا المختلفة، في تنبيه بعض المستقبلات الغشائية وتنظيم العديد من الوظائف مثل تمدد الأوعية و التكاثف الخلوي. في بعض الظروف الدراماتيكية، الجذور لها القدرة على تنظيم ظاهرة الموت المبرمج للخلايا المتطورة نحو حالة سرطانية، حيث تصبح إشارات لموت الخلايا عند تجاوز قدرة تصليحها (Droge, 2002). إن العضوية في حاجة إلى كمية معينة من الأنواع النشطة للأوكسجين لذلك فهي في حاجة إلى عدم تخریبها وتنظيم مستوياتها لتجنب الجهد التأكسدي وهذا ما يفسر التنظيم الدقيق لمجموعة المورثات المضادة للأكسدة وميكانيزمات تكيفها. فالمعالجة المضادة للأكسدة يجب أن لا ينسى فيها الأنشطة النافعة للجذور الحرة.

4. سمية الجذور الحرة

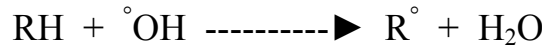
يؤدي الإنتاج المفرط للأنواع الأوكسجينية النشطة (ROS) إلى مهاجمتها للجزيئات البيولوجية (أكسدة الـ ADN، البروتينات، الليبيدات و السكريات). بعض نواتج الأكسدة تكون سامة ومسببة للطفرات خاصة تلك الصادرة عن أكسدة الليبيدات. ترتبط هذه النواتج بالقواعد الأزوتية للـ ADN متسببة في حدوث طفرات و سرطان. يمكنها أن ترتبط أيضا بالبروتينات وتصبح مسؤولة عن تشكل الأجسام المضادة الذاتية أو lipofuschines المميزة للشيوخوخة (Favier, 1998).

1.4. الأكسدة الفوقية لليبيدات

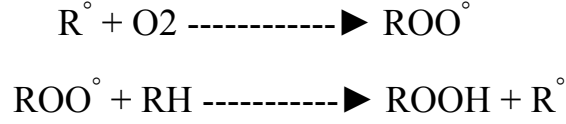
1.1.4. الليبيدات الغشائية

الجزيئات الأكثر حساسية للجهد التأكسدي هي الأحماض الدهنية غير المشبعة (AGPIs) المتواجدة في فوسفوليبيدات الأغشية الخلوية، حيث تفضل الجذور الحرة مهاجمتها لسبب إحتوائها على روابط زوجية (شكل 2). تتم الأكسدة الفوقية للأحماض الدهنية غير المشبعة المكونة للأغشية البيولوجية في ثلاث مراحل :

مرحلة البداية: ذرة الهيدروجين الموجودة على ذرة الكربون ألفا لرابطة زوجية في جزيئة حمض دهني غير مشبع RH، تكون جد نشطة. تحت تأثير جذر الهيدروكسيل (OH°)، يتم نزعها فيتشكل جذر كربوني R° و جزيئة ماء



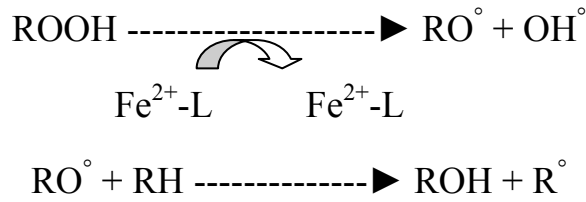
مرحلة الإنتشار: يتفاعل الجذر الكربوني مع الأوكسجين لتشكل جذر البيروكسيل ROO° الذي يتفاعل مع حمض دهني آخر لإعطاء هيدروبيروكسيد ROOH مع إعادة تكوين الجذر الكربوني.



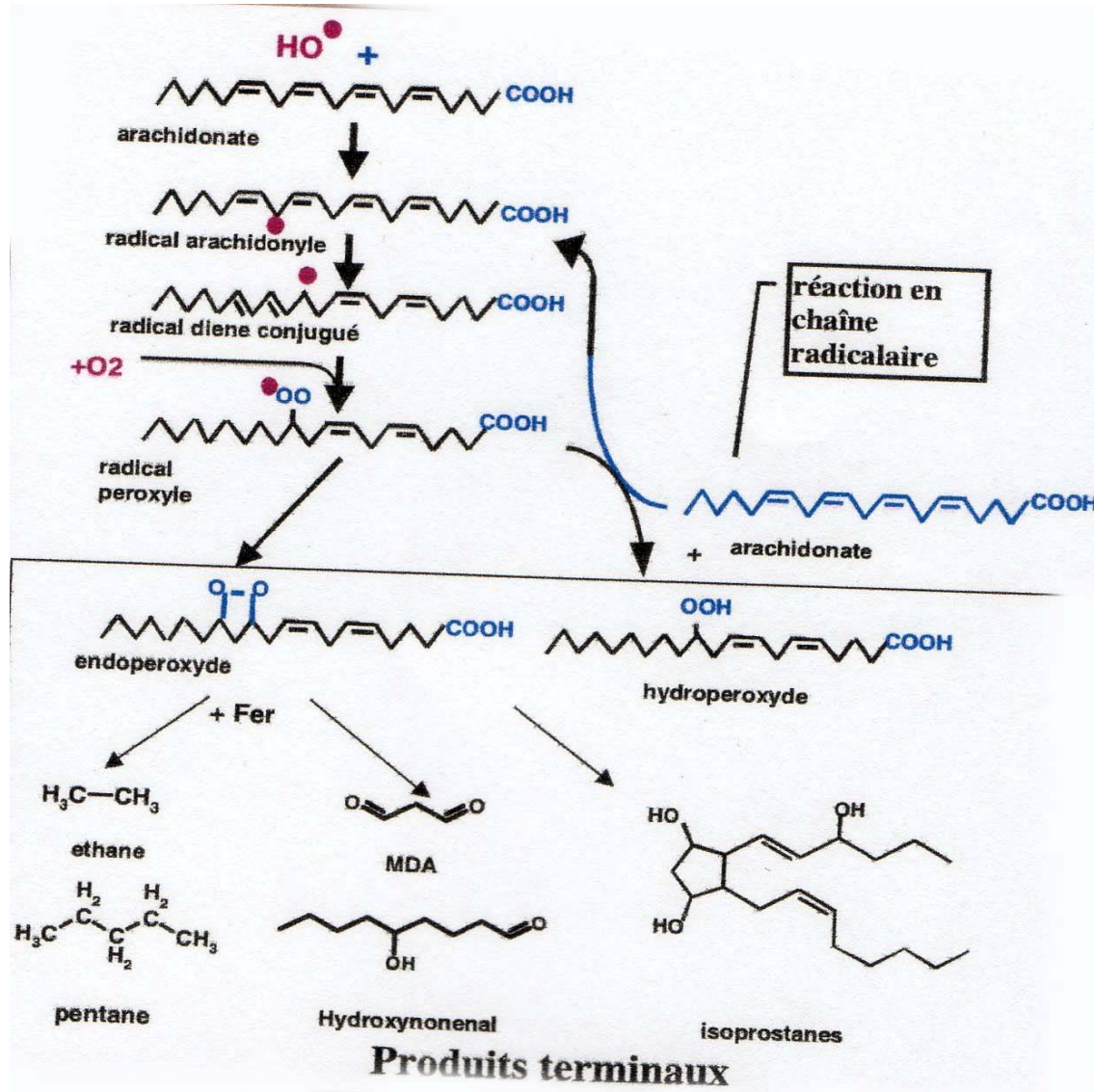
مرحلة النهاية: بعد ذلك، إما يحدث تزاوج بين جذري بيروكسيل مما يؤدي إلى تشكل نواتج غير جذرية



وإما في وجود Fe^{2+} المرتبط بمادة ، يتفكك الهيدروبيروكسيد إلى جذر alkoxy (شديد الفعالية) الذي يكون بمثابة بادئ لحلقات جديدة من الأوكسدة الفوقية (مرحلة إعادة التنشيط).



تتميز الهيدروبيروكسيدات المتشكلة بقدرتها على تنبيه إنزيمات A_2 phosphatase و Lipoxigenases (Calzada et al.,2001 ; Coulon et al.,2003)، مما يسمح ذلك بتراكمات إضافية للهيدروبيروكسيدات. هذه الأخيرة، نظرا لعدم إستقرارها فهي يمكن أن تتفكك إلى مشتقات ثانوية متأكسدة من بينها الألدهيدات مثل malondialdehyde (MDA) و 4-hydroxynonenal (4-HNE) التي تعتبر كمؤشرات للأوكسدة الفوقية للدهون (شكل 2). بعض هذه المشتقات تتفاعل مع الوظائف الأمينية لمختلف الجزيئات محدثة إضطرابات بيولوجية متعددة (Duthie,1993).



شكل 2: آلية الأكسدة الفوقية للأحماض الدهنية غير المشبعة وطبيعة النواتج النهائية المتشكلة (Favier, 2003).

2.1.4 الليبوبروتينات (Les lipoproteines)

تؤدي مهاجمة الليبوبروتينات المتحركة إلى تشكل جزيئات LDL المتأكسدة التي يتم إنقائها بواسطة مستقبلات نوعية للبالعات الكبيرة التي تتحول شيئاً فشيئاً إلى خلايا مزبدة (spumeuses) والتي لها دور في المراحل الأولى من تصلب الشرايين. تحتوي الليبوبروتينات ذات الكثافة المنخفضة (LDL) على مستوى أجزاء الليبيديية أحماض دهنية غير مشبعة (AGPIs) التي يستهدفها الهجوم الجذري. يبدو أن أكسدة LDL لا تتم في الدم و يعود احتمال ذلك إلى وجود مضادات الأكسدة. فعلاً، لم تكشف الدراسات المناعية عن وجود

LDL متأكسد في الدورة. من المحتمل أن تتم الأكسدة في الجدار الشرياني على مستوى المحيطات الدقيقة الناشئة عن تقارب البالعات الكبيرة، أو بين البالعات الكبيرة و الخلايا الطلائية المبطننة (Kottke, 1987). In vitro، يمكن لجزيئات LDL أن تخضع إلى أكسدة جذرية إما تكون محفزة بواسطة كاتيونات ثنائية التكافؤ مثل الحديد و النحاس و إما عن طريق حضانها مع خلايا مزروعة مثل الخلايا الطلائية المبطننة، الخلايا العضلية الملساء، الخلايا الليفية الفتية و المونوسيت- ماكروفاج (Jurgens et al.,1987). أكسدة LDL ذات أهمية بالغة في تطور تصلب الشرياني (athérosclérose). هناك دراسات حديثة أظهرت أن نسبة LDL المتأكسد تكون مرتفعة لدى الأشخاص المصابين بالدبحة الصدرية (infractus du myocarde). بصفة عامة فإن الأشخاص المعرضون للإصابات بأمراض القلب و الأوعية (ارتفاع الضغط، ارتفاع نسبة الكولسترول، السمنة) لديهم نسب غير طبيعية من LDL المتأكسد (Holvoet et al., 1998).

لقد أوضح Palinski و آخرون (1989) أن الأجسام المضادة المطورة ضد LDL المتأكسد أو ضد نواتج تفكيكه تثبتت على الجروح الناجمة عن تصلب الأورطي لدى الأرانب. كذلك مستخلصات LDL من هذه الجروح يتم التعرف عليها بواسطة أجسام مضادة مطورة ضد LDL متزاوج مع MDA و يملك الخصائص الفيزيوكيميائية لـ LDL المتأكسد. لقد تم الكشف عن الأجسام المضادة المتحركة و الموجهة ضد MDA-LDL لدى كل من الإنسان و الأرنب (Palinski et al., 1989). هناك العديد من الدراسات بينت أن ارتفاع الأجسام المضادة ضد LDL المتأكسد، له ارتباط وثيق بتطور تصلب الشريان التاجي (Salonen et al.,1992 ;Chiesa et al.,1998 ;Lehtmaki et al.,1999).

3.1.4. العواقب الناجمة عن ارتفاع الأكسدة الفوقية لليبيدات

تكون البروكسيدات الليبيدية المتشكلة غير مستقرة و بالإضافة إلى توليدها لجذور حرة جديدة و تشكيل نواتج الهدم، سيكون لها تأثيرات بيولوجية عديدة منها:

■ إتلاف الأغشية

يؤدي أكسدة الليبيدات الغشائية بواسطة الجذور الحرة إلى انخفاض في سيولة الغشاء و حدوث خلل في وظائف البروتينات الغشائية (قنوات أيونية ، مستقبلات...) مما يحدث تغيرا واضطرابا في وظيفة الأغشية الخلوية. تفقد الأغشية المتأكسدة خصائصها نصف

النفوذة مما يؤدي إلى إتلاف البنيات السيتوبلازمية. لقد أشارت العديد من الدراسات التجريبية أن الأوكسدة الفوقية لليبيدات الغشائية تلحق ضررا بالخلايا. إذا كانت الأغشية الخلوية هي المستهدف الرئيسي من طرف الجذور الحرة فإن أغشية العضيات الخلوية هي الأخرى معرضة للأوكسدة الفوقية للدهون لأنها تضم كمية معتبرة من AGPI خاصة منها أغشية الميتوكوندريات و الميكروزومات. تحتوي أغشية هذه العضيات على أحماض دهنية بـ 2، 4، 5 أو 6 روابط زوجية (Testud, 2001).

■ فقدان نشاط الإنزيمات

هناك نواتج جذرية تؤثر على نشاط بعض الإنزيمات منها A_2 phospholipase الذي يعتبر الإنزيم المسؤول على تحويل الفوسفوليبيدات الغشائية إلى حمض arachidonique، الذي يؤدي لاحقا إلى تشكيل البروستاغلونديينات و الأندوبيروكسيدات و بالتالي فهذه التشكلات تصاب بخلل (Testud, 2001).

■ فصل الخلايا الطلائية المبطنة

عند تراكم النواتج المشتقة من الأوكسدة الفوقية لليبيدات في السيتوبلازم، يمكنها أن تلحق أضرارا بالخلايا الطلائية المبطنة للنظام الوعائي. هذه النواتج لها تأثير على الهيكل الخلوي مما يؤدي إلى جعل الخلايا غير متصلة فيما بينها، كاشفة بذلك الفراغات تحت الطلائية المبطنة مع البالعات الكبيرة والنسيج الضام مما يسمح بتقابل الصفائح الدموية وألياف الكولاجين. سيؤدي ذلك في زيادة تسرب LDL و تراكم الصفائح الدموية (مع تحرير عامل النمو PDGF) و تكاثر الخلايا العضلية الملساء مكملة بذلك تشكل la plaque d'athérome (Testud, 2001).

2.4. أكسدة البروتينات

تهاجم EOA البروتينات خصوصا تلك الحاملة لمجموعات sulfhydryle (SH) و منها العديد من الإنزيمات والبروتينات الناقلة التي تتعرض للأوكسدة فتفقد نشاطها وتصبح حساسة لفعل إنزيمات البروتياز. تصبح البروتينات المتأكسدة جد كارهة للماء إما نتيجة حذف المجاميع الأمينية المتأينة و إما نتيجة إظهار المناطق الكارهة للماء المركزية. تشكل هذه البروتينات كتلا غير طبيعية داخل أو حول الخلايا. ترتبط هذه الكتل مع الليبيدات مشكلة

مستودعات لـ lipofuschines المميزة لأنسجة الأشخاص المسنين (Favier,2003). تظهر الأضرار التأكسدية للبروتينات على عدة أشكال:

- ظهور مجموعات الهيدروبيروكسيد (-OOH)
- أكسدة الهيكل الكربوني لسلسلة متعدد البيبتيد مؤدية إلى تجزؤ البروتينات و ظهور مجموعات الكربونيل وهذا في حالة العدوان القوي.
- أكسدة السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية مع تشكل جسور كبريتية ثنائية، methionine sulfoxide و مجموعة الكربونيل. بعض الأحماض الأمينية (phe, tyr, his) تخضع لعملية hydroxylation التي تؤدي إلى تشكل ortho و meta-tyrosine.
- في حالة PLO، أثناء أكسدة التيروسين تحدث عملية dimerisation لجذري التيروسيل فيتشكل جسر bi-tyrosine الذي يؤدي إلى تشابك (réticulation) البروتينات.
- تشكيل مشتقات كلورية (3-chlorotyrosine, 3-5-dichlorotyrosine) أو مشتقات نيتريية (nitrotyrosine) وذلك على التوالي عند تماس التيروسين مع نظام MPO/H₂O₂ و جذر المونوكسيد (NO[°]) (Davies, 1999 ; Davies, 1987).
- تخضع البروتينات لتغيرات متنوعة : تجزئة البروتين، أكسدة السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية وتشكيل روابط تصالبية بين بروتينين (Favier,2003).

3.4. أكسدة الـ ADN

تعتبر جزيئة ADN هي المستهدف المفضل من قبل الجذور الأوكسجينية. فالقواعد الأزوتية جد حساسة لهذه الجذور التي تؤدي إلى تشكل العديد من المشتقات. فعلى سبيل الذكر، هناك خمس أقسام أساسية من الأضرار التأكسدية يمكن إحداثها بواسطة جذر الهيدروكسيل (OH[°]). من بينها، القواعد المتأكسدة، المواقع اللاقاعدية (sites abasiques)، des adduits intra-caténaires، تصدع السلاسل و التجسير بين ADN و البروتينات (Cadet,2002). القواعد المكونة للـ ADN و بالخصوص الغوانين، فهي شديدة الحساسية للأكسدة. قد يكون الهجوم الجذري مباشرا و يؤدي إلى أكسدتها منتجا العديد من القواعد المعدلة : 8-hydroxy-2- déoxyguanine (8-OH-dG)، 8-nitro guanine، 5 hydroxy cytosine، 5 hydroxy méthyl uracile، thymine diol، oxazolone. يتم التخلص من هذه القواعد بواسطة إنزيمات تصليح ADN. في حالة عجز هذه الأنظمة، يتراكم 8-OH-dG على مستوى ADN مسببا بذلك حدوث طفرات لها علاقة بتطور مرض السرطان (Borek,1997).

يمكن للجهد التأكسدي أيضا مهاجمة الروابط الموجودة بين القواعد و سكر الريبوز منقوص الأوكسجين، مؤديا إلى تشكيل موقع لا قاعدي (site abasique) أو مهاجمة السكر نفسه، مسببا كسرا في سلسلة ADN. هناك أضرار غير مباشرة يمكن أن تنتج عن مهاجمة الليبيدات، فالألدهيدات الناتجة عن أكسدتها تكون مسببة للطفرات حيث ترتبط بقواعد ADN مشكلة أحيانا جسورا داخلية بين سلسلتي ADN. فالهجوم الجذري على البروتينات التي تقوم بحماية ADN (الهيستونات) أو قراءته (إنزيمات أو عوامل التضاعف و النسخ)، يؤدي إلى تجسير البروتينات (pontage) أو تثبيتها على قواعد أزوتية (Favier, 2003). في الواقع، يتعرض ADN يوميا إلى هجوم جذري، غير أن ثبات تنالي أزواج القواعد الأزوتية في ADN، يعود إلى وجود أنظمة مصلحة و التي من أهمها التصليح بواسطة قطع القاعدة (BER) أو بواسطة قطع النيوكليوتيد (NER). تصاب هذه الأنظمة بخلل إما عند الزيادة المفرطة للأضرار في حالة الجهد المكثف، إما لسوء عملها نتيجة نقص العوامل المساعدة (الثيوريدوكسين، الزنك) أو لوجود خلل وراثي. في هذه الحالة، تؤدي العيوب غير المصلحة إلى خلل في آلية تضاعف ADN فينجم عنها إما أخطاء في القراءة و التخليق بواسطة إنزيمات ADN polymérase مؤدية إلى حدوث طفرة في المورثات، أو عدم إمكانية نسخ ADN التي تؤدي إلى الموت المبرمج للخلايا (Favier, 2003).

4.4. أكسدة الجلوكوز

تهاجم الأنواع الأوكسجينية النشطة السكريات المتعددة المخاطية خصوصا منها protéoglycanes المشكلة للعضروف. في الشروط الفيزيولوجية في وجود المعادن النادرة، يتأكسد الجلوكوز و ينتج عنه كمية كبيرة H_2O_2 ، OH° و السيتوألدهيدات (cétoaldéhydes) التي تؤدي إلى قطع البروتينات أو تسكرها (glycation) عن طريق تثبيت السيتوألدهيد مشكلة مشتق AGE. أكسدة الجلوكوز هي ظاهرة شائعة الحدوث عند المصابين بالداء السكري و تساعد على هشاشة جدر الأوعية و الشبكية (Favier, 2003).

II. الأنظمة المضادة للأكسدة

مضاد الأكسدة هو كل مادة لها القدرة على تقليل أو تثبيط الأكسدة : إما تمنع إنتقال الإلكترونات إلى الأوكسجين الجزيئي و الجزيئات العضوية، إما توقف نشاط الجذور الحرة العضوية و/ أو توقف التفاعلات التسلسلية للجذور الحرة العضوية، و إما تصلح الضرر الذي تسببه الجذور الحرة. هذا التعريف الوظيفي ينطبق على العديد من المواد تضم إنزيمات

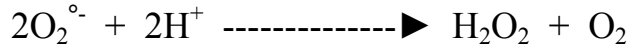
ذات خصائص تحفيزية نوعية و جزيئات ذات وزن جزيئي صغير، بالإضافة إلى بعض العناصر النادرة الضرورية لتنشيط الإنزيمات المضادة للأكسدة.

1. الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة

تمثل الخط الدفاعي الرئيسي المضاد للأكسدة داخل الخلية (شكل 3).

1.1. إنزيمات superoxydes dismutases (SOD):

هي أولى الإنزيمات المكتشفة القادرة على إستقلاب ROS، تحفز تفاعل تحول أيون السيبيروكسيد إلى بيروكسيد الهيدروجين و أوكسجين. هذا التفاعل يتم تلقائياً و لا يتطلب طاقة.

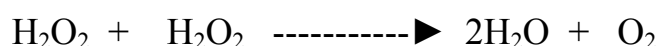


هناك أنواع عديدة من SOD تختلف من حيث طبيعة العامل المساعد المعدني: SOD يحتوي على نحاس- زنك (Cu-Zn-SOD)، SOD يحتوي على المنغنيز (Mn-SOD)، يحتوي على حديد (Fe-SOD) أو نيكل (Ni-SOD) (Barondeau et al., 2004). يمتلك Cu- Zn-SOD تحت وحدتين متشابهتين ذات وزن جزيئي 32 كيلودالتون. ترتبط ذرات النحاس و الزنك فيما بينها بواسطة جسر في الوضع 61 (Banci et al., 1998). تقسم إنزيمات Cu-ZnSOD حسب موضعها داخل العضوية إلى: (cCu-ZnSOD) توجد في السيتوزول، (ccCu-ZnSOD) تقع في الجهة الخارجية لغشاء الخلايا الطلائية المبطنة (endothéliale)، في الفراغ البيني للأنسجة و السوائل الخارج خلوية و أيضا (pCu-ZnSOD) بالنسبة لتلك الموجودة في البلازما (Kaynar et al., 2005). SOD ذو المنغنيز (Mn-SOD) و ذو الحديد (Fe-SOD) متشابهان كلاهما ذو هيم رباعي الأجزاء (tetramère)، وزنه الجزيئي 96 كيلودالتون يحتوي على نزة منغنيز أو حديد في كل تحت وحدة، دورهما البيولوجي هو حماية الميتوكوندري (Fridovich, 1998). في إنزيم Cu-Zn SOD، يلعب النحاس دوراً مهماً في تغيير درجة الأكسدة، بينما الزنك له دور في الحافظة على البنية و استقرارها (Fontecave et al., 1991).

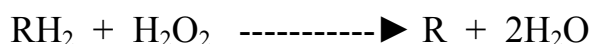
بيروكسيد الهيدروجين الناتج من التفاعل السابق يكون ساماً و بإمكانه أن يؤدي إلى إنتاج OH° في وجود السيبيروكسيد و أيونات الحديد أو النحاس. لذلك فمن الضروري التخلص من H_2O_2 و O_2° . ومن هذا المنطلق فأن SOD يعمل بالتعاون مع نوعين آخرين من الإنزيمات هما catalases و glutathion peroxydases.

2.1. إنزيمات catalases

هي أنزيمات ذات حديد. توجد في العديد من الأنسجة، خصوصا فهي كثيرة الانتشار في الكبد و الكريات الحمراء. يتألف الإنزيم من أربع تحت وحدات (tetramère)، كل تحت وحدة تحمل جزيئة هيم و جزيئة NADPH. يسمح تثبيت NADPH على الإنزيم بالرفع من فعاليته و حمايته من عدم النشاط (Kirkman et al.,1999). لدى الثدييات، يوجد catalase خصوصا في البيروكسيدومات حيث يحفز إختزال بيروكسيد الهيدروجين إلى ماء و أوكسجين (Favier, 2003).



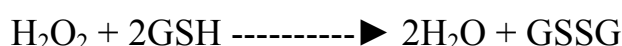
يسمح catalase أيضا بإزالة سمية مواد مختلفة كالفينولات و الكحولات بواسطة تزواج مع إختزال الهيدروجين.



إن الدور الأساسي لإنزيمات catalases هي الحد من تشكيل جذور الهيدروكسيل إنطلاقا من بيروكسيد الهيدروجين.

3.1. إنزيمات (GPx) glutathion peroxydases

تحفز هذه الإنزيمات إختزال بيروكسيد الهيدروجين أو الهيدروبيروكسيدات الليبيدية إلى ماء في وجود الجلوتاثيون المختزل (GSH) الذي يستعمل كعامل مساعد (Arthur, 2000)



إنزيمات GPx في معظمها ذات سيلينيوم، تتشكل من أربع تحت وحدات متشابهة تحمل كل منها في الموقع النشط ذرة سيلينيوم على شكل sélénocysteine. لقد تم التعرف على خمسة أشكال متشابهة (Arthur,2000):

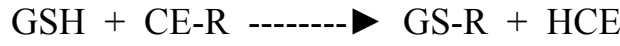
- GPx داخل خلوي سيتوزولي (cGPx) أو GPx-1
- GPx معدي معوي (giGPx) أو GPx-2
- GPx بلازمي (pGPx) أو GPx-3
- GPx داخل خلوي له القدرة على إختزال هيدروبيروكسيد الفوسفات (phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase أو GPx-4)

- GPx يخلق في المنويات المتأخرة sperm nucleus GPx (snGPx) (Pfeifer et al., 2001).

إضافة إلى أنواع GPx المذكورة، هناك إنزيمات GSH-s-transférases غير مرتبطة بالسيلينيوم، رغم اختلافها عن GPx، فهي تمتلك نشاطا بيروكسيديا اتجاه البيروكسيدات العضوية لكن ليس H_2O_2 .



تقوم هذه الإنزيمات أيضا بإزالة سمية العديد من المركبات الإلكتروليفية (électrophiles) كالأدوية و المواد المسببة للسرطان بتثبيتها على الجلوتاثيون المختزل بواسطة روابط تكافؤية. (Proctor et al., 1984).



المركبات المقرونة بالجلوتاثيون تستقلب فيما بعد وتتحول إلى أحماض ميركاتوريك و تطرح في البول.

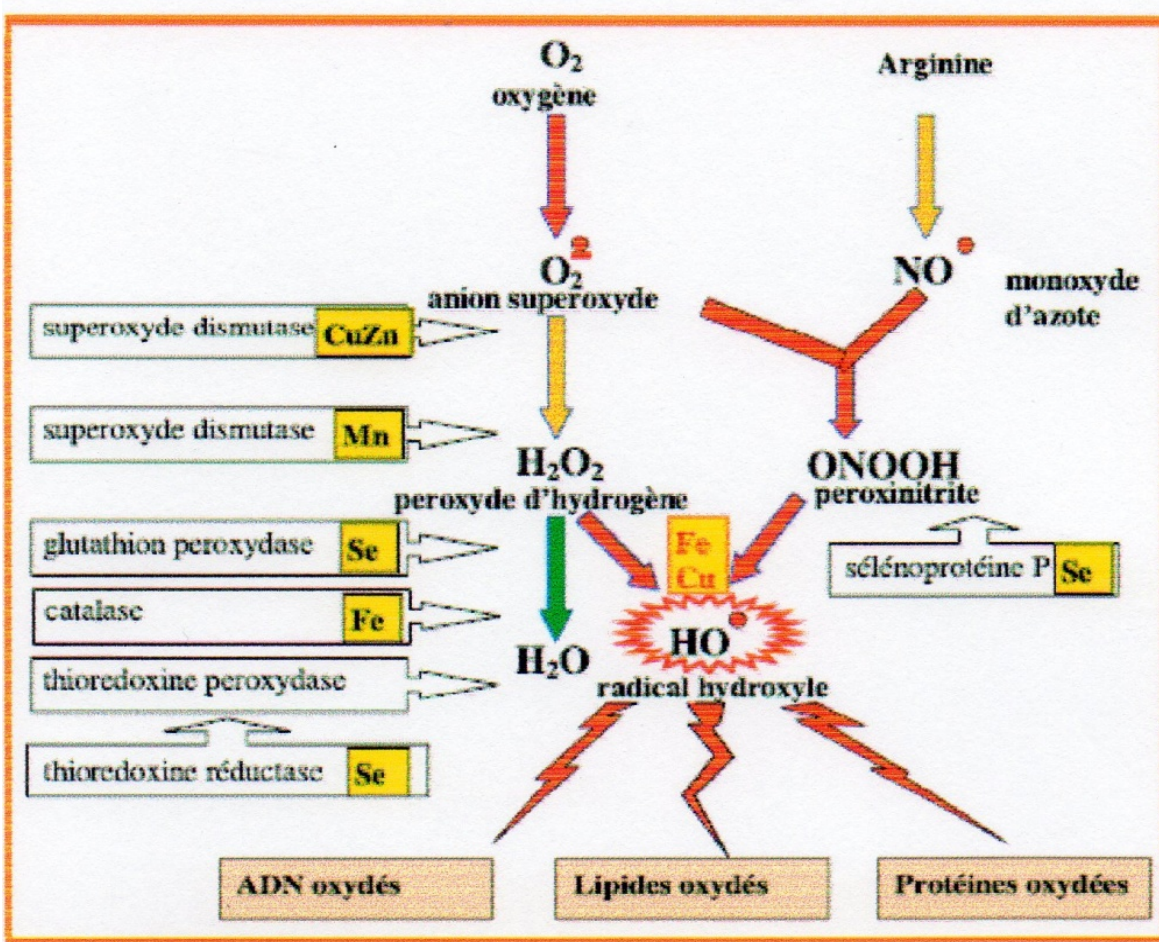
كذلك، يقوم إنزيم GSH-réductase بإختزال الجلوتاثيون المتأكسد بإستعمال NADPH المتشكل بفضل حلقة بنتوزات الفوسفات.

4.1 إنزيمات الـ hème oxygénase

يتكون نظام الـ hème oxygenase (HO) من ثلاث إنزيمات متماثلة (isoenzymes): الشكل HO-1، الشكل HO-2 و الشكل HO-3. في الأنظمة البيولوجية، يسمح HO بتحويل الهيم إلى مونوكسيد الكربون، إلى biliverdine و إلى حديد. الفعل الوقائي لإنزيم HO ضد الإجهاد التأكسدي لا يكون مباشرة، فبمجرد تشكل biliverdine تتحول إلى bilirubine التي تتميز بنشاطاتها المضادة للأكسدة. إضافة إلى هذا، فإن الحديد الناتج عن نشاط HO ينبه تخليق الفيريتين الذي يعتبر بدوره مضاد للأكسدة. مع ذلك، فإن إنزيم HO قد يكون له تأثيرات ضارة لأن نفس هذا الحديد سيؤثر كعامل محفز لإنتاج الأنواع الأوكسجينية النشطة (Ryter et al., 2000).

5.1. إنزيمات thiorédoxines (TRx)

هي بروتينات تحتوي على مجاميع الثيول (SH) ذات نشاط إنزيمي مضاد للأكسدة. لدى الثدييات، تتواجد في الميتوكوندريات، السيتوزول، البيروكسيزومات و تكون مثبتة على الأنوية و الأغشية. بفضل نشاطها البيروكسيدازي، فهي تعدل بيروكسيد الهيدروجين، البيروكسينيتريت و العديد من الهيدروبيروكسيدات. رغم نشاطها الضعيف مقارنة بـ GPx، فهي تلعب دورا رئيسيا في إقصاء الهيدروبيروكسيدات نظرا لتوفرها بكميات معتبرة (0.1 إلى 0.8% من البروتينات الخلوية المنحلة) و انتشارها الواسع في الخلية (Wood, 2003). إنزيمات TRx لها أيضا دور في تنظيم الجهاز المناعي (Hattori, 2003; Moran, 2001). عند أكسدتها، تختزل بواسطة إنزيم thioredoxine réductase (TRxR) الذي يحتوي على مجموعة sélénocystéine في موقعه الفعال. يتدخل TRxR أيضا في تخريب البيروكسيدات الليبيدية و بيروكسيد الهيدروجين و إعادة بناء حمض الأسكوربيك من جذر ascorbyl (Hattori, 2003).



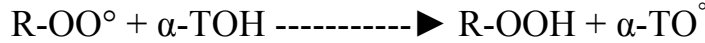
شكل 3: طريقة عمل أهم الإنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة وعواملها المساعدة المعدنية (Favier, 2003).

2. الأنظمة غير الإنزيمية

هناك جزيئات لها القدرة على تخريب الأنواع الأوكسجينية النشطة خاصة منها الجذور الحرة، حيث تصطاد الجذور بالفخ و تلتقط الإلكترون الأعزب محولة إياها إلى جزيئات أو أيونات مستقرة (شكل 4). فجزيئة الفيتامين الفخ تتحول إلى جذر إما يخرب أو يستعمل في بناء الفيتامين بواسطة نظام آخر. فمثلا الفيتامين E يتجدد بواسطة الفيتامين C الذي بدوره يتجدد بواسطة إنزيمات ascorbates réductases (Packer, 1991). هذا النوع من الجزيئات المضادة للأكسدة تعرف بالجزئات الفخ (piégeurs).

1.2. فيتامين E (tocophérols)

يضم مصطلح الفيتامين E عائلة tocophérols ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$). أكثرها نشاطا هو α -tocophérol. فهو الذي يمتلك الخصائص المضادة للأكسدة. قابلية ذوبان الفيتامين E في الليبيدات تسمح له بالاندماج بين الأحماض الدهنية للأغشية الخلوية والليبوبروتينات أين يلعب دورا وقائيا مانعا انتشار الأكسدة الفوقية للدهون المحرصة بواسطة الجهد التأكسدي، حيث يقوم بإصطياد جذور البيروكسيل و الألكوكسيل (alkoxyles) الناتجة عن أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة (AGPI) مشكلا جذر tocophéroxyle ذي النشاط الضعيف، سامحا بذلك توقف انتشار تفاعل الأكسدة (EL-Sohehy et al., 2002).



يؤثر الفيتامين E بتحوله على شكل جذري ذي نشاط ضعيف غير قادر على نشر عملية الأكسدة الفوقية لليبيدات. يهاجر جذر الفيتامين E إلى سطح الغشاء أين يتحول إلى فيتامين E بفضل الفيتامين C الذي بدوره يتجدد بواسطة إنزيمات ascorbates réductases (Packer, 1991 ; Carr et al., 2000). قابلية تفاعل α -tocophérol مع الجذور الحرة كبيرة: تبلغ سرعة التفاعل 104 إلى 105 أكبر من سرعة تفاعل جذور البيروكسيل مع جزيئات أخرى من AGPI. يمكن لجزيئة واحدة من α -tocophérol أن تثبط الأكسدة الفوقية لـ 1000 جزيئة من APGI (Testud, 2001).

تمارس جزيئة α -tocophérol في نفس الوقت فعلها ضد الجذور الأوكسجينية على سطح الغشاء و ضد التفاعلات التسلسلية لجذور البيروكسيل الليبيدية داخل الأغشية. فحركية α -tocophérol عبر وريقات الطبقة الليبيدية المضاعفة و حركتها الجانبية تسمح لها بالتذبذب والتوغل في عمق الغشاء و ألتقاط جذر البيروكسيل في حركة الذهاب و الأياب. تمارس

سلسلة الـ phytyl الجانبية تأثيرا ضعيفا على قابلية تفاعل الجزيئة لكنها تساهم في إندماجها في الطبقة الليبيدية و بالتالي مراقبة جزها في الأغشية. تدخل جزيئة α -tocophérol بين الجزيئات الليبيدية للأغشية بفضل شكلها البنيوي المتكامل مع بنية الـ APGI للفوسفوليبيدات الغشائية. في دراسة سابقة تم إيضاح أن الفيتامين E يمكنه تشكيل معقد مستقر مع الفوسفوليبيدات الغشائية الحاوية على بقايا الأراكيدويل (résidus arachidoyl)، فمجاميع الميثيل في الوضع 4 و 8 من سلسلة phytyl للـ α -tocophérol تتموضع في الجيوب التي تشكلها الروابط الزوجية للحمض الدهني (Testud, 2001).

في البلازما، تكون جزيئات tocophérols مرتبطة في معظمها بالليوبروتينات HDL و LDL، غير أن توزيعها يختلف حسب الجنس: معظمها يكون مرتبطا بـ HDL عند المرأة و بـ LDL عند الرجل. يوجد في البلازما حوالي 80% إلى 90% من α -tocophérol و الباقي أساسا عبارة عن δ -tocophérol. بقية أشكال الفيتامين E لا توجد إلا بكميات قليلة جدا. تتراوح النسب البلازمية العادية للـ α -tocophérol من 5 إلى 16 مغ/ل، وهي ذات صلة وثيقة بتركيز الليبيدات الكلية و الكولسترول. لذلك فتركيز α -tocophérol يجب دوما تعديله بالنسبة للكولسترول. التراكيز العادية لنسبة α -tocophérol/cholesreol تتراوح من 4.40 إلى 7.00 ميكروغرام/غ (Bourgeois,1992).

2.2. فيتامين C (حمض الأسكوربيك)

فيتامين C أو حمض الأسكوربيك لا يخلق من طرف العضوية. يتوقف تركيزه أساسا على التغذية و تغيرات المد الكبدية. يلعب دور قنّاص مميز للأنواع الأوكسجينية النشطة حيث يمكنه حماية مختلف المواد البيولوجية (بروتينات، أحماض دهنية، ADN) من الأكسدة. في التراكيز الفيزيولوجية، يكون فيتامين C قادرا على منع أكسدة LDL الناتج عن الأنظمة المختلفة المولدة للأنواع الأوكسجينية الحرة (الخلايا المتعادلة المنشطة، الخلايا الطلائية المبطنة المنشطة، myéloperoxydase) (Siow et al.,1999). أثناء أكسدته إلى حمض déhydroascorbique، فهو يتحول إلى شكل جذري وسطي (جذراسكوربيل) الذي يلعب دورا أساسيا في إعادة بناء فيتامين E المتأكسد (Chen et al.,2000).



يتدخل الفيتامين C في إستقلاب الحديد، حيث يسهل إمتصاص الحديد غير الهيمي بواسطة أليتين: إما إختزال شوارد الحديدك (Fe^{3+}) إلى شوارد الحديدوز (Fe^{2+}) التي هي أكثر قابلية للإمتصاص (مرفوقا باكسدة الفيتامين C). و إما مخلبة (Chélation) شوارد الحديدك (Fe^{3+}) التي تمتص على هذا الشكل. كذلك، يلعب الفيتامين C دورا في إستتقال الحديد من منطقة إلى أخرى، سواء حديد الدوران المرتبط بالترانسفيرين على شكل Fe^{3+} أو الحديد المخزن المرتبط بالفيريتين على شكل Fe^{2+} في الكبد، الطحال و النخاع العظمي.

عند ارتباط الفيتامين C بالحديد، يمكن أن يتحول إلى مؤكسد و يتسبب في الأكسدة الفوقية للدهون. و يعود ذلك إلى إحتمال إختزال Fe^{3+} إلى Fe^{2+} :



أو أثناء أكسدة الفيتامين C، يتشكل بيروكسيد الهيدروجين :



هذان التفاعلان المنتجان للـ Fe^{2+} و H_2O_2 يسمحان بحدوث تفاعل Fenton و كذلك إنتاج OH° (Crystal,1991).

3.2. الكاروتينويدات (caroténoides)

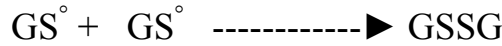
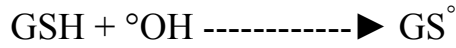
بعض الكاروتينويدات مثل β -carotène تستعمل كمواد طلائعية للفيتامين A الذي له دور أساسي في الإحساس البصري. معظم الكاروتينويدات و الفيتامين A تتفاعل مع الأوكسجين المفرد و يمكنها بذلك منع أكسدة المواد البيولوجية التي منها الأحماض الدهنية غير المشبعة. فهي تثبط الأكسدة الفوقية للدهون حيث تشكل مع جذور البيروكسيل جذرا أكثر استقرارا (Kinski,1989). من بين الكاروتينويدات الأخرى المهمة بالنسبة لمميزاتها المضادة للأكسدة، نذكر منها Lycopène الموجودة في قشرة الطماطم، lutéine، β -cryptoxanthine و zéaxanthine (Rissanen et al., 2003).

4.2. بروتينات الميتالوثيونين (métallothionéines)

هي بروتينات سيتوزولية غنية بالسيسنتين، عن طريق مجاميع الثيول العديدة يمكنها أن تثبت معادن خاصة الزنك و النحاس. توجد أساسا في الكبد و الكلى، باستطاعتها أن تصطاد بالفخ (piégeur) جذور السيبيروكسيد و الهيدروكسيل (Thornalley et al.,1989).

5.2. الجلوتاثيون المختزل

هو عبارة عن بيبتيدي ثلاثي يلعب دورا في المكافحة ضد الجهد التأكسدي على عدة جبهات. يمكن للجلوتاثيون أن يتفاعل مباشرة مع الأنواع الأوكسجينية النشطة بحكم خاصية إعطائه للإلكترونات. فمثلا يتفاعل GSH مع جذر °OH ليشكل الجلوتاثيون المؤكسد (GSSG) عن طريق جذر thyl (GS°) الوسطي حسب الميكانيزم التالي:



لكنه يستعمل أساسا كمادة تفاعل لـ GPx الذي يؤمن حذف الليبيدات المأكسدة فوريا . كما يلعب دورا في تعبير المورثات الشافرة لبروتينات محفزة و مضادة للإلتهابات. تؤدي التراكيز المنخفضة جدا لـ GSH إلى نقصان فعالية الدفاع المناعي. في حين و في وجود الحديد، يمكن للجلوتاثيون أن يصبح له نشاط محفز للأكسدة (Crystal et al.,1991).

6.2. حمض اليوريا (acide urique)

يشكل اليوريا الناتج النهائي الرئيسي لإستقلاب البيورينات لدى الرئيسيات (primates). فهو يمتلك خصائص مضادة للأكسدة، بإستطاعته أن يتفاعل مع الأنواع الأوكسجينية النشطة و بالخصوص مع جذر الهيدروكسيل. غير أن نواتج أكسدته مثل allantoine، يمكنه أن يتأكسد بسهولة منتجا بدوره مشتقات أوكسجينية سامة. يزداد تركيز حمض اليوريا خلال الجهد التأكسدي، خصوصا أثناء عمليات ischemie-reperfusion. يبلغ تركيزه العادي في البلازما من 34 إلى 84 مغ/ل عند الرجل و من 22 إلى 60 مغ/ل عند المرأة .

7.2 (CoEnzyme Q10) Ubiquinone

الإبيكينون أو CoQ10 معروف بدوره الحيوي في إنتاج الطاقة على مستوى الميتوكوندري. في شكله المختزل CoQ10H₂ يتميز بخصائص مضادة للأكسدة، فهو مثل الفيتامين E، له القدرة على تثبيط الأكسدة الفوقية للدهون (Ernster et al., 1995). دراسة نسبة CoQ10H₂/CoQ10 تكون ضرورية حتى تسمح بتقييم صحيح لأهمية CoQ10 في الحماية ضد الغزو بواسطة ROS (Lagendijk et al., 1996). من جهة أخرى، تقييم CoQ10 يمكن اعتباره مؤشرا مميزا وهاما لكشف الأشخاص المعرضين للإصابات في الشريان التاجي (Allewa et al., 1997). لقد أوضح (Ghirlanda et al.,1993) أن نسبة

CoQ10 تنخفض بشدة عند تناول statines و هي مواد معروفة بقدرتها على خفض الكولسترول. تثبط هذه المواد إنزيم 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG- CoA) réductase الذي يؤثر على إنتاج mevalonate، مادة تشترك في تخليق الكولسترول و CoQ10.

8.2. جزيئات أخرى

هناك مركبات أخرى تنتجها الخلايا لها دور مضاد للأكسدة مثل céruoplasmine، glutaredoxines transferrine، حمض الليبويك (أو polyamines)، الجلوكوز، المانيتول. معظم هذه المركبات البيولوجية تتفاعل مع جذر الهيدروكسيل (Favier,2003). كذلك هناك العديد من المركبات الغذائية التي تعمل على اقتناص الجذور الحرة منها polyphénols، alcaloïdes، phytates (Bors et al.,1990).

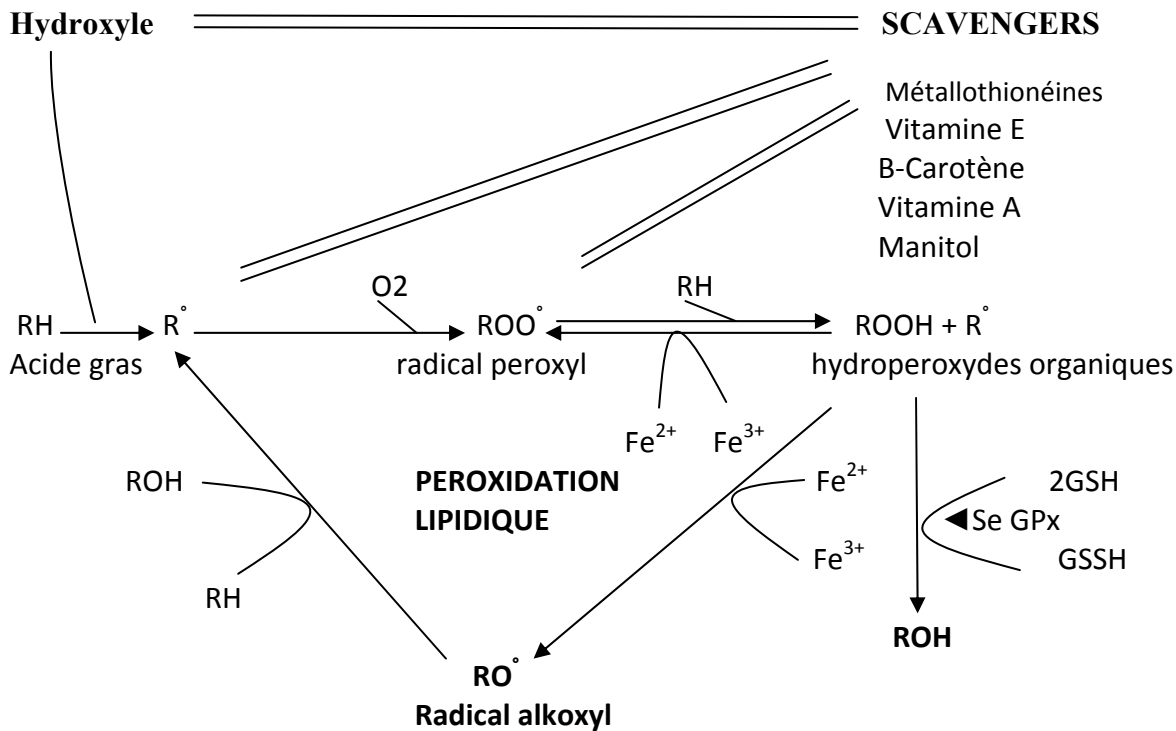
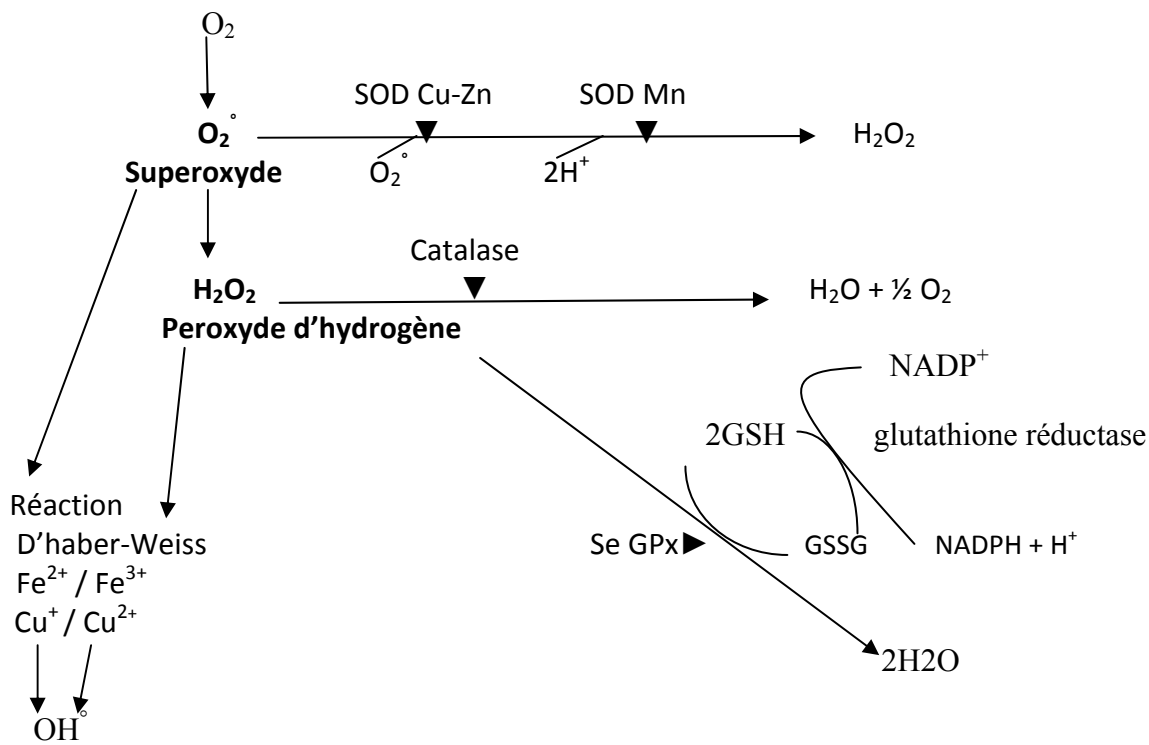
9.2. العناصر النادرة

■ السيلينيوم

هو عنصر نادر ليس في حد ذاته مضاد للأكسدة لكنه يساهم في الدفاع ضد EOA كعامل مساعد لـ GPx حيث يدخل في تركيب هذا الإنزيم الذي يلعب دورا مضادا للأكسدة داخل الخلية شبيه بدور الفيتامين E. هذا الفعل المضاد للأكسدة أساسي في إزالة سمية الجذور الحرة المنتجة بواسطة الأيض الخلوي. لذلك فالتأثيرات المضادة للسرطان و المضادة للشيخوخة تنسب إلى السيلينيوم. يساهم السيلينيوم أيضا في إزالة سمية بعض المعادن الثقيلة وله دور أساسي في تعديل الإستجابات الإلتهابية و المناعية. إن الوظائف البيولوجية للسيلينيوم ذات صلة وثيقة بوظائف الفيتامين E حيث يعملان غالبا بالتعاون. مع الفيتامين E، تقوم الإنزيمات ذات السيلينيوم بدور واق للخلايا و المحافظة على قدرة إنقسامها و بالتالي فهي تخفف سرعة الشيخوخة الخلوية (Wolters et al.,2006).

■ الزنك

هذا العنصر النادر هو أحد العوامل المساعدة الأساسية لإنزيم SOD. أخذ الزنك يؤدي على المدى الطويل إلى حث البروتينات المضادة للأكسدة مثل métallothioneines. يقوم الزنك أيضا بحماية مجاميع الثيول للبروتينات و بإمكانه تثبيط جزئيا التفاعلات المنتجة لأنواع الأوكسجينية المحفزة بواسطة الحديد و النحاس (Mezzetti et al.,1998).



شكل 4: الأشكال النشطة للأكسجين، الأوكسدة الفوقية لليبيدات ونقاط تصادم الأنظمة الوقائية المضادة للجذور (Takehara, 1990)

III. ميتابوليزم الحديد

1. الإمتصاص

الخلايا المعوية لزغابات العفج والجزء القريب من الصائم هي المسؤولة عن الإمتصاص شبه الكلي للحديد الغذائي الهيمي أو غير الهيمي. تبلغ نسبة امتصاصه لدى شخص عادي حوالي 1 إلى 2 مغ/اليوم. الإمتصاص ظاهرة نشطة تتم بتدخل العديد من البروتينات التي في معظمها أكتشفت حديثا وهي تتوقف على شكله الكيميائي. فالحديد المتأين والحديد الهيمي أكثر امتصاصا من الحديد غير الهيمي. يمثل الحديد الهيمي 3/2 من الحديد الممتص إلا انه لا يشكل سوى 3/1 من الحصص (Hurrell,1997).

1.1. إلتقاط الحديد عبر الغشاء القمي

■ إلتقاط الحديد غير الهيمي

على مستوى المعدة، يتم فصل الحديد غير الهيمي الذي مصدره الفواكه والخضروات من المركبات الغذائية و تأينه بفعل حموضة المعدة و اختزاله إلى حديد ثنائي قابل للإمتصاص. بالنسبة للحديد الثلاثي غير القابل للإلتقاط في درجات الحموضة الأعلى من 3 فإن اختزاله يتم بواسطة إنزيم ferriréductase Cybrd1 المدعو سابقا Dcytb الموجود على السطح القمي للخلية المعوية (Mckie et al.,2001). يحول Fe^{2+} المحصل عليه إلى داخل السيتوبلازم بواسطة ناقل غشائي يدعى حاليا DMT1، كان سابقا يدعى DCT1 (شكل 5). يوجد هذا الناقل بنسب عالية في الخلايا المعوية للحافة المسننة للعفج (Gunshin et al.,1997) وهو غير خاص بالحديد فقط لأنه يتدخل أيضا في نقل كاتيونات أخرى ثنائية التكافؤ ($Co^{2+}, Cu^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, CD^{2+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}$) (Fleming et al.,1998).

■ إلتقاط الحديد الهيمي

خلال الهضم، تتفكك البروتينات الهيمية (الهيموغلوبين، الميوغلوبين) فتتحرر جزيئة الهيم. في المعى، تثبت على مستقبل و تقنص ثم تفتح الحلقة بواسطة إنزيم ميكروزومي hèmeoxygénase و يتحرر الحديد الثنائي (Fleet,1998).

2.1. نقل الحديد داخل الخلية المعوية

انتقال الحديد داخل الخلية المعوية غير معروف بدقة. الحديد الثنائي (Fe^{2+}) مهما اختلفت آلية إمتصاصه، يمكن أن تكون له عدة اتجاهات: بقائه داخل الخلية، إما لإستعماله في الإستقلاب الخلوي الداخلي و إما لإندماجه في منطقة التخزين الممتلئة في الفيريتين. في كلتي الحالتين سيفقد الحديد خلال التقشر (desquamation) الفيزيولوجي للخلايا العوية.

3.1. نقل الحديد نحو الدورة الدموية عبر الغشاء القاعدي

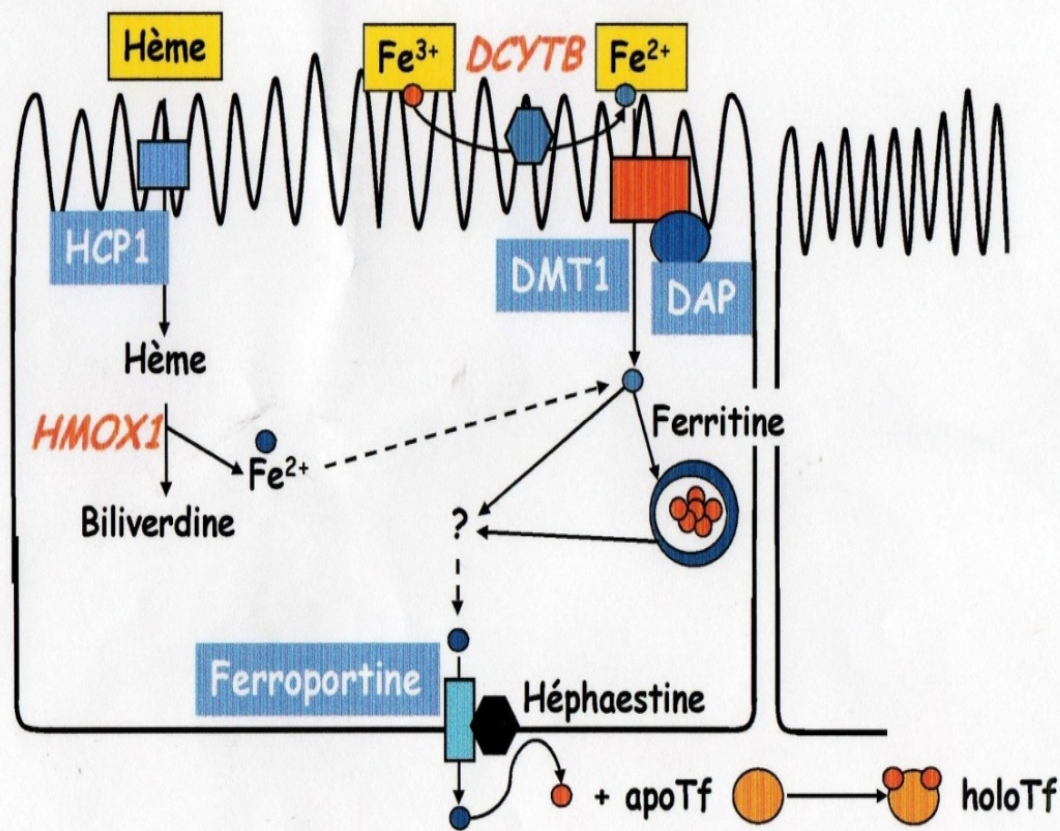
يتطلب نقل الحديد عبر الغشاء القاعدي للخلية المعوية نحو البلازما تدخل على الأقل نوعين من البروتينات هما ferroportine و héphaestine (شكل5). الأول يؤمن نقل الحديد الثنائي من داخل الخلية نحو الدورة العامة (Mckie et al.,2000; Fleming et al.,2001). الثاني يقوم بإعادة أكسدة الحديد الثنائي إلى حديد ثلاثي مسهلا إرتباطه بـ apotransferrine البلازمي بإعتباره البروتين الرئيسي الناقل للحديد في البلازما (Vulpe et al.,1999).

4.1. تنظيم إمتصاص الحديد على مستوى الخلية المعوية

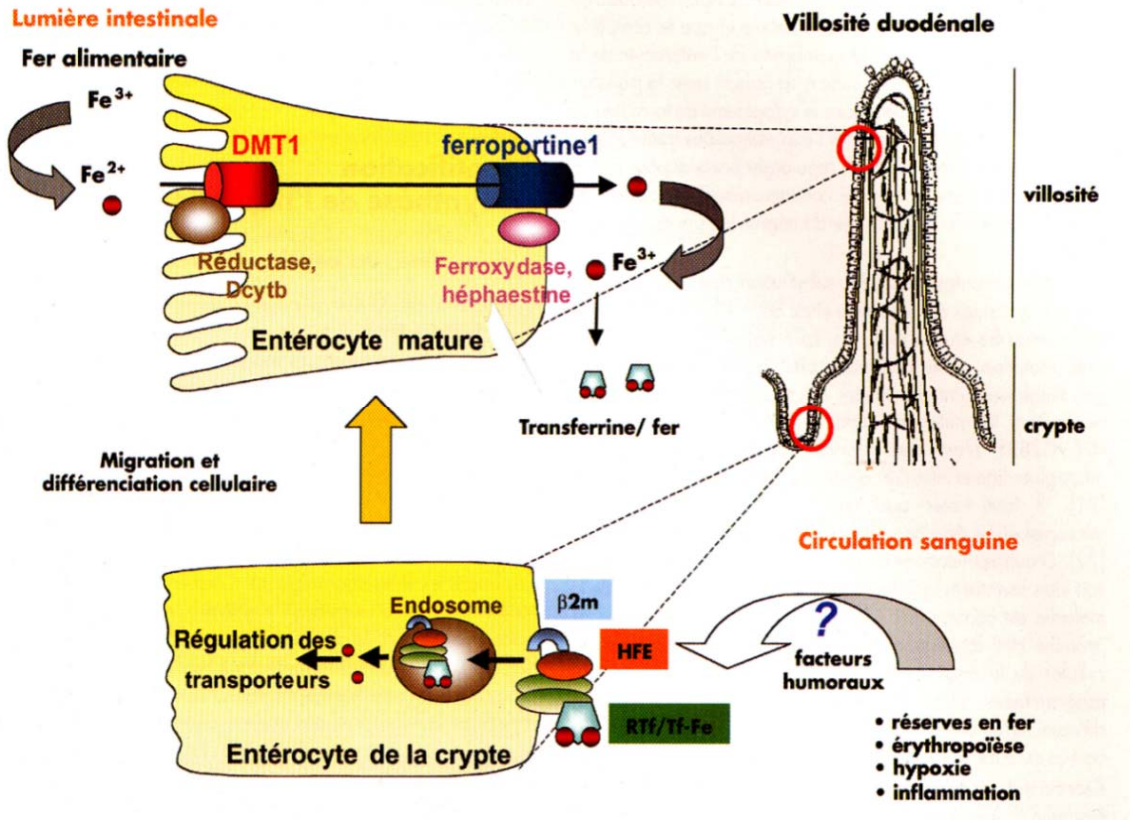
داخل الخلية المعوية، يمكن لبروتينات IRP (Iron Regulatory Proteins) أن ترتبط بمناطق خاصة تعرف بـ IRE (Iron Responsive Elements) تقع في النهاية 3' أو 5' لجزيئات ARN_m الخاصة بكل من الفيريتين، مستقبلات الترانسفيرين و DMT1. إذا كانت نسبة الحديد ضعيفة في الخلية المعوية، تثبت بروتينات IRP على IRE مما يحث من جهة على تخليق مستقبلات Tfe و DMT1 التي تزيد من إمتصاص الحديد، و من جهة أخرى يقلل من تخليق الفيريتين مما يخفض من إمكانية تخزين الحديد في هذه الخلايا (Cattan, 2004).

بروتين HFE (protéine de l'hémochromatose) هو بروتين منظم ينتمي إلى معقد التوافق النسيجي من الرتبة I (CMHI)، يتواجد في معظم خلايا العضوية خصوصا الخلايا المعوية (Eisenstein, 1998). يكون مرتبطا بـ beta-2 microglobuline، يقترن بمستقبل Tfe (شكل6). يتفاعل هذا المعقد مع apotransferrine1 على مستوى الغشاء و ينظم إمتصاص الحديد على مستوى الغشاء القاعدي للخلية المعوية (= إدخال خلوي للترانسفيرين البلازمي الحامل للحديد).

Hepcidine هو بيبتيدي هرموني يخلق من طرف الكبد، يلعب دورا رئيسيا في مراقبة الإمتصاص المعوي للحديد و إعادة إستعماله من قبل البالعات الكبيرة. عزل لأول مرة في سنة 2001. يمتلك نشاطا مضادا للجراثيم. في الخلايا المعوية يقلل من إمتصاص الحديد المعوي بمنع خروجه و يزيد من التقاط الحديد على مستوى القطب القاعدي. من جهة أخرى فهو يزيد من التقاط الحديد و يقلل تحريره من قبل البالعات الكبيرة (Delaby et al.,2007). كذلك يؤثر hepcidine بتنشيطه على ferroportine الموجود على أغشية هذه الخلايا مؤديا إلى تعديله أو تفكيكه مما يثبط خروج الحديد من الخلايا (Nemeth et al., 2004).



شكل 5: الآلية الفيزيولوجية لإمتصاص الحديد (Bordessoule, 2006)



شكل6: تنظيم إمتصاص الحديد على مستوى الخلية المعوية (Bordessoule, 2006)

يزداد إنتاج hepcidine بواسطة الحديد و ينخفض بواسطة فقر الدم و نقص الأوكسجين في الدم (hypoxie). يزداد حث hepcidine في حالة الإصابات الجرثومية و الإلتهابات، مؤديا إلى حجز الحديد في الخلية المعوية و البالعة الكبيرة. إنخفاض مستويات الحديد البلازمي الناجم عن ذلك يؤدي إلى فقر الدم الإلتهابي. وعلى العكس من ذلك، نقص hepcidine (الأولي أو الثانوي) يسمح بتفسير العديد من الزيادات الوراثية للحديد (Viatte et al.,2005).

5.1. العوامل المؤثرة على الإمتصاص المعوي

يتوقف مقدار الحديد الغذائي الممتص على العديد من العوامل منها طبيعة الغذاء، كمية الحديد في العضوية و شدة érythropoïèse. يكون الحديد الهيمي الموجود خصوصا في الأغذية ذات المصدر الحيواني أحسن إمتصاصا (قابلية الإمتصاص 25%) من الحديد غير الهيمي (قابلية الإمتصاص من 1 إلى 5%)، رغم أن الحديد غير الهيمي يمثل وحده 80 % إلى 90 % من الحصة الكلية للحديد. مثلا، حديد البقوليات الجافة يمتص بنسبة 3 % فقط ، في حين أن حديد اللحم يبلغ متوسط إمتصاصه 20 % و حديد حليب الأم أكبر من 30% (Lehchili, 2001).

1.5.1. العوامل المحفزة

بعض مكونات الغذاء تؤثر على إمتصاص الحديد. فاللحم، الدواجن والسمك فهي تحسن من إمتصاص كل من الحديد الهيمي وغير الهيمي بواسطة آليات غير معروفة. فاللحوم الحمراء خاصة منها لحم البقر لها تأثير كبير على جاهزية الحديد لأنها تحتوي على نسبة عالية من الحديد الهيمي في شكل ميوغلوبين. حمض الأسكوربيك (فيتامين C)، هو عامل معروف بتحفيزه لإمتصاص الحديد غير الهيمي حيث يعمل على زيادة قابلية ذوبان الحديد بتحويله إلى حديد ثنائي (Rebecca, 1995). بعض الأحماض العضوية منها المالك، الفيوماريك، اللاكتيك و حمض السيتريك، أثبت أنها ترفع من كمية الحديد القابل للإمتصاص (Gillooly et al.,1983 ;Mehanasho et al.,1989). يسبب عصير البرتقال زيادة إمتصاص الحديد غير الهيمي لغذاء مختلط من إثنين إلى أربعة أضعاف وذلك عن طريق مكوناته المتمثلة في حمض السيتريك و حمض الأسكوربيك (Mehanasho et al.,1989). كذلك يحسن EDTA من توفر الحديد القابل للإمتصاص (MacPhail et al.,1994).

عموما العناصر الغذائية التي يمكنها أن تشكل مع الحديد مركبات ذات وزن جزيئي ضعيف و قابلة للإحلال، كحمض السيتريك، الأحماض الأمينية و السكر، هي ميالة إلى الرفع من إمتصاص الحديد من قبل الأمعاء. تؤثر حموضة المعدة أيضا على إمتصاص الحديد، حيث يمكنه أن ينحل في حمض المعدة مما يسمح له بتركيب أشكال قابلة للإمتصاص (Rebecca,1995).

2.5.1. العوامل المثبطة

تشمل المكونات المعروفة بتثبيطها لإمتصاص الحديد: الفيتات، الكربونات، الفوسفات، الأوجزلات، و (polyphenols) tanins الموجودة في الشاي والقهوة. وهي مكونات غير منحلة أو مخالبية للحديد. تحتوي البذور الكاملة، البقوليات و الجوز، جميعها على نسبة عالية من المثبطات خصوصا الفيتات، مما لا يسمح إمتصاص إلا من 0-6% من الحديد الموجود في شكل قابل للإمتصاص (Hazellot et al.,1987). تحتوي الفواكه و الخضروات على كميات متغيرة من هذه المثبطات و أيضا المحفزات، بحيث أن نسبة الحديد القابل للإمتصاص في هذه الأغذية يختلف من ضعيف جدا (الخس 2%) إلى متوسط (جزر 9%) إلى مرتفع (طماطم 21%، عصير البرتقال 24%) (Rebecca,1995).

يحتوي الحليب على الكالسيوم المثبط لإمتصاص الحديد، لذلك تبلغ نسبة تثبيط امتصاصه حوالي 60-80 % في وجود منتجات الحليب. كذلك زلال البيض(ovalbumine) هو أيضا مثبط لإمتصاص الحديد(Rebecca,1995).

2. النقل البلازمي

عند تحرير الحديد من الخلايا المعوية (5%) و البالعات الكبيرة (95%) و ذلك عبر ferroportine فهو ينقل بواسطة tansferrine (sidérophiline) نحو مناطق إستعماله (النخاع العظمي خصوصا) أو تخزينه (الكبد خصوصا). في الحالة الفيزيولوجية هناك 20% إلى 30% من الترانسفيرين البلازمي يكون مرتبطا بالحديد (Fe^{+3}). وهو عبارة عن جليكوبروتين وزنه الجزيئي 76000، كل جزيئة منه تثبت ذرتي حديد في شكل Fe^{3+} (Franziska, 2009). يحتوي الدم على 2.4 إلى 2.8 غرام من الترانسفيرين في اللتر بإمكانها تثبيت 2 إلى 4.5 مغ/ل من Fe^{3+} (Lehchili,2000). يصنع الترانسفيرين داخل الخلايا الكبدية و بنسبة قليلة في البالعات الكبيرة للنخاع العظمي و الطحال. يتوقف تصنيعه من قبل الخلية الكبدية على كمية الحديد في الخلية، حيث يزداد تخليقه عند نقص الحديد و العكس، ارتفاع مخزون الحديد يقلل من إنتاجه.

عند تراكم الحديد كما في حالة hémochromatose نتيجة زيادة إمتصاصه، يصبح الترانسفيرين مشبعا بالحديد، مما يؤدي إلى ظهور شكل بيوكيميائي غير طبيعي للحديد البلازمي (Aruma et al.,1988). هذا الحديد غير المرتبط مع الترانسفيرين (FNLT)، الذي هو تقريبا منعما في بلازما الشخص العادي، يتثبت على مركبات ذات وزن جزيئي صغير مثل السيترات، الأسيتات، و يمكن أيضا إرتباطه بالألبومين (Hider,2002). مصير هذا الحديد يكون مختلفا عن الحديد المثبت على الترانسفيرين، حيث أظهر تجريبيا أن 90% منه يلتقط من قبل الكبد (Craven et al.,1987). في الحالة العادية، لا يوجد الحديد في شكله الحر في البلازما بل ينقل مرتبطا بالترانسفيرين. لكن خلال الزيادة في الحديد، يمكن أن يحدث تجاوز في سعة تشبع الترانسفيرين التي تبلغ في الحالة العادية حوالي 30% و بالتالي ظهور الحديد الحر الذي يقتنص من طرف الكبد و بإمكانه أن يؤدي إلى تشكل الجذور الحرة (Brissot et al.,1985).

3. الطرح

تبلغ كمية الحديد المفقود من عضوية شخص سليم حوالي 1 إلى 2 مغ/ اليوم، و يتم ذلك أساسا عبر الطرح البرازي (حديد غير ممتص، تقشر الخلايا الطلائية للعفج، فقد دموي هضمي)، العرق، التقشر الجلدي و المخاطي، سقوط الشعر والأظافر. هناك كمية قليلة جدا من الحديد تطرح عن طريق العصارة الصفراوية و البول. يضاف عند المرأة خلال الخصوبة الجنسية، فقدان الحديد عبر الدورة الشهرية حيث يبلغ حوالي 15 مغ/ الشهر أي ما يعادل 0.5 مغ/اليوم. لدى المرأة الحامل، كمية الحديد المفقودة يمكن أن تفوق 3مغ/اليوم خصوصا في الأشهر الأخيرة، لأن حديد الأم يتم تحويله إلى الجنين لتأمين نموه خلال فترة الحمل وأيضا خلال الرضاعة. يفقد المتبرعون بالدم بانتظام في كل مرة حوالي 500 مغ عند نزع 1 لتر من الدم (Andrews,1999).

4. التخزين

يبلغ إحتياط الحديد عند شخص بالغ حوالي 4 غرام، مقسم بين مواقع الإستعمال (أساسا النخاع العظمي والكريات الحمراء) ومواقع التخزين (أساسا الكبد، البالعات الكبيرة الطحالية والنخاعية). يخزن الحديد في غالبته على شكل فيريتين (95%) و هيموزيدرينن (5%) في صورة Fe^{3+} .

1.4. الفيريتين (Ferritine)

1.1.4 الفيريتين النسيجي

يتواجد الفيريتين خصوصا في الطحال، الكبد، النخاع العظمي، الطلائية المعوية، الكلية و المشيمة. يتكون من بروتين apoferritin والحديد (Fe^{3+}). يتشكل apoferritin من 24 تحت وحدة تتجمع في شكل بنية قرصية ملتحمة محيطة بتجويف مركزي يضم حوالي 4500 ذرة حديد على شكل بلورات phosphate d'oxyhydroxyde ferrique، غير أن الفيريتين النسيجي لا يتشبع عموما إلا بنسبة 50% (Aisen et al.,1999 ; Brissot et al.,1998). هناك نوعين من تحت الوحدات البروتينية: النوع H (heart) ذات وزن جزيئي 21 كيلودالتون و النوع L (liver) ذات وزن جزيئي 19 كيلودالتون، و تبعا لنسب هاتين التحت وحدتين يمكن أن نجد العديد من أشكال apoferritin (أي الفيريتين). عند الإنسان، تم عزل أكثر من 20 نوع من الفيريتين (أو isoferitines). للسماح بإندماج الحديد، فإن تحت الوحدة H تؤكسد

الحديد الثنائي (Fe^{2+}) إلى حديد ثلاثي (Fe^{3+}) و تحت الوحدة L تسهل تشكل البلورات (Crichton et al., 1996 ; Aisen et al., 1999).

2.1.4. الفيريتين البلازمي

- يوجد الفيريتين في البلازما بكمية قليلة جدا (حوالي 150 ميكروغرام/ل) و له مصدرين:
- جزء كبير منه (80 %) يأتي من البالعات الكبيرة لـ SRH أو بعد تخليق نوعي (يختلف عن تخليق الفيريتين النسيجي) يتميز هذا الفيريتين بإفتقاره للحديد.
 - جزء آخر من الفيريتين مصدره تحلل الخلايا المسنة للأنسجة المختلفة ويكون غني بالحديد. رغم قلة كمية الفيريتين البلازمي إلا أنها ذات أهمية خاصة في الكشف عن ميتابوليزم الحديد، لأن نسبة الفيريتين في البلازما هي بمثابة مؤشر طيب لمخزون الحديد.

غير أن الفيريتين الموجود في البلازما هو عبارة عن apoferritin، بمعنى بروتين بدون حديد و هو لا يلعب دورا ناقلا. تركيزه العادي في البلازما يتراوح بين 30 و 300 ميكروغرام/لتر. هناك العديد من أشكال الفيريتين تدعى isoferitin تختلف حسب الأنسجة التي تخلقه (Aisen et al., 1999).

2.4. الهيموزيدرين (Hémosidérine)

يتواجد في البالعات الكبيرة لـ SRH والخلايا الكبدية خصوصا خلايا kupffer. يخزن الهيموزيدرين سوى 5% من الحديد الإحتياطي، وهو عبارة عن معقد حديد- بروتين مشتق عن الهضم الليوزومي لركام الفيريتين (فيريتين مفكك و مرتبط بأصبغة خلوية مختلفة) (Beard et al., 1996). يمكن الكشف عنه بواسطة تلوين Pérois بإستعمال ملون bleu de Prusse. حديد الهيموزيدرين غير قابل للإستعمال من طرف الخلايا على عكس حديد الفيريتين الذي يتم تحرير الحديد منه عن طريق تفكيكه داخل الليوزومات، حيث إما يستعمل أو يدمج في جزيئات فيريتين جديدة (Lafond et al., 2000).

5. الحصص المزكاة و الحاجيات إلى الحديد

حددت الحاجيات اليومية من الحديد بأنها كمية الحديد التي عند إمتصاصها تعوض كمية الحديد المفقودة و تضمن الحفاظ على ثباته في العضوية و هي تختلف مع العمر،

الجنس و الحالة الفيزيولوجية للفرد (نمو، حمل، رضاعة) (جدول 2). هذه الحاجيات تغطيها الحصص الغذائية المأخوذة يوميا رغم الإمتصاص المعوي المحدود (10 إلى 20%). تبلغ الحاجيات اليومية لدى الشخص البالغ (65 كغ) حوالي 1 إلى 2 مغ/اليوم، لذلك يجب أن تكون كمية الحديد المستهلكة يوميا بين 10 و 15مغ. بالنسبة لمرأة تزن 55 كغ تكون الحاجيات أكثر أهمية في الشروط الاعتيادية و هي تبلغ من 2 إلى 4 مغ/اليوم. لتحديد الحصص المزكاة لفرد، يجب الأخذ في الحسبان ثلاثة عوامل هي : الحاجيات الفيزيولوجية المرتبطة بالسن و الجنس، محتوى الحديد في الوجبة و وجود العوامل المنشطة و المثبطة للإمتصاص (نسبة الحديد الممتص) و مخزون الحديد لدى الفرد.

جدول2: الحصص الغذائية المزكاة (ANC) والحاجيات إلى الحديد (Lafond et al.,2000)

الحصص (مغ/يوم)	الحاجيات (مغ/يوم)	Populations
3.5	0.8 - 0.6	- رضيع
6	0.3	- طفل
13	0.7	- مراهق
16	0.4	- مراهقة
9	2-1	- رجل
16 - 14	4 - 2	- امرأة
35 - 25 في الثلاثي الأخير	6 - 3.6	- امرأة حامل
10 - 9.5	3	- امرأة مرضعة
8	0.9	- امرأة في سن اليأس

خلال الثلاثة أشهر الأولى من حياة الرضيع، تكون حاجيات الحديد قليلة لأن هناك تباطؤ في إنتاج الكريات الحمراء و أيضا بسبب تحللها الفيزيولوجي. إبتدأ من الشهر الرابع ترتفع الحاجيات وتصبح التغذية المناسبة ضرورية. تزداد حاجيات الحديد أيضا خلال فترة المراهقة وذلك بسبب زيادة تراكيز الهيموجلوبين (135غ/ل في سن 11 سنة، إلى 150غ/ل في سن 16 سنة)، حجم الدم و الكتلة العضلية (Martin, 2001 ; Vidailhet, 2004).

تزداد الحاجيات إلى الحديد بشكل معتبر لدى المرأة الحامل خصوصا في الأشهر الستة الأخيرة من الحمل وتصبح تتطلب حصصا تتراوح من 25 إلى 35 مغ/اليوم على الأقل. في الثلاثي الأول من الحمل ليس هناك زيادة في حاجيات الحديد حيث تكون حوالي 1مغ/اليوم لكن في الثلاثي الثاني ترتفع الحاجيات إلى حوالي 4 مغ/اليوم و 6 مغ/اليوم خلال الثلاثي

الثالث (جدول 3)، و ذلك بسبب إرتفاع كتلة الكريات الحمراء لدى الأم (حوالي 500مغ)، تكوين أنسجة الجنين (حوالي 29 مغ) و تكوين المشيمة (حوالي 25 مغ). بإضافة هذه النفقات النوعية إلى كمية الحديد المفقودة (0.8 مغ/يوم أي ما يعادل 220 مغ طوال فترة الحمل)، تكون المرأة الحامل في حاجة إلى أكثر من 1000 مغ حديد لتأمين ميزانها من الحديد أثناء الحمل (جدول 4).

جدول 3: الحاجيات اليومية للحديد خلال فترة الحمل (مغ/يوم) بالنسبة لمرأة وزنها 55 كغ قبل الحمل (Hercberg, 2000)

مجموع الحاجيات	جنين + مشيمة	كتلة الكريات الحمراء	حاجيات أساسية	
0.8	0	0	0.8	ثلاثي أول
4.4	0.8	2.75	0.8	ثلاثي ثاني
6.3	2.75	2.75	0.8	ثلاثي ثالث

جدول 4: توزيع الحاجيات للحديد (مغ) خلال فترة الحمل (Hercberg, 2000)

المجموع	الثلاثي الثالث	الثلاثي الثاني	الثلاثي الأول	
500	250	250	-	إرتفاع كتلة الكريات الحمراء
290	230	60	-	حديد الجنين
25	25	-	-	حديد المشيمة
240	80	80	80	الضياح الفيزيولوجي
1055	585	390	80	المجموع

يعتبر مخزون الحديد في بداية الحمل عاملا أساسيا لتقدير حاجيات الحديد عند النساء الحوامل. إذا كان مخزون الحديد في بداية الحمل هو 500 مغ، فإنه يسمح بتأمين وتغطية الحاجيات المرتبطة بزيادة كتلة الكريات الحمراء: يمكن أن تقدر الحاجيات اليومية للحديد بحوالي 2.6 مغ/يوم. على عكس المفهوم الكلاسيكي، فإن الحاجيات لا تزداد في النصف الثاني من الحمل، بل من نهاية الثلاثي الأول وتتضاعف بأكثر من ثلاثة مرات خلال الستة أشهر الأخيرة (Lehchili, 2001). في الواقع، عند النساء اللواتي لديهن مخزونا منعما من الحديد، فإن الحاجيات الإضافية خلال الستة أشهر الأخيرة من الحمل لا تكون 475 مغ بل تبلغ 975 مغ أي ما يعادل 5.2 مغ/يوم. إذن تبعا لمخزون الحديد القابل للتعبئة قبل الحمل، فإن الحاجيات للحديد خلال الستة أشهر الأخيرة من الحمل تتراوح بين 2.6 إلى 5.2 مغ/يوم. إن الحالة الإبتدائية لمخزون الحديد قبل الحمل تبدو هي العامل المحدد لشدة نقص الحديد.

فمشكلة نقصه خلال هذه المرحلة له علاقة بمخزوناته عند المرأة في الإنجاب (Herberg, 2000). رغم زيادة نسبة الامتصاص الهضمي للحديد خلال فترة الحمل حيث ترتفع من 10% إلى 40% وكذلك توقف العادة الشهرية، فرغم هذا التكيف، يظهر لدى العديد من النساء الحوامل انخفاض في مخزون الحديد. ويمكن تفسير ذلك إذا أخذ في الحسبان زيادة الحجم البلازمي (50%) إلى تمدد الدم (hémodulation).

6. توزيع الحديد في العضوية

يبلغ محتوى الحديد في العضوية حوالي 3.8 غ عند الرجل و 2.3 غ عند المرأة، أي بتركيز 50 مغ/كغ بالنسبة للرجل و 42 مغ/كغ بالنسبة لإمرأة ذات وزن 55 كغ بسبب الفقد الحيضي (جدول 5). يقسم حديد العضوية بين حديد هيمي Fe^{2+} و حديد غير هيمي (Fe^{3+}). الجزء الأكبر من الحديد الهيمي يدخل في تركيب الهيموغلوبين (60% من الحديد الكلي) بينما الحديد المخزن على شكل فيريتين و هيموزيدرين فهو يمثل الحديد غير الهيمي (35% من الحديد الكلي) (Cadet et al., 2005).

معظم كمية الحديد داخل الجسم (3/2) تكون وظيفية أي نشطة. فالحديد الهيمي الموجود أساسا في الهيموغلوبين، يحرر أثناء تحلل الكريات الحمراء ليستعمل في إعادة تشكيلها (erythropoïèse) و كذلك بالنسبة لحديد الميوغلوبين العضلي، catalase، peroxydases. و أيضا الحديد غير الهيمي الموجود في الإنزيمات المختلفة مثل NADH déshydrogénase و succinate déshydrogenase و xanthine oxidase. إن الثلث المتبقي من الحديد يتوزع بين بروتينات التخزين الفيريتين و الهيموزيدرين. يحتوي بروتين الترانسفيرين فقط على 0.1 إلى 0.2% من الحديد الكلي (Cadet et al., 2005).

جدول5: توزيع المركبات الحاوية على الحديد عند الرجل و المرأة (مغ /Fe كغ وزن الجسم) (Cadet et al.,2005)

مركبات	رجل بالغ (70كغ)	إمرأة بالغة (55 كغ)
شكل التخزين:		
- Ferritine	9	4
- Hémosidérine	4	1
شكل النقل		
- Transferrine	<1	<1
أشكال نشطة:		
- Hémoglobine	31	31
- Myoglobine	4	4
- إنزيمات تنفسية	2	2
مجموع	50	42

7. الإلتقاط الخلوي للحديد

يتم نفوذ الحديد داخل الخلايا (باستثناء الخلايا العوية) عن طريق التقاط الترانسفيرين، حيث يرتبط هذا الأخير بمستقبله الغشائي RTf 1 مشكلا معه معقدا ينفذ إلى الخلية عبر حويصلة الإقتناص الناجمة عن انبعاج الغشاء البلازمي. يؤدي إنخفاض درجة الـ PH نتيجة تدفق البروتونات داخل الحويصلة إلى حدوث تغير في شكل الترانسفيرين و مستقبله RTf1 مما يسهل تحرير الحديد بواسطة reductase(STEAP3) و الذي ينقل بواسطة DMT1 عبر غشاء الحويصلة إلى السيتوبلازم أين يرتبط بالفيريتين أو يمر نحو الميتوكوندري ليندمج في الهيم لتشكل الهيموغلوبين (Lafond et al.,2000). تنتقل الحويصلة نحو سطح الخلية و تلتحم مع الغشاء، إرتفاع درجة PH يسمح بإنفصال الترانسفيرين و إعادة رسكلة RTf 1 . تدوم هذه الدورة حوالي 20 دقيقة و تسمح للخلايا المتخصصة بالإلتقاط حوالي 20.000 ذرة /دقيقة (Kuhn,1998). إذا كان المستقبل RTf1 غير مرتبط مع Transferrine diférique فهو لا يقتنص و يمر في الدورة في شكل منحل (sRTf1) بفضل الإنزيمات الغشائية المحللة للبروتين. هناك صلة مباشرة بين sRTf1 و نشاط تشكل الكريات الحمراء. يزداد تركيزه عند نقصان الحديد و ينخفض عند فقر الدم الإلتهابي (Franziska,2009).

مستقبل الترانسفيرين (RTf) عبارة عن جليكوبروتين غشائي مكون من تحت وحدتين متماثلتين ذات وزن جزيئي 95000 دالتون، تربطهما جسور كبريتية ثنائية، له القدرة على

تثبيت جزيئي ترانسفيرين أي 4 ذرات حديد. يوجد نوعان من هذه مستقبلات RTf1 و RTf2، لكن ألفة الترانسفيرين للمستقبل RTf2 تكون ضعيفة جدا مقارنة بالمستقبل RTf1 (30مرة أقل). يتواجد RTf1 على أغشية الخلايا سريعة الإنقسام (الخلايا الأصلية للكريات الحمراء و الخلايا السرطانية)، في حين يتواجد RTf2 على مستوى أغشية الخلايا الكبدية. هناك آليات أخرى مستقلة عن الترانسفيرين، خصوصا بالنسبة للخلية الكبدية التي تستدعي تدخل مستقبلات أخرى (هيم، فيريتين) (Crichton et al., 1998).

8. دور الحديد في العضوية

للحديد أهمية كبيرة في الأيض الخلوي نظرا لقدرته على تبادل الكترولونات بسهولة. هذه الخاصية جعلته ضروريا للعديد من الوظائف الخلوية (De Domenico, 2008).

1.8. الدور البيوكيميائي

يدخل الحديد في تركيب العديد من البروتينات و التي تعرف بالفيروبروتينات (جدول 6 و7)، بعضها لها دور في نقل الأوكسجين و بعضها تدخل في بنية الإنزيمات.

■ نقل الأوكسجين:

يتم نقل الأوكسجين بواسطة نوعين من الجزيئات الهيمية هما الهيموغلوبيين والميوغلوبيين.

الهيموغلوبيين: بروتين وزنه الجزيئي 67000 دالتون، يتألف من أربع سلاسل بيبتيديية من نوع $\alpha\beta$ التي تحتوي على 3.4 مغ حديد/غ. ترتبط ذرة الحديد (Fe^{2+}) بأربع ذرات أزوت للهيم. أثناء مرور الكريات الحمراء في الشعيرات الرئوية، يثبت الهيموغلوبيين الأوكسجين و ينقله إلى الأنسجة المحيطية. كل جزيئة هيم تثبت جزيئة O_2 . بعد تحرير الأوكسجين في الأنسجة، يقوم الهيموغلوبيين بنقل CO_2 منها إلى الرئتين أين يطرح في هواء الزفير. تبلغ كمية الأوكسجين المثبتة على الهيموغلوبيين حوالي 98% من كميته الإجمالية الموجودة في الدم. فالأوكسجين لا يكون في حالته المنحلة إلا أثناء تبادله (Lehchili, 2000).

الميوغلوبيين: بروتين وزنه الجزيئي 16500 دالتون، يتألف من سلسلة بيبتيديية واحدة و من جزيئة هيم، يسمح الميوغلوبيين بالتخزين السريع للأوكسجين في العضلات.

■ بنية الإنزيمات:

يدخل الحديد بشكله الهيمي وغير الهيمي في بناء الإنزيمات التي تلعب دورا مهما في تخليق ADN، النقل الميتوكوندري للإلكترونات، كذلك إستقلاب الأحماض الأمينية، حمض السيتريك، البيورينات، catécholamine، الستيرويدات والأحماض الصفراوية. (Arnaud, 1998).

جدول 6: الإنزيمات الحاوية على الحديد الهيمي (Lehchili,2000)

تسمية	مصدر	وزن جزيئي	ذرة Fe غ/مول
Cytochrome oxydase	قلب	290.000	3
Cytochrome C	قلب	12400	1
Catalase	ك ح	250.000	4
Peroxydase	Radis	40.000	1

جدول 7: الإنزيمات الحاوية على الحديد غير الهيمي (Lehchili,2000)

تسمية	مصدر	وزن جزيئي	ذرة Fe غ/مول
<u>Enzymes fer/soufre</u>			
Succinate déshydrogénase	قلب	200.000	4
NADH déshydrogénase	قلب	550.000	18/16
Ferredoxines	كلوستريديوم	6000	8
Hydrogénase	كلوستريديوم	6000	2
Aconitase	قلب	89.000	2
Nitrogénase	كلوستريديوم	55.000	4
Adrenoxine	ثور	12.500	2
Nitrite réductase	بكتيريا	63.000	2
<u>Protéines non fer/soufre</u>			
Superoxyde dismutase	photobacterium	40.000	2
Rubredoxine	كلوستريديوم	6000	1
Fénylalanine hydroxylase	كبد الجرذ	100.000	2

في معظم الأحيان يكون الحديد مرتبطا بالكبريت (enzymes fer-soufre) الذي يوجد في شكل كبريتات مكونا جسرا بين الحديد و الروابط البروتينية كما في حالة العديد من إنزيمات déshydrogénases و ferredoxines. أحيانا يكون الحديد مرتبطا بالكبريت و

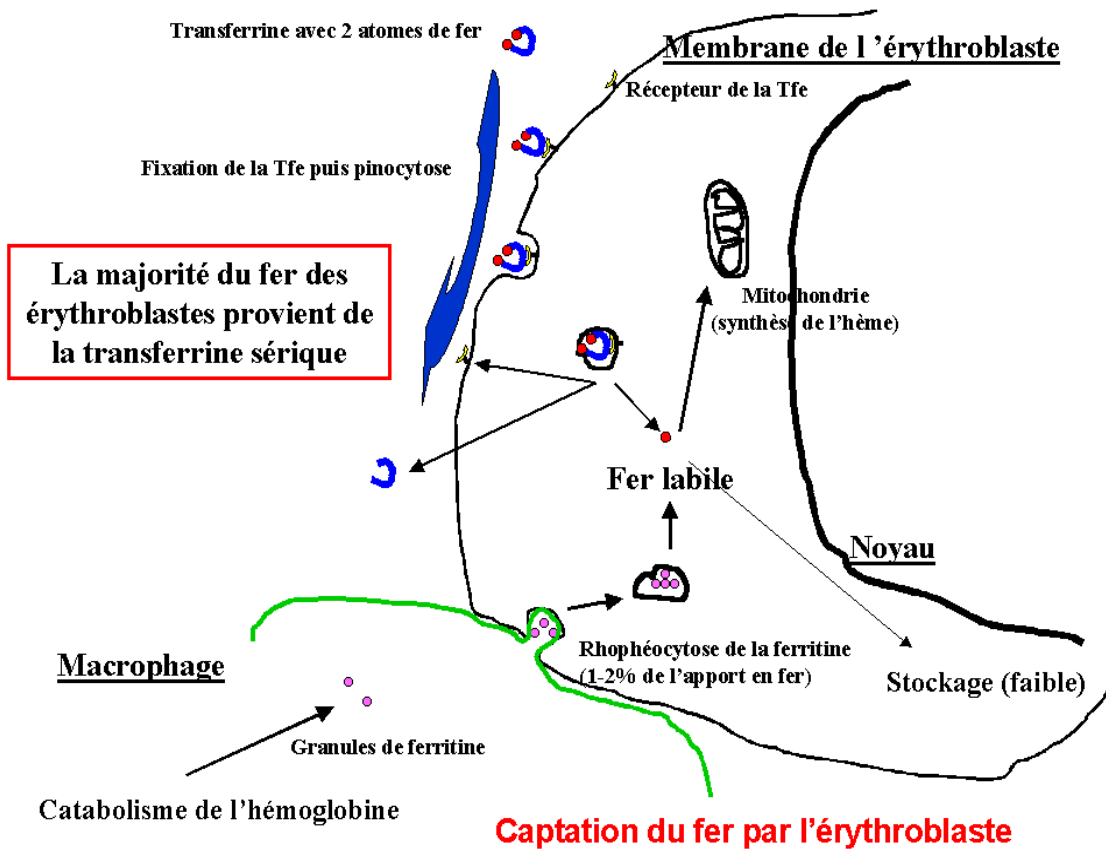
molybdène كما في xanthine oxydases التي يوجد منها العديد من الأصناف تختلف خصائصها حسب النوع (Lehchili,2000).

2.8. الدور الفيزيولوجي

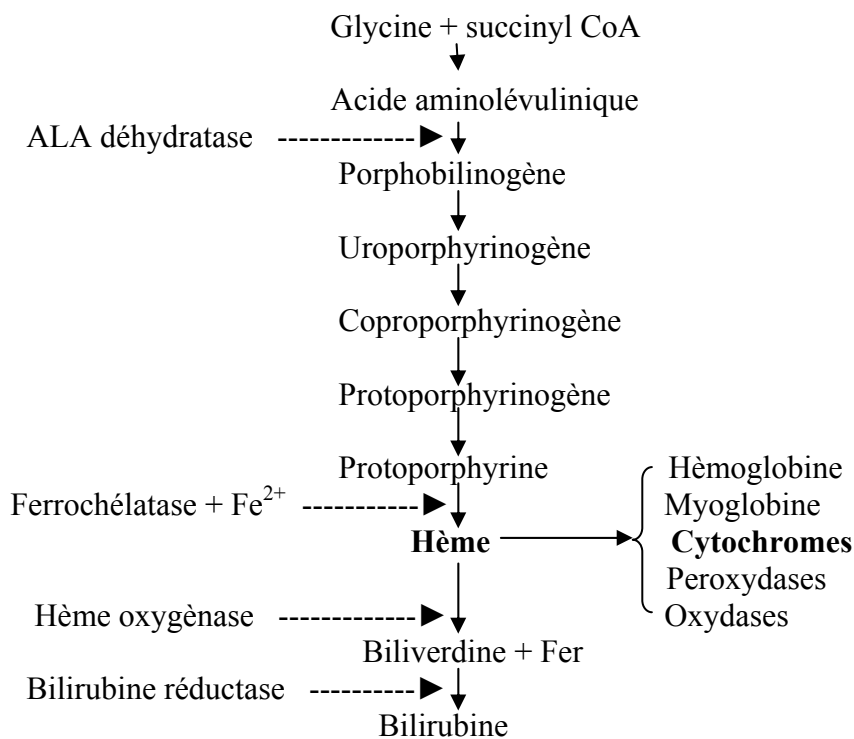
1.2.8. تشكل الكريات الحمراء (Erythropoïèse)

تتشكل الكريات الحمراء في نخاع العظمي الأحمر إنطلاقاً من الخلايا الجذعية النخاعية (cellules souches hématopoïétiques) وللحديد دور أساسي في هذه العملية. جزيئة الهيموغلوبين عبارة عن ferroprotoporphyrine، تحتوي على 4 مجموعات هيم أي 4 ذرات حديد على شكل Fe^{+2} . يؤمن الترانسفيرين إنتقال الحديد البلازمي نحو الخلايا الإنشائية للكريات الحمراء (érythroblastes) و هو الطريق الرئيسي الذي يسمح بجلب الحديد إلى هذه الخلايا، حيث يلتقط الترانسفيرين بواسطة المستقبلات الغشائية RTf1. بالإضافة إلى ذلك، ينتقل الحديد بظاهرة rhopéocytose بمعنى مرور فيريتين البالعات الكبيرة إلى الخلايا الإنشائية للكريات الحمراء عن طريق الإلتصاق و الجرع (شكل7)، لكن هذه الآلية لا زالت تخضع إلى نقاش (Lehchili,2000). ينتقل الحديد إلى داخل الميتوكوندريات حيث يندمج بـ protoporphyrine تحت تأثير chélatase و يعطي الهيم (شكل8).

تنظم عملية تجديد الكريات الحمراء بواسطة هرمون érythropoïétine (EPO) وهو هرمون ذو طبيعة جليكوبروتينية يصنع من طرف الكلية و كبد الجنين، له دور في زيادة عدد إنقسامات الخلايا الدموية الأصلية (hématocytoblastes)، بالإضافة إلى تدخل هرمونات أخرى خصوصاً الدرقية و التيستوستيرون، ولكن أيضاً الأنسولين (Contor et al.,2002). كما تتطلب عملية érythropoïèse فيتامين B_{12} و الفولات لتخليق thymidylate الذي هو بدوره ضروري لتضاعف الـ ADN، و لكن أيضاً فيتامينات B_6 ، C و B_2 . تؤمن عملية تشكل الكريات الحمراء تحول أو إعادة تنظيم معظم الحديد الكائن في العضوية: هناك 90% من الحديد المصلي يوجه نحو الـ érythropoïèse، و نفس الكمية تعود إلى البلازما و الناشئة من هدم الهيموغلوبين و الحديد غير المستعمل في تخليق الهيموغلوبين (Koury et al.,2002).



شكل 7: إنتقاط الحديد أثناء تشكل الكريات الحمراء (Zandecki,2006)



شكل 8: دور الحديد في ميثابوليزم الهيم (Allain,2008)

2.2.8. المقاومة ضد الإصابة بالجراثيم

يؤدي نقص الحديد إلى انخفاض في وظائف الكريات البيضاء و إنتاج الأجسام المضادة (Scott et al., 1975). كذلك إنخفاض نشاط myéloperoxydases و هي إنزيمات سيتوبلازمية موجودة في الكريات البيضاء (neutrophiles)، تلعب دورا مهما في المناعة ذات الوساطة الخلوية. فنقص الحديد يمكن أن يؤدي إلى نقص مقاومة الإصابة بالعدوى بسبب قلة فعالية الجهاز المناعي إتجاه العوامل الممرضة. فالأطفال المصابون بفقر الدم غالبا ما يعانون من الإصابات الجرثومية لفترات طويلة خصوصا على مستوى الجهاز التنفسي (Hemminki et al., 1991).

الكريات البيضاء المتعادلة، رغم بلعمتها الطبيعية للجراثيم فهي تصبح غير قادرة على تخريبها بسبب إنخفاض نشاط myéloperoxydases و هو إنزيم يدخل في تركيبه الحديد و يعمل على إنتاج الجذور الحرة القادرة على تخريب الجراثيم. تحمل البالعات الكبيرة على سطحها بروتينات ناقلة للحديد Nramp 1/2 التي تحرض أثناء الإصابة بالعدوى، عند إصابة المورثة الشافرة لـ Nramp 1/2 بطفرة فإن ذلك يؤدي إلى زيادة خطر الإصابة لدى الحيوان و تزداد قابلية الإصابة بالسل عند الإنسان (Porto et al., 2007).

إذا كان الحديد يقوي العضوية، فإنه يمكن أن تستغله العوامل الممرضة من أجل نموها. لذلك طورت عضويتنا أنظمة تمنع إستعمال حديدها من طرف هذه الجراثيم. فالكريات البيضاء المخربة بعد ابتلاعها و تخريبها للبكتيريات و الفيروسات، تحرر IL-1 الذي من بين وظائفه المتعددة تنبيه تخليق الفيريتين. كما تحرر أيضا في مواقع الإلتهاب lactoferrine الذي يتثبت بقوة على الحديد مانعا إستعماله من طرف الجراثيم. لذلك فالتركيز المفرطة للحديد داخل العضوية يمكن أن يكون لها تأثير معاد للمناعة بإستغلاله في نمو العوامل الممرضة خصوصا عند الإصابة بأمراض معدية حادة لدى الأطفال و الأفراد المسنين (Porto et al., 2007).

3.2.8. عمل العضلات

يسمح الميوغلوبين بتخزين الأوكسجين الضروري خلال التقلصات العضلية. لقد لوحظ عند النقص، إنخفاض الميوغلوبين و الأنزيمات ذات الحديد (cytochrome-oxydase succinique déshydrogénase, glycérophosphate oxydase) وهذا ما يفسر جزءا من

أعراض الضعف و التعب المرتبطين بفقر الدم الناجم عن نقص الحديد (Oski, 1979). يبدو أن العجز في إنزيم α -glycérophosphate oxydase هو المسؤول عن هذه الأعراض (Lehchili, 2000).

4.2.8. النمو الخلوي

يؤدي نقص الحديد عند الإنسان إلى تأخر النمو. لقد أظهرت الدراسات التجريبية أن نقص الحديد أو استعمال المواد المخيلية للحديد يؤدي إلى إنخفاض تخليق ADN و ARN و يعود ذلك إلى الدور الأساسي للحديد في نشاط إنزيمات ribonucléotide réductase و بالتالي في تخليق الـ ADN (Dallman, 1974 ; Berger, 2003).

5.2.8. السلوك

نقص الحديد عند الطفل يجعله سريع الانفعال و يصبح قليل الإهتمام بمحيطه. هذا السلوك له إرتباط بإنخفاض نشاط aldehyde oxydase و monoamine oxydase للمخ والذي تم ملاحظته لدى الجرذان منقوصة الحديد. من جهة أخرى سجل إرتفاع في نسب norépinéphrine في البول لدى الطفل الذي يعاني من نقص الحديد (Oski, 1979).

6.2.8. ميتابوليزم الجلد و الأغشية المخاطية

يؤدي النقص في الحديد إلى اضطرابات جلدية، إتهاب غشاء الفم (stomatite)، اضطرابات في الأظافر، ويمكن أن يكون ذلك مرتبطا بإنخفاض cytochrome C (Oski, 1979). جميع الإنزيمات التي يتدخل فيها الحديد يمكن أن يحدث لها خلل عند نقص هذا العنصر وتكون هي المسؤولة عن الإضطرابات الغذائية المعدنية التي تظهر بكثرة عند المرأة الحامل على مستوى الأظافر، الجلد، الأغشية المخاطية (Lehchili, 2000).

9. الدور الباثولوجي للحديد

عند الشخص السليم، هناك حالة إتران بين الحاجيات إلى الحديد و فقده. قد يحدث إختلال في هذا التوازن في إتجاه النقصان لظروف مختلفة كعدم تلبية الحاجيات أو إنخفاض الإمتصاص، زيادة الفقدان أو زيادة الحاجيات. في هذه الحالة، تستعمل العضوية الحديد

المخزن وعند استنفاده، فإن الوظائف الأيضية التي تتضمن إشراك الحديد ستصاب إذن بإضطرابات. وعلى العكس، عندما تكون الحصص مرتفعة جدا مقارنة بالحاجيات، الإمتصاص لا يكون منتظما و بالتالي هناك خطر زيادة تراكم الحديد (surcharge). كذلك يشكل الحديد المختزل و الحر عاملا محرضا للجهد التأكسدي.

1.9. نقصان الحديد

يشكل نقص الحديد النقص الغذائي الأكثر إنتشارا في العالم : حسب الأمم المتحدة (UN.1997) هناك أكثر من 2 مليار شخص يعانون من هذا النقص لا سيما منهم النساء و الأطفال في كثير من بلدان آسيا، أمريكا اللاتينية و إفريقيا. هناك 30 إلى 60 % من النساء و الأطفال مصابون بأنيميا نقص الحديد. يتسبب هذا المرض في 500.000 حالة وفاة سنويا لدى النساء خلال فترة الحمل و الولادة. عند الأطفال فإنه يؤدي إلى إنخفاض الإستجابة المناعية و بالتالي زيادة وتيرة الإصابات بالعدوى، كما يؤدي إلى تأخر في النمو الفيزيائي و الذهني (Demaeyer,1991).

يمر نقصان الحديد بثلاثة مراحل ذات شدة متزايدة (INACG, 1977). في المرحلة الأولى، ينخفض مخزون الحديد الذي يشخص بإنخفاض تركيز الفيريتين البلازمي وهي لا تكون مرفقة بإضطرابات فيزيوباتولوجية. في المرحلة الثانية، إستنفاد مخزون الحديد يؤثر على تخليق الهيموغلوبين و يؤدي إلى تراكم protoporphyrine الكريات الحمراء (PPE). في المرحلة الثالثة تظهر الأعراض السريرية و البيولوجية لفقر الدم، حيث ينخفض تركيز الهيموغلوبين عن القيمة العتبية المحددة بالنسبة لكل فئة من العمر و الجنس و تصبح الكريات الحمراء ضعيفة اللون (hypochrome) و صغيرة الحجم (microcytaire).

1.1.9. تشخيص نقص الحديد

هناك عدة طرق تستعمل لتشخيص النقص في الحديد منها معايرة الفيريتين البلازمي، بلوغ نسبته أقل من 12 ميكروغرام/ل تعبر بالضرورة عن نقص الحديد. معايرة الفيريتين مهم خصوصا للتمييز بين فقر الدم الناجم عن نقص الحديد و فقر الدم الناجم عن الأمراض المزمنة، thalassemie أو فقر الدم المنجلي (drépanocytose). يسمح أيضا قياس الحديد الوظيفي في الدورة بتقدير شدة النقص قبل ظهور فقر الدم. و تشمل هذه القياسات الحديد المصلي للترانسفيرين، السعة الكلية لتثبيت الحديد (CTFfe). كذلك معامل تشبع الترانسفيرين،

إذا بلغت نسبته أعلى من 16% فهي تستبعد وجود خلل في حصة الحديد (herbergetal,1985).

بحكم أن الكريات الحمراء في طور التشكل هي الخلايا الأكثر حساسية لنقص الحديد، فإن الطرق التي تظهر العجز في تشكلها تسمح بإثبات هذا النقص. من بين هذه الطرق، معايرة PPE في الكريات الحمراء، قياس الحجم الكروي المتوسط (VGM). غير أن هذين المؤشرين لا يسمحان لنا بالقول أن العجز في تشكل الكريات الحمراء ناتج عن النقص الحقيقي للحديد أو نقص الحديد المرتبط بمرض مزمن. يمكن معايرة مستقبلات الترانسفيرين في المصل بإستعمال أجسام مضادة مونوكلونية مضادة للمستقبلات (Allen et al.,1997). تعبر الخلايا عن حاجياتها للحديد عن طريق زيادة عدد مستقبلات الترانسفيرين على سطحها، حيث هناك عدد منها يمر في الدم. إرتفاع نسبتها يعبر إذن عن نقص الحديد الخلوي. الجدول (8) يشير إلى القيم العتبية للمؤشرات الدموية التي تؤكد وجود النقص في الحديد.

وضعت المنظمة العالمية للصحة (WHO, 1997) معايير تسمح بتحديد درجة خطورة فقر الدم على أساس معايرة الهيموغلوبين عند الأطفال في ثلاثة فئات من السن، عند النساء في سن الإنجاب، النساء الحوامل و الرجال الذين يتجاوز سنهم 15 سنة (جدول9).

جدول 8: الطرق المستعملة لمعرفة النقص في الحديد وقيمتها العتبية (herbergetal,1985)

القيم العتبية	الطرق
> 12 ميكروغرام/ل < 400 ميكروغرام/دل	قياس مخزون الحديد - الفيريتين المصلي - الترانسفيرين المصلي
> 16% < 70 ميكروغرام/دل > 80fl < 90 مغ/ل	قياس الحديد الوظيفي - تشبع الترانسفيرين - Protoporphyrine الكريات الحمراء - الحجم الكروي المتوسط (VGM) - مستقبلات الترانسفيرين

جدول 9: معايير OMS لتقدير شدة فقر الدم (Hb g/100ml) (WHO, 1997)

مجموعة عمر/جنس	فقر دم طفيف	فقر دم معتدل	فقر دم حاد	فقر دم حاد جدا
نساء حوامل و أطفال من 0.5 إلى 4.9 سنة	10.9 - 10.0	9.9 - 7.0	6.9 - 4.0	4.0 >
أطفال من 5.0 إلى 11.9 سنة	11.4 - 10.5	10.4 - 7.5	7.4 - 4.5	4.5 >
أطفال من 12 إلى 14 سنة و نساء غير حوامل	11.9 - 11.0	10.9 - 8.0	7.9 - 5.0	5.0 >
رجال فوق 15 سنة	12.9 - 12.0	11.9 - 9.0	8.9 - 6.0	6.0 >

2.1.9. الأعراض السريرية

أهم العلامات السريرية و البيولوجية الملاحظة عند نقص الحديد: التعب، جفاف الجلد، فقر الدم، ترتيب الأسنان (dentition)، الرجفان، اللامبالاة، الباردة، تشوه الأظافر. يكون عوز الحديد عند الطفل مرفوقا ببطء النمو و إنخفاض مقاومة العدوى (Oski, 1979). بالإضافة إلى ذلك، نقص الحديد عند المرأة الحامل قد تكون عواقبه خطيرة على الجنين: وزن ضعيف، حجم صغير، اضطرابات قلبية، ضيق التنفس و تشوهات خلقية.

3.1.9. المعالجة الطبية لنقص الحديد

تعالج الفئات المعرضة لخطر الإصابة بأنيميا نقص الحديد (الأطفال و النساء الحوامل) بأخذ جرعات من الحديد العلاجي لتصحيح نقصه بسرعة و تجنب ظهور الأنيميا. يتم التزويد بواسطة أملاح الحديد الثنائي لسهولة إمتصاصه، من بين هذه الأملاح الأكثر إستعمالا حاليا: سيلفات، فيومرات و جليكونات الحديدوز (جدول 10).

جدول 10: نسبة الحديد و كمية عنصر الحديد التي تتضمنها بعض الأقراص الشائعة الإستعمال (Stoltzfuset al., 1998)

المحضر	أقراص	نسبة الحديد (%)	عنصر Fe/في القرص (مغ)
Fumarate ferreux	200	33	66
Gluconate ferreux	300	12	36
Sulfate ferreux (7H ₂ O)	300	20	60
Sulfate ferreux anhydre	200	37	74

لدى الطفل الرضيع الذي يكون وزنه عند الولادة طبيعياً، فالحليب المقدم له به الكمية الكافية من الحديد التي تلبي حاجياته خلال السنة الأولى. فيما بعد و نظراً لضعف محتوى الحديد في أغذية الفطام التي تحضر أساساً من الحبوب، فإن تزويد الطفل في هذه المرحلة يكون ضرورياً، حيث ينصح بتقديم جرعة 1 مغ Fe/كغ/يوم. يمكن إن تكون هذه الجرعة مرفقة بمغذيات أخرى مثل الزنك و الفيتامين A أو حمض الفوليك. بين السنة الثانية و الخامسة، هناك من يطالب بجرعة 2 مغ Fe/كغ/يوم (WHO,1990) .

لدى المرأة الحامل، تكون حاجياتها للحديد عالية و لا يمكن تغطيتها بحديد التغذية فقط لذلك ينصح تقديم جرعة وقائية تتضمن 60 مغ حديد و 250 ميكروغرام حمض فوليك في اليوم بالنسبة للنساء الحوامل اللواتي لديهن نسبة هيموغلوبين تقل عن 11غ / دل، وذلك خلال الفترة الثانية من الحمل. في حالة المناطق التي يكون فيها إنتشار أنيميا نقص الحديد مرتفعاً، ينصح بأخذ جرعة تضم 120 مغ حديد و 500 ميكروغرام حمض فوليك، مع إستمرار التزويد خلال فترة الرضاعة لتأمين إعادة تشكّل مخزون الحديد (Cook et al.,1995). حسب آخرون، يجب أخذ جرعة يومية تتراوح بين 40 و 120 من الحديد الثنائي و ذلك حسب مستوى الحديد لدى الأم في بداية الحمل (Rieu, 1995). في حالة عدم وجود أنيميا أو نقص في بداية الحمل، فإن جرعة قدرها 40 مغ حديد تكون كافية. أما في حالة وجود أنيميا، فالجرعة يجب أن تكون عالية (Herberg et al., 1991) .

2.9. إفراط الحديد (Les surcharges)

زيادة الحديد له تأثير سام على العضوية بسبب قدرة الحديد على تفاعله مع الأوكسجين و تشكيل الجذور الحرة. تراكم الحديد نادراً ما يحدث مقارنة إلى نقصه و لكنه ليس مستثنياً. هذا التراكم أو الهيموكروماتوز قد يكون وراثياً أو ثانوياً.

1.2.9. الهيموكروماتوز الوراثي (الأولي)

هو مرض وراثي يؤدي إلى تراكم مفرط للحديد في العضوية بسبب زيادة الإمتصاص التي ليست لها صلة بحاجيات العضوية. يتراكم الحديد طوال فترة الحياة في العديد من الأنسجة خصوصاً الكبد، البنكرياس، القلب و الغدة النخامية.

■ الأسباب الوراثية للمرض

تم التعرف على المورثة المتسببة في مرض الهيموكروماتوز الوراثي سنة 1996 والتي تعرف بالمورثة HFE الموجودة على الصبغي رقم 6 عند الإنسان وهي أساسية في إعطاء المعلومات الخاصة بامتصاص الحديد. هذه المورثة طرأ عليها تغير أدى إلى إستبدال حمض cysteine في الوضع 282 بحمض tyrosine وهو ما يعرف بالطفرة C282Y (Feder et al., 1997). عندما يكون الشخص متماثل اللوقح (homozygote) أي يحمل مورثتين طافرتين (C282Y)، فهو يعاني من تراكم الحديد الذي قد يؤدي إلى وفاته في غياب العلاج في وقته المناسب. بالنسبة للأشخاص متخالفي اللواقح (heterozygote) أي اللذين لهم مورثة واحدة طافرة (C282Y)، فإنه لا يمكن تنبؤ وقوع المرض: هناك 10% من هؤلاء الأشخاص، يكون لديهم تراكم الحديد و يصابون بالمرض في غياب الإدماء (saignée) و 90% منهم لا يصابون بالمرض لأن تراكم الحديد يكون ضعيفا. هناك طفرات أخرى تصيب المورثة HFE منها الطفرة H63D التي يتم فيها إستبدال histidine بحمض الأسبارتيك في الوضع 63 الناتجة عن إستبدال قاعدة cystine بـ guanine في الوضع 187 على مستوى exon2. الطفرة S65C التي تؤدي إلى إستبدال حمض sérine بـ cysteine في الوضع 65 (Mura et al., 1999).

تشرف المورثة HFE في حالتها الطبيعية على تخليق بروتين يتزاوج مع جزيئة HLA من الرتبة 1 (β_2 microglobuline) مشكلا معها ثنائية وظيفية تتواجد على سطح العديد من الأنواع الخلوية خصوصا منها خلايا الطلائية المعوية، البالعات الكبيرة وخلايا المشيمة (Feder et al., 1997). على مستوى الغشاء القاعدي للخلايا المعوية غير الناضجة التي تعرف بالخلايا القبوية (cellules cryptiques)، يرتبط بروتين HFE بمستقبل RTf1 والمعقد الناتج HFE- β_2 m-RTf1 يسهل دخول الحديد المرتبط بالترانسفيرين إلى الخلايا القبوية (شكل 6). مستوى الحديد داخل هذه الخلايا سينظم أثناء هجرتها ونضجها تخليق DMT1 و ferroportine. كلما زاد التقاط الحديد في القطب القاعدي، قل إمتصاصه عبر القطب القمي. حسب هذه الفرضية، ينظم إمتصاص الحديد بواسطة التراكيز البلازمية لمعقدات fer-transferrine وبروتين HFE الذي يضبط هذا التنظيم. حدوث تغير في تركيب HFE نتيجة الطفرة C282Y، سيؤدي إلى نقص الحديد في الخلايا القبوية فينتج عن ذلك زيادة في تخليق DMT1 و ferroportin مقارنة بخلية معوية عادية، مما يؤدي إلى إرتفاع الإمتصاص المعوي للحديد (Waheed et al., 2002).

أكتشف حديثاً أنواع أخرى من الهيموكروماتوز الوراثي نتيجة حدوث طفرات في مورثات لها علاقة بتنظيم ميتابوليزم الحديد (جدول 11). حدوث خلل أو عطب في المورثة الشافرة لبروتين ferroportine الذي عبره يتم خروج الحديد الداخل خلوي، سيؤدي إلى حجز الحديد في البالعات الكبيرة فينخفض تشبع الترانسفيرين مما يسبب في زيادة إمتصاص الحديد لتصحيح هذا الإنخفاض (Fleming et al., 2001).

مستقبل الترانسفيرين 2 (RTf2) له دور في تنظيم مخزون الحديد على مستوى الخلايا الكبدية. يؤدي إصابة مورثة RTf2 إلى نقصان التقاط الكبد للحديد فينجم عنه إنخفاض في تخليق الـ hepcidine الذي يتسبب نقصانه في زيادة إمتصاص الحديد و إنخفاض إلتقاط الحديد من قبل البالعات الكبيرة (Loreal et al., 2002).

مورثة HJV و هي شافرة لبروتين hemojuvéline الذي يعدل تخليق الـ hepcidine. يؤدي إصابتها بطفرة إلى مرض الهيموكروماتوز الصبوي (type2A). هناك شكل ثاني للهيموكروماتوز الصبوي (type2B) ينتج عن إصابة مورثة HAMP الشافرة للـ hepcidine (Fleming et al., 2005 ; Viatte et al., 2005).

2.2.9. الهيموكروماتوز الثانوي

يمكن أن يحدث تراكم ثانوي للحديد لأسباب أخرى كالإصابة ببعض أمراض فقر الدم، القصور الكلوي و إصابة الكبد. يؤدي نقل الدم المتكرر لغرض تصحيح الأنيميا إلى زيادة الحديد (100 نقل يوافق جز 25 إلى 50 غ من الحديد)، كذلك إجهاض نضج الكريات الحمراء و تخريبها المبكر بسبب التشكل الزائد للكريات الحمراء و عدم فعاليته سيؤدي إلى زيادة إمتصاص الحديد (Porter, 2001). حدوث خلل في تخليق الهيموغلوبين، بإستبدال حمض أميني بآخر في إحدى سلاسل الغلوبين، أو عدم تشكل نوع من هذه السلاسل (thalassémie). عدم إمكانية دمج الحديد في الكريات الحمراء، في هذه الحالة يتراكم الحديد خصوصاً في النخاع العظمي حيث نجد كريات حمراء إنشائية محملة بحبيبات حديد قابلة للتلوين بصبغة Péri's تدعى sidérobastes. كذلك تؤدي أمراض الكبد خصوصاً تلك الناجمة عن تناول المشروبات الكحولية إلى تراكم ثانوي للحديد. لقد وجد عن طريق تحليل الخلايا الكبدية، ارتفاع في تركيز الحديد و الفيريتين (Vermet, 1999).

جدول 11: المورثات المنظمة لميتابوليزم الحديد، التي عند إصابتها بطفرات أو عطب تؤدي إلى أمراض فرط الحديد أو أمراض نقص الحديد (Loreal et al., 2005).

الوظيفة	نماذج حيوانية (جرذ أو فأر)	أمراض بشرية Pathologie (humaine)	مورثة طافرة أو غير معبرة
ناقل عابر للغشاء ناقل عابر للغشاء نشاط فيروكسيدازي (خلية معوية) نقل بلازمي نشاط فيروكسيدازي جزئية متحدة بجزيئات HLA1 جزئية ميالة للـ HLA1 التقاط خلوي للحديد (خلية كبديّة) هرمون منظم لإمتصاص الحديد حديد ميتوكوندري تخليق CoA تخليق الهيم تخزين الحديد	نقص الحديد نقص الحديد و أنيميا Anemie microcytaire زيادة الحديد زيادة الحديد زيادة الحديد زيادة الحديد	زيادة الحديد أنيميا و زيادة الحديد زيادة الحديد هيموكروماتوز وراثي زيادة الحديد Ataxie de Fridreich Syndrome d'Hallervorden- Spat Anemie sidéroblastique زيادة الحديد	DMT1 Ferroportine Hephaestine Transferrine Céruloplasmine -2- β microglobuline HFE (C282Y) RTf2 Hepcidine Frataxine Pantothénate kinase 2 ALA-synthase H-ferritine (IRE)

3.2.9. أعراض المرض و علاجه

■ الأعراض السريرية (الإكلينيكية)

تظهر الأعراض الإكلينيكية متأخرة، بدءا من سن الأربعين لأن تراكم الحديد يتم ببطء و لا يتجلى إلا بعد سنوات. و لكون أن الدورة الشهرية و الحمل يعملان على فقد كثير من الحديد، فإن المرض يظهر متأخرا و بأقل حدة عند النساء مقارنة بالرجال. في البداية تكون الأعراض غير مؤذية: تعب عام، آلام مفصلية، إصطباغ الجلد و جفافه بسبب تراكم الحديد مما يكسبه لونا مسمرا (mélanodermie). بعد مدة، زيادة تراكم الحديد يحدث أضرارا تشريحية و وظيفية خطيرة على مستوى الأعضاء المشبعة به، كتضخم الكبد (hépatomégalie) مع احتمال تليفه (cirrhose)، اضطرابات في ضربات القلب و أحيانا عجزه (insuffisance cardiaque)، كذلك حدوث خلل في الغدد المفرزة للهرمونات خاصة البنكرياس و الغدة النخامية. يؤدي تراكم الحديد في الغدة النخامية أحيانا إلى إختلال في الوظائف الجنسية كضعف الشهوة الجنسية، صعوبة الإنتصاب عند الرجال و اضطرابات في الدورة الشهرية عند النساء. هناك أعراض أخرى لها علاقة بالأعضاء تشمل الأم بطنية ناتجة عن تضخم الكبد، و داء السكر الناتج عن تضرر البنكرياس (Waheed et al., 2002).

■ التشخيص و العلاج

عند الضن في أن الشخص مصاب بالهيموكروماتوز، يجرى فحص إكلينيكي للتحقق من أن هناك تضخم في الكبد أو البكرياس و تغيرات في لون الجلد. تجرى تحاليل دموية لقياس نسبة الحديد في الدم، السعة الكلية لتثبيت الحديد، معامل تشبع الترامسفرين و نسبة الفيريتين المصلية. لتأكيد التشخيص، تؤخذ عينة نسيجية بإدخال إبرة رفيعة في الكبد و تفحص مجهريا للكشف عن أي أثر يسببه هذا المرض (Porter, 2001). حاليا، يمكن التأكد من الإصابة بالهيموكروماتوز بإجراء إختبار وراثي للكشف عن المورثة المتسببة في المرض. لقد وجد أن 95% من حالات الإصابة تعود إلى المورثة الطافرة C282Y أو C282Y/H63D.

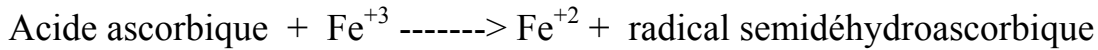
يمكن معالجة الهيموكروماتوز بحدف الحديد الزائد من الأعضاء المصابة و ذلك عن طريق الإدماء (saignées) المتكرر أو أخذ الدم (500مل مرة أو مرتين في الأسبوع). بشرط أن يكون التشخيص قد أجري مبكرا. يمكن أن يستمر العلاج سنة أو سنتين، إلى أن يصبح تركيز الحديد في الدم و الأعضاء طبيعيا. المعالجة بإستعمال الأدوية التي تثبت الحديد

و تزيله من العضوية مثل déféroxamine، لا يكون ضروريا إلا في حالة الأشخاص الذين أصيبوا نتيجة هذا المرض بإضطرابات قلبية أو بالنسبة للأشخاص الذين يعانون من أنيميا تمنعهم من إجراء الإدماء (Fleming et al., 2005). فيما يخص المضاعفات الناجمة عن الهيموكروماتوز، فهي تعالج مستقلة، فإذا أصيب شخص مثلا بضعف الشهوة الجنسية (libido) و تغير في الصفات الجنسية الثانوية، مثل ضمور الخصيتين، فالشخص يعالج بتناول téstostérone. كذلك بالنسبة للداء السكري، التهاب المفاصل، القصور الكبدي و القلبي، كل هذه المضاعفات المرتبطة بالهيموكروماتوز ستعالج حسب الحاجة (Waheed et al., 2002).

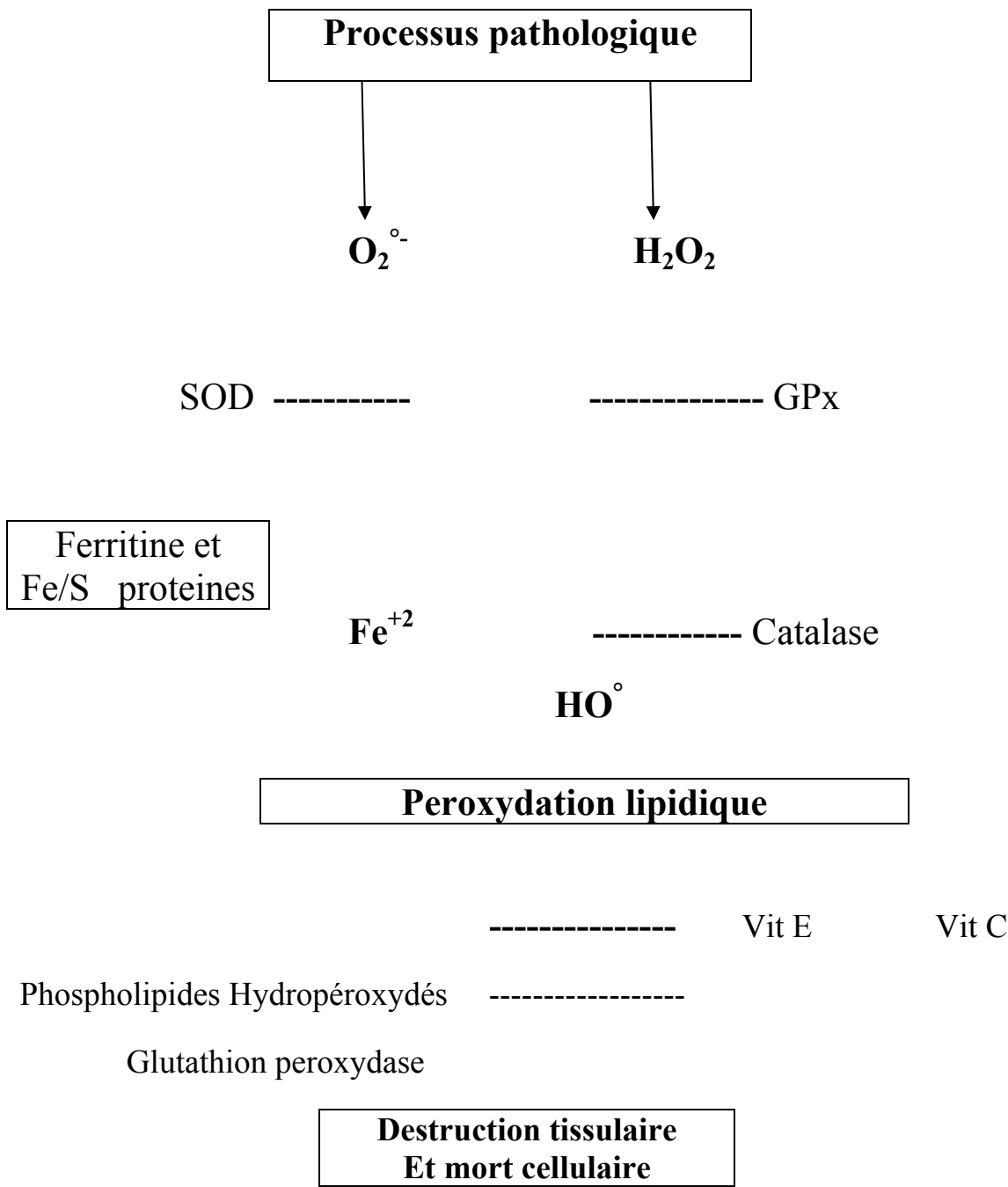
4.2.9. الخطر التأكسدي لزيادة الحديد

عندما يوجد الحديد حرا و في شكله المختزل، فإنه يكون محرضا قويا للجهد التأكسدي، حيث يشارك في تفاعل Fenton لإنتاج الجذر الهيدروكسيلي إنطلاقا من H_2O_2 . عند تحرير ذرة حديد في وجود O_2^- فإن جذر OH° يتشكل من تفاعل Haber-Weiss. مشاركة الحديد داخل العضوية (in vivo) ملخصة في الشكل (9).

جذر الهيدروكسيل المتشكل في التفاعل بواسطة Fe^{+2} أو Cu^+ هو الذي يؤدي إلى إنطلاق الأكسدة الفوقية لليبيدات و التي ينتج عنها تخريب الأنسجة (Hirayama,1998). أهم تفاعل يحدث داخل العضوية هو ذلك الذي يتم فيه دسمة (dismutation) أنيون السيبيروكسيد فيعطي بيروكسيد الهيدروجين. هذا التفاعل بطيء نسبيا في الوسط المتعادل لكنه داخل الخلية يكون سريعا جدا لأنه يحفز بواسطة إنزيم SOD (Geisser,1998). وجود حمض الأسكوربيك وعوامل أخرى مرجعة مثل NADPH في الوسط الداخل أو الخارج خلوي، يساعد في إختزال Fe^{+3} إلى Fe^{+2} .



يحفز الحديد المختزل الناتج عن هذا التفاعل تشكل HO° حسب تفاعل Fenton. يرتبط الحديد بالعديد من الأمراض من خلال قدرته على إثارة الجهد التأكسدي عن طريق جذور HO° النشطة المتشكلة. فالأكسدة الفوقية لليبيدات الناجمة عن مهاجمة جذور HO° للأحماض الدهنية غير المشبعة لها دخل في ميكانيزمات أمراض القلب (Halliwell,1989) و تخريب الـ ADN (Meneghini,1997).



شكل 9: تحريض الحديد للفعل التأكسدي in vivo حسب (Mc Cord,1998)

5.2.9. علاقة الحديد بأمراض تحلل العصبونات (Neurodégénératives)

هناك العديد من الأدلة تشير إلى وجود صلة بين ميتابوليزم الحديد و الأمراض الناجمة عن تحلل العصبونات (Moos et al.,2004; Ke et al.,2007). يرتفع تركيز الحديد في المخ مع تقدم العمر عند القوارض و الإنسان. يكون هذا التراكم معتبرا نسبيا في الجهاز العصبي المركزي للأشخاص الذين يعانون من تلف العصبونات مقارنة بشواهد من نفس العمر

(Bartzokis et al.,1999). و لقد تبين ذلك في مرض Alzheimer (MA)، مرض sclérose latérale amyotrophique (HD) ومرض Parkinson (MP)، مرض (SLA).

إن SLA هو مرض يصيب العصبونات المحركة المركزية و المحيطية، أسبابه غير معروفة بدقة و يبدو أن الجهد التأكسدي هو من إحدى الظواهر الفيزيوباتولوجية المتسببة في موت العصبونات (Barbere et al.,2006). الحديد هو مصدر أساسي للجهد التأكسدي، و لقد وجد بكميات زائدة عن القيم العادية في العصبونات المحركة للمصابين بـ SLA. هناك حجج قوية تشير إلى تورط إستقلاب الحديد في فيزيولوجية SLA، حيث لوحظ عند مقارنة المصابين بالشواهد وجود إنخفاض معنوي في نسبة الترانسفيرين في الدم و إرتفاع معنوي في كل من معامل تشبع الترانسفيرين و الفيريتين (Nadjar, 2009).

يبدو أن الدور الفعال للحديد في إتلاف الخلايا العصبية أصبح محسوماً، لأن هناك أمراض وراثية محللة للأنسجة العصبية و هي ناتجة عن طفرات لمورثات لها علاقة مباشرة بإستقلاب الحديد، كما هو الحال بالنسبة لمرض neuroferrinopathie و acéruoplasminémie.

مرض neuroferrinopathie ناتج عن حدوث طفرات للمورثة الشافرة للسلسلة البيبتيدية الخفيفة (L) للفيريتين التي وصفت لأول مرة في سنة 2001 من قبل Curtis و آخرون. رأينا سابقاً أن بروتين الفيريتين له دور في تخزين الحديد و حماية المحيط الخلوي من سميته. أظهرت الدراسة النسيجية لمخ الأشخاص المصابين بهذا المرض وجود مكثفات داخل خلوية موجبة بالنسبة للحديد و الفيريتين و التي تنتشر بكثرة في pallidium (عنصر من الأنوية الرمادية للمخ). عدد و حجم هذه المكثفات تتجاوز بوضوح تلك الموجودة في مخ أشخاص مسنين و غير مصابين، كذلك لوحظ إنخفاض في نسبة الفيريتين في دم المصابين. إن السلسلة الخفيفة للفيريتين الطافرة تؤدي إلى إفساد قوقعة الفيريتين الحاوية على الحديد المخزن فيتسرب هذا الأخير إلى السيتوزول بكميات معتبرة مما ييسر من الجهد التأكسدي و موت العصبونات.

Acéruoloplasminémie هو مرض وراثي متتحي ناتج عن حدوث طفرات لمورثة céruloplasmine، مرفوق بداء سكري، ضمور الشبكية، و أعراض عصبية (أضطراب في الحركة، خلل في عمل الجهاز العصبي الودي و قرب الودي، إرتعاش، parkinsonien، إختلاجات تشنجية و إصابة الإدراك). وصف هذا المرض لأول مرة في سنة 1987 من طرف Miyajima و آخرون. céruloplasmine هو بروتين يلعب دورا رئيسيا في إستقلاب الحديد، حيث ينتمي إلى المعقد الجزئي الذي يسمح بخروج الحديد من الخلية عبر الغشاء البلازمي. في حالة acéruoloplasminémie، هناك تراكم مفرط للحديد في المخ، خصوصا في الأنوية الرمادية المركزية و الذي يكون مرفوقا بموت العصبونات.

بين الفحص الهيستولوجي لمخ الأشخاص الذين يعانون من تحلل الخلايا العصبية مقارنة بالشواهد، ظهور تغيرات في المورثات المتدخلة في إستقلاب الحديد. في حالة MP لوحظ زيادة في إنتاج اللاكتوفرين و مستقبلات اللاكتوفرين التي لها دور مشابه للترانسفيرين في نقلها للحديد، نفس الشيء بالنسبة لـ DMT1 (Fillebeen at al.,1999). في حالة MA سجل إرتفاع في نسبة الميلانوترانسفيرين و مستقبلاته، أما معقدات IRP/IRE فكانت أكثر إستقرارا، أي نظريا تؤدي إلى زيادة في تخليق مستقبلات الترانسفيرين و إنخفاض في تخليق الفيريتين (Yamada et al.,1999 ; Pinero et al.,2000). لقد تم إظهار في كل من MA و MP أن الإرتفاع العادي للفيريتين الداخل خلوي مع تقدم السن يكون أقل مقارنة بالشواهد و هذا ما يوحي أن الدفاع المضاد للأكسدة كانت فعاليته ضعيفة (Connor et al.,1995).

حدوث طفرة لمورثة frataxine التي تكون غالبا على شكل تكرار لثلاثية نيوكليوتيدية و التي تم كشفها لدى المصابين بمرض اختلاج Friedreich (إضطراب في الحركات الإرادية)، وهو نوع من أمراض تحلل العصبونات الذي يتميز على المستوى الهيستولوجي بتراكم الحديد داخل الميتوكوندريات (Campuzano et al.,1997). إنخفاض تركيب بروتين frataxine سيؤدي إلى تراكم الحديد الميتوكوندري الذي يكون مفعوله ضارا. هذا البروتين له قدرة الإرتباط بالحديد و يمكنه أن يلعب دورا في تنظيم مستوى الحديد الميتوكوندري (Dhe-Paganon et al.,2000). هناك أيضا دراسات تشير إلى أنه يلعب دورا في وصل وجمع البروتينات ذات مركز fer-soufre (huynen et al., 2001).

عند حدوث طفرة للمورثة الشافرة لإنزيم 2 pantothénate kinase (Pank2)، فإنها تتسبب في نوع من الأمراض المتلفة للعصبونات يدعى syndrome d'Hallervorden-Spatz

(SHS) و هو مرض يتميز ببداية ظهوره في نعومة الطفولة و يتطور بسرعة (zhou et al.,2001). يرتبط هذا المرض أيضا بتراكم غير عادي للحديد في بعض البنيات الدماغية خصوصا على مستوى globus pallidus. تتدخل مورثة Pank2 في تخليق CoA. خلال الإصابة بـ SHS، فإن غياب تشكل phosphopantothénate سيؤدي إلى تراكم السيستئين الذي يتفاعل مع الحديد و الحذور الناتجة عن ذلك ستكون هي مصدر تفاعلات الأوكسدة الفوقية (loréal et al., 2001).

IV. ميثابوليزم الزنك

1. توزيع الزنك داخل العضوية

يبلغ الإحتياط الإجمالي للزنك في الجسم حوالي 2.5غ، الذي منه 30% توجد في العظام و 60% في العضلات. يتوزع الزنك في الأنسجة بشكل غير متجانس، إذ يوجد بتراكيز عالية في البروستاتا، العظام، شبكية ومشيمية العين و الشعر. في داخل الخلايا، يكون تركيز الزنك مرتفعا في السيتوبلازم ومنخفضا في النواة،الميكروزومات و خصوصا في الميتوكوندريات (Favier et al.1990). لا تضم السوائل الحيوية إلا كميات قليلة من الزنك الكلي و توزيعه بها يختلف من سائل إلى آخر. يكون الزنك أساسا مرتبطا بالبروتينات لذلك فهو يوجد بنسب عالية في السوائل الحيوية الغنية بالبروتينات. تقدر النسبة الإجمالية للزنك في الدم بحوالي 45 مغ، معظمها توجد في الخلايا الدموية:

- 80% من الزنك يوجد داخل الكريات الحمراء و يرتبط في معظمه بإنزيم carbonic anhydrase و superoxyde dismutase
- من 5 إلى 10% من الزنك توجد في الكريات البيضاء، مع الإشارة أن محتوى الزنك في الكرية البيضاء يبلغ 20 مرة أكثر منه في الكرية الحمراء و ذلك بسبب إختلاف الحجم.
- 10% من الزنك توجد في البلازما أي ما يعادل 1غ/ل (Ohno et al.,1985).

2. حاجيات العضوية إلى الزنك

حددت المنظمة العالمية للصحة (OMS) الحاجيات اليومية للزنك بأنها تكافئ النسبة المفقودة يوميا وهي تختلف مع العمر و الحالة الفيزيولوجية للفرد (جدول 12). كذلك حددت حصص الزنك الغذائية المزكاة (RDA) من طرف الهيئة الأمريكية للتغذية و هي تفوق القيم المحددة من طرف OMS. تزداد حاجة الجسم إلى الزنك خلال فترة المراهقة و الحمل. إن

المقدار المشترك من الزنك يوميا بالنسبة للفتيات المراهقات يبلغ حوالي 11 مغ/يوم عندما تكون الكمية المفقودة عبر العرق 0.67 مغ/يوم و الفقدان الحيضي 0.01 مغ/يوم . تفسر زيادة متطلبات الزنك في هذه المرحلة بسبب تسارع النمو. بالنسبة للنساء الحوامل، إحتجاز 105 مغ من الزنك يوميا يكون ضروريا، والحاجة للزنك لديهن تزداد بحوالي 0.75 مغ/يوم خلال الثلث الأخير من الحمل، لأن توقف العادة الشهرية لا يوفر إلا القليل من الزنك (0.01 مغ)، إضافة إلى أن الطرح اليولي يزيد بحوالي 0.4 مغ/يوم (Sève et al., 2002).

جدول 12: الحصص المزمكة و الحاجيات إلى الزنك (Houot et al.,1990)

الحصص المزمكة (RDA) (مغ)	الحاجيات OMS (مغ)	
5 – 3	1.1	- أطفال أقل من سنة
10 – 5	1.6	- أطفال من 1 إلى 10 سنوات
15	2.8	- المراهقون
15	2.2	- البالغون
20	3.0 - 2.5	- المرأة الحامل
25 – 20	6 - 5	- المرأة المرضعة

3. الزنك في الأغذية

يوجد الزنك بنسب مرتفعة أساسا في اللحوم و الأسماك (0.03 مغ/غ وزن رطب) كذلك في الحبوب و البقوليات الجافة. أعلى نسبة للزنك توجد في المحاريات (1 مغ/غ وزن رطب). بالمقابل، البقوليات الجافة، السكر، الفواكه ، المشروبات فهي تفتقر للزنك (0.0003 إلى 0.0005 مغ/غ وزن رطب). نسبة الزنك في الماء متغيرة ، فمياه الينابيع أكثر إفتقارا له (0.005 إلى 0.177 مغ/ل) من مياه التوزيع. محتوى الزنك في الحليب غير ثابت. حليب البقرة يفتقر إلى الحديد و النحاس و لكنه يحتوي على كمية عالية نسبيا من الزنك. بينما حليب الإنسان يكون غنيا بالزنك في بداية الرضاعة. يحتوي الكولوستروم ما يقارب 20 مغ/ل من الزنك، لكن نسبته تنخفض بانتظام إلى أن تصبح 0.6 مغ/ل بعد بضعة شهور (Favier et al.,1980). إن كمية الزنك المتاحة للإمتصاص في حليب الإنسان تكون مرتفعة مقارنة بحليب البقر، و يعود السبب في ذلك إلى زيادة محتوى حمض البيكولينيك و إنخفاض الكالسيوم في حليب الأم (Evans,1980).

4. الإمتصاص

إمتصاص الزنك هي مرحلة أساسية في إستقلابه لأنها تضمن بقسط كبير تنظيم محتواه داخل العضوية. يتم إمتصاص الزنك في المعى الدقيق خصوصاً على مستوى الصائم (jejunum). تتطلب آلية إمتصاص الزنك تدخل عدة نواقل، فحسب الآلية المفترضة يمكن تقسيم الإمتصاص إلى ثلاث مراحل.

1.4. الإلتقاط بواسطة الحافة المسننة

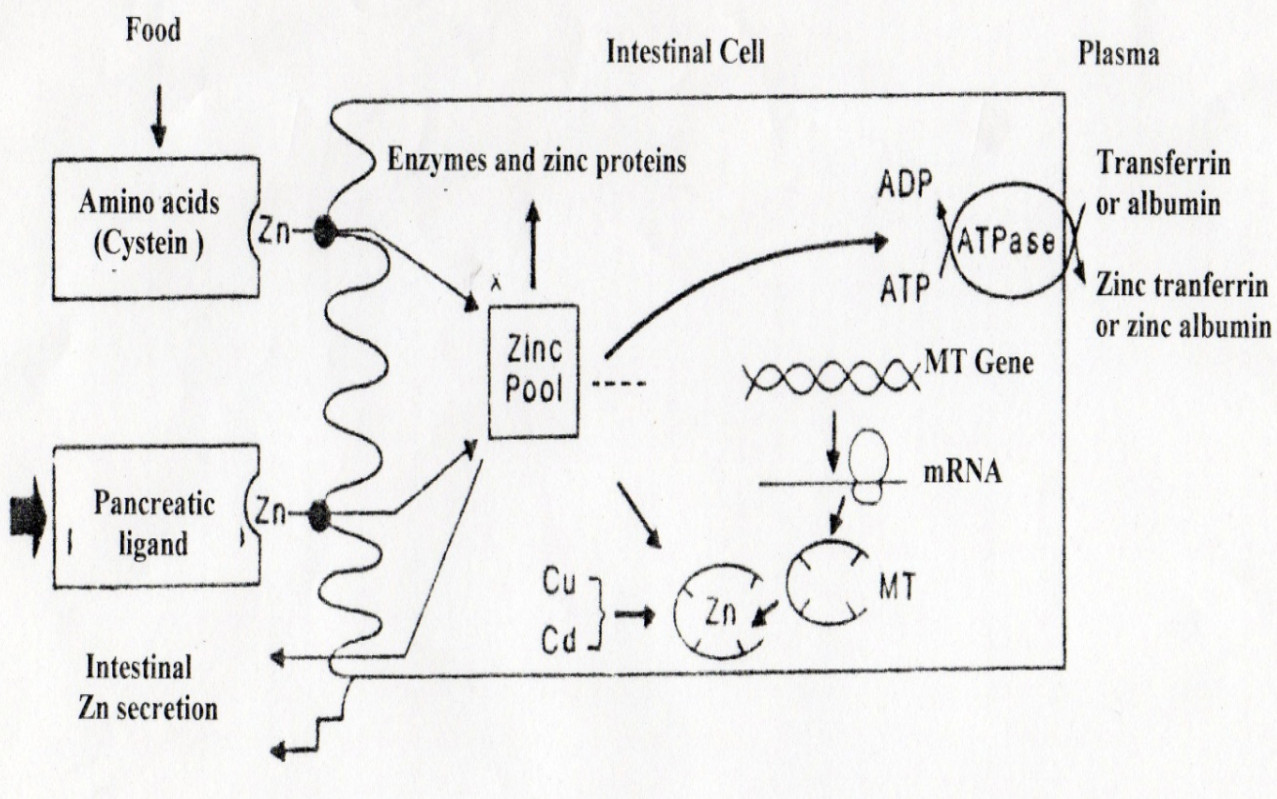
أثبتت معظم التجارب أن الزنك يلتقط على شكل مركب، لكن طبيعته بقيت غير معروفة ولقد اقترح لذلك العديد من المركبات أهمها البروستاغلونديينات، الأحماض الأمينية (الهيستيدين، السيسثيين)، السيترات و 2- بيكولينات (Krebs, 2000).

2.4. التوزيع داخل الخلية المعوية

بعد إرتباط الزنك بالناقل المعوي (شكل 10)، ينتقل المعقد الناتج إلى داخل الخلية المعوية بآلية غير معروفة و ينظم إلى مجمع الزنك القابل للتغير (zinc pool labil). جزء منه تستعمله الخلية بتثبيتته على الإنزيمات المعدنية (metallo-enzymes) أو على بروتينات غشائية. أما الجزء المتبقي من مجمع الزنك غير المستعمل، يمكن إما أن يطرح عبر الغشاء القاعدي الجانبي أو يثبت على بروتينات ذات وزن جزيئي صغير هي metallothioneines (MT) التي تلعب دوراً منظماً، مغيرة سرعة طرح الزنك (Seve et al., 2002). لقد أوضح Cousins (1985) أن تخليق البروتينات الطبيعية thioneins إنطلاقاً من ADN الخلايا المعوية، يتوقف على محتوى الزنك. فالنظام الغذائي المفتقر للزنك ينجم عنه إنخفاض في محتوى الـ MT و بالتالي فالزنك يمر بسهولة في الدورة البابية. و العكس، فالنظام الغذائي الغني بالزنك يسبب تخليق RNA الرسول الموافق لـ MT و بالتالي زيادة محتواها داخل الخلية المعوية مسببة في نفس الوقت إنخفاض في مردود الإمتصاص. إن إرتباط الزنك ببروتينات MT يؤدي إلى مراقبة نفاذيته إلى الجسم.

3.4. تحويل الزنك نحو الدم

يتطلب مرور الزنك عبر الغشاء القاعدي الجانبي تدخل ناقل بروتيني مقرون بآلية مستهلكة للأدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP). تتكفل به في الدم بروتينات ذات ألفة ضعيفة للزنك كالترانسفيرين أو الألبومين



شكل 10: الآلية الفيزيولوجية لإمتصاص الزنك (Seve et al., 2002).

4.4. العوامل المغيرة لإمتصاص الزنك

يخضع إمتصاص الزنك المعوي إلى عدة عوامل منها الفيزيولوجية كالسن، الحمل، الرضاعة، حالة الجهد لدى الحيوان و مخزون الزنك في العضوية و منها الغذائية كالبروتينات، الأحماض الأمينية، الألياف و الفيتات.

1.4.4. العوامل الغذائية

يحسن محتوى البروتين في الغذاء من إمتصاص الزنك خاصة منها البروتينات ذات المصدر الحيواني. لقد ذكر أن الزنك يمتص بكثرة في وجود بروتين الكازيين و الألبومين بالمقارنة مع بروتين الـ soja. فهذا الأخير يقلل من جاهزية الزنك و يسبب نقصه عند الجرذان خاصة في وجود شوارد الكالسيوم (Favier, 1990). بالنسبة للأحماض الأمينية، فقد لوحظ عند إطعام الجرذان بغذاء غني بالتريبتوفان زيادة في إمتصاص الزنك. تم الحصول على نفس النتيجة مع الهستيدين و السيستين اللذين يعتبران من أهم الأحماض الأمينية المرتبطة بالزنك (Sandstead, 1981).

يحدث النحاس تأثيرا تنافسيا على إمتصاص الزنك، غير أن كميته في المواد الغذائية نادرا ما تسمح بالوصول إلى الجرعات المؤدية لظهور هذا التأثير (Sandstead, 1981). بالنسبة للحديد فعلة المضاد أمكن التحقق منه عند الإنسان و الحيوان، فتزويد النساء الحوامل بجرعات معتبرة من الحديد كان له تأثيرا على الزنك المصلي (Bloxman et al., 1989). هذا التضاد هو الذي يفسر أسباب نقص الزنك المصادف مع الحليب الغني بالحديد. يثبط أيضا إمتصاص الزنك بواسطة الفوسفور، الكالسيوم و الكادميوم (Sandstead, 1991).

يكون الزنك عادة أقل توفرا في الأغذية ذات المصدر النباتي مقارنة بالأغذية ذات المصدر الحيواني، و السبب في ذلك يرجع إلى إحتواء النباتات على مواد مثبطة للزنك أهمها الفيتات و الألياف. تعتبر الفيتات (hexaphosphate inositol) العامل الأكثر تثبيطا لإمتصاص الزنك و هي توجد في كثير من الأغذية المشتقة من النباتات و تشكل الحبوب و البقوليات المصدر الرئيسي لها. إكتشاف مفعولها في الستينات سمح لـ prasad في سنة 1963 بتفسير حالات التقزم الناجمة عن نقص الزنك بسبب التعرض لنظام غذائي غني بهذه المركبات (Sandstead, 1991). حمض الفيتيك هو الشكل الأساسي لتخزين الفوسفور في البذور و هذه الجزيئات لها القدرة على الإرتباط بالكاتيونات الثنائية أو الثلاثية التكافؤ لتشكيل معقدات، و هي ذات ألفة قوية أتجاه الزنك (Revy et al., 2003).

تتكون الألياف النباتية من مواد غير قابلة للهضم وهي تضم السليلوز، الهيميسليلوز، البكتين، اللجنين، الشمع و الأصماغ. وقد أظهرت الدراسات in vitro أن هذه المكونات تثبت الزنك في الأوساط القلوية بنسبة قد تتجاوز 80%. كما أشارت بعض الدراسات التجريبية أن إضافة السليلوز أو الهيميسليلوز المستخلص من القمح إلى الغذاء يؤدي إلى تثبيط إمتصاص الزنك (Sandstead, 1981). بالنسبة للدراسات التي أجريت على الإنسان، لاحظ Prasad و آخرون (1963) أن الإستهلاك الواسع للأغذية الغنية بالألياف مثل الخبز المصنوع من دقيق القمح و الذرة و المحضر دون إستعمال الخميرة، كانت لها علاقة بإنتشار الأمراض الناجمة عن نقص الزنك في الشرق الأوسط (Sandstead, 1991).

2.4.4. العوامل الفيزيولوجية

ينخفض مردود إمتصاص الزنك مع تقدم السن. فالإنسان العجوز يمتص الزنك بكمية أقل من الشاب البالغ. كما وجد أن الإمتصاص ينخفض بإنتظام عند المرأة. يرتفع إمتصاص

الزنك أثناء الحمل خاصة في الثلث الأخير منه (Favier,1990)، لأن الزنك جد ضروري للنمو الجنيني. كذلك هناك ارتفاع في معدل الإمتصاص خلال فترة الرضاعة حيث وجد أن الأم التي تستهلك 8 مغ من الزنك قد بلغت نسبة الإمتصاص عندها بين 59 و 84 % (Swanson et al.,1987).

5. النقل المصلي للزنك

يتم نقل الزنك عن طريق نواقل عديدة لها القدرة على إقتناصه وفقا لنسبته.

- **جزء يرتبط بالألبومين** لا نوعيا بواسطة بقايا الهستيدين وينقل تقريبا 60-65 % من الزنك البلازمي الإجمالي. لكن إرتباطه بالألبومين ضعيف و غير ثابت لذلك يمكن التقاطه من طرف الأنسجة (Favier,1990).
- **جزء يرتبط بـ α_2 -macroglobulin**: هو بروتين سكري وزنه الجزيئي 725000 دالتون. يتألف من أربع تحت وحدات متماثلة تثبت كل منها ذرتين من الزنك. يرتبط الزنك بقوة مع هذا المركب بحيث لا يمكن إستعماله من طرف الأنسجة ، و يمثل الجزء الثابت غير القابل للتبديل. تبلغ نسبة الزنك المرتبطة بـ α_2 -macroglobulin من 30 إلى 40 % من الزنك البلازمي الإجمالي (Seve et al.,2002).
- **جزء يرتبط بالترانسفيرين**: لقد أظهرت طرق الفصل الكهربائي أن بروتين الترانسفيرين له دور في نقل الزنك. فالنهاية الطرفية N تمتلك ألفة كافية لتثبيت الزنك. كما أن قابلية تحرر الزنك المرتبط بالترانسفيرين سيسمح بتوفير هذا العنصر للخلايا التي هي في حاجة إليه. هناك العديد من الأعمال التي أوضحت أن الزنك المحمول على الترانسفيرين هو الذي تقتنصه الخلايا للمفاوية المنبهة بواسطة الميتوجينات (mitogènes). كما أن هذا البروتين يلعب دورا مهما في تحويل الزنك بين السائل البيني و الخلايا (Favier, 1990). من جهته أشار (Cousins, 1985) أن الترانسفيرين يقوم بالتقاط الزنك في مستوى الغشاء القاعدي للخلايا المعوية ثم نقله إلى الكبد.
- **جزء يرتبط بمركبات ذات وزن جزيئي صغير**: يوجد في مصل الإنسان حوالي 2 - 3 % من الزنك مرتبطا بأحماض أمينية أهمها الهستيدين و السيستئين. تتوقف نسبة الزنك المنقولة بواسطة الأحماض الأمينية على كمية هذه الأخيرة في المصل وأيضا على درجة الحموضة (PH)، ويلعب هذا الجزء من الزنك دورا مهما في الإطار البولي (Favier, 1990). إضافة إلى الأحماض الأمينية، يمكن أن يرتبط الزنك بالسيترات و حمض البيكولينيك خاصة هذا الأخير الذي يعتبر مثبتا قويا له (Cousins, 1996).

6. دور الكبد في إستقلاب الزنك

يمثل الكبد عضوا مهما في إستقلاب الزنك، حيث أثبتت الدراسات بواسطة إستعمال النظائر المشعة أن معظم كمية الزنك الممتصة تتواجد بسرعة داخل الكبد، حيث أشار (Rucker et al., 1994) أن حوالي 30 إلى 40 % من الزنك الممتص تقتنص من طرق الكبد ثم يعاد طرح كمية منه في البلازما. في تجارب أجريت على خلايا كبدية مزروعة، وجد أن إنتقاط الزنك كان مرتبطا بدرجة الحرارة و الطاقة، كما كان يتطلب تدخل مجموعات الثيول.

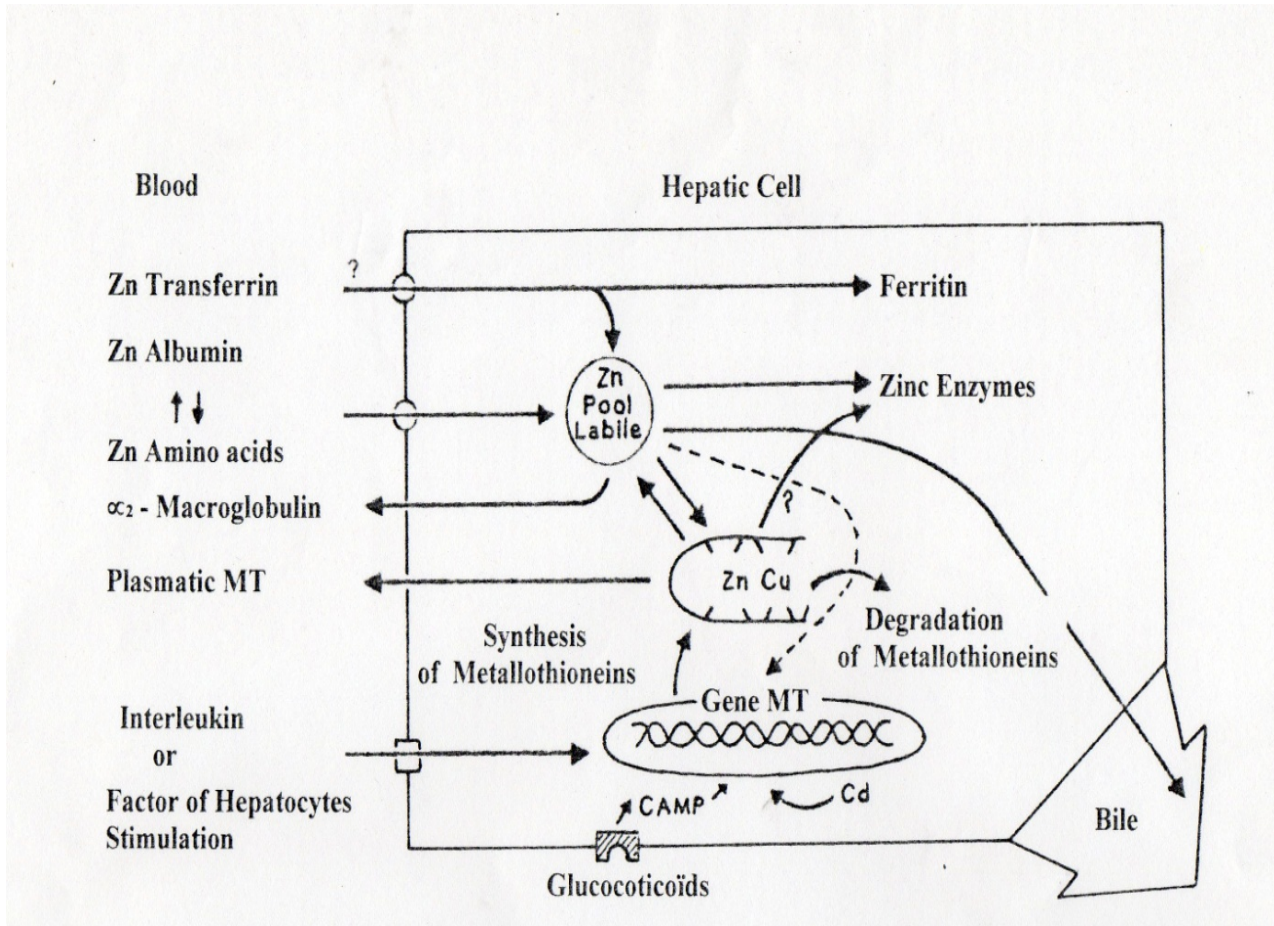
1.6. الإستعمال و التخزين

ينفذ الزنك داخل الخلية الكبدية و يلتحق بمجمع الزنك القابل للتغير ثم يخضع بعد ذلك لإحدى المناهج الإستقلابية الموضحة في الشكل (11) و التي يمكن تلخيصها فيما يلي:

- إرتباط الزنك بالعديد من البروتينات المعدنية (metalloproteins) أو بالإنزيمات المعدنية (métalloenzymes) لأجل تأمين عمل الخلية الكبدية
- تثبيت الزنك على بروتينات MT الذي قد يكون الهدف منه هو التخزين، شكل من النقل أو تنظيم الإستقلاب أو الجميع معا.
- طرح الزنك نحو البلازما على أشكال مختلفة: إفرازه على شكل مركبات مع الأحماض الأمينية، إفراز إنزيمات مرتبطة بالزنك، إفراز α_2 -macroglobuline
- طرح الزنك عن طريق الصفراء (Seve et al., 2002)

2.6. تنظيم الإستقلاب الكبدي و تأثير الجهد و العدوى

ينظم تخليق بروتينات MT الكبدية بفعل التأثيرات الهرمونية، منها الجليكاغون، الجليكو كورتيكويد و \acute{e} pinéphrine. و هي هرمونات لها مفعول تحريضي قوي عن طريق وساطة الـ AMPc و هذا ما يفسر إنخفاض الزنك المصلي و أيضا إرتفاع نسبة الزنك و MT في الكبد، بعد التعرض لجهد (stress) كالبرد، الحرارة، الحروق و التعب. كذلك الإصابات الحادة الناجمة عن السموم و الإلتهابات تغير من نفاذية الزنك إلى الكبد، حيث تقلل من نسبته في الدم و تزيد من تخليق MT. تؤثر هذه العوامل بوساطة interleukine (IL)2 الذي يؤثر على الجليكاغون أو مباشرة على مستقبل غشائي (Favier, 1990). إن تغيرات الزنك الدوراني في الظروف المرضية السابقة يكون ناتجا عن تحركه نحو الكبد للمساهمة في ميكانيزمات الدفاع ضد الجذور الحرة السامة (Seve et al., 2002).



شكل 11: إستقلاب الزنك داخل الخلية الكبدية (Favier, 1990).

7. إطراح الزنك

يتم طرح الزنك بطرق مختلفة إلا أن الكمية الكبيرة منه تطرح مع البراز في الشروط الفيزيولوجية (Revy et al., 2003). أما الطرق الأخرى فهي ذات أهمية أقل لكنها قد تكون في الحالات المرضية هي المسؤولة عن نقص الزنك نتيجة تسربه. تبلغ نسبة الزنك المطروحة عبر البراز حوالي 5 - 10 مغ/اليوم. هذه الكمية المفترزة لا تعكس فقط الزنك الغذائي غير الممتص، فالجزء الأكبر مصدره الزنك ذو المنشأ الداخلي و الذي يفرز عن طريق الغدد اللعابية، البنكرياس، الكبد و أيضا بواسطة تهشم الخلايا المخاطية المعوية (Buckley, 2000). هذا الزنك المفترز يمكن إعادة إمتصاصه بعد إمتزاجه مع البقايا الهضمية للأغذية مشكلا بذلك الدورة المعوية الكبدية (Seve et al., 2002). كمية الزنك المطروحة عبر الطرق الأخرى ضعيفة فهي تتراوح 1 إلى 2 مغ/اليوم في البول و 0.5 مغ/اليوم في العرق (Poulsen et al., 1995).

8. دور الزنك في العضوية

عرف الزنك منذ مدة أنه عنصر نادر أساسي في الأنظمة البيولوجية و هو يلعب أدوارا هامة سواء على المستوى الجزيئي أو الفيزيولوجي.

1.8. الدور البيوكيميائي

يتدخل الزنك في نشاط العديد من الإنزيمات و له دور أيضا في تعبير المورثات و استقرار بنية البروتينات

1.1.8. عمل الإنزيمات

ارتباط الزنك بالبروتينات يحفز العديد من التفاعلات: نزع الهيدروجين و نزع الماء (phosphatase, peptidase, aldolase). يتدخل أيضا في العديد من المناهج الإستقلابية رغم أن الزنك له قدرة تحفيزية ضعيفة (Arnaud et al., 1991). وجود ذرة زنك يكون ضروريا ليس فقط لعمل الموقع النشط، ولكن أيضا للمحافظة على ثبات و إستقرار البنية كما في إنزيم aspartate α -amylase لـ *Bacillus subtilis*، يمكن أن يكون له دورا منظما كما في إنزيم alcohol transcaramylase، أو له دور مزدوج للحفاظ على البنية و التحفيز معا مثل alcohol dehydrogenase أو التنظيم و التحفيز كإنزيم aminopeptidase للجسم البلوري . هناك قائمة جزئية للإنزيمات المعدنية ذات الزنك معطاة في الجدول (13). من بينها الـ anhydrase carbonique و superoxyde dismutase اللذان يحتلان مكانة مهمة. لكن عدد الإنزيمات ذات الزنك ملفت للإنتباه، لأن Vallée و Auld (1990) تعرفا على أكثر من 200 إنزيم مرتبط بالزنك. و الآن أصبحت القائمة طويلة بعد إكتشاف إنزيمات أخرى ذات أهمية كبيرة جدا مثل أنزيمات caspases، amino-déshydratase، télomérase، poly-(ADP-ribose) polymerase (Seve et al., 2002).

يجب الإشارة إلى أن هناك إنزيمات تثبط بواسطة الزنك منها الـ éno­lase، aldehyde déshydrogénase، الـ proteine tyrosine phosphatase والـ caspase3 (Chimienti et al., 2001)، أو الـ endonucléase المرتبطة بالكالسيوم و المغنيزيوم للـ apoptose (Beletsky et al., 1989)، و بشكل متناقض فالعديد من الإنزيمات المرتبطة بالزنك هي بنفسها تثبط بواسطة الجرعات العالية للزنك، لأن معظم هذه الإنزيمات لها سيستئين تفاعلي في الموقع النشط (Larsen et al., 1989)

جدول 13: قائمة بعض الإنزيمات المعدنية ذات الزنك (Vallée et al.,1990)

عدد Zn ⁺⁺ /جزئية	الدور	المصدر	العدد	الأسماء
				<u>Oxydoreductases</u>
4	A,D	فقاريات،نبات،خميرة	10	Alcool deshydrogenases
2		فقاريات،نبات،خميرة	12	Superoxyde dismutases
4 إلى 6		خميرة		Lactate cytochrome reductase
	A	قمح	10	<u>Transferases</u>
1	A	،بكتيريا،فيروسات	2	ARN polymerase
2	A	،قنفذ البحر،phageT ₄ فيروسات	3	ADN polymerase
				Transcriptase reverse
4	A,D		8	<u>Hydrolases</u>
	C	ثدييات، بكتيريا	2	Phosphatases alcalines
1	A	ثدييات	4	Fructose 1,6 diphosphates
2	A	ثدييات،قشريات	3	CarboxypeptidasesA
		ثدييات، بكتيريا		Dipeptidases
1	A		22	<u>Lyases</u>
2	A	حيوانات ، نباتات	4	Anhydase carboniques
		ثدييات ، خمائر		Glyoxalases
4		خميرة		<u>Isomerases</u>
				Phosphomannose isomerase
	A	خميرة ، بكتيريا		<u>Ligases</u>
		Escherichia coli		Pyruvate carboxylases
				PRNt synthetases

A: دور محفز B: دور بنيوي C: دور منظم D: دور غير محدد

2.1.8. إستقلاب الهرمونات

يؤثر الزنك على الإستقلاب الهرموني على مستوى الإفراز، النشاط، أو موقع التثبيت النسيجي. فهو يمكن أن يكون عاملا مساعدا للإنزيمات المخلفة لبعض الهرمونات مثل D-désaturases الخاصة بتخليق البروستاغلوندينات، 5α-réductase التي تسمح بمرور testosterone-dihydrotestosterone (DHT)، يمكن للزنك أيضا أن يحافظ على ثبات البنية الرباعية للهرمونات الستيرويدية مما يكسبها شكلا نشطا أو إستقرارا كبيرا كما هو الحال

بالنسبة للأنسولين، thymuline، gustine، و عوامل التمايز (nerve growth factor، migration inhibitory factor). كذلك يمكن للزنك أن يكون ضروريا لعمل المستقبلات الغشائية (human chorionic gonadotrophin, growth hormone) أو المستقبلات النووية للستيرويدات و الهرمونات الدرقية التي هي عبارة عن بروتينات ذات "أصابع زنك" (Favier, 1992).

3.1.8. إستقلاب الأحماض النووية

يؤثر الزنك على إستقلاب الأحماض النووية عن طريق العديد من الإنزيمات التي يكون فيها الزنك هو العامل المحفز. بعض هذه الإنزيمات هي في غاية الأهمية مثل ADN و transcriptases reverses، thymidine kinase، ARNt synthétases، ARN polymerase (Faure et al., 1992). هناك طرق أخرى لعمل الزنك، حيث يكمنه أن يرتبط بالنيوكليوتيدات و يحافظ على شكل ARN. كما أنه يعتبر ضروري في تنظيم الهستونات و المحافظة على الشكل النشط للعديد من عوامل الإستنساخ التي تسمى حسب شكلها facteurs à doigts de zinc (Laity et al., 2001). بنية أصابع الزنك وصفت لأول مرة في عامل النسخ TFIIIA حيوان Xénope الذي يسمح ببداية نسخ ARN الريبوزومي S بواسطة ARN بوليميراز (Miller et al., 1985). بعض هذه العوامل لها دخل في نمو و تمايز الخلايا.

2.8. الدور الفيزيولوجي

يعتبر الزنك ضروريا لبعض الوظائف الفيزيولوجية من بينها:

1.2.8. النمو و التكاثر الخلوي

أظهرت التجارب التي أجريت على البكتيريات و على بعض الخلايا الحيوانية المزروعة أنه في غياب الزنك تتوقف الإنقسامات الخلوية في مرحلتي G و S من الإنقسام الخيطي (Prazad et al., 1996). يفسر هذا الفعل على أساس صلة الزنك بالإنزيمات المتدخلة في تضاعف الـ ADN و نسخ الـ ARN. يتدخل الزنك أيضا في تحفيز الإشارات المولدة للإنقسام الخيطي، فهو ينشط p70S6k، وهو بروتين يلعب دورا مهما في تقدم الدورة الخلوية من المرحلة G1 إلى المرحلة S (Park et al., 1999). كذلك يزيد من مدة مفعول الكالسيوم على تنشيط فسفرة الـ MAP kinases و ينبه تخليق الـ ADN بالتعاون مع الكالسيوم و عوامل النمو (Huang et al., 1999).

2.2.8. الأوبوتوز (Apoptose)

خلال الأوبوتوز، يقوم الزنك بحماية الـ ADN من التجزؤ في العديد من السلالات الخلوية، وذلك بتنشيطه لإنزيمات الـ endonucleases المرتبطة بالكالسيوم و المغنيزيوم (Cohen, 1984). هناك دراسات حديثة تشير أن الزنك يثبط أيضا caspase-3، و هو بروتين يتدخل في موت الخلية. لقد وجد أن مخلبة الزنك الداخل خلوي يؤدي إلى الأوبوتوز في أنواع خلوية مختلفة و ينشط caspase-3 (Chai et al., 2000). يبدو أن تغير طفيف في تركيز الزنك الداخل خلوي يمكن أن يلعب دورا في بداية الأوبوتوز، أو على الأقل كعامل منشط يضخم مفعول مختلف الجزيئات الممهدة للأوبوتوز. وعلى العكس من ذلك، فحصة من الزنك تسمح بالوقاية من مفعول هذه الجزيئات المحفزة للأوبوتوز. حدوث تغيرات في تركيز و/ أو موضع الزنك داخل الخلية يشكل مرحلة مهمة في إنطلاق سلسلة الأحداث المؤدية إلى موت الخلايا (Seve et al., 2002).

3.2.8. المناعة

يعتبر الزنك عنصرا مغذيا ضروريا للمحافظة على عمل الجهاز المناعي و السيتوكينات، فهو يؤثر خصوصا على الإستجابات المناعية الخلوية (Kruse-jarres, 1989). لقد أجريت العديد من التجارب التي أوضحت أن نقص الزنك يحدث إضطرابات في الجهاز المناعي، حيث لوحظ لدى الحيوانات القارضة ضمور التيموس و الطحال مع إنخفاض في عدد الكريات البيضاء في الدم الذي يفسر نقص الخلايا للمفاوية خاصة منها الخلايا T المساعدة، لأن الزنك ضروري لنشاط التيميلين الذي هو هرمون تيموسي ضروري لنضج الخلايا للمفاوية (Roussel et al., 2009). يؤثر نقص الزنك أيضا على البالعات الكبيرة إذ يقلل من كفاءتها المناعية أي إنخفاض قدرتها على إقتناص و تخريب الأجسام الغريبة. و مع ذلك فالبالعات الكبيرة المعزولة من حيوانات منقوصة الزنك والتي حضنت في وسط غني بهذا العنصر، وجد أنها تسترجع قدرتها المناعية، مما يدل أن الزنك يؤثر على نشاط هذه الخلايا عن طريق إرتباطه ببعض المستقبلات الغشائية (Keen, 1990).

يؤثر الزنك على إستقلاب النيوكليوتيدات النهائية و تخليق الـ ADN بفعله المباشر المولد للإنقسام الخيطي، أو كعامل مساعد للوسائط (اللامفوكينات، الترانسفيرين و thymuline). يكون نقص الزنك مرفوقا بإنخفاض إنتاج IL2. لوحظ In vitro في وسط زرع يفتقر للزنك إنخفاض في إنتاج IL2 من قبل اللامفاويات T وأيضا في تكاثر الخلايا المحفزة به. يعود هذا المفعول إلى تأثير الزنك على المستقبلات ذات الألفة العالية للـ IL2 الموجودة

على سطح اللمفاويات. يسبب عامل النخر الورمي (TNF- α) تنشيط عوامل نسخ NF-kB و AP-1، و أيضا إفراز IL8. يؤدي تزويد الوسط بالزنك إلى إنخفاض في نشاط هذه العوامل و إفراز IL8 (Connell et al.,1997). تثبتت IL1 على مستقبلاته يؤدي في العديد من الأنواع الخلوية (الكبد، النخاع العظمي، التيموس) إلى مرور زائد للزنك من الوسط الخارج خلوي نحو السيتوزول. تحدث هذه الحركة عن طريق الحث السريع للـ metallothioneines. بآلية مشابهة، يسبب IL6 ارتفاع في تخليق MT في الخلايا الكبدية مؤديا إلى زيادة التقاط الزنك من الوسط الخارج خلوي (Schroeder,1990).

4.2.8. إلتئام الجروح

لقد عرف منذ مدة طويلة أن الزنك يسهل من إلتئام الجروح عند الفئران. يعتبر Strain و مساعده هم الأوائل الذين بينوا في سنة 1953 أن الزنك له تأثير إيجابي على إلتئام الجروح إذ لاحظوا أن إعادة بناء الطلائية كانت تتم بسرعة عند الجرذان المزودة بالزنك مقارنة بالشواهد. من جهة أخرى لاحظ (Faure et al.,1992) أن تخليق الكولاجين في الجرذان منقوصة الزنك ينخفض مقارنة بالحيوانات مقيدة الغذاء (pair fed)، و في دراسة أخرى لوحظ أن تزويد الفئران المصابة في الكبد بالزنك يؤدي إلى زيادة تخليق الكولاجين في الجرح. فالزنك ضروري لتضاعف الخلايا الليفية الفتية و لإفرازها للكولاجين. من المحتمل أيضا أن الزنك ضروري لتخليق retinol-binding proyein (RBP). و يعتبر هو الناقل الدموي للفيتامين A الذي يشكل بدوره عاملا مهما في التئام الجرح (Reed, 1985).

5.2.8. حاسة الرؤية

يتضح دور الزنك في وظيفة الرؤية من خلال تواجده بنسب عالية في أنسجة العين خاصة منها الشبكية التي تبلغ نسبة الزنك بها حوالي 460 ميكروغرام/غ. كما أن بعض الأمراض التي تصيب العين مثل تحذب القرنية (keratocome) و التهاب العصب البصري تكون دوما مصحوبة بإضطرابات في استقلاب الزنك. لقد وجد أن الخلايا ذات المخاريط في الشبكية هي أكثر حساسية لنقص الزنك عن الخلايا ذات العصي، و هذا ما يفسر أيضا إضطرابات رؤية الألوان (Favier et al.,1990).

هناك العديد من الدراسات أشارت أن الزنك ضروري لإستقلاب الفيتامين A، حيث لوحظ أن نقصه يؤدي إلى إنخفاض نسبة هذا الأخير في البلازما و أيضا إنخفاض الـ RBP

الناقل النوعي للريتينول المصنع في الكبد و هذا ما يفسر ضعف قدرة تحريك الفيتامين A من هذه الغدة عند نقص الزنك. مفعول نقص الزنك على ميتابوليزم الفيتامين A ناتج عن تأثيره على نشاط الإنزيمات خاصة منها *retinal reductase* و *retinal oxydase* الضروريان للتحويل المتبادل بين الريتينول و الريتينال الذي تقتضيه الرؤية العادية. لوحظ أن هذين الإنزيمين يفقدان نشاطهما في شبكية الفأر عند نقص الزنك. قد يكون ضعف الرؤية الليلية ناجما عن قلة نشاط *retinol dehydrogenase* و هو أحد الإنزيمات الخاضعة لتأثير الزنك (Seve et al.,2002).

6.2.8. الوظيفة المخية

الزنك هو أحد العناصر النادرة الضرورية للنمو العادي للدماغ والتي من بينها Mn، Cu، Fe، I و Se. بالنسبة للزنك لم يتضح دوره في الوظيفة المخية إلا بعد الدراسة التي نشرها Prasad ومساعدوه سنة 1958 و التي تناولت علاقة الغذاء بنقص الزنك عند الأطفال في أرياف مصر و إيران حيث لاحظوا أن سكان القرى في هذه المناطق و الذين يعتمدون في غذائهم على مصادر غذائية نباتية غنية بالفيتات و الألياف المثبطة لإمتصاص الزنك، هم أكثر عرضة لإصابات الدماغ (Sandstead, 1981). لقد تم التأكد من تأثير الزنك على الجهاز العصبي من خلال تجارب نقصه التي أظهرت فعله التشوهي على أجنة كل من الدجاج و الجرذان (Kee et al.,1987; Hurley et al.,1966).

يعتبر الدماغ من بين الأعضاء الأولية التي يمكن تمييزها أثناء التطور الجنيني و يستمر نموه حتى بعد الولادة. و نظرا للفترة الطويلة التي يستغرقها نمو الدماغ فإن ذلك ما يجعله معرضا للإصابات. يؤدي نقص الزنك في فترة الرضاعة إلى اختزال حجم الدماغ و تخليق الـ DNA، RNA و بروتينات الهيستونات خصوصا على مستوى المخ و المخيخ (Sandstead, 1981). لقد أظهرت الفحوص المجهرية ضعف إنقسام الخلايا الدماغية و تأخر تشكل المشابك العصبية و تمايز العصبونات المخيخية في صغار الجرذ التي تعرضت لنقص الزنك خلال فترة الرضاعة (Seve et al.,2002). يمكن تفسير دور الزنك في الوظيفة المخية من خلال تأثيره على بعض الإنزيمات مثل *2,3nucleotide 3phosphatohydrolase* و *hippocampus dehydrogenase glutamic acid* ينخفض نشاطهما في *hippocampus* و مخيخ صغار الجرذان التي تعرضت لنقص الزنك أثناء الرضاعة، حيث أن الإنزيم الأول يؤثر على عملية *myelination* و الإنزيم الثاني يشرف على صنع الناقل العصبي حمض الجلوتاميك انطلاقا من α -ketoglutarate (Sandstead,1981). إنخفاض نشاط إنزيمات *désaturases*

في حالة نقص الزنك يسبب خلا في إستقلاب الأحماض الدهنية 6 oméga و 3 oméga الضروريان لنمو العصبونات و هي إحدى الآليات التي تفسر مفعول نقص الزنك على التشوهات الدماغية (Bhatnagar et al., 2001).

هناك العديد من العصبونات التي تمتلك حويصلات غنية بالزنك الذي يتحرر منها عند مرور السيالة العصبية. فالزنك يمكن أن يلعب دورا في عمل العصبونات و الحساسية، فالعقد العصبية للنخاع الشوكي غنية بـ metallothioneines (Velazquez et al., 1999).

7.2.8. التكاثر و الخصوبة

وجود الزنك بتركيز مرتفعة نسبيا في الأعضاء التناسلية يوحي أن هذا المعدن ضروري لوظيفة التكاثر. هناك عدة تجارب أوضحت أن محتوى الزنك يتغير عند إصابة أعضاء التكاثر. مثلا، وجد أن عملية الخصي (castration) تقلل من تركيز الزنك في بروتينات الكلاب البالغة و القرودة و أيضا إنخفاضه في بربخ الجرذان. كما لوحظ أن بقاء الخصيتين داخل التجويف البطني يؤدي إلى إنخفاض الزنك في السائل المنوي (Apgar, 1992). لقد وجد أن نقص الزنك لدى الجرذان يؤدي إلى توقف تشكل النطاف و ضمور الطلائية الجرثومية (germinal epithelium) مما ينتج عنه إنعدام النطاف في المنى (John et al., 1990). كما لوحظ عند إناث الفئران و القرودة أن نقص الزنك يحدث إنقطاع في الدورة الشهرية وتأخر في نمو الجريبات المبيضية (Sandstead, 1981). يؤثر الزنك بطرق متعددة. فهو يلعب دورا منظما لنشاط إنزيم 5 α -reductase في البروستاتا. كما يرتبط مفعوله بإنخفاض 5 α -dihydrotestosterone (5 α -DHT) عند النقص وهذا ما يفسر بعض حالات العقم و الإضطرابات في النضج الجنسي في حالة النقص الحاد للزنك (Favier et al., 1980).

يلعب الزنك دورا مؤثرا على حركة النطاف. لقد نشر في بعض الدراسات أن التزويد بالزنك يحسن من حركية النطاف، لكن تبقى هذه النتيجة غير مؤكدة لأن في تجارب أخرى أجريت in vitro لوحظ أن الحيوانات المنوية المنهوكة تسترجع قدرتها على الحركة عند مزجها بالسائل المنوي العادي (Henkel et al., 1999). كذلك إضافة الزنك لهذا النطاف لا يزيد من نشاط الـ ATPase الذي له علاقة بالحركة، في حين أن مزجه بالسائل المنوي العادي أدى إلى زيادة نشاط هذا الإنزيم (Karacagil et al., 1985). وجد في دراسة أخرى أجريت على نطاف الخنزير و قنفذ البحر أن الزنك له دخل في تفاعلات الأكروروم الضرورية للإخصاب (Apgar, 1992).

8.2.8. الحماية ضد الجذور الحرة

أكتشف دور الزنك في الوقاية ضد التسمم برباعي كلوريد الكربون (CCl_4) من طرف Chvapil سنة 1973. في السنوات الأخيرة تم التوصل إلى فهم دور الزنك في حماية العضوية ضد الفعل التسممي للجذور الحرة. يؤثر الزنك على نشاط إنزيم Cu-ZnSOD الذي يقوم بتخريب شوارد البيروكسيدات التي هي مصدر سلسلة الجذور الحرة. و مع ذلك فدور الزنك هو أقل أهمية من دور العامل المساعد الآخر الذي هو النحاس (Favier, 1990).

لوحظ لدى الجرذان منقوصة الزنك ارتفاع معنوي في إنتاج الجذور الحرة على مستوى الميكروزومات الرئوية و تزايد في الأكسدة الفوقية للبيبيدات و أشد هذا المفعول بواسطة التزويد بالنحاس (Bray et al., 1986). في تجربة أجريت على خلايا كبدية مزروعة، وجد أن تزويد الوسط بالزنك يقلل من نسبة ال-MDA و نسبة جذور الهيدروكسيل المقاسة بواسطة RPE (Coppen et al. 1988). لقد أوضح Anttinen و آخرون (1984) أن الزنك يحد من تراكم الكولاجين عند الجرذان المسممة بواسطة CCl_4 .

سبق و أن تم إظهار أن الزنك يقوم بحماية مجاميع SH- ضد الأكسدة، مانعا بذلك تشكل الجسور الكبريتية الثنائية. كذلك وجد أن الزنك ليس ضروريا للنشاط التحفيزي لإنزيم δ -amino-lévulinate-deshydratase، لكنه يقوم بحماية الإنزيم ضد الأكسدة، سامحا بذلك المحافظة على وظائفه. فالزنك يمكنه أن يرتبط مباشرة بمجاميع الثيول، أو يقلل من قابلية تفاعلها عن طريق إحداث تغير في الشكل (Schmuck, 1992).

يلعب الزنك دورا مهما في عمله على زيادة ثبات و إستقرار الغشاء و هذا المفعول كان موضوع العديد من الدراسات، منها تلك التي قام بها Chvapil (1973) و Bettger و آخرون (1981). يعود دور الزنك في إستقرار الغشاء جزئيا إلى مفعوله تجاه الأكسدة الفوقية للبيبيدات، لكن يبدو أن هذا لا يكون في جميع الحالات، حيث أوضح Bettger و آخرون (1978) لدى الجرذان و على مستوى أغشية الكريات الحمراء، أن الزنك يقلل من التحلل المحدث بواسطة النحاس، لكن دون تخفيض إنتاج ال-MDA، أي دون منع حدوث الأكسدة الفوقية للبيبيدات.

هناك دراسات أخرى نشر فيها أن الزنك يخفض من الأكسدة الليبيدية على مستوى الأغشية. فمثلا Girotti وآخرون (1985) أوضحوا أن الزنك يقلل من إنتاج الهيدروبيروكسيدات العضوية و MDA عند تعريض أغشية الكريات الحمراء لنظام fer/xanthine/xanthine-oxydase. نفس الفريق أشار أن بروتينات الميتالوثيونين ذات الزنك تقلل أيضا من الأكسدة الفوقية لليبيدات على مستوى أغشية الكريات الحمراء المعرضة إلى نفس النظام المؤكسد. في هذه الحالة، يبدو أن الحماية ضد الجذرية تتم بتحرير أيونات الزنك من الميتالوثيونينات بعد أكسدتها، و التقاط هذه الأيونات من قبل الأغشية.

9. الدور الباتولوجي للزنك

1.9.1. نقص الزنك

أسباب نقص الزنك متعددة، فبالإضافة إلى السبب الرئيسي الناتج عن نقص الزنك في الغذاء، هناك أسباب ثانوية أخرى بإمكانها أن تؤدي إلى هذا النقص منها:

- سوء الإمتصاص إما لوجود مواد مثبطة أو التهابات الأمعاء
- الأمراض الكبدية (تليف الكبد و الإلتهاب الكبدي المعوي)
- اضطرابات في الإفرازات البنكرياسية التي ينتج عنها نقص zinc binding ligand الذي يسمح بتسهيل إمتصاص الزنك.
- أمراض الكلى التي تزيد من الطرح البولي نتيجة خلل في إعادة إمتصاص الزنك
- خلل في مرور الزنك عبر المشيمة أو نتيجة عيب وراثي في إقتصاص الزنك من قبل خلايا الجنين

يؤدي نقص الزنك في الجسم إلى ظهور أعراض إكلينيكية متنوعة تتوقف على درجة نقص الزنك و العمر.

1.1.9. حالة نقص الزنك الحاد

يؤدي النقص الحاد للزنك في العضوية إلى الإصابة بمرض Acrodermatitis enteropathica (AE)، يتميز بإسهال، فقد الشعر، إتلاف خلايا الطبقة القرنية من البشرة المحيطة بفتحات الجسم، التهاب مخاطية الفم و أحيانا ضمور الزغبات المعوية، تأخر شديد في النمو. بالإضافة إلى أعراض أخرى أقل إنتشارا كألتهاب الجفون، ليونة القرنية، التهاب الملتحمة و أعراض عصبية نفسية كسرعة الإنفعال و الإكتئاب .

إن الظروف التي تسبب نقص الزنك الحاد نادرة نذكر منها :

- التغذية المفرطة عن طريق حقن السوائل المقدمة لمدة طويلة بالنسبة للأطفال المولودين مبكرا
- سوء الهضم والإمتصاص وكذلك الإستئصالات المعوية التي بإمكانها أن تؤدي إلى هذا المرض.
- مرض وراثي لنقل الزنك المعوي نادر الحدوث و هو يظهر في الأفراد المتماثلة اللواقح بالنسبة للمورثة الحاملة للمرض (Favier,1990).

2.1.9. حالة النقص غير الحاد للزنك

تكون أحيانا حصص الزنك الغذائية التي يتطلبها الجسم غير كافية فمثل هذه الحالات من نقص الزنك غير الحاد تؤدي إلى ظهور أعراض إكلينيكية متنوعة وغير ثابتة نذكر منها:

- فقد الذوق و الشهية
- تأخر في النمو
- إضطرابات جلدية و سوء إلتئام الجروح
- ضعف الإستجابات المناعية
- ظهور إضطرابات في السلوك

لقد لوحظ في العديد من الدراسات التي أجريت على النساء أن هناك صلة بين نسبة الزنك المنخفضة في المصل أو السائل الأمنيوتي و التأخر غير الطبيعي لمدة الحمل (Favier et al.,1990) كما سجلت بعض حالات الإجهاض لدى قرده Rehsus و التي كانت مرفوقة بإنخفاض نسبة الزنك في السائل الرحمي (Sandstead,1981). يسبب نقص الزنك العديد من الإضطرابات أثناء الوضع منها طول مدة المخاض و الولادة و زيادة فقدان الدم و أحيانا موت الأمهات (Apgar,1992). هذه الإضطرابات ناتجة عن حدوث خلل في عمل الهرمونات خاصة منها البروستاغلونديينات حيث يمثل الزنك عاملا مساعدا لإنزيمات desaturases الضرورية لتخليقها. لقد وجد أن نقص الزنك التجريبي عند الجرذان الحاملة يؤدي إلى إختفاء التقلصات الرحمية و انخفاض في منسوب الدم بين المشيمة و الرحم و أيضا نقصان تخليق PGE_2 و $PGF_{2\alpha}$ في أنسجة الرحم .

2.9. إفراط الزنك

لم ترد تقارير على سمية الزنك عن طريق المصدر الغذائي، فسمية الزنك أمر نادر ومشاكل نقص أخطر من زيادته. عمليا لم يلاحظ أي فعل تشوهي أو سرطاني في حالة التزويد بالزنك لدى الإنسان. تحدث التسممات الحادة أو المزمنة لعدة أسباب منها:

- إستهلاك أغذية أو ماء من حاويات مصنوعة من الزنك والرصاص
- تلوث ناتج عن مصادر صناعية كإستنشاق الأبخرة الغنية بأكسيد النحاس أو تلوث مياه الشرب إنطلاقا من الأنابيب أو من الآبار.
- التزويد المفرط بالزنك أو من خلال الأمراض الوراثية (مرض pick).

تتمثل أعراض التسمم بالزنك بحدوث إضطرابات هضمية مصحوبة بآلام في البطن، غثيان، تقيؤ و حمى ودوار. تختفي هذه الأعراض بعد 12 إلى 24 ساعة بعد زوال مسبب التسمم. تناول جرعة واحدة تتراوح من 225 إلى 450 تكون كافية لظهور أعراض التسمم عند الإنسان. و لكن يمكن أن تحدث اضطرابات معدية معوية خفية عند تناول جرعات يومية تتراوح من 50 إلى 150 مغ . فجرعة الزنك القصوى الموصى بها هي 40 مغ/اليوم. تناول جرعات زنك تتراوح من 100 إلى 150 مغ لفترات متكررة يمكنه أن يؤدي إلى فقر دم حاد نتيجة تداخله مع النحاس حيث يسبب إنخفاض محتوى النحاس في الدم كما يؤدي الى إنخفاض وظيفة الحديد و صغر حجم الكريات الحمراء. وجد أيضا أن إفراط الزنك يقلل من الوظيفة المناعية و الليبوبروتينات ذات الكثافة العالية (HDL) في حين يزيد من نسبة LDL (Imoberdorfs et al.,2010).قابلية تسمم الحيوان بالزنك تتوقف أساسا على مستويات الكالسيوم، الحديد، النحاس و الكادميوم في الغذاء. لقد وجد في حالة الجرذان أن بلوغ نسبة الزنك 1000مغ/كغ غذاء تؤدي إلى نقصان الحديد و النحاس مما يسبب فقر الدم. أما إذا بلغت نسبة الزنك 5000مغ/كغ فإنها تؤدي نقص النمو أو موت الحيوانات (Revy et al.,2003).

ثالثًا: الوسائل

والطرق

المستخدمة

1. البروتوكول التجريبي

1.1. تربية الحيوانات

أستخدمت في هذه الدراسة جرذان بيضاء من سلالة Wistar تم تربيتها و مزاجتها في مستودع الحيوانات الكائن بقسم علم الحيوان لغرض الحصول على نسل متجانس من حيث العمر و سليما من الإصابات. تم فصل الصغار عن الأمهات بعد 21 يوما من الولادة و عزلت الإناث عن الذكور. أحيطت صغار الجرذان بعد فطامها لرعاية كاملة و خضعت لنظام غذائي ثابت في شكل قطع أسطوانية صغيرة تم جلبه خصيصا للجرذان من وحدة الديوان الوطني لتغذية الأنعام ONAB ببلدية واد حملة ولاية أم البواقي .

2.1. تحضير الأنظمة الغذائية

تم تحضير الأغذية في المخبر باستعمال مشتقات من المواد الغذائية الطبيعية (اليومين، نشاء، زيت الذرة) و مواد معدنية و فيتامينات وذلك إعتقادا علي التوصيات المحصل عليها من معمل التغذية القياسية (U.A.R) بمدينة Villemoisson بفرنسا (جدول 14). تم قياس نسبة الحديد و الزنك في الأغذية المحضرة بواسطة الإمتصاص الذري الطيفي (Norwalk,Connecticut U.S.A).

جدول 14: مكونات الغذاء

مكونات الغذاء	غ/ كغ غذاء
- مسحوق الألبومين ¹	200
- مسحوق الجلوكوز ²	360
- نشاء الذرة	300
- زيت الذرة	40
- مزيج معدني	70
- مزيج الفيتامينات ³	10

1 :Merck , 2 :Prolabo , 3 :UAR

يتشكل المزيج المعدني من المركبات التالية (غ/كغ): $10.68 \text{ KH}_2\text{PO}_4$, 9.42 CaCO_3 , 0.03 CaCl_2 , 0.03 CuSO_4 , 0.03 MnSO_4 , 1.29 Fe citrate , 7.51 MgSO_4 , 7.8 NaCl , 0.00023 KI , بالإضافة إلى $0.392 \text{ L tryptophane}$, 2.356 L cystéine , $0.392 \text{ pentothénate}$. في حالة الغذاء الحاوي على الزنك، يضاف إلى المزيج المعدني كمية من كبريتات الزنك بها 0.036 غ من عنصر الزنك.

مزيج الفيتامين المسحوق (UAR 200) جلب خصيصا لتحضير الأغذية. يتشكل من المقادير التالية (مغ/ كغ) : فيتامين A 1980 ود، D₃ 250 ود، B₁ 2 مغ، B₂ 1.5 مغ، B₃ 7 مغ، B₇ 15 مغ، B₁₂ 5 مغ، C 80 مغ، E 17 مغ، k₃ 4 مغ، PP 10 مغ، كولين 136 مغ، حمض الفوليك 500 مغ، حمض P.A.B 500 مغ، بيوتين 30 مغ

3.1. إجراء التزاوج

بعد إنتقاء إناث سليمة تتراوح أعمارها بين 7 إلى 8 أسابيع تقريبا و أوزانها بين 180 إلى 200 غ، توضع الإناث و هي في مرحلة الشبق (Oestrus) مع ذكور من نفس السلالة طوال فترة الليل وفي الصباح التالي تفحص الإناث، تشكل سداة الجماع (Vaginal plugs) أو ظهور النطاف في السائل المهبلي يدل على حدوث التلقيح و تعتبر الإناث في اليوم 0 من الحمل.

4.1. تشكيل المجموعات

قسمت الإناث المخصبة إلى أربعة مجموعات، كل مجموعة مؤلفة من 16 أنثى

- المجموعة الأولى (T) الشاهدة قدم لها غذاء محضر عادي يحتوي على 104مغ حديد/كغ غذاء (104ppm Fe) و50مغ زنك/كغ غذاء (50ppm Zn).
- المجموعة الثانية (Fe) قدم لها غذاء الشواهد و حقنت تحت الغشاء البريتوني بجرعة 10مغ/كغ من وزن الجسم في شكل جليكونات الحديدك (C₁₂H₂₂FeO₁₄) (code :413163/1 13600 Fulka)
- المجموعة الثالثة (Fe+Zn) قدم لها غذاء الشواهد بالإضافة إلى حقنها في نفس الوقت بـ 10مغ/كغ و 100ميكرومول Znso₄/كغ من وزن الجسم (100µmol Znso₄/kg poids).
- المجموعة الرابعة (Fe-Zn) تحصل على غذاء يفتقر للزنك، به 2 مغ Zn/كغ غذاء (2ppzn) بالإضافة إلى حقنها بجليكونات الحديدك بنفس الجرعة السابقة (10mgFe/kg poids)

كان يتم الحقن بالحديد أو بالحديد والزنك معا، كل 48 ساعة و ذلك إبتداء من اليوم 0 حتى اليوم 18 من الحمل وكانت كل الجرذان في المجموعات الأربعة حرة في تناول غذائها وتحصل على ماء مقطر في قارورات إرضاع بلاستيكية. كمية الغذاء المستهلكة و وزن

الجرذان كانت تحدد يومياً. بالنسبة للمجموعة الرابعة، كانت الأقفاص تغسل يومياً بواسطة حمض HCl (1N) ثم بواسطة محلول EDTA بتركيز 10% و في الأخير بالماء المقطر.

2. أخذ العينات

في اليوم 21 من الحمل وبعد ترك الحيوانات بدون أكل طيلة الفترة الليلية، تنقل صباحاً الى المختبر حيث تخدر وتشرح.

1.2. أخذ الدم

تم أخذ الدم من الزاوية الأنسية للعين بواسطة أنبوبة شعرية وجمع في أنبوتين:

- 1مل دم في أنبوبة معالجة بالـ EDTA لتقدير المؤشرات الهيماتولوجية
- 5مل دم في أنبوبة معالجة بهيبارين الصوديوم لتقدير المؤشرات البيوكيميائية

تم اجراء عملية الطرد المركزي للعينات الدموية مباشرة تحت درجة 4 م⁰ بسرعة 3000 لفة/د لمدة 10 دقائق. بعد فصل الراسب الدموي عن البلازما، عومل كما يلي:

- أضيف الى الراسب الدموي 2مل من NaCl بتركيز 0.9% و أجريت له عملية الطرد المركزي تحت نفس الشروط السابقة.
- بعد نزع السائل الطافي، كررت عملية الغسل مرتين.
- أخذ 400µl من راسب الكريات المغسولة و وضعه في أنبوبة بها 3.6مل محلول منظم (Tris-HCl 5mM pH7.4)

على مستوى البلازما و في نفس اليوم الذي أخذت فيه العينات، تمت معايرة كل من نسبة الكوليسترول، الجليسيريدات الثلاثية، الحديد و الفيريتين بالمخبر المركزي للكيمياء الحيوية بالمستشفى الجامعي قسنطينة. الباقي من عينات البلازما ومحلول الكريات الحمراء تم حفظها في مجمد تحت درجة حرارة -80 م⁰ إلى حين إستعمالها. بعد ثلاثة أشهر من أخذ الدم، نقلت العينات في الكربون الثلجي إلى مخبر الجهد التأكسدي بالمستشفى الجامعي Albert Michalon بمدينة Grenoble فرنسا.

- 500 ميكرو لتر من البلازما لمعايرة الفيتامينات (A, E).
- 500 ميكرو لتر من البلازما لمعايرة MDA، GPx و GSH
- 500 ميكرو لتر من البلازما لمعايرة الزنك
- 1 مل من محلول الكريات الحمراء المتحللة لمعايرة GPx و SOD.

2.2. أخذ الأعضاء

أخذ كل من الكبد و الطحال و بعد نزع الشحوم الملتصقة بهما تم وزنهما في كل حيوان. بالنسبة للكبد، حفظ جزء منه في محلول Bown لإنجاز مقاطع نسيجية لاحقا. و جزء آخر حفظ في درجة حرارة - 80 م° لمعايرة MDA و الجلوتاثيون.

3.2. أخذ الأجنة

بعد نزع الأعضاء، فحص الرحم الحامل في موضعه وحددت عدد مواقع الأجنة الحية والأجنة المدمصة (غير كاملة النمو). بعد ذلك أستؤصل الرحم و نزعت الشحوم المتصلة به ثم فتح الرحم وحررت الأجنة وتم وزنها بعد فصل المشيمة و الأغشية المحيطة بها. بعد فحص المظهر الخارجي للأجنة، ثبتت في محلول Bowin لمدة 48 ساعة ثم حفظت في كحول الإثانول بتركيز 70%. بعض الأجنة المثبتة، تم تشفيفها ثم تلوينها بأحمر الأليزارين من أجل فحص التشوهات الهيكلية (Dawson 1926)

■ تشفيف وتلوين الأجنة

تم تشفيف الأجنة المحفوظة وتلوينها بإتباع طريقة Dawson (1926) والتي يمكن تلخيصها في الخطوات التالية:

- غمر الأجنة في محلول KOH (1%) لفترة تتراوح بين يوم و ثلاثة أيام إلى أن تصبح العظام واضحة و مرئية.
- نقل الأجنة المشففة إلى محلول مخفف من أحمر الأليزارين (0.1 غ/ل) حيث تترك به إلى أن تتلون العظام.
- وضع الأجنة في محلول Mill ثم تمرر في تراكيز متزايدة من الجليسرين لتحفظ في النهاية في الجليسرين النقي.

3. طرق المعايرة

1.3. تقدير عنصري الحديد و الزنك في الغذاء

بعد وزن العينات الصلبة للغذاء في غرفة معقمة، جففت داخل حضانة في درجة حرارة 50 م° لمدة 48 ساعة ثم وزنت من جديد لتقدير الوزن الجاف. بعد ذلك، تمت معدنة العينات الغذائية وفق الخطوات التالية :

- أخذ 1 غ من المادة الغذائية الجافة في أنبوبة من الكوارتز وإضافة 10 مل من الأزوت المركز فوق النقي (suprapur Merck) ثم غلق الأنبوبة.
 - ترك الأنابيب في درجة حرارة الوسط لمدة ساعتين.
 - وضع الأنابيب في حمام جاف درجة حرارته تتراوح بين 110م° و 120م° لمدة ساعتين حتى يتم الحصول على محلول معدني أصفر شفاف. بعد ذلك، تنزع الأنابيب و تترك حتى تبرد.
 - إضافة 1 مل من الماء الأوكسجيني (H₂O₂) ذو التركيز 30% ثم غلق الأنابيب.
 - وضع الأنابيب مرة أخرى في الحمام الجاف لمدة ساعتين ثم تنزع و تترك لتبرد.
 - نقل المحتوى المعدني من أنابيب الكوارتز إلى أنابيب مدرجة ذات حجم 15 مل حيث يضاف إليها ماء خال من الأيونات لتسويتها إلى حد 15 مل.
- تمت معايرة الزنك والحديد في عينات الغذاء المعدنة بإستعمال تقنية الإمتصاص الذري ال (AAS).

2.3. تقدير الهيموجلوبين و الهيماتوكريت

تمت معايرة الهيموجلوبين بطريقة Cyanmethemoglobin. يعتمد مبدأ هذه الطريقة على أكسدة الهيموجلوبين بواسطة فيروسيانور البوتاسيوم إلى Méthémoglobine الذي يتحول بدوره إلى Cyanmethemoglobin بواسطة سيانور البوتاسيوم (Van kampen et al., 1961).

الهيماتوكريت هي حجم الراسب الخلوي في كمية معطاة من الدم ، و يعبر عنها بالنسبة المئوية.

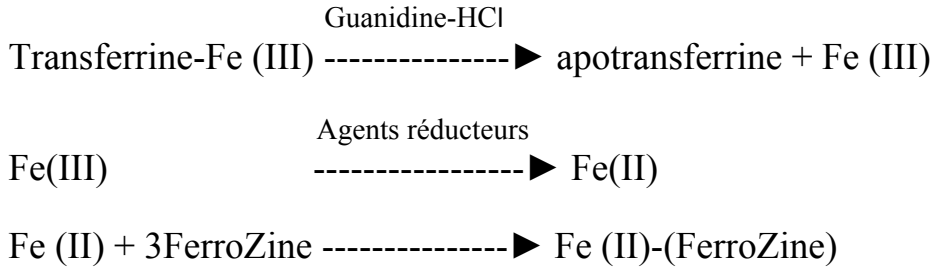
$$\text{نسبة الهيماتوكري} = \frac{\text{حجم الراسب الدموي} \times 100}{\text{حجم الدم الكلي}}$$

3.3. تقدير الحديد البلازمي

لمعايرة الحديد البلازمي أستعملت طريقة Guanidine/ferrozine وتمت القراءة على جهاز محلل COBAS INTEGRA iron بإستعمال كواشف COBAS INTEGRA iron ID07 37585 réf.20737585322system.

المبدأ: فصل الحديد الثلاثي من الترانسفيرين بواسطة كلور هيدرات الغوانيديين و اختزاله إلى حديد ثنائي (Fe⁺²) بواسطة الأسكوربات والهيدروكسيلانين. تشكل أيونات الحديد الثنائية مع

Ferrozine معقدا مخلبيا أحمر اللون. شدة اللون تتناسب مباشرة مع تركيز الحديد وهي تحدد بإرتفاع الإمتصاص عند طول الموجة 532 نانومتر (Stookey,1970 ;Gunder et coll.,1996).



4.3. تقدير الفيريتين البلازمي

قدر الفيريتين في البلازما بتطبيق تقنية Electrochimluminescence (ECLIA). وهي عبارة عن اختبار مناعي يعتمد على إستعمال أجسام مضادة ضد الفيريتين معلمة بالبيوتين بإستخدام إختبار kit (coffret Elecsys ferritin,ref.03737551)، حيث أستعمل فيرتين كبد الفأر كقياسي. تمت القراءة على الأجهزة المحللة Elecsys 1010/2010 و MODULAR ANALYTICS E170 (module Elecsys) (Lotz et al.,1997)

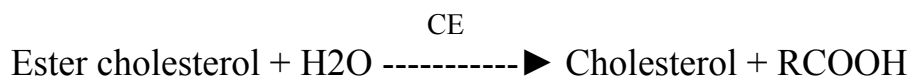
5.3. تقدير الزنك البلازمي

بعد تمديد العينات البلازمية إلى 5/1 بمحلول HCl (0.1 مول)، تمت معايرة الزنك بإستعمال تقنية الإمتصاص الذري (AAS) by flame air acetylene باستخدام جهاز (Perkin-Elmer 406 :NORW N° ALK, CONNECTICUT,USA).

6.3. تقدير الكولسترول

أتبعت الطريقة الإنزيمية اللونية بإستعمال إختبار Kit (Cobas integra Cholesterol) COBAS INTEGRA 400 (Gen.2 Réf.0303977190) و تمت القراءة على الجهاز المحلل المبدأ: يقوم إنزيم Cholestérol-estérase (CE) بإمهاة أسترات الكولسترول إلى كولسترول حر الذي يتأكسد لاحقا بواسطة Cholestérol-oxydase (CHOD) متحولا إلى Cholestène-4one-3 مع تشكيل فوق أكسيد الهيدروجين وهذا الأخير في وجود البيروكسيداز (POD) يتفاعل مع Amino-4 phénazone (4-AAP) و الفينول مؤديا إلى

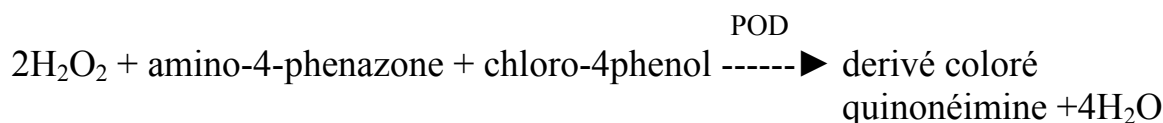
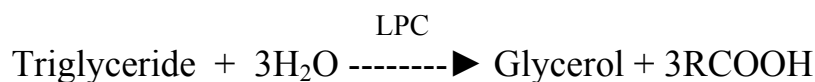
تشكيل مركب لونه وردي تتناسب شدته مع تركيز الكولسترول في العينة. تم قراءة الكثافة الضوئية عند طول الموجة 512 نانومتر (Pisani et al., 1995)



7.3. تقدير الجليسيريدات الثلاثية

أُتبعَت الطريقة الإنزيمية اللونية باستخدام اختبار Kit (Cobas integra Triglycerides) .(réf.20767107322)

المبدأ: يتم إماهة الجليسيريدات الثلاثية إلى جليسرول و أحماض دهنية حرة بفعل إنزيم (LPC) Lipoproteine-lipase. في وجود ATP، يقوم إنزيم Glycerol-kinase (GK) بفسفرة الجليسرول و تحويله إلى جليسرول-3-فوسفات الذي يتأكسد بدوره بواسطة إنزيم Glycerol-phosphate-oxyddase (GPO) مشكلا مركب ثنائي هيدروكسي أستون فوسفات و فوق أكسيد الهيدروجين. هذا الأخير في وجود إنزيم Peroxydase (POD)، يؤدي إلى تزاوج Chloro-4phenol و Amino-4-phenazone لتشكيل مركب لونه أحمر شدته تتناسب طرديا مع تركيز الجليسيريدات في العينة و التي تقاس عند طول الموجة 512 نانومتر .(Fossati et al.1982)



8.3. تقدير الأوكسدة الفوقية للدهون

1.8.3. تقدير MDA في البلازما

تم معايرة MDA باستعمال تقنية (Richard et al., 1991) و هي تعتمد على تفاعل جزيئة MDA مع جزيئتي حمض Thiobarbiturique (TBA). فالوظائف الأدهيدية لثنائي أدهيد المالونيك (MDA)، المحررة بواسطة الإماهة الحامضية عند درجة الحرارة 95 °م تتفاعل مع حمض الثيوباربيتيريك (TBA) وتعطي معقدا ملونا بالوردي (MDA- TBA₂)، المركب المتشكل بعد إستخلاصه بواسطة n-butanol، يعاير بمقياس Fluorimètre (PERKIN ELMER LS 50) بتنبية عند طول الموجة 532 نانومتر و إرسال عند 533 نانومتر.

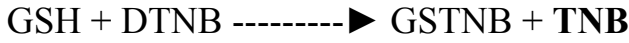
2.8.3. تقدير MDA في الكبد

قدر ثنائي أدهيد المالونيك (MDA) في الكبد حسب طريقة (Ohkawa et al,1979) بإستعمال القياسي 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (Fluka, code 390173/1 30119) الطريقة: سحق 1 غ من الكبد في 3 مل من محلول (1.15M) kCl البارد باستعمال Ultra turax. أخذ 0.5 مل من Homogénat و إضافة 0.5 مل من حمض ثلاثي كلورو أستيك (TCA) بتركيز 20 % لغرض نزع البروتينات. بعد عملية الطرد المركزي، يضاف إلى السائل الطافي 0.5 مل من محلول حمض TBA بتركيز 1% و pH=7. بعد التسخين في درجة حرارة 95م° لمدة 45 دقيقة تبرد الأنابيب و يضاف 4 مل من n-butanol النظامي مع الرج ثم الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/د لمدة 15 دقيقة. بعد إستخلاص MDA بواسطة الإثانول يقاس إمتصاص الطبقة الطافية عند طول الموجة 530 نانومتر. تم حساب التركيز بواسطة القياسي 1,1,3,3-Tetraethoxypropane.

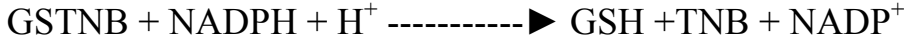
9.3. تقدير الجلوتاثيون

تمت معايرة الجلوتاثيون في البلازما والكبد بإستعمال الطريقة الإنزيمية اللونية الموافقة لـ Tietze (1969) التي تعتمد على تحويل DTNB إلى TNB ذي اللون الأصفر بواسطة إنزيم glutathion réductase (GR)

المبدأ: تقاس الكثافة اللونية لـ TNB بعد تزاوج الجلوتاثيون المختزل مع DTNB الذي هو عامل مختزل للجسور الكبريتية الثنائية



GRase



بعد تمديد العينات إلى 5/1 في المحلول المنظم MOPS يضاف 100 ميكرو لتر من العينة إلى مزيج التفاعل (20µl DTNB, 20µl GRase, 50µl NADPH, 1ml MOPS). يقاس الإمتصاص عند طول الموجة 412 نانومتر بإستعمال جهاز Uvikon 860

10.3. تقدير نشاط انزيم Glutathione peroxydase (GPx)

تمت معايرة إنزيم GPx في كل من البلازما و الكريات الحمراء بواسطة تقنية Gunzler و آخرون (1974) بإستعمال مادة التفاعل Ter-butyl hydroperoxyde (t-BOOH) (Sigma/ref :B 2633). المزيج التفاعلي كان كما يلي : 20µl t-BOOH ، 20µL glutathion reductase ، 20µl glutathion (GSH) ، 900µl Tampon tris NADPH₂ . يضاف إلى المزيج التفاعلي 50µl من البلازما أو 25µl من الكريات الحمراء المتحللة و الممددة (1/10).

يرتكز مبدأ المعايرة على تزاوج التفاعلات الإنزيمية التي تتطلب تدخل GPx و (GSSG-R) Glutathion reductase



تقاس كمية الجلوتاثيون المتأكسد (GSSG) بفعل t-BOOH بتتبع تناقص إمتصاص NADPH₂ عند طول الموجة 360 نانومتر على جهاز المطياف الضوئي المعدل على درجة الحرارة 25 م° و PH=7. هذه المعايرة المستمرة تسمح بالحفاظ على ثبات تركيز GSH في الوسط التفاعلي. النتائج المحصل عليها يعبر عنها بـ U/gHb بالنسبة لـ GPx الكريات الحمراء و بـ U/l بالنسبة لـ GPx البلازمي.

11.3. تقدير نشاط انزيم Superoxyde dismutase (SOD)

تم معايرة SOD في الكريات الحمراء حسب طريقة (1974) Marklund et coll بعد ترسيب الهيموجلوبين بواسطة خليط كلوروفورم/ إيثانول (1:1 v/v). أستعمل في هذه التقنية Pyrogallol. الأكسدة الذاتية لهذا الأخير في وجود EDTA تثبط بواسطة إنزيم SOD. يعتمد مبدأ المعايرة على تنافس بين تفاعل أكسدة Pyrogallol بفعل جذور البيروكسيد ($O_2^{\cdot-}$) و تحويل (Dismutation) هذه الأخيرة بواسطة SOD. تعرف الوحدة الإنزيمية بكمية الإنزيم القادرة على تثبيط 50% من أكسدة Pyrogallol ضمن شروط المعايرة.

12.3. تقدير الفيتامينات A و E

بعد الإستخلاص بواسطة hexane وإضافة المعيار الداخلي acetate d' α -tocopherol، تعابير الفيتامينات A و E بواسطة HPLC en phase reverse مع الكشف المطيافي في الأشعة فوق البنفسجية ثم الفصل الكروماتوغرافي على العمود C18 polyfonctionnelle.

4. تحضير المقاطع النسيجية

■ نزع الماء

تقسم قطع الكبد المثبتة في محلول بوان إلى شرائح رقيقة (2-3 مم على 1-2 سم) و توضع في علب ثم تمرر على التوالي في أحواض من كحولات الإثانول تتزايد تراكيزها من 70^0 إلى 100^0 . بعد ذلك، تغمر هذه الشرائح في ثلاثة أحواض من xylène لغرض التخلص من آثار كحول الإثانول و يعمل أيضا على إيضاح الشرائح وتروقيها.

■ الطمر (التضمين)

توضع الشرائح في قوالب معدنية و يسكب عليها البرافين السائل درجة حرارته حوالي $60^{\circ}م$ عند تجمده نحصل على قوالب البرافين.

■ القطع

تنجز المقاطع بواسطة المقطاع المجهرى (microtome)، حيث نحصل على شرائح من العينات يتراوح سمكها من 3 إلى 4 ميكرون. يبسط شريط المقاطع على شريحة زجاجية بإستعمال ماء جيلاتيني و توضع على صفيحة بلاتين ذات درجة حرارة $45^{\circ}م$ لكي تصبح

المقاطع مستوية على الشريحة. بعد ذلك، تجفف الشرائح الزجاجية بوضعها في حضانة معدلة على درجة حرارة 55 – 56°م لمدة ساعة أو على درجة 37°م لمدة ليلة واحدة.

■ التلوين

لونت المقاطع في الكبد بالملون المعياري الذي يستعمل عادة في التشريح المرضي (anatomie pathologique) و المعروف بإسم « Hemalun-Eosine » و ذلك للكشف عن الأعراض الباتولوجية الممكنة. يتألف هذا الملون الموحد من hematoxyline الذي يلون النواة بالأزرق البنفسجي و من éosine orange G الذي يلون السيتوبلازم بالوردي.

5. التحليل الإحصائي للنتائج

تم أنجاز التحليل الإحصائي للنتائج بواسطة SPSS (SPSS Inc. Chcago II.) بإستعمال General Linear Model (GLM) analysis. عند وجود معنوية، يتبع GLM بواسطة إختبار Newmann Keuls للمقارنة بين المجموعات. النتائج في الجداول، تمثل المتوسطات و الإنحرافات القياسية للمتوسطات. الإختلافات بين المجموعات تعتبر معنوية إذا كانت درجة الثقة $p < 0.05$.

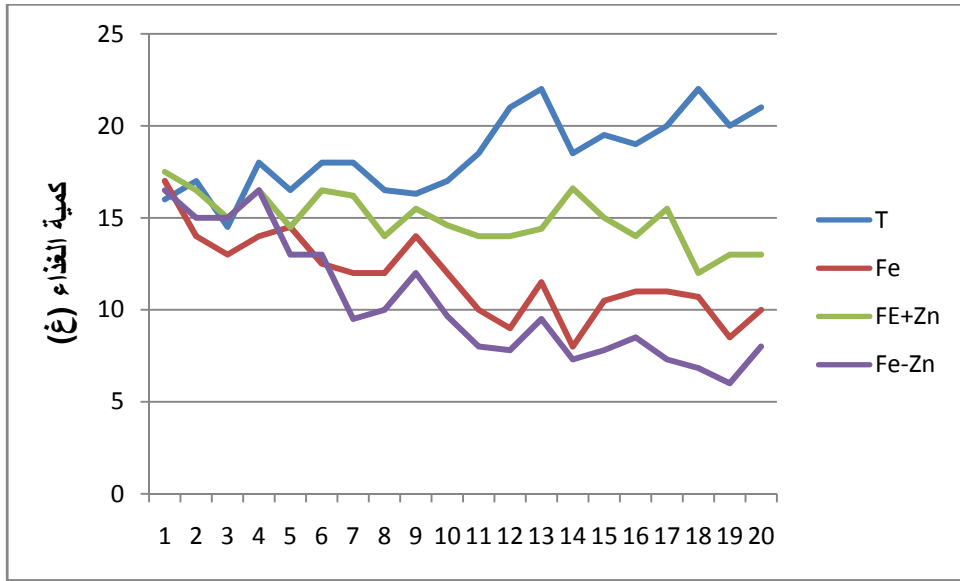
رابعاً: النتائج

سجل خلال فترة الحمل انخفاض في كمية الغذاء المستهلكة يوميا من طرف الجرذان المعاملة خاصة في الأسبوع الثاني و الثالث من الحمل بالنسبة للمجموعة المزودة بالحديد والمجموعة المزودة بالحديد و منقوصة الزنك (شكل12)، حيث بلغ متوسط كمية الغذاء المستهلكة لديهما على التوالي 11.76 غ و 9.93 غ مقابل 14.92 غ عند المجموعة المزودة بالحديد و الزنك و 18.56 غ عند المجموعة الشاهدة.

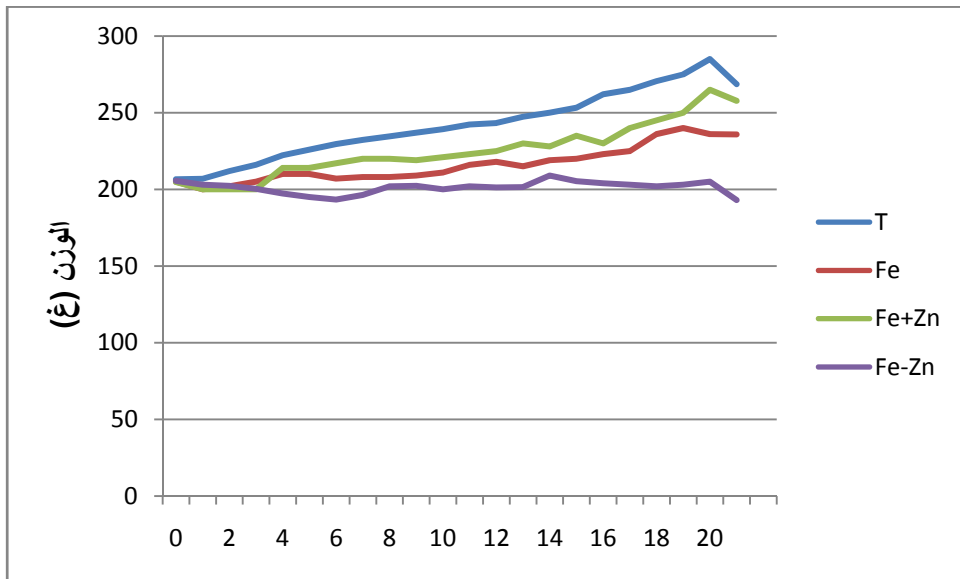
يمثل الشكل (13) تطور وزن الجرذان خلال مدة الحمل حيث نلاحظ تباطؤ في زيادة وزن المجموعة المحقونة بالحديد مقارنة بالمجموعة الشاهدة. أما بالنسبة للمجموعة المزودة بالحديد و الحاصلة على غذاء يفتقر للزنك لقد فقدت من وزنها الذي بلغ في نهاية الحمل 18.02 ± 197.94 غ مقابل 10.96 ± 204.9 غ في بداية الحمل (شكل14). كان معدل الوزن النهائي مختلفا معنويا فيما بين المجموعات الأربعة ($p < 0.001$) حيث كان أكثر إنخفاضا في المجموعة المزودة بالحديد المفتقرة للزنك و أقل إنخفاضا في المجموعة المزودة بالحديد و الزنك معا و ذلك مقارنة بالشواهد مما يدل على أن منسوب الزنك كان له تأثيرا على وزن الأمهات.

تزويد الجرذان بالحديد كان له تأثيرا معنويا على وزن الأعضاء. بالنسبة للكبد، سجل ارتفاع معنوي في معدل الوزن النسبي ($p < 0.001$) لدى المجموعات المعاملة مقارنة بالمجموعة الشاهدة، بينما كانت متجانسة فيما بينها (شكل15). كما نلاحظ أن أعلى زيادة سجلت في وزن كبد الجرذان المزودة بالحديد حيث بلغت 4.87 ± 0.95 غ مقابل 2.96 ± 0.28 غ عند الشواهد. فيما يخص الوزن النسبي للطحال فقد ارتفع معنويا ($p < 0.001$) لدى المجموعة المزودة بالحديد و المجموعة المزودة بالحديد و الزنك حيث بلغت نسبة زيادتهما على التوالي 129% و 79% مقارنة بالمجموعة الشاهدة (شكل16).

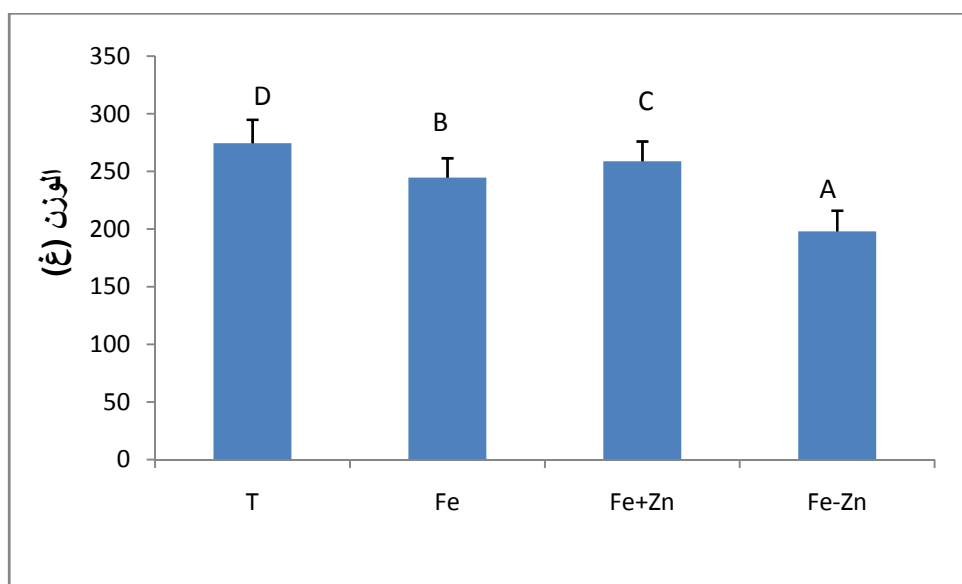
من بين الأعراض التي تم ملاحظتها خلال فترة الحمل، ظهور اضطرابات في الهضم تجلت في الإسهال لدى الجرذان المعاملة خاصة منها تلك المزودة بالحديد و المفتقرة للزنك الغذائي. كما لوحظ في هذه المجموعة الأخيرة سقوط الشعر الذي أصبح خفيفا و خشنا (شكل17) بالإضافة إلى إصابات جلدية في مناطق معينة من الجسم مثل الأنف، الأقدام و حول الفم.



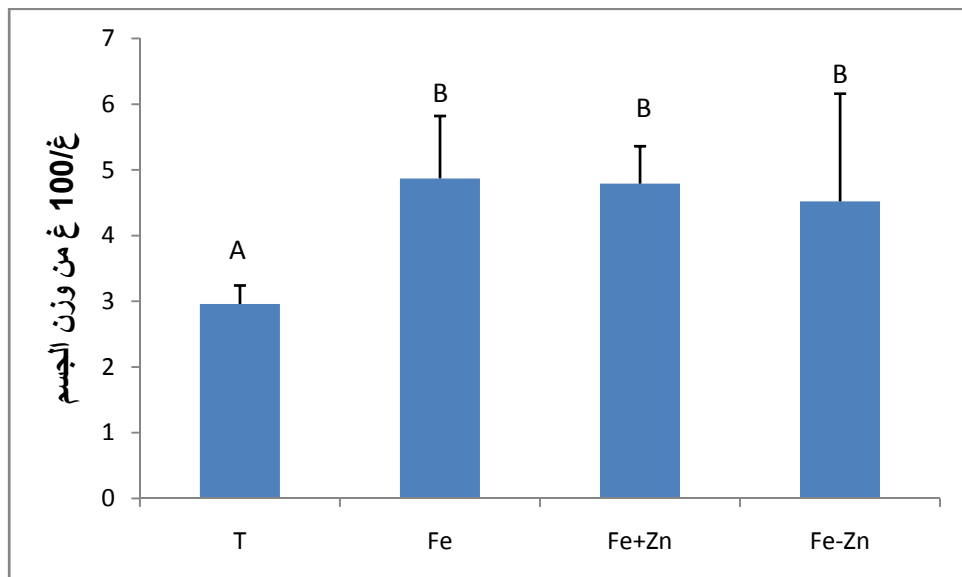
شكل 12: كمية الغذاء المستهلكة يوميا خلال فترة الحمل



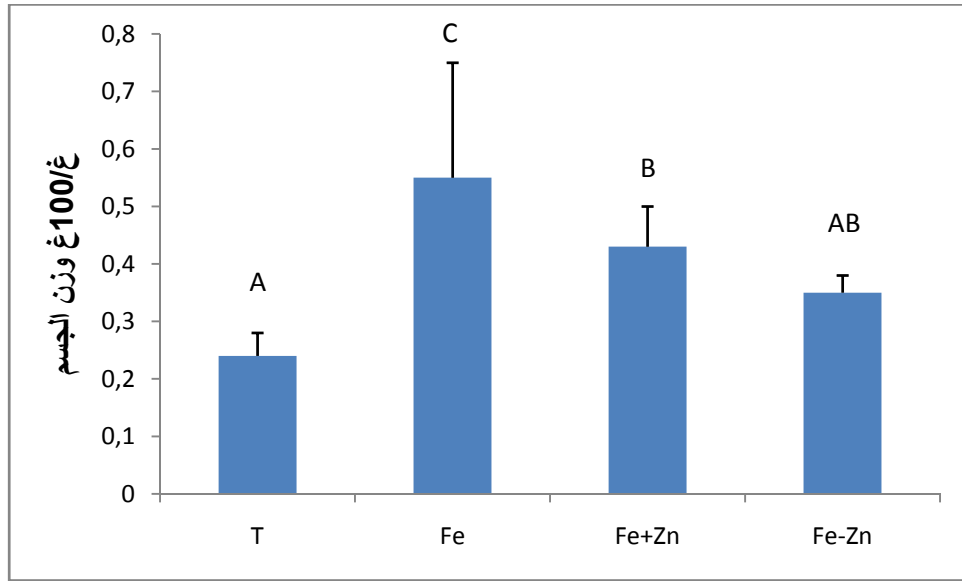
شكل 13: تطور وزن الجرذان خلال فترة الحمل



شكل 14: متوسط وزن الجردان في اليوم 21 من الحمل



شكل 15: متوسط الوزن النسبي لكبد الجردان في اليوم 21 من الحمل



شكل16: متوسط الوزن النسبي للطحال في اليوم 21 من الحمل



شكل17: سقوط الشعر عند الجرذان المزودة بالحديد والمعرضة لنقص الزنك

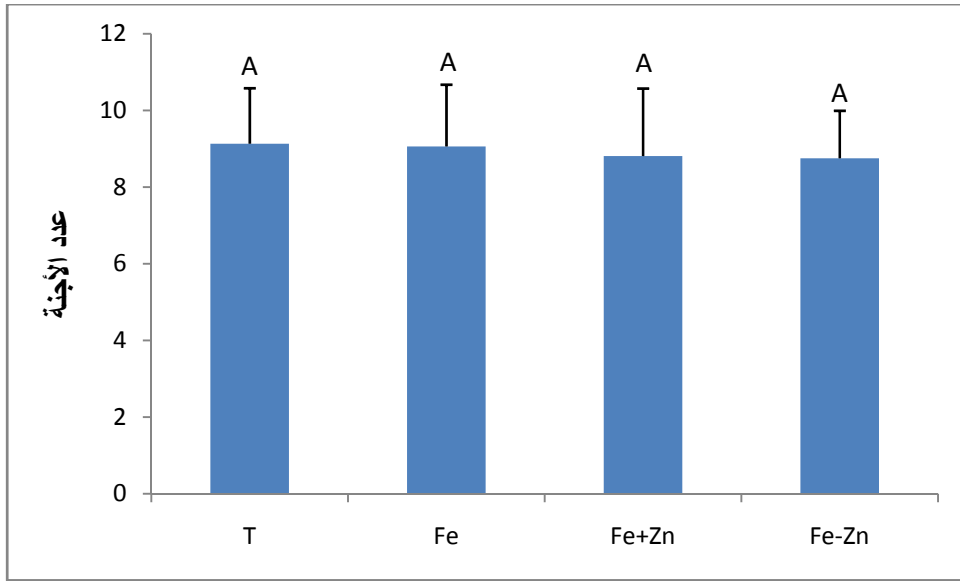
سجلت خلال فترة الحمل نسبة من الوفيات لدى الجرذان المعاملة حيث بلغت 38.46% في المجموعة المزودة بالحديد والمفتقرة للزنك، 27.27% في المجموعة المزودة بالحديد و 15.78% في المجموعة المزودة بالحديد و الزنك معا، في حين لم تسجل إي حالة وفاة في المجموعة الشاهدة (جدول 15). من خلال هذه النتائج نرى أن التزويد بالزنك قد خفض من نسبة الوفيات لدى الجرذان المعاملة بالحديد.

جدول 15: نسبة الوفيات لدى الجرذان خلال مدة الحمل

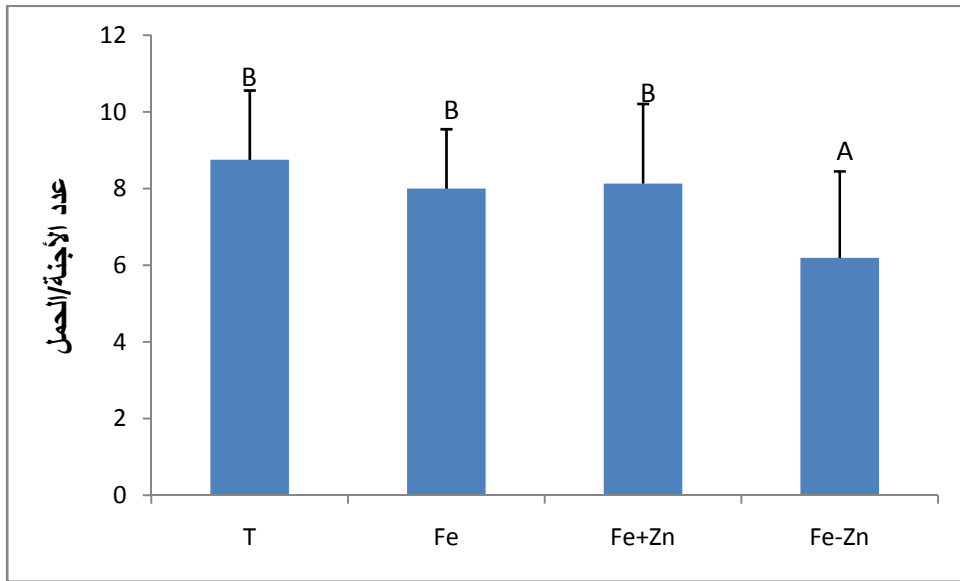
المجموعة الشاهدة	العدد الإجمالي	عدد الوفيات	نسبة الوفيات (%)
المجموعة الشاهدة	16	0	0
المجموعة المزودة بالحديد	22	6	27.27
المجموعة المزودة بالحديد والزنك	19	3	15.78
المجموعة المزودة بالحديد ومن	26	10	38.46

يبين الشكل (18) أن متوسط عدد الأجنة في الحمل لم يتأثر معنويا فيما بين المجموعات الأربعة ($P=0.874$). بالنسبة لمتوسط عدد الأجنة الحية في الحمل لقد أنخفض معنويا في المجموعة المزودة بالحديد والمفتقرة للزنك ($p<0.003$) حيث بلغ 2.26 ± 6.19 مقابل 1.81 ± 8.75 عند المجموعة الشاهدة (شكل 19).

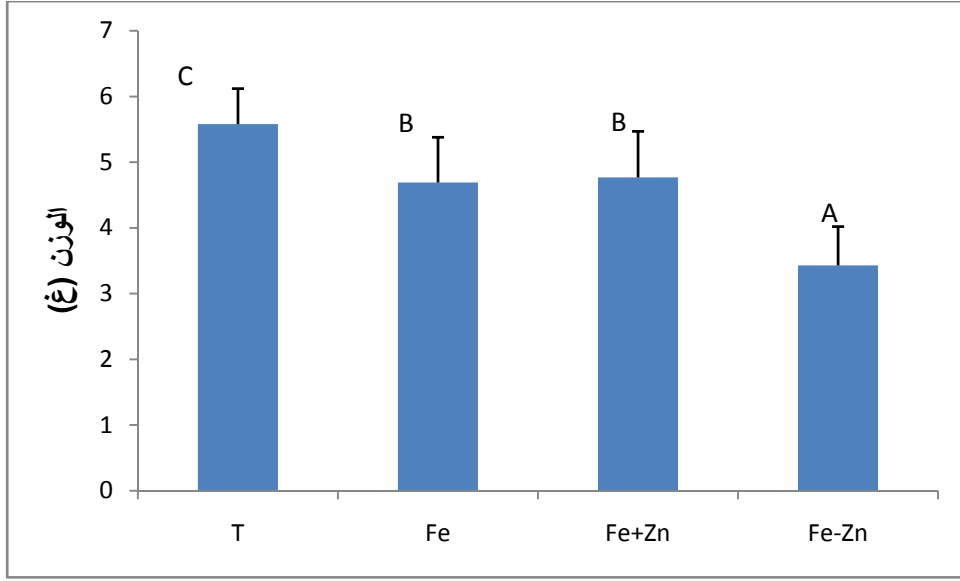
يظهر الشكل (20) أن معدل وزن الأجنة في اليوم 21 من الحمل قد أنخفض معنويا لدى المجموعات الثلاثة المعاملة ($p<0.001$) مقارنة بالمجموعة الشاهدة حيث بلغت نسبة الانخفاض 38.53% لدى أجنة الجرذان المزودة بالحديد و منقوصة الزنك، 15.94% لدى أجنة الجرذان المزودة بالحديد و 14.5% لدى أجنة الجرذان المزودة بالحديد و الزنك معا. أي أن وزن الأجنة كان أكثر إنخفاضا في المجموعة المزودة بالحديد و المعرضة لنقص الزنك و أقل إنخفاضا في المجموعة المزودة بالحديد و الزنك معا.



شكل 18: متوسط عدد الأجنة في الحمل



شكل 19: متوسط عدد الأجنة الحية في الحمل



شكل 20: معدل وزن الأجنة في اليوم 21 من الحمل



شكل 21: مواقع الأجنة الحية والأجنة الميتة داخل رحم أم مزودة بالحديد

يبين الجدول (16) العدد الإجمالي لمواقع إنغراز الأجنة (sites d'implantations) و تأثير الحديد والزنك على هذه المواقع . في الإناث المزودة بالحديد، بلغ عدد المواقع المتأثرة 25 من العدد الإجمالي 145 أي بنسبة 17.24%. في الإناث المزودة بالحديد و الزنك معا كان عدد المواقع المصابة 15 من مجموع 141 موقع أي بنسبة 10.63%. وأخيرا في الأمهات المزودة بالحديد ومنقوصة الزنك وصل عدد المواقع المتأثرة إلى 65 من مجموع 140 موقع أي بنسبة 46.42% . من هذه النتائج نلاحظ أن التزويد بالحديد قد زاد من عدد الأجنة المصابة التي لم تكتمل نموها مقارنة بالشواهد (شكل 21، 22 و 23). كما نلاحظ أن الحقن المتزامن للزنك مع الحديد قد قلل من نسبة مواقع الأجنة المتأثرة بالحديد. في حين أن نقص الزنك الغذائي المرفق بحقن الحديد قد زاد بشكل مذهل من نسبة مواقع غرز الأجنة المصابة (شكل 24).

جدول 16: نسب الأجنة المصابة

مواقع الغرز sites d'implantations					المجموعات
الأجنة المصابة		عدد الأجنة المشوهة	العدد الممتص	العدد الإجمالي	
%	العدد				
4	06	00	06	146	المجموعة الشاهدة
17.24	25	00	25	145	المجموعة Fe
10.63	15	00	15	141	المجموعة Fe+ Zn
46.42	65	21	44	140	المجموعة Fe- Zn

لم تسجل أي حالة من التشوهات الخارجية للأجنة في المجموعة المزودة بالحديد أو المجموعة المزودة بالحديد والزنك. في حين سجل تشوهات جنينية لدى الأمهات المزودة بالحديد ومنقوصة الزنك حيث بلغ عدد الأجنة المشوهة 21 من مجموع 96 جنين كامل النمو. معظم الأجنة المصابة كانت بها عيوباً خلقية متعددة، منها كبر حجم الدماغ (macrocephaly)، تحذب الظهر (Kyphosis)، قصر الأطراف و قصر الذيل والتواءه (شكل 25)



A

B

شكل 22: جنين غير مكتمل النمو لأم مزودة بالحديد (A- منظر بطني B- منظر جانبي)



شكل 23: رحم أم مزودة بالحديد به أجنة مدمصة.



شكل 24: رحم أم مزودة بالحديد ومنقوصة الزنك به أجنة مدمصة



شكل 25: جنين متعدد التشوهات لأم مزودة بالحديد ومنقوصة الزنك

تم الكشف عن التشوهات الهيكلية بعد تشفيف الأجنة بالبوتاس (KOH) و تلوينها بأحمر الأليزارين (Alyzarin red). أظهرت النتائج المحصل عليها أن الهيكل العظمي لأجنة الأمهات المزودة بالحديد و أجنة الأمهات المزودة بالزنك و الزنك معا كان نمه طبيعيا مقارنة بأجنة الأمهات الشاهدة (شكل 26، 27، 28). بينما سجلت تشوهات هيكلية معتبرة في أجنة الأمهات المزودة بالحديد و منقوصة الزنك، كانت تتمثل أساسا في نقص نمو العظام الطويلة، تقوس العمود الفقري و عدم اكتمال نمو الأضلاع أو ضمورها (شكل 29، 30).



شكل 26: أجنة مشففة وملونة بأحمر الأليزارين لجرذان شواهد



شكل 27: أجنة مشففة وملونة بأحمر الأليزارين لجرذان مزودة بالحديد



شكل 28: أجنة مشففة وملونة بأحمر الأليزارين لجرذان مزودة بالحديد والزنك



شكل 29: أجنة مشففة وملونة بأحمر الأليزارين لجرذان مزودة بالحديد ومنقوصة الزنك



A

B

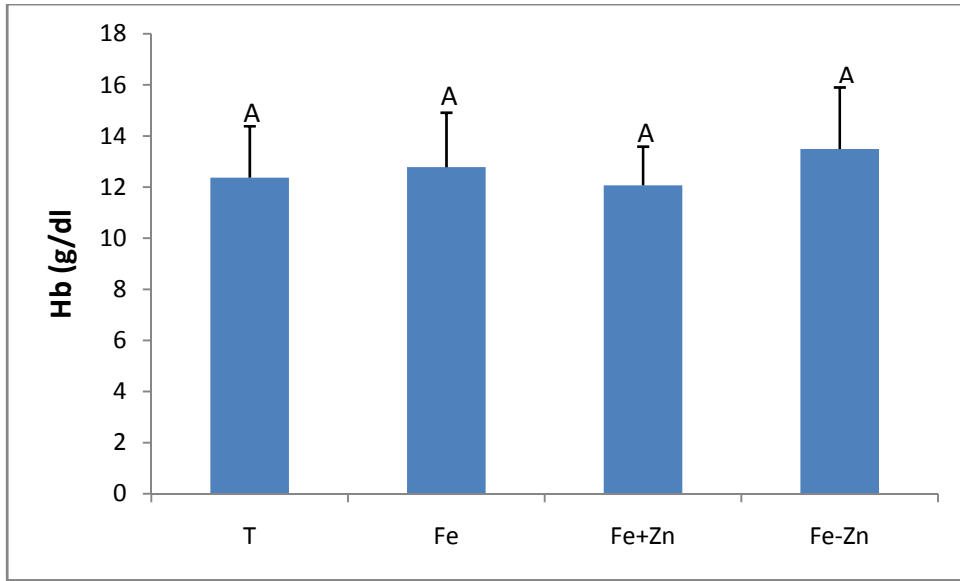
شكل 30: جنينان مصابان بتشوهات هيكلية (A) - منظر جانبي يبين تقوص العمود الفقري
B - منظر علوي يبين عدم إكمال نمو الأضلاع

بالنسبة للمؤشرات الهيماتولوجية المسجلة نلاحظ أن تركيز الهيموجلوبين و نسبة الهيماتوكريت لم يتأثران معنويا في المجموعات المعاملة مقارنة بالشواهد (شكل 31، 32)

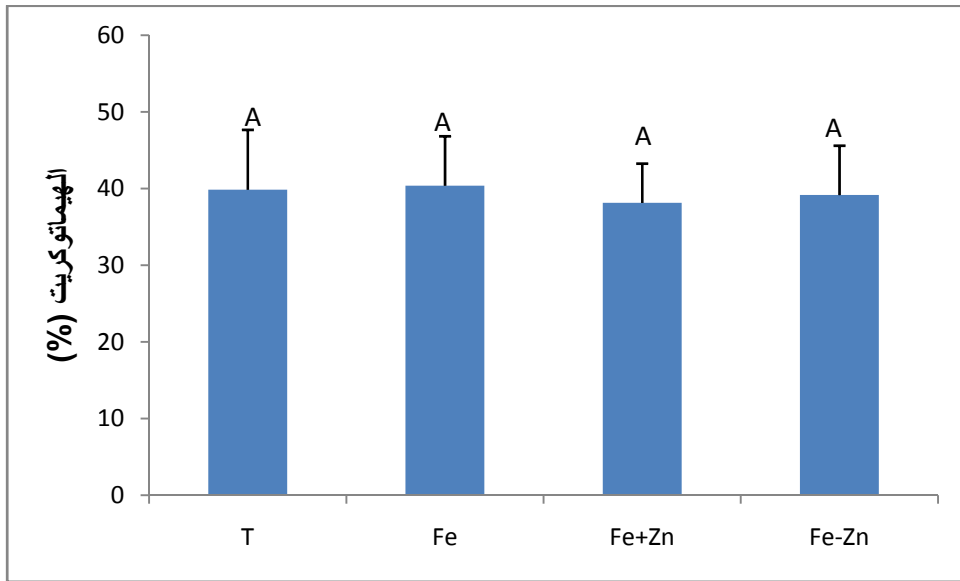
بالنسبة للحديد البلازمي (شكل 33)، سجل ارتفاع معنوي في تركيزه عند المجموعات المعاملة بمقارنتها مع الشواهد ($p < 0.001$) بينما كانت هذه المجموعات متجانسة فيما بينها. و سجل أعلى تركيز للحديد في المجموعة المحقونة بالحديد المعرضة لنقص الزنك الغذائي حيث زاد تركيزه بنسبة 116.80% و في المجموعة المزودة بالحديد زاد بنسبة 112.18% و ذلك مقارنة بالشواهد.

تركيز الفيريتين البلازمي ارتفع معنويا لدى المجموعات المعاملة ($p < 0.001$) مقارنة بالشواهد (شكل 34) حيث بلغ معدل تركيزه 48.50 ± 159.92 ميكروغرام/ل في المجموعة المزودة بالحديد والمفتقرة للزنك و 53.10 ± 142.35 ميكروغرام/ل لدى المجموعة المزودة بالحديد، بينما بلغ تركيزه 46.64 ± 120.58 ميكروغرام/ل عند المجموعة المزودة بالحديد و الزنك. كما نلاحظ أن تركيز الفيريتين كان أكثر ارتفاعا في الجرذان منقوصة الزنك مقارنة مع الجرذان المزودة بالزنك.

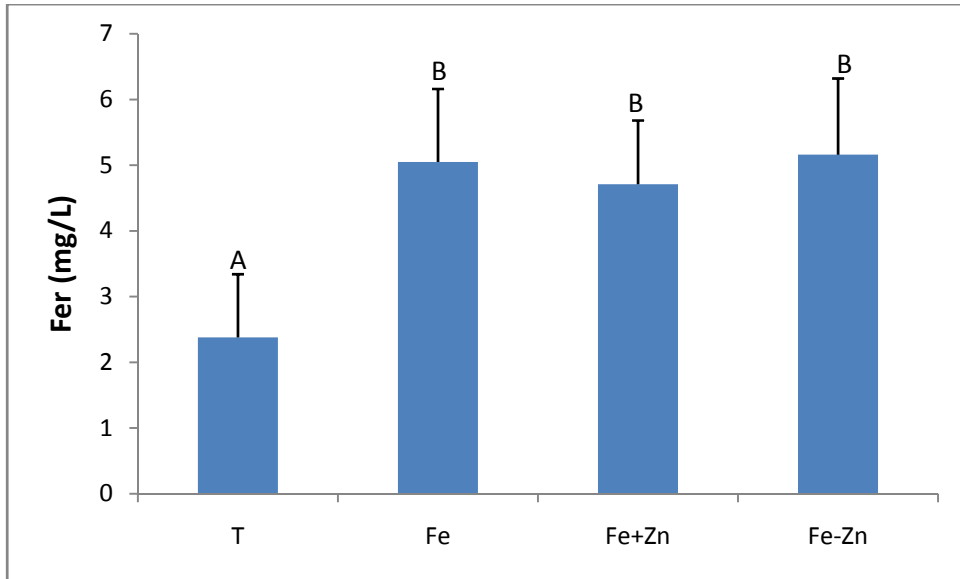
تركيز الزنك في البلازما الدموية كان مختلفا معنويا فيما بين المجموعات الأربعة ($p < 0.001$)، حيث زاد تركيزه عند المجموعة المحقونة بالحديد والزنك بنسبة 41.40% و انخفض في كل من المجموعة المزودة بالحديد والمفتقرة للزنك و المجموعة المزودة بالحديد بنسبة 43.7% و 13.44% على التوالي مقارنة بالشواهد (شكل 35).



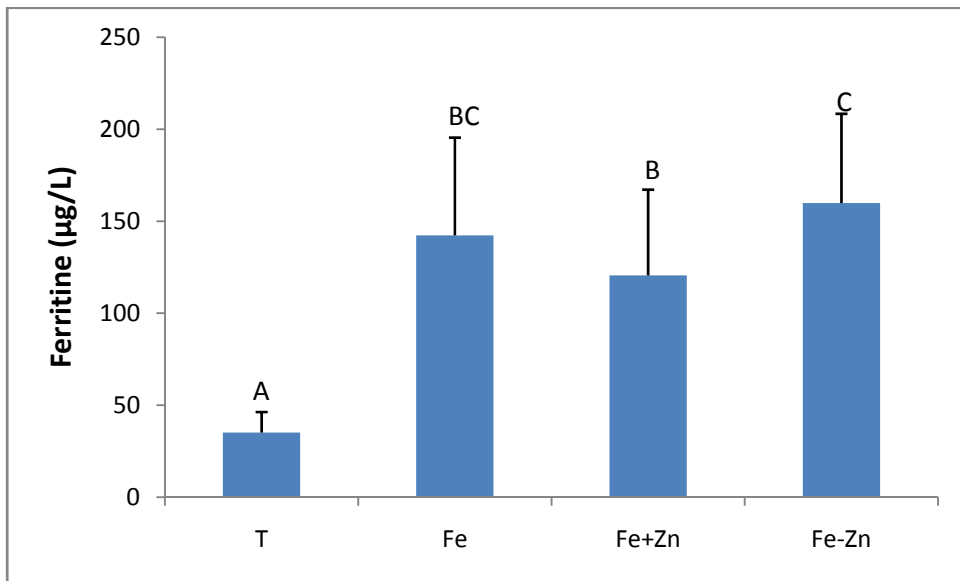
شكل 31: متوسط تركيز الهيموغلوبين في اليوم 21 من الحمل



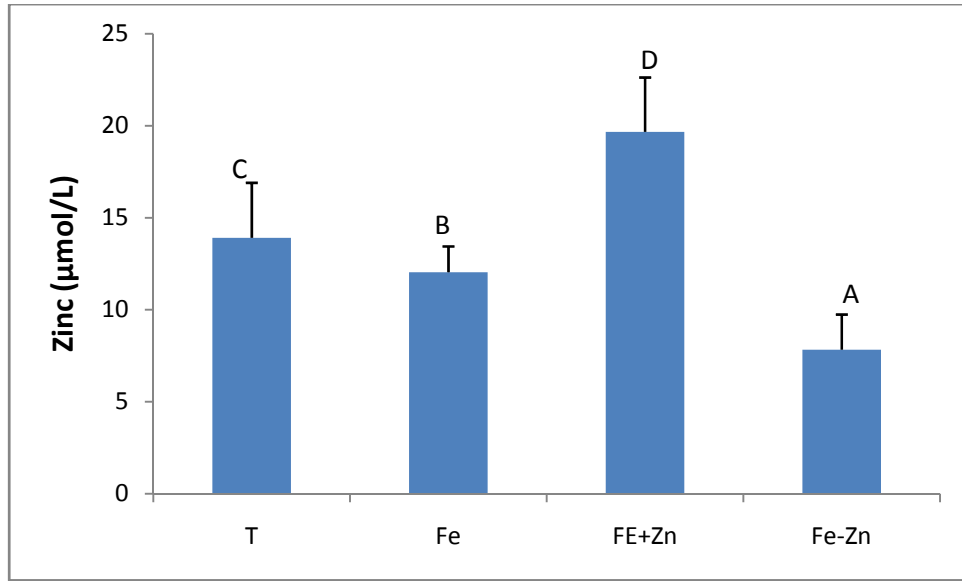
شكل 32: نسبة الهيماتوكريت في الدم في اليوم 21 من الحمل



شكل 33: تركيز الحديد في بلازما الجرذان في اليوم 21 من الحمل



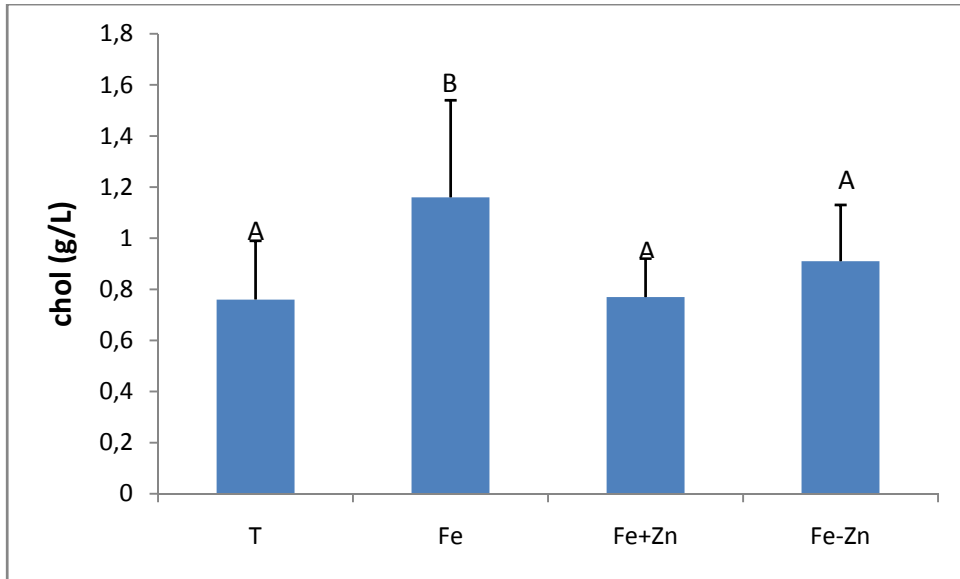
شكل 34: تركيز الفيريتين في بلازما الجرذان في اليوم 21 من الحمل



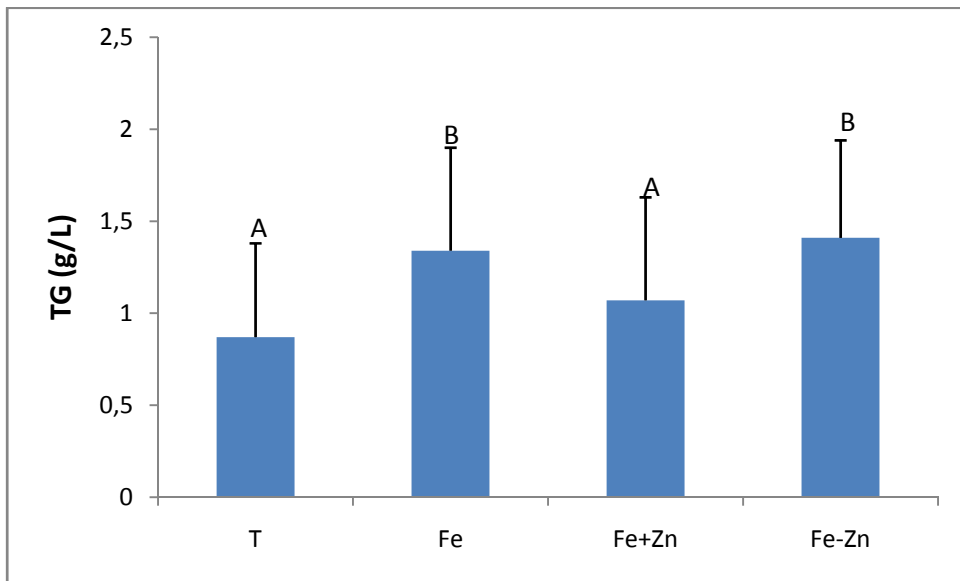
شكل 35: تركيز الزنك في بلازما الجرذان في اليوم 21 من الحمل

بالنسبة للدهون البلازمية سجلت زيادة معنوية ($p < 0.001$) في تركيز الكوليسترول لدى المجموعة المزودة بالحديد بنسبة 52.63% مقارنة بالشواهد. في حين أن التزويد بالحديد و الزنك معاً أو التزويد بالحديد مع نقص الزنك لم يكن لهما تأثيراً معنوياً على تركيز الكوليسترول مقارنة بالمجموعة الشاهدة (شكل 36).

بالنسبة للجليسريدات الثلاثية فقد زادت تراكيزها معنوياً ($p < 0.026$) لدى كل من المجموعة المزودة بالحديد والمفتقرة للزنك و المجموعة المزودة بالحديد وذلك بنسبة 62% و54% على التوالي مقارنة بالمجموعة الشاهدة. في حين أن تركيزها لم يتأثر معنوياً في المجموعة المزودة بالحديد والزنك معاً (شكل 37).



شكل 36: تركيز الكوليسترول في بلازما الجرذان في اليوم 21 من الحمل



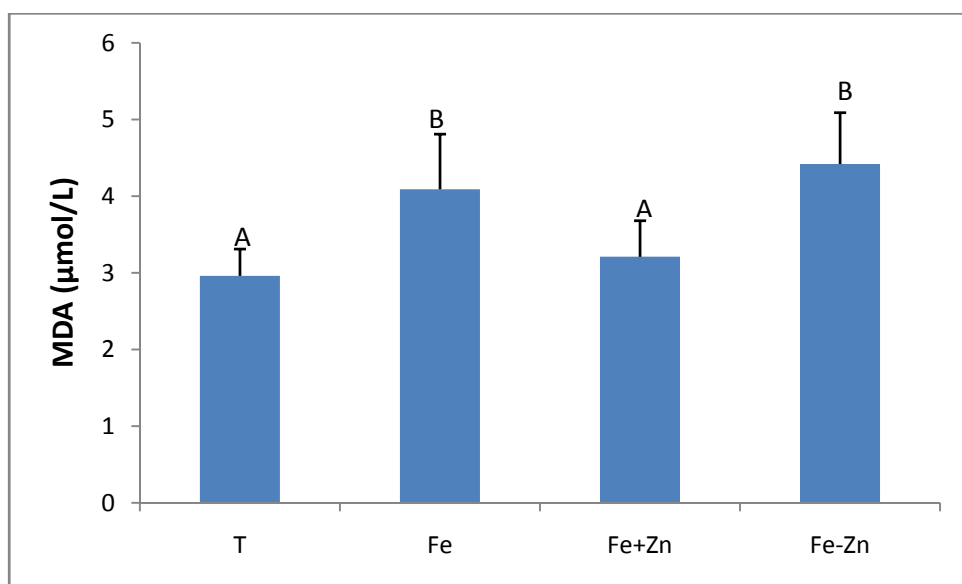
شكل 37: تركيز الجليسيريدات الثلاثية في بلازما الجرذان في اليوم 21 من الحمل

يوضح الشكل (38) أن تركيز الـ MDA في البلازما قد ارتفع معنويا ($p < 0.001$) في المجموعة المزودة بالحديد التي تفتقر للزنك والمجموعة المزودة بالحديد وهذا مقارنة بالمجموعة الشاهدة و المجموعة المزودة بالحديد والزنك معا، حيث بلغت نسبة الزيادة 49.32% لدى الجرذان المزودة بالحديد التي تفتقر للزنك و 38.17% لدى الجرذان المزودة بالحديد مقارنة بالجرذان الشاهدة. بينما في المجموعة المزودة بالحديد والزنك، تركيز MDA لم يتأثر معنويا بالمقارنة مع المجموعة الشاهدة.

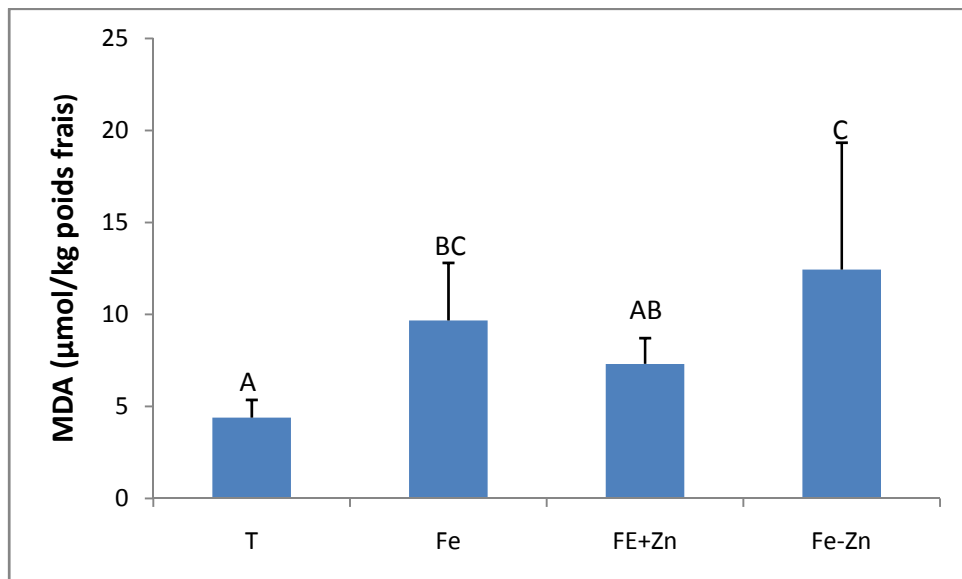
يبين الشكل (39) أن تركيز MDA في الكبد قد ارتفع معنويا ($p < 0.001$) في كل من المجموعة المزودة بالحديد و المجموعة المزودة بالحديد والمفتقرة للزنك، حيث بلغت نسبة الزيادة على التوالي 120.27% و 183.37% مقارنة بالمجموعة الشاهدة. كما نلاحظ أن تركيز MDA كان أكثر ارتفاعا في المجموعة المزودة بالحديد التي تفتقر للزنك و أقل ارتفاعا في المجموعة المزودة بالحديد والزنك والأختلاف بينهما كان معنويا ($p < 0.001$).

تركيز الجلوتاثيون البلازمي كما هو مبين في الشكل (40)، إنخفض معنويا ($p < 0.001$) بنسبة 28.57% في المجموعة المزودة بالحديد و 42.28% في المجموعة المزودة بالحديد المعرضة لنقص الزنك وهذا مقارنة بالمجموعة الشاهدة. من جهة أخرى، نلاحظ وجود إختلاف معنوي في نسبة الجلوتاثيون البلازمي بين المجموعة المزودة بالحديد و الزنك و المجموعة المزودة بالحديد ومنقوصة الزنك.

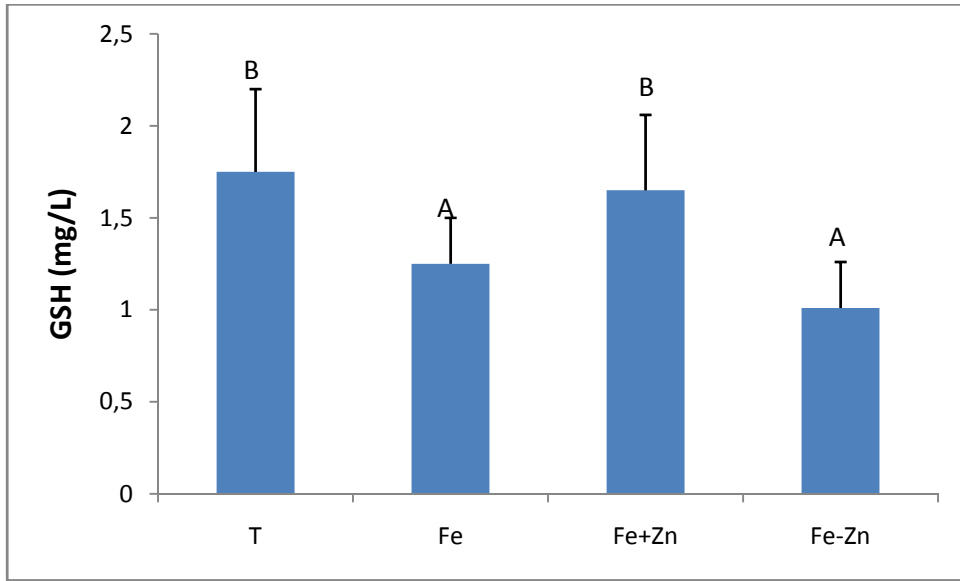
نفس النتائج سجلت عند معايرة تركيز الجلوتاثيون في الكبد (شكل 41)، حيث قل تركيزه معنويا ($p < 0.001$) بنسبة 23.93% في المجموعة المزودة بالحديد و بنسبة 28.57% في المجموعة المزودة بالحديد ومنقوصة الزنك مقارنة بالمجموعة الشاهدة. كذلك نلاحظ أن حقن الزنك مع الحديد في المجموعة الثالثة قد قلل من انخفاض تركيز الجلوتاثيون الذي أصبح غير معنويا مقارنة بالمجموعة الشاهدة.



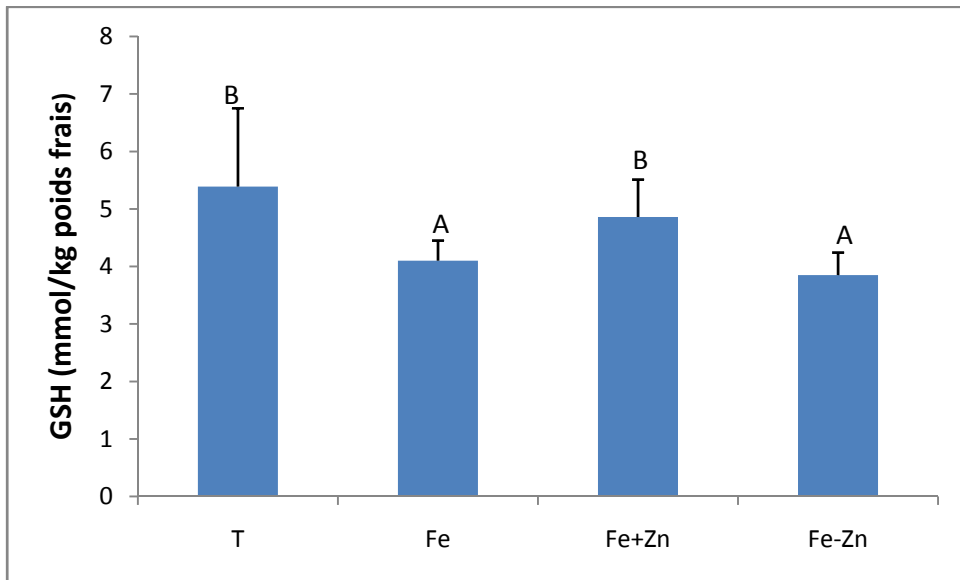
شكل 38: تركيز MDA في بلازما الجرذان في اليوم 21 من الحمل



شكل 39: تركيز MDA في كبد الجرذان في اليوم 21 من الحمل



شكل 40: تركيز GSH في بلازما الجردان في اليوم 21 من الحمل

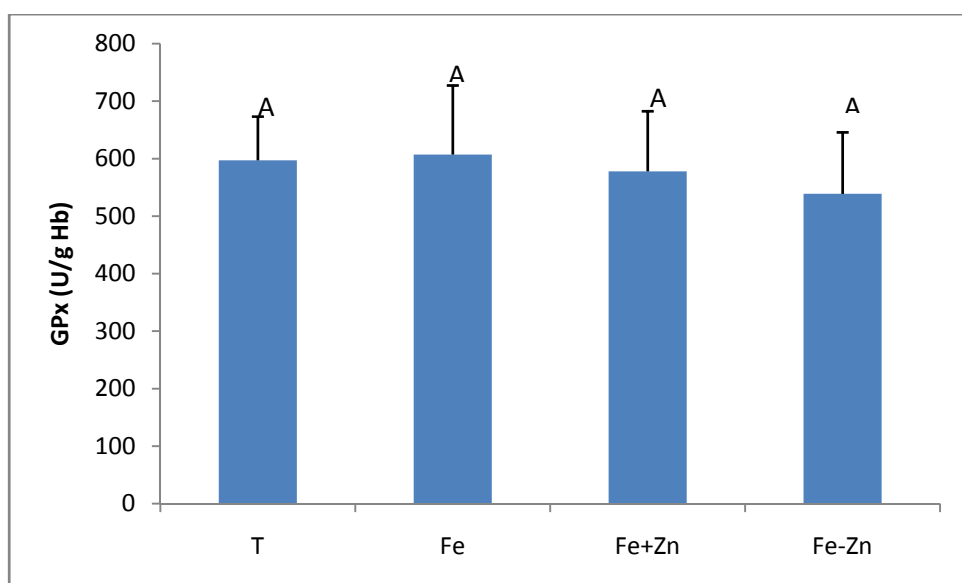


شكل 41: تركيز GSH في كبد الجردان في اليوم 21 من الحمل

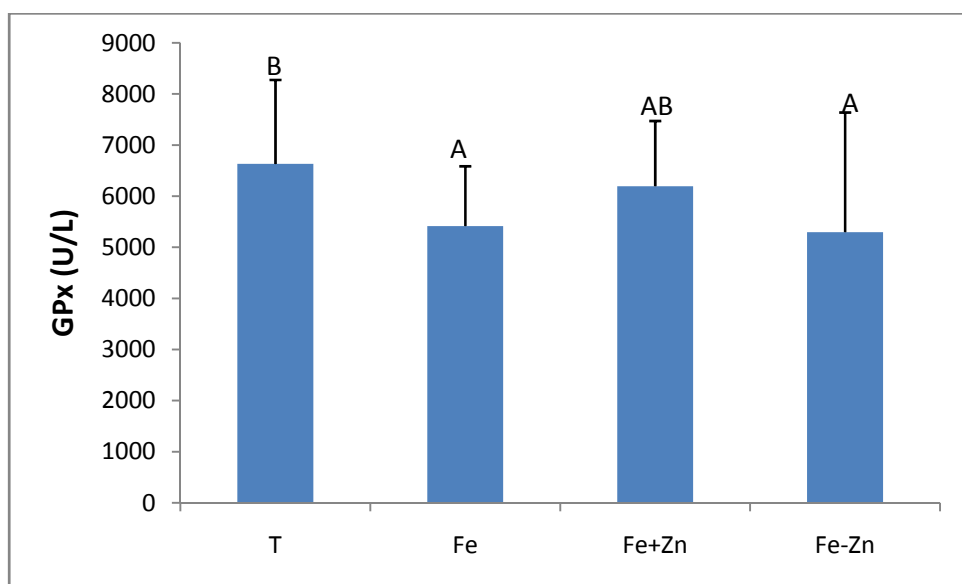
لم يتأثر نشاط إنزيم الـ GPx معنويا على مستوى الكريات الحمراء في المجموعات المعاملة (P=0.246) مقارنة فيما بينها و بين المجموعة الشاهدة (شكل42). لكن على مستوى البلازما سجل انخفاض معنوي طفيف في نشاط الـ GPx ($p<0.03$) في كل من المجموعة المزودة بالحديد و المجموعة المزودة بالحديد و منقوصة الزنك، حيث بلغت نسبة الإنخفاض على التوالي 18.35% و 20.15% مقارنة بالشواهد (شكل43).

في هذه الدراسة وجدنا أن نشاط إنزيم SOD في الكريات الحمراء لم يتأثر معنويا في الجرذان المزودة بالحديد و الجرذان المزودة بالحديد والزنك معا مقارنة بالجرذان الشاهدة، بينما سجل انخفاض معنوي في نشاط إنزيم الـ SOD ($p=0.002$) لدى الجرذان المزودة بالحديد والمحرومة من الزنك، حيث قدر نشاطه بـ $2.10 \pm 0.33 \text{U/mgHb}$ مقابل $2.47 \pm 0.18 \text{U/mgHb}$ لدى الجرذان الشاهدة (شكل44).

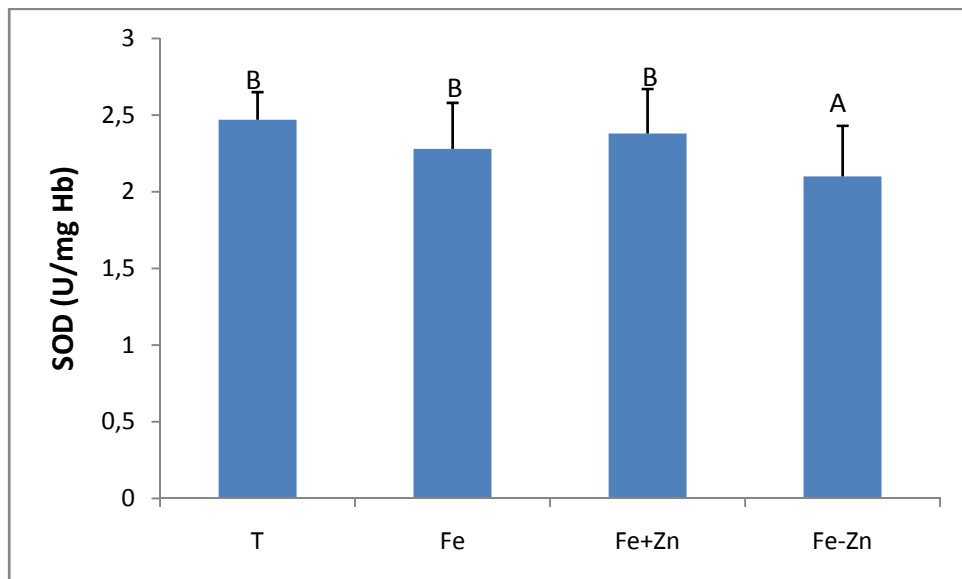
تراكيز فيتامين A لم يكن مختلفا معنويا بين المجموعات الأربعة ($p=1.32$) (شكل45)، لكن تراكيز الفيتامين E في المجموعات المعاملة كانت منخفضة معنويا مقارنة بالمجموعة الشاهدة ($p<0.004$)، حيث كان إنخفاضه أكبر في المجموعة المزودة بالحديد و المعرضة في نفس الوقت لنقص الزنك بينما سجل إنخفاض أقل في المجموعة المزودة بالحديد والزنك معا (شكل46).



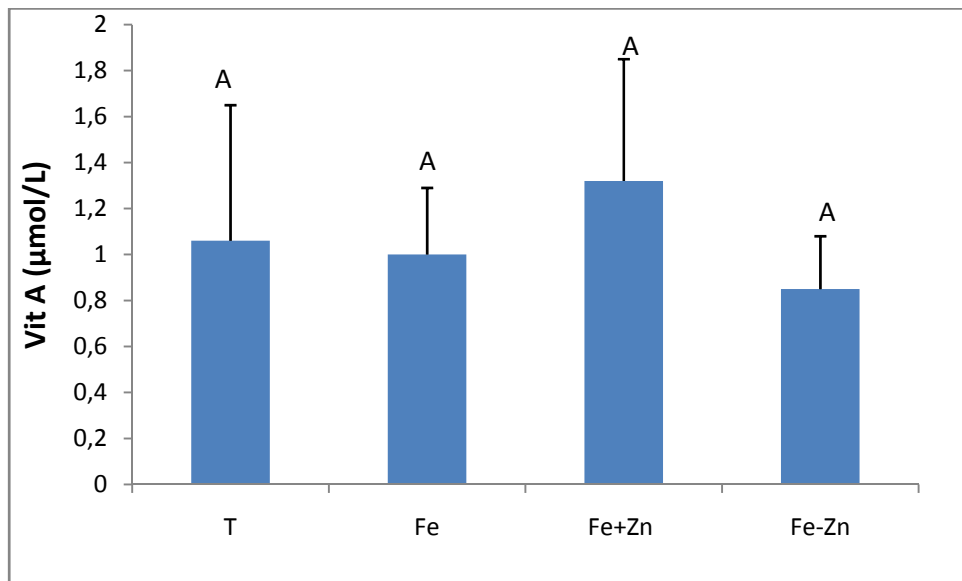
شكل42: نشاط GPx في الكريات الحمراء للجرذان في اليوم 21 من الحمل



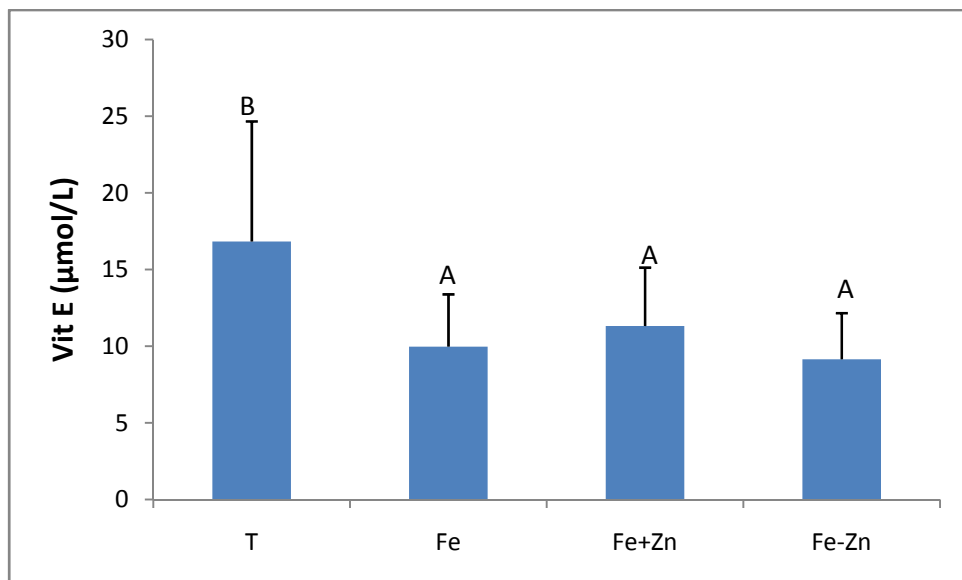
شكل 43: نشاط GPx في بلازما الجردان في اليوم 21 من الحمل



شكل 44: نشاط SOD في الكريات الحمراء للجرذان في اليوم 21 من الحمل



شكل 45: تركيز الفيتامين A في بلازما الجردان في اليوم 21 من الحمل



شكل 46: تركيز الفيتامين E في بلازما الجردان في اليوم 21 من الحمل

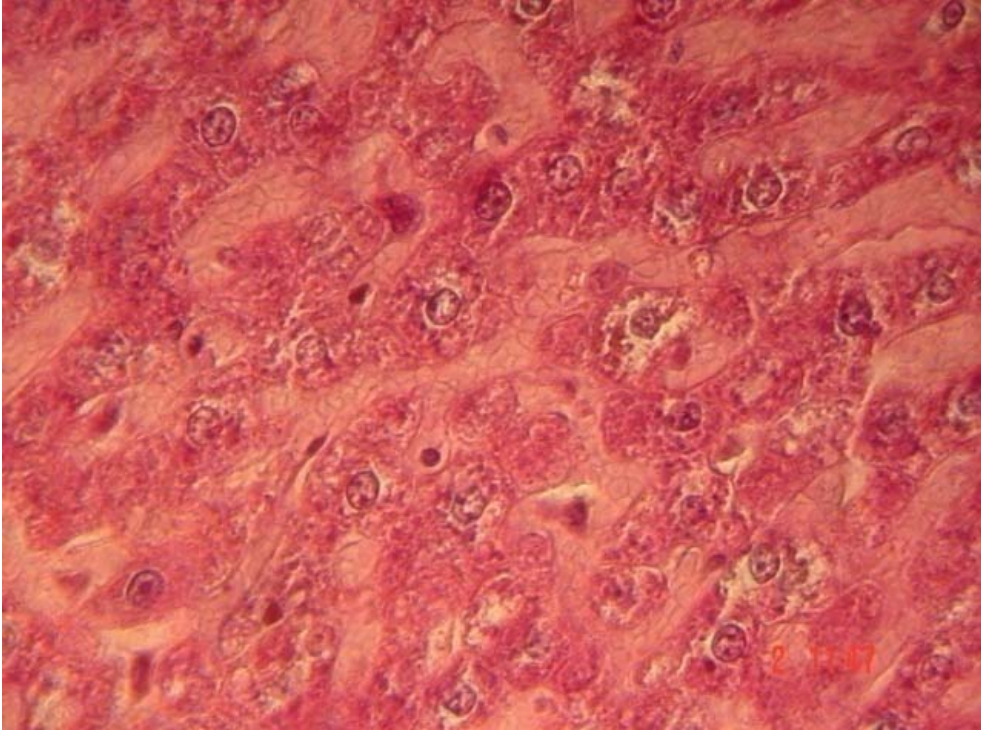
الدراسة النسيجية

يظهر المقطع النسيجي في كبد الجرذان الشواهد (شكل 47) الهيئة البنيوية العادية للكبد، حيث تبدو الخلايا الكبدية منتظمة في صفائح يفصلها عن بعضها جيوب دموية (sinusoides) تتجمع في مركز الفصيصة لتكون الوريد المركزي الفصيصة (veine centro-lobulaire). تبدو الخلايا الكبدية كبيرة الحجم، يحيط بها غشاء يتحور حسب موقعه من الخلايا المجاورة أو الجيوب الدموية. تحتوي على سيتوبلازم كثيف ذو مظهر حبيبي به نواة كروية ذات نوية واضحة. تبدو الجيوب الدموية محاطة بطبقة غير مستمرة من الخلايا الطلائية المبطنة التي تتميز بأنويتها المفلطحة الكثيفة و سيتوبلازما الأقل تلويها.

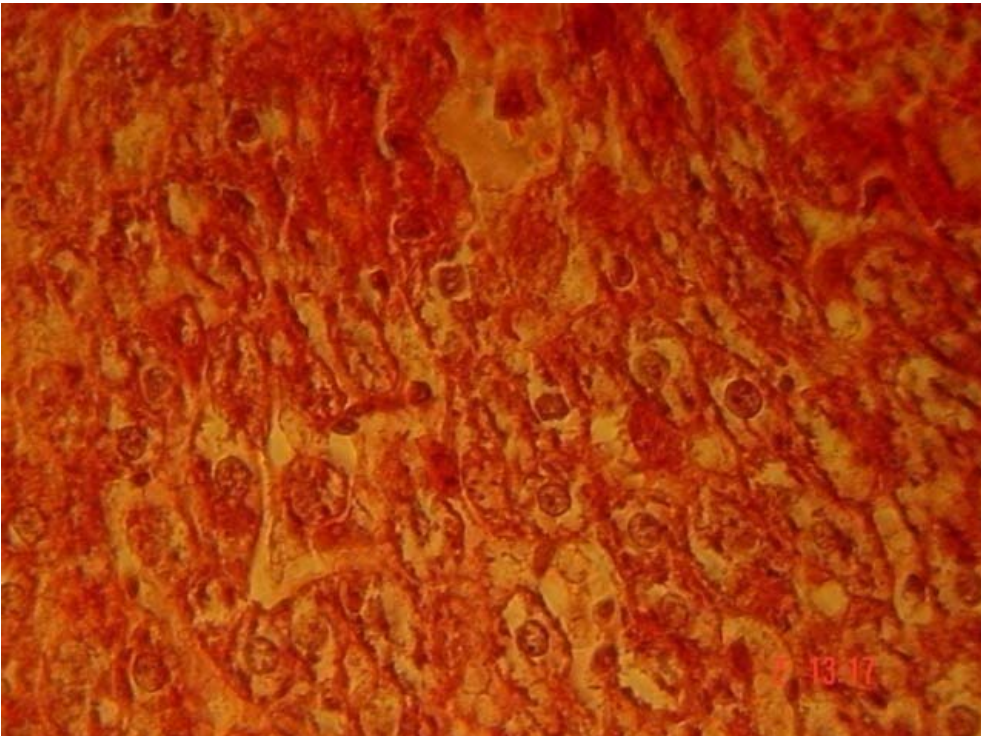
تظهر المقاطع النسيجية لكبد الجرذان المزودة بالحديد فقدان البنية الشعاعية للصفائح الدموية حيث تبدو الخلايا الكبدية غير منتظمة الشكل مع فقدانها لحدودها الغشائية. كما نلاحظ في بعض الخلايا وجود حوصلات فاتحة اللون ناتجة تراكم الليبيدات و أن سيتوبلازم الخلايا الكبدية أصبح غير كثيف ويميل إلى الشفافية (شكل 48). نلاحظ أيضا، تمدا في الجيوب الدموية و ظهور بؤر للإلتهاب خصوصا على مستوى المسارات البابية (espaces porte)، حيث تبدو البؤر منقطة لوجود الخلايا الإلتهابية (شكل 49). كما نلاحظ في هذه المناطق موت الخلايا الكبدية (nécrose).

على مستوى المقاطع النسيجية لكبد الجرذان المزودة بالحديد و الزنك معا ، نلاحظ تمدا في الجيوب الدموية في غياب ظهور بؤر الإلتهاب حول المسار البابي (شكل 50). وفي مقطع آخر، لوحظ ظهور حوصلات ليبيدية صغيرة الحجم منتشرة داخل الخلايا الكبدية (stéatose micro-vésiculaire) دون تسجيل ظواهر لتتكرز الخلايا (شكل 51).

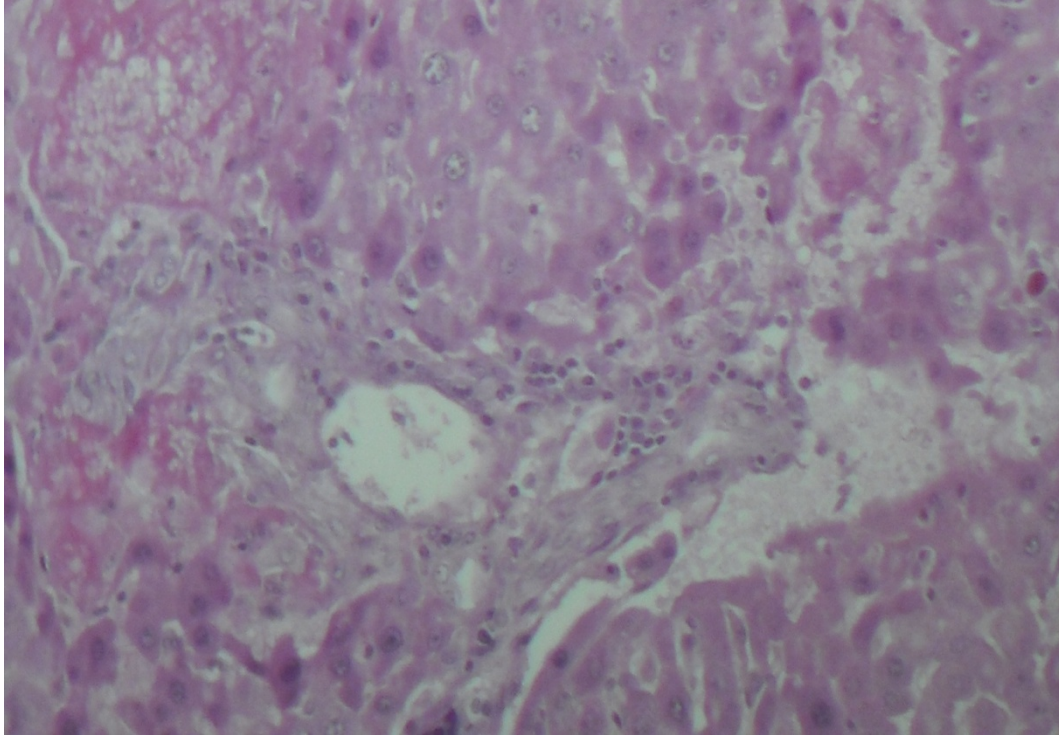
يمثل الشكل (52) جزء من مقطع نسيجي لكبد جرذان مزودة بالحديد و خاضعة لغذاء يفتقر للزنك، حيث يبين بوضوح مظاهر تتكرز الخلايا الكبدية التي تتمثل في بقايا الأغشية و أنوية في طور التحلل تبدو مجزأة ذات أغشية داكنة نتيجة إرتصاص الكروماتين.



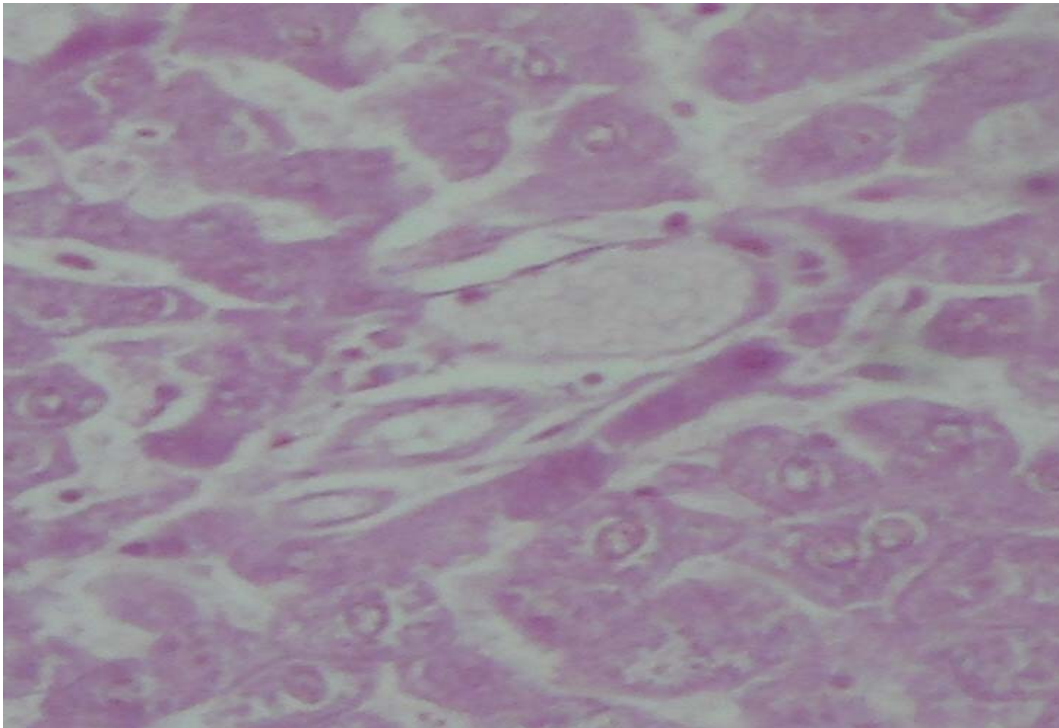
شكل47: مقطع نسيجي في كبد الجرذان الشاهدة



شكل48: مقطع نسيجي لكبد أم مزودة بالحديد يظهر تمدد الجيوب و وجود بعض الحويصلات الليبيدية داخل الخلايا الكبدية



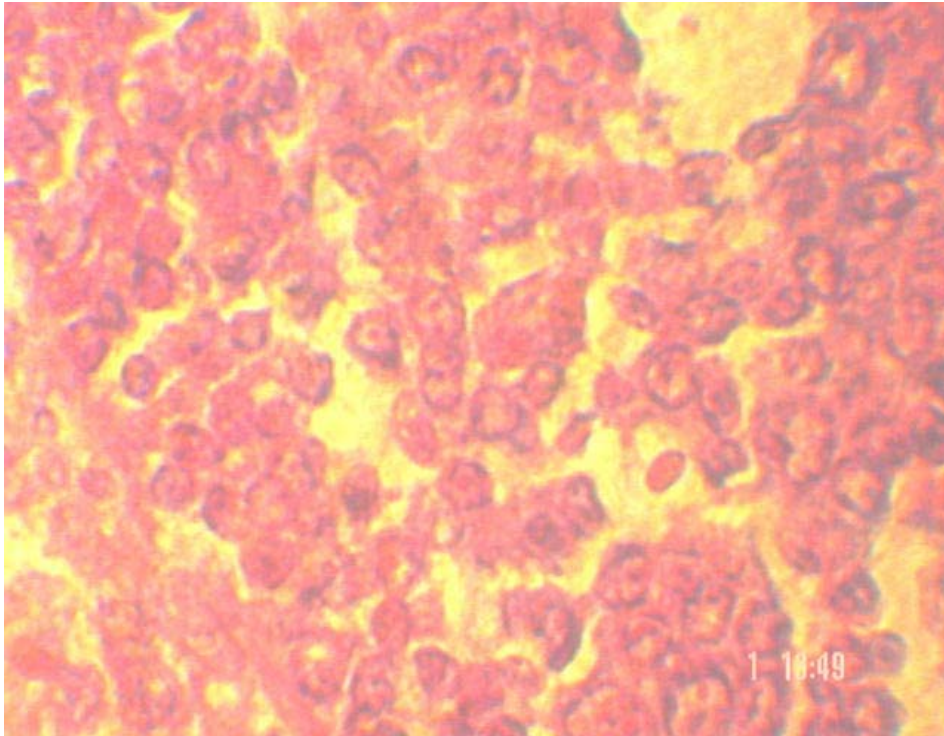
شكل 49: مقطع في كبد أم مزودة بالحديد يبين ظهور بؤر إلتهابية حول المسار البابي و نخر الخلايا الكبدية (nécrose)



شكل 50: مقطع نسيجي لكبد جردان مزودة بالحديد والزنك يبين تمدد الجيوب الدموية و غياب بؤر الإلتهاب حول المسار البابي



شكل 51: مقطع نسيجي لكبد جرذان مزودة بالحديد والزنك يبين تمدد الجيوب و وجود حويصلات دهنية صغيرة الحجم



شكل 52: مقطع نسيجي لكبد جرذان مزودة بالحديد ومنقوصة الزنك يبين بقايا للأغشية و أنوية في طور التحلل (نخر الخلايا الكبدية)

خامسا: المناقشة

في هذه الدراسة وجدنا أن التزويد بالحديد سبب انخفاضاً معنوياً في نسبة الغذاء المستهلكة يومياً والوزن المكتسب خلال الحمل مقارنة بالشواهد وهي نتائج تتوافق مع ما نشر في بعض الدراسات السابقة (Gunther et al., 1991; Finch et al., 1983). لقد لوحظ عند الأطفال الذين لا يعانون من فقر دم، أن تزويدهم بالحديد كان له تأثير سلبي على الوزن المكتسب وقامة الأطفال (Troade et al., 2006). في حين وجد في دراسة أخرى أن التزويد بالحديد لم يؤثر معنوياً على وزن الجرذان ولا على كمية الغذاء المستهلك (Silvana et al., 2003). من جهته، وجد (Brandsch et al., 2002) أن الوزن المكتسب لدى الجرذان التي تحصل على غذاء به نسبة عالية من الحديد (500 مغ/كغ غذاء) قد زاد وزنها بدرجة معنوية ضعيفة ($p < 0.05$) مقارنة بالجرذان التي كان محتوى الحديد في غذائها 50 مغ/كغ. يمكن أن تعود إختلافات هذه النتائج إلى تباين الشروط التجريبية منها طريقة التزويد، الجرعة المأخوذة و شكل الحديد المقدم. في هذه، قد يعود انخفاض الوزن إلى فقدان الشهية المترافق مع المعاملة و الاضطرابات الهضمية.

إن الخسارة الكبيرة في الوزن النهائي لدى الجرذان المزودة بالحديد الخاضعة لنظام غذائي يفتقر للزنك و قلة إقبالها على تناول غذائها، قد يعود من جهة إلى فقد الشهية نتيجة نقص الزنك وأيضاً نتيجة خلل في إستعمال المغذيات بسبب ظهور الإسهال. من جهة أخرى، قد يعود إلى تأثير نقص الزنك على النشاطات الإنزيمية التي لها علاقة بنمو و تكاثر الخلايا، حيث ينخفض تخليق البروتين و يزداد هدمه مما يسبب الخسارة في الوزن.

يلعب الزنك دوراً في الشهية حيث تضطرب هذه الوظيفة عند نقصه، لأن الزنك يدخل في تركيب *gustine* وهو بروتين له دخل في حاسة الذوق. في حالة القصور الدرقي عند المعالجة بمركبات تسبب *hypoguesie* يلاحظ انخفاض في نسبة *gustine* الذي يصحح بأخذ حصة من الزنك. نفس الشيء في حالة *Hypoguesie idiopathique* فالمعالجة بكبريتات الزنك تحسن 50% من حالة المرضى (Seve et al., 2002).

يعتبر الزنك بالإضافة إلى النحاس والنيكل من أهم العناصر النادرة المؤثرة على حاسة الذوق، لقد وجد إن نقص حصته في الغذاء أو استعمال مثبطات لإستقلابه يؤدي إلى إضعاف حاسة الذوق (Iwasaki et al., 1984). يؤثر الزنك على وظيفة الذوق بطرق متعددة: إما في شكله الشاردي عن طريق تداخلات من نوع *Thiol métal* مع مستقبلات الذوق، إما عن طريق إنزيم *Alkaline phosphatase* الذي بوجوده بنسبة عالية يؤثر على مستوى

المستقبلات الغشائية في نقل السكروز، وإما عن طريق وجوده في gustine الذي يسمح بنمو خلايا الذوق (Goto et al., 2001 ; Komai et al., 2000).

لوحظ لدى الجرذان المزودة بالحديد أو المزودة بالحديد و الزنك معا، ارتفاع معنوي في الوزن النسبي لكل من الكبد و الطحال. هذه النتائج يمكن تقبلها على أساس أنها أعضاء معروفة بتخزينها للحديد. يعود هذا التضخم إلى تراكم الدهون التي لها علاقة بزيادة مخزون الحديد، حيث لاحظ Gunther و آخرون (1991) بعد معاملة الجرذان بكلوريد الحديدك ($FeCl_3$) وجود قطيرات دهنية غزيرة في الخلايا الكبدية المحيطة بالمسارات البابية (peripoctal hepatocytes) و في نفس الوقت ملاحظة زيادة عدد و حجم القطيرات في الخلايا المحيطة بالوريد المركزي الفصي.

إن الأعراض الباثولوجية التي ظهرت على الجرذان المزودة بالحديد والمعرضة لنقص الزنك الغذائي كالإصابات الجلدية (Parakératose)، الإسهال و سقوط الشعر، هي أعراض ذات صلة بنقص الزنك. تختفي هذه الأعراض بسرعة عند تزويد الغذاء بالزنك و هي تظهر لدى الحيوانات الثديية عندما تزداد متطلبات العضوية للزنك، كما هو الحال بالنسبة للحيوانات الصغيرة ذات النمو السريع أو خلال الحمل و الرضاعة (Kirchgeßner et al., 1993). فالزنك ضروري لسلامة بنية و وظيفة الجلد، لأن نقصه له تأثير على تخليق البروتينات خصوصا الكولاجين الذي هو بروتين خارج خلوي له دور في إلتئام الجروح. كما أن نقص الزنك له تأثير على تكاثر الخلايا الليفية الفتية للنسيج الضام التي تفرز الكولاجين (Revy et al., 2003).

لوحظ لدى فراخ الدجاج المعرضة لنقص الزنك حدوث إضطرابات جلدية، تزداد حدة هذه الإضطرابات عندما تكون التغذية غنية بالأحماض الدهنية غير المشبعة. تزويد الغذاء بكمية معتبرة من الفيتامين E يقي من ظهور هذه الأضرار (Bettger et al., 1980). في دراسة أخرى أجريت على جرذان وضعت في حيز به 85% من الأوكسجين لمدة أسبوع حيث سجل ظهور إصابات رئوية معتبرة لدى الجرذان منقوصة الزنك مقارنة بالجرذان الشواهد، و هذه الإصابات أمكن تجنبها عند تزويد الغذاء بالزنك في بداية التعرض للتركيز العالي من الأوكسجين (Bray et al., 1990). هذه النتائج تؤكد أن الإصابات الجلدية كانت ناتجة عن الجهد التأكسدي الذي أحدثه نقص الزنك.

بالنسبة لظاهرة الإسهال التي تم ملاحظتها فهي تفسر حسب (Chappuis et al., 1995) بإنخفاض تجديد الخلايا المعوية و نقصان حجم الزغبات المعوية (Villosités). من جهة أخرى، وجد أن نقص الزنك الغذائي يؤثر على إستقرار مجموع الكائنات الدقيقة في الأمعاء (microflore intestinale) و انخفاض عدد *Escherichia coli* مما يؤدي إلى اضطرابات في الهضم وحدوث الإسهال. فالتزويد بالزنك (2500 مغ/كغ) على شكل ZnO يقي من الإسهال ويقلل من حدته و ذلك عن طريق المحافظة على ثبات و استقرار الـ microflore المعوية مما يسمح بالهضم الفعال للأغذية (Wern et al., 1998).

إن خلل إستعمال المغذيات الذي تسببه ظاهرة الإسهال، كذلك نقصان الشهية لا يفسر كلية تأخر النمو الملاحظ عند نقص الزنك. في الواقع، هذا التأخر قد يعود أيضا إلى انخفاض نشاط ARN و ADN بوليميراز و الثيميدين كيناز، تغير نشاط هذه الإنزيمات يؤدي إلى حدوث تعديلات في تضاعف و نسخ الـ ADN خلال الإنقسام الخلوي، انخفاض تخليق البروتينات و زيادة هدمها هو مصدر تأخر النمو (Revy et al., 2003).

سقوط الشعر و حساسية الجلد لنقص الزنك في الغذاء يدل على أن هذا العنصر يلعب دورا مهما في الحفاظ على سلامة الجلد. تفسر هذه الاضطرابات بتأثير الزنك على تخليق البروتينات خاصة منها الكولاجين عن طريق تضاد Zn-Cu على تشبيك هذا الأخير بواسطة *Lusyl oxidase* و هو إنزيم ذو نحاس يعمل على أكسدة بقايا *Iysyl* الكولاجين، سامحا بتشكيل جسور بين الألياف مما يدعم إلتئام الجرح (Berger, 2003)، حيث لوحظ انخفاض تخليقه في الجرذان منقوصة الزنك و كذلك تأثيره على تكاثر الخلايا الليفية الفتية الموجودة في الأنسجة الضامة و التي لها دور في تخليق الكولاجين (Fernandez et al., 1976).

إرتفاع نسبة الوفيات في مجموعة الجرذان المزودة بالحديد هي نتيجة لها علاقة بتراكم الحديد في الكبد. لقد وجد في دراسة سابقة أن ارتفاع نسبة الحديد الغذائي تؤدي إلى زيادة الحجز الكبدي للحديد الذي يحث على زيادة إنتاج الدهون البلازمية (Bureau et al., 1998) وهذا ما يتماشى مع النتائج المحصل عليها في هذه الدراسة، حيث سجلنا زيادة نسبة كل من الكولسترول و الجليسيريدات الثلاثية في البلازما وهي عوامل تساعد على الإصابات القلبية المؤدية إلى الموت المبكر للحيوانات.

في سنة 1992 نشر الباحث Lauffer بجامعة Harvard إن إلتهاب الشريان التاجي يرتبط بمؤشر كولسترول- حديد وذلك بإعتماده على معطيات للمنظمة العالمية للصحة (OMS)، بمقارنة نسبة الوفيات الناجمة عن الأمراض القلبية ونسب الحديد الكبدي و الكولسترول البلازمي. من جهته لاحظ (Salonen,1992) أن إرتفاع نسبة مخزون الحديد و تركيز الفيرتين البلازمي هو مؤشر لخطر الإصابة بالسكتة القلبية لدى الفنلنديين. غير أنه في دراسات أخرى كانت نتائجها تشير إلى عدم وجود صلة بين مخزون الحديد و نسبة الوفيات بالأمراض القلبية (Sempos, 1994 ; Reunanen et al.,1995).

إنخفاض معدلات الوفيات في أوساط الجرذان المزودة بالحديد والزنك معا، يدل على أن هذا الأخير له مفعول وقائي إتجاه سمية الحديد. لقد نشر سابقا أن الزنك يقلل من نسبة الوفيات لدى الحيوانات المعرضة للأشعة gamma (Matsubara et al.,1986). كذلك، وجد أن الزنك له دور في الحماية ضد السمية الحادة للإيثانول و التي ترتبط جزئيا بإنتاج الجذور الحرة (Dar et al.,1986).

في هذه الدراسة وجدنا أن تزويد الجرذان بالحديد لم يؤثر معنويا على عدد الأجنة في الحمل لكنه أدى إلى زيادة نسبة إدمصاص الأجنة و انخفاض متوسط عدد الأجنة الحية في الحمل وهي نتائج تتوافق مع دراسات سابقة سجل فيها عدد كبير من الأجنة المدمصة لدى جرذان حصلت على غذاء به 198 و 400 مغ Fe/كغ غذاء على التوالي خلال فترة الحمل (Finch et al.,1982; Ahlston et al.,1969). كذلك، لاحظ Kirksey و آخرون (1967) أن نسبة إدمصاص الأجنة تميل نحو الزيادة عند حصول الجرذان الحوامل على غذاء به 400 مغ Fe/كغ غذاء، مما جعلهم يفترضون أن هذه النسبة من الحديد الغذائي تعتبر مفرطة بالنسبة لتكاثر ناجح. و منه يمكن القول أن حقنة الحديد المقدمة في هذه الدراسة كانت مفرطة.

لقد لاحظ آخرون أن هناك إدمصاص أكبر للأجنة كلما زادت نسبة الحديد في الغذاء. كما أشار (Lin et al.,2010) أن الجرعة المفرطة للحديد لها علاقة بعمر الجرذان حيث لاحظ أن وجود الحديد في الغذاء بنسبة 1250مغ/كغ كان له تأثيرا على حصيلة التكاثر لدى

الجرذان البالغة في حين لم تؤثر على نتيجة التكاثر لدى الجرذان الشابة وهذا ما يعكس ربما زيادة حاجياتها للحديد مقارنة بالجرذان البالغة.

أدى التزويد بالحديد في هذا البحث إلى انخفاض معنوي في وزن الأجنة وهذا ما أشار إليه Finch و آخرون (1983) في دراستهم لمفعول ارتفاع منسوب الحديد في الغذاء، حيث لاحظوا لدى الجرذان الحاصلة على غذاء يحتوي على 5000 مغ Fe/كغ إنخفاض في معدل وزن الأمهات بنسبة 23 % مرفوقا بزيادة إدمصاص الأجنة وانخفاض متواضع في وزن الأجنة الحية. كما نشر من طرف (Susan et al.,1984) أن تزويد الجرذان بالحديد عن طريق الغذاء (Fe161.5 مغ/كغ) قد أدى إلى انخفاض معنوي ($p<0.05$) في وزن الأجنة دون تأثيره على متوسط عدد الأجنة المدمصة. من جهته، أشار (Favier et al.,2004) أن النساء الحوامل اللواتي تعرضن للتزويد بالحديد، عند بلوغ تركيز الهيموغلوبين لديهن أكبر من 130 غ/ل فإن ذلك يشكل خطرا على صحة المولود و نقصان وزنه و قد أرجع ذلك إلى إنخفاض الزوجة مما يعيق المبادلات بين المشيمة و الجنين.

بالمقابل، هناك بعض الدراسات لم تسجل فيها أي اختلافات معنوية في أوزان الأجنة بين مجموعات الجرذان الحاصلة على مستويات عالية من الحديد الغذائي خلال فترة الحمل (Lin et al.,2010). لقد وجد أن حقن دكسترين الحديد بجرعة 20مغ/كغ تحت الجلد في جرذان من نوع Sprague-Dawley في الأسبوع الأول و الثاني قبل الولادة لم يكن له تأثيرا على مؤشرات التكاثر منها وزن الحمل ونمو الأجنة مقارنة بالحيوانات غير المعاملة (Fisch et al,1975).

لم تسجل في هذه الدراسة أي حالة من التشوهات الخارجية لدى أجنة الجرذان المزودة بالحديد وهذا ما يتفق مع نتائج بعض الدراسات السابقة، حيث أشار (Lin et al.,2010) أن الحديد الغذائي المفرط لم يؤدي إلى تشوهات خلقية للأجنة. كما لاحظ (Verrett,1978) أن التزويد بكبريتات الحديدوز، جليكونات الحديدوز، لاكتات الحديدوز و بيرو فوسفات صوديوم الحديد لم يكن لها تأثيرا تشوها على أجنة الطيور، غير أنه في دراسة أخرى قام بها Kuchta في سنة 1982، وجد أن حقن جلوكونات الحديد تحت الغشاء البريتوني للفئران في اليوم الثامن والتاسع من فترة الحمل كان قد أدى إلى إصابة الأجنة بتشوهات على مستوى الرأس (Exencephaly).

في دراسة أجريت لتقييم مفعول الجرعة المفرطة للحديد على الحمل تم فيها إشراك 49 امرأة كلهن تعرضن لجرعة حديد مفرطة. من بين 49 هناك 43 امرأة أعطت مولودا حيا، إثنان حدث لهما إجهاض تلقائي و أربعة منهن أوقفن حملهن إختياريا. من بين المولودين أحياء، ثلاثة منهم ولدوا مبكرا (Prématuré) و ثلاثة آخرون ولدوا مشوهين. في دراسة أخرى أجريت مؤخرا بالمكسيك أوضحت أن التوصيات الحالية لجرعة الحديد المسموح تزويدها للنساء الحوامل اللواتي لا تعانين من فقر الدم مرتفعة جدا و يمكن أن تؤدي إلى تعقيدات عند الوضع، كالولادة المبكرة ونقص وزن المولود (Casaneuva et al.,2003)

أظهرت نتائج تشفيف الأجنة و تلونها بأحمر الأليزارين عدم حدوث تشوهات هيكلية لدى أجنة الأمهات المزودة بالحديد. نفس النتيجة تم التوصل إليها في دراسة سابقة أجريت على الفئران و جردان زودت بكبريتات الحديد عن طريق الفم بجرعة 160مغ/كغ وزن و 200مغ/كغ وزن على التوالي وذلك ابتداء من اليوم 6 إلى 15 من فترة الحمل (Food and drug research laboratories ;1975).

إن مفعول الحديد على نمو الأجنة قد يكون له علاقة بإنتاج الجذور الحرة باعتباره هو أحد المعادن الإنتقالية التي تحفز على إنتاجها، خاصة وأن المشيمة تتوفر على الحديد الذي يزداد تحرره فيها مع نموها. فالمشيمة عند إستكمال نموها تصبح غنية بالميتوكوندريات و ذات شبكة وعائية غزيرة تسمح بتوفر الأكسجين. ويزداد استهلاك المشيمة من المواد الأيضية القاعدية للأم. كل هذه الخصائص تشجع على إنتاج ROS خاصة جذور Superoxydes لأن حوالي 5% من مجموع الإلكترونات في السلسلة التنفسية تتسرب خارج الميتوكوندري (Fridovich,1979). تقوم المشيمة أيضا بإنتاج أكسيد النيتريك (NO) و أنواع أخرى لمشتقات النيتروجين النشطة (Dotsch et al.,2001) مما يؤدي إلى زيادة فعالية الجهد التأكسدي خاصة في وجود الحديد.

كذلك، فالمشيمة غنية بالبالعات الكبيرة التي تساعد على إنتاج الجذور الحرة بما فيها الأنواع النشطة للكلور (RCIs) والحديد له دور في ذلك (Helliwell,1999). فالبالعات الكبيرة في حالة الإصابة تشكل مصدرا لـ NO، عامل النخر الورمي (TNF α) والسيتوكينات التي تسبب إتلاف الميتوكوندريات و إنتاج الجذور الحرة (Kirkeboen et al.,1999). فسيتوكينات الالتهاب مثل Interleukin-1 β يعمل مبدئيا على زيادة تحرير الحديد من

الفيريتين أو الميتوكوندريات، والحديد الحر الداخل خلوي يحث على إنتاج NO ، O_2^- ، حمض الهيبوكلوريك و تشكيل Peroxynitrite مما يزيد من تقاوم الالتهابات (Romero, 2003).

إن الأنواع النشطة للجذور الحرة و في وجود الحديد يمكن أن تزيد من حدة الجهد التأكسدي عن طريق إلحاق الضرر بالـ ADN الخلوي، البروتينات والليبيدات، حيث لوحظ إن نسبة الـ MDA في المشيمة وكبد الجنين كانت مرتفعة خصوصا في بداية الحمل و نسبة MDA في كبد الجنين كانت منخفضة معنويا مقارنة بالمشيمة (Quanungo et al., 2000).

لقد لوحظ ارتفاع في نسبة الأجنة والمولودين الشواذ لدى الأمهات المصابات بالداء السكري وقد عزى ذلك إلى الجهد التأكسدي (Eriksson, 1995 ; Reece et al., 1996) ولقد وجد أن هناك ارتفاع في محتوى الحديد الخلوي و ROS لدى المصابين بالداء السكري و الذين لهم مقاومة للأنسولين (Fernandez et al., 2002)، وحماية الأجنة من إصابتها بعيوب كان يتم عن طريق اختزال الحديد والجهد التأكسدي (Lao et al., 2002)، وهذا ما يدعم مفعول التزويد بالحديد على نمو الأجنة في هذه الدراسة. لقد وجد أن التزويد بالفيتامينات C و E يقلل من نسبة الإصابات الجنينية لدى الجرذان المصابة بالإفراط السكري (Sivan et al., 1996 ; Simen & Eriksson, 1997) علما أن هذه الفيتامينات لها دور في الوقاية من الفعل الضار للجذور الحرة.

إن محتوى الزنك لدى الجرذان المزودة بالحديد كان له تأثيرا معنويا على حصىلة التكاثر. فالتزويد بالزنك أدى إلى تحسين وزن كل من الأمهات والأجنة و قلل من عدد الأجنة المدمصة مقارنة بالأجنة المزودة بالحديد، مما يدل على أن الزنك كان له تأثيرا مضادا لسمية الحديد. لقد وجد سابقا إن التزويد بالزنك يقي من العقم لدى الذكور ويقلل من المضاعفات خلال الحمل (Favier, 1992). كما وجد أن إضافة الزنك في الغذاء بجرعة مفرطة (347.5 مغ/Zn/كغ) قد أدى إلى زيادة معنوية في وزن الجسم و الأعضاء لدى الجرذان (Sun et al., 2005). لقد تم إيضاح أن تزويد الغذاء بكمية عالية من الزنك (2500 مغ/كغ) على شكل أكسيد الزنك في الغذاء يحسن من أداء النمو ويقلل من الوفيات لدى الخنازير مباشرة بعد الفطام (Smith et al., 1997).

نقص الزنك في الغذاء زاد من انخفاض وزن الأمهات و الأجنة و زاد من عدد الأجنة المصابة مقارنة بالمجموعة المزودة بالحديد. هذه النتائج توافق ما توصلنا إليه في دراسة سابقة لتأثير نقص الزنك الحاد على نمو الأجنة (Zouaghi et al.,1998). هناك عدة دراسات أشارت إلى مفعول نقص الزنك على نمو الأجنة في العديد من الحيوانات. في الإنسان، أوضح Favier (1990) أن هناك صلة بين محتوى الزنك في السائل الأمنيوتي و وزن المولود. كما وجد أن نقصه يسبب تأخر في النمو عند الطفل إلى درجة إصابته بالتقزم في حالة العوز الشديد للزنك.

مفعول نقص الزنك على وزن الأجنة له عدة تفسيرات منها تأثيره على الإنقسام الخلوي، و لقد تم إظهار ذلك على البكتيريات والخلايا الكلوية المزروعة، حيث وجد أن تضاعف الخلايا يتوقف في المرحلة S و G من الدورة الخلوية (Prasad et al.,1996). يفسر هذا الفعل بعلاقة الزنك بجزيئات الأحماض النووية عن طريق وجوده في الإنزيمات الأساسية لتضاعف الـ ADN و نسخ الـ ARN المتمثلة في ADNpolymerase و ARNpolymerase. كما يفسر إنخفاض وزن الأجنة بتأثير الزنك على تخليق البروتينات الضرورية للنمو و أيضا تأثيره على بعض الهرمونات منها هرمون النمو (Huang et al.,1999).

لقد أصبح معروفا أن النقص الشديد للزنك عند الأمهات الحوامل يؤدي إلى نمو غير طبيعي للأجنة و مع ذلك فالآليات المحدثة لهذه التشوهات لم تحدد بدقة. في السنوات الأخيرة الماضية هناك بعض الدراسات أشارت إلى وجود إختلالات أيضية على مستوى خلايا الأجنة ناتجة عن نقص الزنك و التي يمكن أن نعتمد عليها في تفسير الإضطرابات المحدثة في النمو الجنيني. أهم هذه العيوب البيوكيميائية هي الإستقلاب غير الطبيعي للأحماض النووية، حيث لوحظ إنخفاض معنوي في تخليق الـ ADN لدى الأجنة المفترقة للزنك مقارنة بالشواهد و يمكن أن ينتج عن ذلك تغير في النسب المميزة للنمو الخلوي الضروري لعملية التشكل الطبيعية، كعدم التزامن في تشكل الأنسجة (Histogenesis) و تشكل الأعضاء (Organogenesis) الذي بإمكانه أن يؤدي إلى حدوث تشوهات.

لقد أصبح من المؤكد أيضا أن الأغشية الخلوية و سلامة الخلايا العظمية يتأثران بنقص الزنك الذي يلعب دورا في حماية الأغشية من الجذور الحرة الناتجة عن الجهد التأكسدي خاصة في هذه الدراسة التي كان فيها نقص الزنك مرفوقا بالتزويد بالحديد، حيث لاحظنا

زيادة معنوية معتبرة في نسبة الـ MDA في بلازما و كبد مجموعة الجرذان المزودة بالحديد و المفتقرة للزنك و الذي هو مؤشر لزيادة الأكسدة الفوقية لليبيدات. فزيادة محتوى نواتج هذه العملية يعكس دور الزنك في إستقرار و ثبات الأغشية أو دوره في النظام الدفاعي المضاد للأكسدة.

لاحظ Harding و مساعدوه سنة 1987 بإستعمال المجهر الإلكتروني أنه في اليوم الحادي عشر من نقص الزنك لدى الأجنة، وجود تلف شديد للأغشية الخلوية خصوصا أغشية الميتوكوندريات في الفترة التي تسبق مباشرة ظهور موت الخلايا في الأنبوبة العصبية. نفس هذا الفريق من الباحثين لاحظ حدوث موت للخلايا (necrosis) في مناطق الجنين التي تحدث بها إنقسامات خلوية سريعة قبل ظهور التشوهات.

سبب نقص الزنك لدى الحيوانات تشوهات في الهيكل العظمي، و ذلك لأن هذا العنصر له دور في ميثابوليزم العظام حيث تعتبر هذه الأخيرة مكانا هاما لتخزين الزنك، إذ تبلغ نسبته في العظام 30% من زنك العضوية. يشكل الزنك عاملا مساعدا للإنزيمات المعدنية المتدخلة في تخليق العديد من مكونات اللحمة العظمية ومنها alkaline phosphatase الضروري لعملية التكلس وتكوين الكولاجين الضروري لإمتصاص و إعادة تشكيل الأنسجة العظمية (Sarazin et al., 2000). تتدخل أيضا إنزيمات الفوسفاتاز في عملية التعظم بتخريبها في منطقة التمدن للبيروفوسفات غير العضوي الذي يعتبر مثبطا لترسيب الفوسفات الكلسي (Meraihi, 1984). كذلك يؤثر الزنك عن طريق مشاركته في عمل الهرمونات التي لها دور في نمو العظام كهرمونات الغدة الدرقية، التستوستيرون، somatomédine C و الأنسولين (Hill et al., 2005). لقد ذكر أيضا أن نقص الزنك يقلل من تضاعف الخلايا العظمية الفتية (osteoblastes) (Favier, 1990).

لوحظ إرتفاع في نسبة الزنك في البول في حالة هشاشة العظام (ostéoporose) والذي يمكن أن يعتبر كمؤشر لإدمصاص العظام لأن زنك الهيكل العظمي الجزء الأكبر منه يوجد على سطح بلورات hydroxyapatite (Lowe et al., 2002). كما لوحظ أن هناك صلة وثيقة بين مستوى حصة الزنك والكثافة العظمية (Wood et al., 1997) مما يوحي أن الزنك ضروري لإكتساب البنية العظمية والحفاظة على كتلتها.

إن تركيز الهيموغلوبين ونسبة الهيماتوكريت لم يتأثران معنويًا في الجرذان المزودة بالحديد رغم أن ذلك يحسن من المؤشرات الهيماتولوجية أثناء الحمل. يمكن تفسير هذه النتيجة بكمية الحديد المتوفرة في الغذاء والتي كانت كافية لسد حاجيات الجرذان أثناء الحمل، وهي نسبة تفوق بقليل النسبة الضرورية للنمو لدى القوارض المحددة من قبل المعهد الأمريكي للتغذية و المقدرة بـ 88 ميكروغرام/غ غذاء (American institute of nutrition, 1980). لقد وجد أن التزويد بالحديد يرفع من تركيز الهيموغلوبين لدى النساء الحوامل اللواتي يعانين من فقر دم، لكن لم يثبت ذلك عند نساء لهن حصيلة دموية عادية (Sachet, 1995 ; Long, 1995).

كانت نسبة الحديد في الدم معنويًا مرتفعة في المجموعة المزودة بالحديد ($p < 0.001$) مما يوحي أن التزويد كان مفرطًا. نفس النتيجة توصل إليها آخرون عند تزويدهم لنساء حوامل ابتداءً من الشهر الثالث أو الرابع من الحمل إلى غاية الولادة (Milman et al., 1997 ; Lachili, 2001).

أدى التزويد بالحديد لدى الجرذان الحوامل إلى ارتفاع معنوي في نسبة الفيريتين البلازمي ($p < 0.001$) وهذا يتماشى مع نتائج أبحاث (Burreau et al. 1998) و (Uritski et al. 2004). في دراسة أجريت على فتيات يمارسن لعبة كرة القدم تم تزويدهن بجرعة 40 غ Fe/يوم لمدة أربع أسابيع، سجل لديهن ارتفاع معنوي في نسبة الفيريتين البلازمي ($p < 0.05$) و تثبيط إنخفاض تركيز الهيموغلوبين المحدث بسبب التدريبات (Kang et al., 2004).

تعكس تراكيز الفيريتين البلازمية عموماً مخزون الحديد في الجسم، غير أن الإستجابات الحادة الناتجة عن حدوث عدوى أو إلتهابات هي أيضاً يمكن أن ترفع جزئياً من تركيز الفيريتين البلازمي بصورة مستقلة عن مخزون الحديد (Casanueva et al., 2003). يمكن لسيتوكينات الإلتهااب أن تقوم بإيقاف إنتقال الحديد نحو خلايا النخاع العظمي لإستعماله أو تزيد من تحرير الفيريتين في الدم مما يسبب إرتفاع تركيزه في البلازما (El-khatibs, 2009). و بما أنه في هذه الدراسة سجلنا إرتفاعاً معتبراً في تراكيز الفيريتين البلازمي (304.63% في المجموعة المزودة بالحديد و 354.57% في المجموعة المزودة بالحديد و منقوصة الزنك) فإن هذه الزيادة قد تعكس جزئياً حدوث إستجابة إلتهاابية تعود إلى التشكل المتتالي للجذور الحرة نتيجة التزويد المتكرر للحديد. و ما يثمن هذا الطرح هو

ظهور بؤر لإلتهاب الخلايا في مقاطع نسيجية لكبد الجرذان المزودة بالحديد و التي كان بها تركيز الفيريتين البلازمي عاليا. كذلك نلاحظ في هذه الدراسة أن هناك توافق كبير بين تراكيز الفيريتين و تراكيز MDA مما يدعم أن هناك صلة بين الإستجابات الإلتهابية الناتجة عن الفعل التأكسدي للحديد و التراكيز العالية للفيريتين البلازمي.

لاحظنا في هذه الدراسة أن مستويات الزنك المقدمة كان لها تأثير على تراكيز الفيريتين في البلازما، حيث كان تركيز هذا الأخير أكثر ارتفاعا في المجموعة المزودة بالحديد و المفتقرة للزنك معا و أقل ارتفاعا في المجموعة المزودة بالحديد و الزنك معا، أي أن التزويد بالزنك قد قلل من تركيز الفيريتين و هذا ما أشارت إليه بعض الدراسات السابقة (Fellahi et al., 2007 ; Dijkhuizen et al., 2003)

تركيز الزنك كان مرتفعا أكثر في المجموعة المزودة بالحديد و الزنك معا، و أكثر إنخفاضا في المجموعة الحاصلة على غذاء منقوص الزنك. لكن تركيزه كان أيضا منخفضا في المجموعة المزودة بالحديد. هذه النتيجة تتفق مع تلك المحصل عليها في دراسة سابقة التي نشر فيها أن التزويد بالحديد بجرعة 18مغ/اليوم، أدى إلى زيادة تركيز الحديد و انخفاض تركيز الزنك البلازمي لدى مراهقات حوامل لا يعانين من فقر دم (Dawson et al.1988). كما لوحظ في دراسة أخرى أن تزويد النساء الحوامل بجرعات معتبرة من الحديد كان له تأثيرا على الزنك المصلي (Bloxman et al.,1981).

وجد Gunther وآخرون (1991) أن حقن الجرذان بالحديد قد أدى إلى إنخفاض تركيز الزنك البلازمي و ارتفاع تركيز بروتينات metallothioneines (MT) في الكبد، و فسروا ذلك بتأثير الحديد على وظيفة الكبد بحثه على زيادة تخليق بروتينات MT و ارتباطها بالزنك. كما لوحظ سابقا أن العوامل المسببة للإجهاد كالحرارة، التعب، الإصابات الحادة الناجمة عن السموم و الإلتهابات تسبب إنخفاض في تركيز الزنك البلازمي مقابل ارتفاع الزنك و MT في الكبد (Seve et al., 2002). إنطلاقا من هذه النتائج يمكن أن نفسر إنخفاض تركيز الزنك في البلازما بتحركه نحو الكبد للمساهمة في ميكانيزمات الدفاع ضد الجذور الحرة الناتجة عن الفعل التأكسدي للحديد نتيجة زيادة مخزونه في الكبد.

في دراسة سابقة وجدنا هناك ارتفاعا معنويا في تركيز الحديد المصلي عند الجرذان الحاصلة على غذاء يفتقر للزنك. هذه النتائج تعكس التداخل بين العنصرين و أن لهما تأثير تنافسي على مستويات مختلفة من بينها التنافس من أجل الإمتصاص المعوي. فالزنك يشبط تنافسيا امتصاص الحديد عن طريق ارتباطه بـ DMT1 الذي هو أساسا ناقل للحديد، إلا أنه يمكن أن يستعمل في نقل الحديد من الشوارد المعدنية ثنائية التكافؤ بما فيها الزنك (Gunshin et al.,1997). و ما يؤكد في هذه الدراسة التداخل بين امتصاص الحديد و الزنك، هي النتائج المتشابهة المحصل عليها بالنسبة لتراكيز الفيريتين، حيث كان تركيزه منخفضا في المجموعة المزودة بالحديد و الزنك معا مقارنة بالمجموعة المزودة بالحديد فقط و ارتفاعه في المجموعة المزودة بالحديد/منقوصة الزنك.

تسبب حقن الحديد في ارتفاع معنوي في التراكيز البلازمية للكولسترول و الجليسيريدات الثلاثية لدى الجرذان الحوامل و لقد سبق لبعض الباحثين أن تحصلوا على نفس هذه النتائج (Brunet et al.,1999 ; Debbag et al.,1994)، في حين، هناك آخرون نشروا في أبحاثهم نتائج مناقضة لما توصلنا إليه في هذه الدراسة، حيث وجد Silvana و آخرون (2003) أن التزويد المفرط بحقن ديكسترين الحديد لدى الأرانب نجم عنه إختزال في نسبة الكولسترول البلازمي دون أن يؤثر على تركيز الجليسيريدات الثلاثية. في دراسة أخرى أجريت على أشخاص مصابين بـ β -thalassemia وجد أن تراكم الحديد الناتج عن نقل الدم المتكرر يؤدي إلى انخفاض في تركيز الكولسترول البلازمي (Maioli et al.,1989). أما بالنسبة لـ Araújo و آخرون (1995) لقد لاحظوا أن تزويد الأرانب بديكسترين الحديد لم يؤدي إلى تغيرات معنوية في تركيز الكولسترول البلازمي.

قد يعود تباين هذه النتائج إلى إختلاف في مستويات جرعات الحديد المقدمة و إلى عوامل أخرى منها إختلاف عمر الحيوانات، طبيعة الدهن المتوفر في الغذاء، و أيضا إختلاف ميتابوليزم الدهون و الليبوبروتينات لدى الحيوانات المستعملة في الدراسة. فالأرانب مثلا، لا تمتلك إنزيم الليباز الكبدي أو بروتين مشابه للأبوليبوبروتين الموجود في الإنسان، الجرذان و الفئران (Moghadasian,2002).

في دراسات سابقة وجد أن هناك صلة بين مستوى الحجز الكبدي للحديد و نسبة الكولسترول و الجليسيريدات الثلاثية في الدم. فأرتفاع مخزون الحديد الكبدي يرافقه زيادة في الليبيدات البلازمية. كذلك، إختزال الحديد الكبدي سواء عن طريق التقليل من محتوى الحديد

الغذائي المأخوذ أو عن طريق المعالجة بمواد مخليبية، فإن ذلك يؤدي إلى إنخفاض مستوى الكولسترول و الجليسيريدات الثلاثية (Field et al.,1997; Bureau et al.,1998).

يمكن تفسير ارتفاع الليبيدات البلازمية بتأثير الحديد على تشكيل الليبيدات الكبدية أو حدوث خلل في عملية طرح الكولسترول، بالإضافة للآليات التي تتضمن إعادة التقاط و تحريك الشحوم إنطلاقاً من الكبد و النسيج الدهني. كل هذه العمليات تلعب دوراً في هيموستازيا الدهون البلازمية (Bureau et al.,1998). على مستوى الكبد، هناك تخليق للكولسترول و الجليسيريدات الثلاثية و إلى حد الآن لا نعلم الكثير عن الإنزيمات التي تساهم في تخليق الدهون الكبدية و التي قد يكون نشاطها مرتبطاً بالحديد. لقد أدى التزويد بالزنك إلى تصحيح نسبة الكولسترول و الجليسيريدات الثلاثية في البلازما التي تعتبر بمثابة المظاهر الأولية لسمية الحديد.

في هذه الدراسة، لاحظنا ارتفاعاً معنوياً في نسبة MDA في كل من البلازما و الكبد لدى المجموعة المزودة بالحديد مقارنة بالشواهد ($p < 0.001$) و هذا ما يتفق مع نتائج بعض الأبحاث السابقة. في دراسة أجريت على نساء حوامل في الشرق الجزائري بعد التأكد من أصابتهن بفقر دم مرتبط بالحديد تم تزويدهن ابتداءً من الشهر الثالث بجرعة 100مغ/يوم من الحديد على شكل فيومرات و فيتامين C بـ 500مغ/يوم، حيث لوحظ لديهن ارتفاع معنوي في MDA البلازمي ($p < 0.005$) مقارنة بالحوامل الشواهد (Lachili et al., 2001). في دراسة أخرى أجريت على جرذان تعاني من نقص الحديد، وجد أن تزويدها به عن طريق الفم يؤدي إلى ارتفاع في تركيز كل من الـ MDA و protein carbonyl في مخاطية الأمعاء (Sreedhar et al.,2004).

يدل ارتفاع نسبة الـ MDA في هذه الدراسة على زيادة سرعة تفاعلات الأكسدة الفوقية لليبيدات (LPO)، باعتبار أن مركب MDA هو أحد المؤشرات البيولوجية الأساسية الناجمة عن الأكسدة الفوقية للأحماض الدهنية غير المشبعة (PUFA) للفوسفوليبيدات بواسطة الجذور الأوكسيجينية (Stankiewics et al., 2007). فالحقن المتكرر لجليكونات الحديدوز (Fe^{+2}) يمكنه أن يؤدي مؤقتاً إلى ارتفاع في نسبة الحديد غير المرتبط بالترانسفيرين (FNLT) أي الحديد الحر الذي هو معروف بإنتاجه لجذور الهيدروكسيل (OH°) و السبيروكسيد (O_2°) عن طريق تفاعل Fenton و حلقة Haber-Weiss (McCord,2004). و هي جذور تتميز بعدم استقرارها وسميتها خصوصاً جذور الهيدروكسيل. بالإضافة إلى ذلك،

فشوارد الحديد (Fe^{+2}) لها القدرة على تحفيز تحلل الهيدروبيروكسيدات الليبيدية (ROOH) إلى جذور الألكوكسيل (RO°) و البيروكسيل (ROO°). هذه الجذور بإمكانها نزع H° من ذرة كربون لحمض دهني مؤدية بذلك إلى إنتشار الأوكسدة الفوقية الليبيدية.

هناك العديد من الدراسات التجريبية أوضحت أن إستعمال الحديد في شكل Fe^{+2} يؤدي إلى زيادة LPO (Gunter et al.,1991 ; Zhang et al., 1996). لقد لوحظ لدى فئة من السكان يتناولون في شربهم مياه غنية بالحديد، إرتفاع في MDA و diènes conjuguées و انخفاض في نشاط الجلوتاثيون للكريات الحمراء (Rehema et al.,1998).

وجدنا في هذه الدراسة أن ارتفاع نسبة MDA لدى الجرذان المزودة بالحديد، يعزز بواسطة نقصان الزنك و يختزل بواسطة التزويد بالزنك إذ أصبح تركيز MDA في المجموعة المزودة بالحديد و الزنك لا يختلف معنويا عن تركيزه في المجموعة الشاهدة، مما يدل على أن الزنك قد قلل من حدة الأوكسدة الفوقية لليبيدات المحفزة من قبل الحديد. هناك عدة أبحاث أشارت أن نقص الزنك في العضوية يسبب زيادة الأوكسدة الفوقية لليبيدات في العديد من الأنسجة (Koterov et al.,1995 ;Parat et al.,1997). لقد لوحظ إرتفاع معنوي في الـ MDA في كل من البلازما، الكبد، الكلية، العضلات المخططة و المخ عند الجرذان منقوصة الزنك في حين سجل إنخفاض الـ MDA في نفس الأنسجة لدى الجرذان المزودة بالزنك (Ozturk et al., 2003 ;Baltaci et al., 2004).

قام Faure و آخرون (1991) بإخضاع LDL الجرذان إلى جهد تأكسدي أجري بواسطة مزيج Fer/ascorbate. بعد هذا الجهد لاحظوا تضاعف محتوى MDA في LDL بأربع مرات مقارنة بالحالة الطبيعية لـ LDL الجرذان العادية. في حين تضاعفت بسبع مرات في LDL الجرذان المنقوصة الزنك. هذه القابلية المفرطة للأوكسدة في حالة نقص الزنك لم تلاحظ على مستوى الأجزاء الأخرى VLDL، IDL، و HDL. في دراسة أخرى تم فيها تقييم تأثيرات نقص الزنك على الأوكسدة الفوقية لليبيدات عند جرذان عرضت لجرعات من الكحول و الذي له نفس الفعل التأكسدي للحديد، لوحظ أن هذا الإتحاد يؤدي إلى إنتاج مفرط لـ MDA على مستوى الكبد و القلب (Coudray et al.,1991).

لقد نشر في دراسات سابقة أن النقص في الزنك يحفز تشكيل الجذور الحرة (Sakaguchi et al.,2002; Yousef et al.,2002) و أن التزويد بالزنك يمكنه حماية الأنسجة من الفعل الضار للجهد التأكسدي (Sudhu et al.,2005; Bediz et al.,2006). الكادميوم هو عنصر نادر محفز للجهد التأكسدي على مستوى الخصي، عند نقص الزنك يزداد تأثيره الضار على الخصوبة الجنسية. في حين أن التزويد بالزنك يمنع التأثير السام للكادميوم على الخصي (Oteiza et et al.1999). كذلك لوحظ أن الأكسدة الفوقية الناتجة عن الإفراط الدرقي في خصي الجرذان يمكن معالجتها بالزنك (Tahmaz et al.,2000).

أشار Bray وآخرون (1986) إلى زيادة إنتاج الجذور الحرة على مستوى الميكروزومات الرئوية لدى الجرذان المعرضة لنقص الزنك وفسروا ذلك بأنه ناتج عن الأكسدة الليبيدية المحرصة بواسطة فك إقتران سلسلة نقل الإلكترونات المتوقفة على NADPH. كما لوحظ لدى الجرذان الحوامل المعرضة لنقص الزنك ارتفاع في تراكيز MDA في ميتوكوندريات و ميكروزومات كبد الأمهات و الأجنة، و أيضا في ميكروزومات رئة الأمهات و ميتوكوندريات رئة الأجنة (Gunther et al.,1989).

هناك العديد من الدراسات أظهرت أن الزنك له دور مضاد للأكسدة و تدخله في ميتابوليزم الجذور الحرة. لقد وجد (Chvapil,1977) أن الزنك يقلل من الأكسدة الفوقية للدهون في الجرذان المسممة برابع كلوريد الكربون (CCl4). كذلك، لوحظ *in vitro*، أن الزنك يثبط الأكسدة الفوقية المحدثه بواسطة مزيج من $FeSO_4$ و حمض الأسكوربيك على مستوى الليبوزومات و الفيتيات الليبيدية (Szebeni et al.,1988). وجد أيضا في دراسة *in vitro* على خلايا كبدية مزروعة، أن الزنك يساهم في تخفيض نسبة MDA و نسبة جذور الهيدروكسيل المقاسة بواسطة RPE (Coppin et al.,1988).

هناك العديد من الآليات المختلفة التي بواسطتها يقلل الزنك من الأكسدة الفوقية لليبيدات. في هذه الدراسة، يمكن أن نفسر دور الزنك في تثبيط LPO، بتأثيره المباشر على التفاعلات غير الإنزيمية المنتجة لجذور OH° و O_2° المحفزة بواسطة الحديد. كذلك بدخول الزنك في تنافس مع الحديد و النحاس للتقليل من ارتباطهما بمجاميع الثيول (SH) لحمايتها من الفعل التأكسدي لهذين العنصرين، لأن تثبيتهما على السيستئين يؤدي إلى تحويل الإلكترونات نحو الأوكسجين و بالتالي إنتاج الجذور الحرة (Koukay et al.,1987). يمكن

للزنك أيضا أن يدخل في تنافس مع أيون Fe^{2+} لتشكيل معقدات بين الأوكسجين، Fe^{2+} و الروابط الزوجية للأحماض الدهنية غير المشبعة (Peterson et al., 1981).

كذلك للزنك طرق أخرى غير مباشرة يؤثر بها على LPO. فهو يحث على تخليق بروتينات مضادة للأكسدة تتمثل في *métallothionéines* التي تقلل من إنتاج الجذور الأوكسجينية من طرف الخلايا متعددة النوى و البالعات الكبيرة بتثبيطها لإنزيم *nicotineamide adenine dinucléotide phosphate oxydase* (Chvapil et al., 1977). أوضح Klarke و آخرون (1985) أن إعطاء الزنك للجرذان قبل معالجتهم بـ CCl_4 ، قد أدى بالخصوص إلى ارتفاع MT الكبدي الذي بإمكانه أصطياد النواتج الجذرية الناجمة عن أيض CCl_4 . مع أن التزويد بالزنك عبر الفم يقلل من الأكسدة الفوقية لليبيدات على مستوى الكبد، فإن Chvapil و آخرون (1974) أوضحوا بأن هذا التزويد لا يقوم بالحماية ضد LPO على مستوى المخ، الخصية، الرئة و الكلية. حسب هؤلاء الباحثون لأن هذه الأعضاء غير قادرة من الرفع من محتوى الزنك بداخلها. في حين أن النسيج الكبدي بإمكانه تخزين الزنك بكميات معتبرة في شكل MT.

Métallothioneines هي بروتينات معدنية ذات وزن جزيئي صغير يتراوح بين 6000 و 7000 كيلودالتون، تتألف من 60 إلى 68 حمض أميني يدخل في تركيبها السيستئين بنسبة 25 - 30%. لا تحتوي هذه البروتينات على أحماض عطرية أو روابط كبريتية ثنائية و بإمكانها تثبيت 5-7 غ زنك (مول/بروتين) (Bernhard et al., 1987). يحرض بروتين MT بواسطة عوامل مختلفة منها ROS، الأيونات المعدنية الشبيهة بالزنك، النحاس و الكادميوم. علاوة على ذلك، فإن تحريض MT يكون أساسيا في المحافظة على هييموستازيا الزنك (Andrews, 2000).

أظهرت العديد من الدراسات أن إستمرار إعطاء الزنك يحرض على تشكيل MT داخل الأعضاء المختلفة مثل الكبد (McCormick et al., 1981)، الكلية (Swerdel, 1982) و الأمعاء (Menard et al., 1982). لقد لوحظ أن MT له تأثيرات مضادة للأكسدة في العديد من الحالات و الظروف المسببة للجهد التأكسدي، التي تشمل التعرض للأشعة فوق البنفسجية (Matsubara, 1987)، سمية الأدوية المضادة للسرطان مثل *adriamycin*

(Yin et al., 1998)، سمية الإثانول (Harris, 1990) والوسائط التأكسدية المولدة للطفرات (Rossman et al., 1998). هناك دراسات حديثة تفترض أن MT يربط بين الزنك الخلوي

وحالة redox للخلية. فتحت شروط الجهد التأكسدي العالي، يتسبب التغير في redox الخلوي في تحرر الزنك من MT (Liang et al., 1998a, 1998b).

في هذه الدراسة، سجل إنخفاض معنوي في تراكيز الجلوتاثيون المختزل (GSH) في كل من البلازما وكبد الجرذان المزودة بالحديد ($p < 0.001$) وذلك مقارنة بالشواهد وهو ما يتفق مع نتائج بعض الدراسات السابقة (Sreedher et al., 2004; Bartal et al., 1993). في دراسة أجريت *in vitro* على الكريات الحمراء البشرية المحضونة في تراكيز متزايدة من هيدروكسيد الحديد القلوي، لوحظ ظهور إنخفاض معنوي في مستويات GSH للكريات الحمراء المحضونة في التركيز من 10 إلى 100 ميكرومول (Ferreira et al., 1999).

يمكننا تفسير إنخفاض تركيز GSH إلى الجهد التأكسدي الذي أحدثه التزويد المستمر بالحديد، حيث أدى إلى أكسدة GSH إلى GSSG، خاصة أنه لوحظ في العديد من حالات الجهد التأكسدي إنخفاض في مستويات GSH كما في حالة التعرض المزمن للإثانول الذي يؤدي إلى نضوب GSH الكبد. كذلك أنخفاضه في الكريات الحمراء المعرضة لـ *t-butyl hydroperoxide* (Bartal et al., 1993). كما سجل إنخفاض في GSH بنسبة 30% في الكريات الحمراء بعد حضنها لمدة 60 دقيقة في وسط مزود بالهيدروبيروكسيد (H_2O_2) والـ ascorbate (Rice-Evans et al., 1985).

يعتبر الجلوتاثيون أهم المركبات الثيولية التي تنتجها الخلايا والتي تلعب دوراً رئيسياً في الوقاية ضد الأكسدة لقدرتها على إلتقاط الجذور وأختزال البيروكسيدات وأيضاً الحفاظ على الحالة الرودوكسية للخلايا (Valko et al., 2005). كذلك فهو يحافظ على مضادات الأكسدة ذات المصدر الخارجي مثل الفيتامينات E و C في بقائها على شكلها المختزل النشط. في جزيئة GSH المختزلة، مجموعة الثيول لحمض السيستئين لها القدرة على تحرير وإعطاء $(H^+ + e^-)$ لجزيئات أخرى غير مستقرة مثل ROS. بإعطاء إلكترون، يصبح الجلوتاثيون بدوره نشطاً (GS^\bullet) فتتفاعل جزيئتين منه مشكلة ثنائي كبريت الجلوتاثيون (GSSG) وهو الشكل المتأكسد. هذا التفاعل يكون ممكناً بسبب الإرتفاع النسبي للجلوتاثيون داخل الخلايا (حوالي 5 ميلي مول في الكبد). في الخلايا والأنسجة السليمة هناك 90% من الجلوتاثيون الكلي يكون في شكله المختزل (GSH) وارتفاع نسبة GSSG إلى GSH تعتبر كمؤشر للجهد التأكسدي.

يتجدد GSH داخل الخلية إنطلاقاً من GSSG بواسطة إنزيم glutathion réductase وبدوره يقوم بإختزال مواد أبيضية وأنظمة إنزيمية منها ال- ascorbate في حلقة -glutathion- glutathion peroxydase و glutaredoxins، كذلك تفاعله مباشرة مع المؤكسدات (Meister, 1994).

مستويات GSH في الجرذان المزودة بالحديد والزنك معا كانت مرتفعة معنوياً مقارنة بالجرذان المزودة بالحديد فقط. في حين نقصان الزنك لدى الجرذان المزودة بالحديد زاد من إنخفاض تركيز GSH مقارنة بالمجموعة المزودة بالحديد والمجموعة الشاهدة. هذه النتائج تشير إلى أن الزنك كان له دوراً وقائياً ضد الجهد التأكسدي المحفز من قبل الحديد وذلك عن طريق الرفع من مستويات GSH. لقد وجد في دراسات سابقة أن التزويد بالزنك يزيد من تركيز GSH في الكبد، الكلية والعضلات المخططة عند الجرذان. كما وجد أن تركيز GSH في الكريات الحمراء يكون معنوياً مرتفعاً في الجرذان المزودة بالزنك ومنخفضاً في الجرذان المعرضة لنقص الزنك (Ozturk et al., 2003). فهذه النتائج تتفق مع ما توصلنا إليه في هذه الدراسة.

يمكن تفسير هذه النتائج على أن الزنك يتداخل مع الجلوتاثيون ومركبات الثيول لحمايته لمجاميع السيلفوهيدريل (SH) من الأكسدة بمنع تشكل الروابط الكبريتية الثنائية داخل الجزيئات (Bray et al., 1990). لقد تم في دراسة سابقة، إظهار أن مخلبة الزنك الداخل خلوي بواسطة مواد مخلبية عابرة للغشاء يؤدي معنوياً إلى إنخفاض تراكيز GSH (Parat et al., 1997). كذلك لقد وجد أن التزويد بالزنك يزيد من نشاط إنزيم glutathione reductase مؤدياً إلى تحسين مستويات GSH. ففي دراسة أجريت *in vitro*، لوحظ أن التزويد بالزنك كان له مفعولاً وقائياً ضد سمية الإيثانول ونضوب GSH الكبدي (Zhou et al., 2005).

لم يؤثر التزويد بالحديد على نشاط GPx و SOD في الكريات الحمراء وهذا يتوافق مع نتائج بعض الأبحاث التي أجريت على الجرذان والتي أوضحت أن الكريات الحمراء لم تتأثر بالتزويد المفرط للحديد وكانت مقاومة للأكسدة الفوقية لليبيدات ولم يحدث تغير في نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة أو في محتوى الفيتامين E (Guallenno et al., 1995; Brandsch et al., 2002). بينت دراسة أجريت *in vitro*، أن حضان كريات حمراء عادية للإنسان في وسط به 100 ميكرومول colloidal Fe³⁺ لم يؤثر

على الحيوية أو النظام المضاد للأكسدة لهذه الخلايا (Ferreira et al.,1999). كذلك نشر في دراسة أجريت على نساء حوامل أن التزويد بالحديد عن طريق الحمل لم يغير معنويا من نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة (SeGPx, Cu-ZnSOD) على مستوى الكريات الحمراء (Lachili et al.,2001).

على عكس النتائج المحصل عليها في هذه الدراسة، هناك أبحاث تشير إلى أن التزويد بالحديد يرفع من نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة. لقد وجد (Sreedhar et al.,2004) أن تزويد الحديد عن طريق الفم لدى الجرذان التي تعاني من نقص الحديد، يرفع من نشاط الـ SOD الكلي، Mn-SOD، الكاتالاز و GPx على مستوى خلايا مخاطية الأمعاء. في الواقع، تكون الكريات الحمراء معرضة للجهد التأكسدي لأنها غنية بالأكسجين ولها بنية تركيبية مميزة بوجود الأحماض الدهنية غير المشبعة في الغشاء، بالإضافة إلى وجود الهيموغلوبين الحاوي على الحديد.

في هذه الدراسة لاحظنا إنخفاضا طفيفا في نشاط GPx في بلازما الجرذان المزودة بالحديد وهي نتيجة مخالفة لما توصل إليها Brandsch وآخرون (2002)، حيث أشاروا أن GPx البلازمي لم يتأثر بالحديد الغذائي المرتفع. حسب (Favier,1998)، فإن GPx البلازمي لا يصدر من الكريات الحمراء أو الخلايا الطلائية المبطنة، بل هو ناتج عن الإفراز الكبدي، بنيته وآليته التحفيزية مشابه للشكل السيتوزولي، لكنه أكثر حساسية اتجاه الزنك. هذه الخاصية الأخيرة ملائمة لتفسير النتائج التي حصلنا عليها، حيث أن انخفاض نشاط GPx البلازمي لم يظهر إلا في المجموعات التي أنخفض بها تركيز الزنك البلازمي وهي المجموعة المزودة بالحديد والمجموعة المزودة بالحديد ومنقوصة الزنك، في حين أن المجموعة المزودة بالزنك لم نلاحظ بها أي تغير معنوي في نشاط GPx البلازمي مقارنة بالشواهد.

نشاط GPx و SOD لم يتغير معنويا على مستوى الكريات الحمراء في المجموعة المزودة بالحديد و الزنك، بينما في المجموعة المزودة بالحديد الحاصلة على غذاء منقوص الزنك حدث بها إنخفاض في نشاط SOD، بمعنى أن نقص الزنك قد أثر على نشاط هذا الإنزيم. لقد نشر في دراسة سابقة أن نشاط Cu-ZnSOD لم يتغير في الخلايا الكبدية للجرذان المزودة بالزنك، بينما إنخفض معنويا في الجرذان منقوصة الزنك مقارنة بالجرذان الحاصلة

على زنك كاف (Sun et al.,2005). في دراسة أخرى، وجد أن نقص الزنك الغذائي أدى الى إنخفاض في نشاط SOD بنسبة 34% في البلازما و 16% في الكبد (Coudray et al.,1992).

هناك العديد من الفرضيات وضعت لتفسير فعل الزنك على نشاط SOD. حسب Roe و آخرون (1988)، وجود الزنك في بنية الإنزيم يؤدي إلى تحريك وتعبئة شكله الطبيعي خصوصا الموقع الفعال بعبارة أخرى يمكن أن يكون للزنك دور مدعم للتحفيز على مستوى الموقع النشط. لقد أشار Hodgson و آخرون (1975)، أن الزنك له دور في حماية الإنزيم ضد الهجمات التأكسدية. فالأشكال النشطة للأوكسجين (ROS) مثل أيونات السيبروكسيد (O_2^-) و فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بإمكانها تثبيط SOD. الزنك كمضاد للأكسدة، يمكنه أن يثبط إنزيم NADPH oxydase المنتج لأيون O_2^- و يقاوم فقد طبيعة الإنزيم SOD بواسطة H_2O_2 (Coudray et al.,1992).

بالإضافة إلى الفرضيات السابقة، يمكن أن يفسر تأثير نقص الزنك على نشاط SOD بإنخفاض تخليق apoprotein (Bates et al.,1981). فإنخفاض النشاط النوعي للـ SOD في مرضى القصور الكلوي المزمن (IRC) يمكن أن يكون كنتيجة لتأثير نقص الزنك على تخليق البروتينات. من جهة أخرى، وجود التداخلات المعقدة بين العناصر النادرة قد يؤدي إلى زيادة تركيز النحاس، فمثلا نقص الزنك يؤدي إلى زيادة تركيز النحاس و التزويد المفرط للزنك يمكن أن يقلل من تركيزه في البلازما والأنسجة. في دراسة سابقة لوحظ إختزال في نشاط SOD رغم إرتفاع منسوب النحاس (Coudray et al.1992)، مما يعكس أهمية عنصر الزنك للنشاط الإنزيمي للـ SOD.

إن التزويد بالحديد أو التزويد بالحديد والزنك معا، كلاهما لم يؤثر معنويا على تراكيز الفيتامين A في بلازما الجرذان الحوامل. لقد لاحظ Lachili و آخرون (2001) أن التزويد بالحديد لم يكن له مفعولا على نسبة الفيتامين A البلازمي عند النساء الحوامل. كما سجل في دراسات أخرى أن التزويد بالزنك لم يؤثر على المؤشرات الميتابوليزمية للفيتامين A. في دراسة أجريت على أطفال متدرسين بتايلاندا، تم تزويدهم بجرعة 25 مغ Zn/اليوم لمدة ستة أشهر، لم يلاحظ لديهم أي تغيير في الريتينول البلازمي أو RBP (Udomkesmale et al.,1992). نتائج هؤلاء الباحثين تدعم تلك المحصل عليها في هذه الدراسة. على العكس من ذلك، فإن Munoz و آخرون (2000) وجدوا أن التزويد بالزنك أو الحديد أو التزويد بالحديد والزنك معا، قد أدى إلى إرتفاع في نسبة الريتينول البلازمي لدى

الأطفال الذين لم يبلغوا سن التمدرس في الميكسيك. كما لاحظوا أن أن مفعول التزويد بالزنك يؤدي إلى إرتفاع أكبر للريتينول البلازمي عند الأطفال المصابين بنقص الفيتامين A مقارنة بالأطفال ذوي الكمية الكافية من الفيتامين A. في دراسات أخرى، وجد أن التزويد بالحديد يؤدي إلى إنخفاض في الريتينول البلازمي لدى الأطفال الذين يعانون من نقص الحدي للفيتامين A و في نفس الوقت إرتفاع تركيز الفيتامين A في الكبد (Wieringa et al.,2003 ;Fellahi et al.,2007).

لوحظ في هذه الدراسة أيضا، أن هناك أنخفاض غير معنوي في تركيز الفيتامين A في بلازما الجرذان المزودة بالحديد والمفتقرة للزنك مقارنة بالشواهد. هناك بعض الدراسات السابقة تشير أن نقص الزنك غالبا ما يكون مرفوقا بإنخفاض تراكيز الفيتامين A في البلازما، لأن نقص الزنك يؤثر على تخليق بروتين RBP مما يؤثر على نقل الريتينول من الكبد إلى الدورة الدموية والأنسجة الأخرى، لأن الريتينول ينقل على شكل rétinol-RBP.

سجلنا في هذه الدراسة انخفاض معنوي في تركيز α -tocophérol في بلازما الجرذان المزودة بالحديد مقارنة بالشواهد ($p < 0.004$) وهي نتيجة تتوافق مع ما نشر في بعض الدراسات السابقة، حيث أشار Long و آخرون (2003) أن التزويد المفرط للحديد (500مغ/كغ غذاء) أدى إلى إنخفاض معنوي في تركيز الفيتامين E البلازمي لدى الجرذان. في دراسة أخرى، وجد أن هناك توافق سلبي بين تراكيز الفيتامين E الكبدي و تراكيز الحديد المفرطة في الغذاء. فكلما زاد مخزون الحديد في الكبد قل تركيز الفيتامين E فيه (Omara et al.,1992).

لقد وجد عند الأشخاص المصابين بالهيموكروماتوز (Thalassemia) إرتفاع في الأوكسدة الليبيدية في الكريات الحمراء و إنخفاض في تركيز الفيتامين E في البلازما (Young et al.,1994). كذلك، في دراسة أجريت على النساء الحوامل اللواتي يعانين من فقر الدم، وجد أن تزويدهن بجرعة 100مغ حديد و 500مغ من الفيتامين E في اليوم خلال الثلث الأخير من الحمل قد أدى إلى إنخفاض في تركيز الفيتامين E البلازمي و إنخفاض في نسبة vitaminE/cholesterol (Lachili et al.,2001).

يمكن تفسير إنخفاض تركيز الفيتامين E (α -TOH) في هذه الدراسة إلى زيادة إستعماله في المكافحة ضد الجهد التأكسدي الذي أحدثه إفراط الحديد، أي أكسدته بواسطة الجذور البيروكسيدية الناتجة عن أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة (AGPI). فالفيتامين E معروف بأنه من أهم مضادات الأكسدة لليبيدات، فهو يؤمن الحماية ضد الهجوم الجذري خاصة من طرف البيروكسيدات حيث يقوم بتثبيت المرحلة الثالثة للأكسدة الفوقية لليبيدات ويمنع إنتشار تفاعلات الأكسدة بتفاعله مع جذور البيروكسيل محولا أياها إلى بيروكسيد (α -TOH+ROO[°]---> α TO[°]+ROOH). يتم إعادة تشكل α -tocopherol من جذر α -TO[°] بواسطة الفيتامين C أو الجلوتاثيون المختزل (GSH)، وأنخفاض تركيز هذا الأخير في كل من البلازما و الكبد المسجل في هذه الدراسة، قد يكون له تأثير على سرعة تجديد الفيتامين E و بالتالي إنخفاض منسوبه على مستوى الأنسجة.

يمكن أيضا أن يعود إنخفاض α -TOH في البلازما إلى حدوث خلل في تبادله مع الكبد الذي يعتبر من أهم الأعضاء المخزنة لهذا الفيتامين. حيث أن تراكم الحديد في الكبد كما ذكر سابقا، يؤدي إلى نضوب مخزون الفيتامين E نتيجة الأضرار و التلف الذي يحدثه الحديد على مستوى الأنسجة الكبدية كما هو ملاحظ في هذه الدراسة. في الحالة الطبيعية، هناك بروتين الإرتباط ب- α -TOH : α T binding protein (TBP) الذي يوجد فقط في الخلايا الكبدية، حيث يلعب هذا البروتين دورا في تنظيم و تحويل ال- α -tocopherol الكبدى نحو البلازما والأنسجة. فإن أي غياب أو خلل يطرأ على بنية TBP يمكنه أن يؤثر على إندماج α -tocopherol في VLDL مسببا بذلك نقص الفيتامين E (Testud, 2001).

أدى التزويد بالحديد و الزنك معا إلى إرتفاع غير معنوي في تركيز الفيتامين E مقارنة بالمجموعة المزودة بالحديد بينما أدى التزويد بالحديد المصحوب بنقص الزنك الغذائي إلى زيادة انخفاض الفيتامين E مقارنة بالمجموعة المزودة بالحديد. رغم أن هذه التغيرات لم تكن معنوية لكنها مؤشر يوحي أن الزنك له تأثير على تركيز الفيتامين E في الدم. لقد سبق و أن نشر في دراسات سابقة أن التزويد بالزنك عن طريق الحقن لدى الحيوانات يحسن من تركيز الفيتامين E (Zerim et al.,2003) وأن نقص الزنك في الغذاء يقلل من تركيز الفيتامين E في البلازما و الأنسجة (Bunk et al.,1989).

يمكن تفسير الإنخفاض الأكبر لتركيز الفيتامين E في بلازما الجرذان المزودة بالحديد والمنقوصة الزنك من جهة إلى زيادة الجهد التأكسدي الذي يسببه الحديد في غياب الزنك. من

جهة أخرى يمكن أن يعود إلى إختزال كمية الغذاء المستهلكة نتيجة فقدان الشهية بسبب نقص الزنك. فتركيز الفيتامين E في الأنسجة مرتبط بالحصص الغذائية .

إن التزويد بالحديد في هذه الدراسة، كان له تأثيرا واضحا على البنية النسيجية للكبد حيث أدى إلى تراكم الدهون داخل حويصلات في الخلايا الكبدية (stéatose) و تسبب في ظهور بؤر إتهابية و تخريب الخلايا الكبدية في هذه المناطق (nécrose). هذه الأعراض الفيزيولوجية المسجلة ذات صلة بارتفاع تراكم الحديد في الخلايا الكبدية و خلايا kupffer. أن زيادة مخزون الحديد الكبدي قد حرض على الأكسدة الليبيدية و ما يؤكد ذلك، هو الزيادة المعنوية المعتمدة في نسبة الـ MDA في كبد الجرذان المزودة بالحديد و كذلك الإنخفاض المعنوي الكبير لتركيز GSH ($p < 0.001$) نتيجة إستهلاكه بسبب الإنتاج المفرط للجذور الحرة. فاستنقال الحديد و تحريره من البروتينات المخزنة له، يكون هو العامل المحدد لإنتاج هذه الجذور و مصدر الجهد التأكسدي.

في دراسة سابقة، لاحظ Naveau في سنة (2001) أن إرتفاع تركيز الحديد غير الهيمي في جرذان خاضعة لنظام غذائي مزود بحديد الكربونيل، كان مرفوقا بزيادة معنوية في تركيز MDA و 4-HNE الكبديين. لقد سبق و أن أشار Moirand و آخرون (1997) إلى وجود علاقة بين تراكم الحديد في الكبد و الإختلالات الأيضية المرتبطة غالبا بتشمم و التهاب الكبد (NASH). كما لوحظ إرتفاع في نسبة الفيريتين البلازمي لدى 62% من الأشخاص المصابين بـ NASH (George et al., 1998). من جهة أخرى أوضح Petit و آخرون (2000) بعد قياسهم لتركيز الحديد الكبدي و score de Perls أن هناك صلة قوية بين إرتفاع score de perls و درجة تليف الكبد (fibrose).

لقد أثبت تجريبيا دور الجهد التأكسدي في التسمم الكبدي و ذلك من خلال تجرير الإثانول لجرذان تتناول غذاء غني بالليبيدات، حيث أدى ذلك إلى إصابات هيستولوجية مماثلة لتلك الملاحظة عند الإنسان (steatohepatitis, fibrose) وكانت هذه الإختلالات مصحوبة بحث isoenzyme CYP2E1 الذي يلعب دورا في أكسدة الأحماض الدهنية الحرة وتشكيل المشتقات المختزلة للأوكسجين على مستوى الكبد. سجل أيضا إرتفاع مثير في أكسدة الليبيدات و البروتينات. كما تبين من دراسات أخرى أن تناول الإثانول غالبا ما يؤدي إلى حدوث إضطرابات أيضية للحديد، فالكحول يرفع من إمتصاص الحديد عن طريق تنبيهه لإفراز الحمض المعدي، بالإضافة إلى ذلك فإن بعض المشروبات الكحولية غنية بالحديد

خاصة منها المحضرة تقليديا (Hezode et al.,2000). في تجربة أخرى وجد أن الأغذية الغنية بالأحماض الدهنية غير المشبعة و الحديد تثير الأوكسدة الليبيدية و تزيد من خطر الإصابات الكبدية (Ratziu et al.,2002). هذه النتائج تدل على وجود ترابط بين الفعل التأكسدي للحديد وأمراض الكبد وهذا ما يدعم ما وصلنا إليه في هذه الدراسة.

أدى تراكم الدهون داخل الخلايا الكبدية إلى زيادة وزن الكبد لدى مجموعات الجرذان المزودة بالحديد. يشكل هذا التراكم المرحلة الأولى التي تجعل الخلايا الكبدية هشة وأكثر حساسية للجهد التأكسدي. لقد وجد سابقا، أن إستعمال رباعي كلوريد الكربون CCL4 أو الإثانول لدى الحيوانات أو الخلايا الكبدية المعزولة، قد أدى إلى ظهور أول مفعول سمي تمثل في تراكم الليبيدات. كذلك، أدت المعالجة المسبقة للحيوانات بـ α -tocophérol، إلى تثبيط LPO و التقليل من تراكم الدهون (Poli et al.1987) مما يبين تورط LPO في السمية الكبدية.

بين Moirand وآخرون (1997) أن هناك إرتباط وثيق بين تراكم الحديد في الكبد و مقاومة الأنسولين (insulino-resistance) و التشمع الكبدية (stéatose). بالمقابل، لقد ثبت أن استنفاد الحديد يكون مرفوقا بتحسن تراكيز الأنسولين البلازمي أثناء الصيام و المنبه بواسطة الجلوكوز وأنه يقلل من المقاومة للأنسولين (Facchini et al.,2002). فالمقاومة الأنسولينية تلعب دورا رئيسيا في نشوء مرض NASH، فهي تزيد من نسبة الأحماض الدهنية الحرة في الدم و التقاطها من طرف الكبد (Oneta et al.,2002). هناك دراسات أوضحت أن حدوث إفراط في الجهد التأكسدي أو التعرض مطولا للأنواع الأوكسجينية النشطة، يؤدي إلى تبدل في حالة redox وإلى حدوث اضطراب في الإستجابة للأنسولين لقد أدى تعريض الخلايا الدهنية (adipocytes 3T3-L1) لتراكيز بيروكسيد الهيدروجين (بالمليمول) إلى تبدل في مسلك وضع إشارات الأنسولين (signalisation de l'insuline) وإلى إنخفاض معنوي في نقل الجلوكوز عند الإستجابة للأنسولين. تعود هذه التأثيرات الضارة جزئيا إلى تنشيط إنزيمات الفوسفاتاز المثبطة لعمل الأنسولين (Rudich et al.,1999 ; saltiel et al., 2002). بالإضافة إلى ذلك، فإن الزيادة في بيروكسيد الهيدروجين يسبب أيضا خللا في الإرتباط بين IRS و PI 3-kinase (Nomiya et al. ;2004). كذلك، إنتاج سيتوكينات الإلتهاب و تنشيط مناهج الجهد التأكسدي يساعد على إزالة فسفرة بقايا التيروسين و فسفرة بقايا السيرين لمستقبل الأنسولين و IRS، اللذان هما أليتان متدخلتان في ظاهرة المقاومة للأنسولين (Evans et al.,2003 ;Cai et al.,2005).

إن معظم الدهون المتركمة في الخلايا الكبدية هي عبارة عن جليسيريدات ثلاثية. نظرا لحالة مقاومة الأنسولين، تصبح عملية تحلل الدهون على مستوى النسيج الدهني غير مثبطة بواسطة الأنسولين مما يرفع من تراكيز الأحماض الدهنية غير المؤسترة (AGNE) التي تحرر في الدورة الدموية و يتم إلتقاطها من طرف الكبد. بالموازات مع ذلك، هناك تخليق لأحماض دهنية جديدة إنطلاقا من الجلوكوز عن طريق منهج الليبوجينيز الكبدي تحت تأثير إرتفاع نسبي السكر و الأنسولين في الدم (Robichon et al.,2008). نتيجة لهذا الإفراط الأيضي فإن AGNE التي لم تفرز في شكل VLDL تتراكم في الخلايا الكبدية مسببة Stéatose. كذلك، فالإنخفاض المعتبر للأكسدة بيتا نتيجة الخلل الوظيفي للميتوكوندريات يؤدي إلى تراكم الأحماض الدهنية غير المؤسترة جيدا مكونة مستحلبات الجليسيريدات الثلاثية في شكل حويصلات دهنية بواسطة عملية الأكسدة الليبيدية التي تعتبر العامل الأساسي لـ steatose الكبدية .

تراكم الدهون كان مرفوقا بظاهرتي التنكز و الإلتهاب وهي خصائص مميزة للإصابة الكبدية steatohepatite. ويفسر ذلك بأن زيادة مخزون الحديد في الكبد قد أحدث جهدا تأكسديا أدى إلى إنتاج مذهب للجذور الحرة السامة التي زادت من تحفيز عملية الأكسدة الليبيدية ملحقة بذلك أضرارا بالأغشية الخلوية، النووية و الميتوكوندريية مما أدى إلى نخر الخلايا الكبدية وأيضا تحرير مواد مثل السيتوكينات، الأنترلوكينات و جزيئات الإلتصاق المتسببة في إنطلاق التفاعل الإلتهابي (إرتشاح الكريات البيضاء).

تلعب خلايا kupffer دورا أساسيا في فيزيولوجية مرض steatohépatite حيث تنبه بواسطة الحديد و ROS ويؤدي تنشيطها إلى تحرير العديد من السيتوكينات المحفزة للإلتهاب من بينها TNF- α ، IL1، IL6 و TGF β بالإضافة الى MIP-2 الذي هو عبارة عن عامل جذب كيميائي (chimokine) قوي يعمل على تجنيد الخلايا المتعادلة (Naveau et al.,2001). يؤدي إنتاج هذه الوسائط إلى إنطلاق سلسلة من التفاعلات بمشاركة مختلف الأنواع الخلوية الواقعة في الكبد (خلايا المونوسيت، الخلايا المتعادلة، الخلايا النجمية والخلايا الطلائية المبطنة).

تراكم الحديد له تأثير منبه على إنتاج ROS من قبل خلايا kupffer حيث يحتمل أن ROS تلعب دور رسول ثان لتنشيط عامل النسخ NFkB الذي ينظم عمل المورثات المشاركة في الإستجابة الإلتهابية و منها الحث على إنتاج TNF- α و MIP-2. لقد تم إظهار أن المعالجة خارج العضوية (ex-vivo) بمادة مخلبية لحديد خلايا kupffer لجرذان جرعت بالإثانول قد ثبت تنشيط NFkB وأيضا نسخ ARNm لعامل TNF- α (Lin et al.,1996). هذه النتائج تؤكد دور الحديد غير الهيمي في تنشيط NFkB و في حث السيتوكينات المسببة لمرض إلتهاب الكبد الحاد.

يتسبب TNF- α في إنتاج جذور السيبيروكسيد السامة بواسطة ميتوكوندريات الخلايا الكبدية وهذه الجذور هي المسؤولة عن موت الخلايا عن طريق إتلاف الجزيئات الضخمة كالليبيدات، البروتينات و الـ ADN (Naveau et al.,2001). لقد وجد أن نضوب الجلوتاثيون الميتوكوندري بسبب إستهلاك الكحول يزيد من حدة تشكل الجذور الحرة و نكرزة الخلايا الكبدية المحرصة بواسطة TNF- α (Colell et al.,1998).

يتم مرور الخلايا المتعادلة عبر الطلائية المبطنه للشعيرات الدموية تحت تأثير عوامل الإنجذاب الكيميائية المفرزة من طرف الخلايا kupffer، مثل MIP-2، CINC و IL-8 (Jaeschke et al.,1997). يحث تحرير TNF- α و IL-1 من الخلايا kupffer على إنتاج جزيئات الإلتصاق الضرورية لهجرة الخلايا المتعادلة نحو منطقة الإلتهاب. من بينها جزيئات ICAM-1 و ICAM-2 على سطح الخلايا الطلائية المبطنه للجيوب الدموية، جزيئات L-selectine و β_2 -integrine على سطح الخلايا المتعادلة، و جزيئات ICAM-1 و β_2 -integrine على سطح الخلايا الكبدية (Gaeschke et al.,1997). عند وصول الخلايا المتعادلة إلى موقع الإستجابة الإلتهابية، تقوم من جهة بتخليق سيتوكينات الإلتهاب و الجذب الكيميائي التي تسمح بتجنيد خلايا متعادلة أخرى. من جهة أخرى تقوم بتحرير إنزيمات محللة للبروتينات و تشكيل مشتقات الأوكسجين النشطة (Naveau, 2001).

لاحظنا في هذه الدراسة أن التزويد بالزنك قد أدى إلى الحد من أنتشار الإلتهاب و عدم ظهور بؤر تنكز الخلايا الكبدية في حين أن نقصه قد زاد من إنتشار مساحات الإلتهاب و موت الخلايا الكبدية مما يدل على أن توفر الزنك له تأثير مضاد للإلتهابات. و يمكن أن يفسر ذلك بتأثير الزنك على مخزون الحديد الكبدية و بالتالي التقليل من عملية الأكسدة الليبيدية. لقد وجد في دراسة سابقة أن معالجة خلايا kupffer لجرذان جرعت بالكحول، بواسطة

مضادات أكسدة أو بعوامل ترفع من نسبة الجلوتاثيون أن ذلك كان يؤدي إلى تثبيط إنتاج $TNF\alpha$ و تنشيط NFKB (Naveau,2001). كما لوحظ أيضا في العديد من النماذج الحيوانية، أن التزويد بالزنك سمح بإختزال تليف الكبد لدى الجرذان المجرعة بالكحول (Petit et al., 2000).

الخاتمة و التوصيات

في هذه الدراسة تم التوصل الى تحقيق نموذج تجريبي لإفراط الحديد عل الجرذان الحوامل من سلالة Wistar albino و ذلك عن طريق حقنها تحت الغشاء البريتوني بجرعة 10مغ/كغ وزن، حيث لاحظنا أن التزويد بالحديد كان له تأثيرا ساما على صحة الجرذان الحوامل. ظهر ذلك من خلال انخفاض وزن الجرذان، تضخم الطحال و الكبد و ارتفاع نسبة الوفيات التي بلغت 27.27% . كذلك أثر على حصيلة التاكثر، حيث كان نمو الأجنة ضعيفا و ارتفع عدد الأجنة غير كاملة النمو.

على مستوى المؤشرات البيوكيميائية، سجل إنخفاض في تركيز الزنك وارتفاع في نسبة الحديد والفيريتين البلازميين. كذلك أثر التزويد بالحديد على حصيلة الدهون البلازمية حيث نتج عنه زيادة في تركيز الكوليسترول و الجليسيريدات الثلاثية. سجلنا في هذه الدراسة ارتفاعا معتبرا في نسبة MDA على مستوى كل من البلازما و الكبد لدى الجرذان المزودة بالحديد، وهو مؤشر يدل على تحفيز الحديد للأكسدة الفوقية لليبيدات. بالنسبة للأنظمة المضادة للأكسدة، لم نلاحظ أي تغير معنوي في نشاط كل من GPx و SOD على مستوى الكريات الحمراء. بينما سجل انخفاض معنوي طفيف في نشاط GPx البلازمي. كما أدى التزويد بالحديد إلى إنخفاض تركيز الفيتامين E و GSH في كل من البلازما و الكبد.

عند التزويد بالحديد و الزنك معا، سجلنا إنخفاضا في عدد الجرذان الميتة أثناء الحمل حيث انخفضت النسبة إلى 10.63% . كما لاحظنا تحسنا في وزن الأجنة واختزالا في عدد الأجنة المصابة مقارنة بالمجموعة المزودة بالحديد فقط. و على العكس من ذلك، فإن نقص الزنك في الغذاء زاد من الأثر السمي للحديد. مما يدل على أن توفر عنصر الزنك داخل العضوية، يقلل فعلا من سمية هذا العنصر.

فيما يخص المؤشرات البيوكيميائية، أدى التزويد بالزنك إلى تعديل الليبيدات البلازمية، حيث أصبح تركيز الكوليسترول و الجليسيريدات الثلاثية في المجموعة المزودة بالحديد و الزنك معا، لا تختلف معنويا مقارنة بالمجموعة الشاهدة. كما أدى إلى انخفاض تركيز MDA في كل من البلازما و الكبد و أصبح لا يختلف معنويا مع المجموعة الشاهدة. بينما نقص الزنك زاد من تركيز MDA. تدل هذه النتائج على أن الزنك كان له دورا في تثبيط الأكسدة الليبيدية المحفزة من طرف الحديد

التزويد بالحديد و الزنك معا، لم يؤثر معنويا على نشاط GPx و SOD في الكريات الحمراء لكنه حسن من تراكيز GSH في البلازما والكبد. بينما أدى نقص الزنك في الغذاء لدى الجرذان المزودة بالحديد إلى إنخفاض نشاط GPx البلازمي و SOD في الكريات الحمراء و زاد من إنخفاض تراكيز الفيتامين E و GSH .

من النتائج المحصل عليها في هذه الدراسة، نستخلص أن إفراط الحديد خلال فترة الحمل زاد من حدة الأوكسدة الفوقية لليبيدات نتيجة لزيادة إنتاج الجذور الحرة و أن الحديد لم يؤثر مباشرة على النظم الإنزيمية المضادة للتأكسد، وأن الجهد التأكسدي الناجم عن إفراط الحديد كان له مفعولا ضارا على صحة الجرذان و نمو أجنحتها. من جهة أخرى، تأكدنا في هذه الدراسة أن الزنك كان له دورا في الوقاية ضد الفعل السمي لإفراط الحديد أثناء الحمل و ذلك من خلال تثبيطه للأوكسدة الليبيدية و تحسينه للنظام المضاد للأوكسدة .

إذا عمنا هذه النتائج على الإنسان، يجب تجنب التزويد المفرط للحديد و لا نبالغ بخطر الإصابة بفقر الدم و التزويد العشوائي خاصة عند المرأة الحامل، لأنها تعاني في هذه الفترة من نقصان المغذيات الصغيرة المضادة للأوكسدة. لذلك ننصح بتحسين النظام الغذائي لتجنب فقر الدم الناجم عن نقص الحديد، وعدم اللجوء إلى التزويد بالحديد إلا في حالة النساء المعرضات لخطر فقر الدم عندما تكون نسبة الهيموغلوبين لديهن أقل من 10g/dl.

كما نقترح من خلال النتائج المحصل عليها في هذه الدراسة أن تزود المرأة الحامل المعرضة لفقر الدم بالحديد و الزنك معا لأن التزويد بالحديد تسبب في إنخفاض منسوب الزنك. كذلك إذا تعرض الإنسان لزيادة في الحديد، خصوصا أولئك الذين يعانون من الطلاسيميا أو الهيموغلوبين غير العادي يمكن معالجتهم بأخذ جرعات زنك محددة و مدروسة لإبطال سمية الحديد.

لمتابعة دراسة الأعراض الباتولوجية الناجمة عن إفراط الحديد أقترحنا في مشروع بحث هو على وشك إنطلاقه، إجراء دراسة تجريبية على أثر الفعل التأكسدي للحديد و علاقته بأمراض القلب و السرطان

المراجع

AHLSTON.A.B. AND JANTTY.M. Effects of various dietary iron level on rat reproduction and fetal chemical composition. *Ann.Acad.Sci.* 1969, 152:1-14.

AISEN P., WESSLING-RESNICK M., LEIBOLD E.A. Iron metabolism. *Curr Opin Chem Biol*, 1999, 3: 200-206.

ALLEN L., AHLUWALIA N. Improving iron status through diet: the application of knowledge concerning dietary iron bioavailability in human populations. John Snow ed., Inc./OMNI. Arlington, VA. 1997. 83p.

ALLEVA R., TOMASETTI M., BOMPADRE S., AND LITTARU P. Oxidation of LDL and their subfractions: kinetic aspects and COQ10 content. *Mol Aspects Med*, 1997; 18: 105-112.

AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION. Second report of the AIN Ad the Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J. Nutr.* 1980. 110: 1726.

ANDREWS N.C. Disorders of iron metabolism. *N. Engl J Med*, 1999, 341: 1986-1995.

ANDREWS, G.K. Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions. *Biochem. Pharmacol.* 2000; 59: 95-104.

ANTTINEN,H., RYHANEN,L. , PUISTOLA,U., ARRANTO,A., OIKARINEN,A. Decrease in liver collagen accumulation in carbon tetrachloride-injured and normal growing rats upon administration of zinc. *Gastroenterology*, 1984; 86: 532-539.

APGAR, J. Zinc and reproduction. *J. Nutr. Biochem.* 1992; 3: 266-278.

ARAUJO J.A., ROMANO E.L., BRITO B.E., PARTHE V., ROMANO M., BRACHO M., MONTANO R.F. & CARDIER J. Iron overload augments the development of atherosclerotic lesions in rabbits. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1995; 15: 1172-1180.

ARNAUD J. Cours international de perfectionnement sur les oligo-éléments .Monastir (Tunisie) 15-18 avril 1998.

ARNAUD,J., FAVIER,A. Le zinc. In : Les oligo-éléments en médecine et en biologie. Coordonnateur P.Chappuis. Ed Lavoisier TEC & DOC, 1991 ; 347-388.

ARNAUD,J., FORTIS,I., BLACHIER,S., KIA,D., FAVIER,A. Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, 1991; 572: 103-116.

ARTHUR J.R. The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci.* 2000; 57: 1825-35.

ARUMA O.I., BOMFORD A., POLSON R.J., HALLIWELL B. Non transferrin bound iron in plasma from hemochromatosis patients : effect of phlebotomy therapy. *Blood*,1988,72: 1416-9.

- AUGUSTO O. , BONINI M.G., AMANSO A.M., LINARES E., SANTOS C.C., DE MENEZESS.L.** Nitrogen dioxide and carbonate radical anion : two emerging radicals in biology. *Free Radical in Biology and Medicine*,2002,32 : 841-859.
- BALTACI,A.K., SUNAR,F., MOGULKOC,R. & OZTEKIN,E.** Effect of zinc deficiency and supplementation on lipid peroxidation of renal tissue in ovariectomized rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2004; 101: 231-239.
- BANCI,L.,BENEDETTO,M.,BERTINI,I.,DELCONTE,R.,PICCIOLI,M. AND VIEZZOLI,M.S.** Solution structure of reduced monomeric Q 133M2 copper, zinc superoxide dismutase (SOD) a dimeric enzyme? *Biochemistry*. 1998; 37; 1780- 91.
- BARBER S.C., MEAD R.J., SHAW P.J.** Oxidative stress in ALS: a mechanism of neurodegenerating and a therapeutic target. *Biochim Biophys*. 2006; 1762(11-12): 1051-67.
- BARONDEAU D.P.,KASSMANN C.J.,BRUNS C.K.,TAINER J.A. AND GETZOFF E.D.** Nickel superoxide dismutase structure and mechanism. *Biochemistry*. 2004 ;43 : 8038-47.
- BARTAL,M., MAZOR,D., DVILANSKY,A. & MYERSTEIN,N.** Iron deficiency: Recovery from in vitro oxidative stress. *Acta Haematologica*, 1993; 90: 94-98.
- BARTZOKIS G., CUMMINGS J., PERLMAN G., HANCED.B., MINTZ J.** Increased basal ganglia iron levels in Huntington disease. *Arch Neurol*. 1999; 56(5): 569-74.
- BATES J., McCLAIN C.J.** The effect of severe zinc deficiency on serum levels of albumin, transferrin, and prealbumin in man. *Am.J.Clin.Nutr*. 1981; 34:1655-60.
- BEARD J.L., DAWSON H., PINERO D.J.** Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutr Rev*, 1996, 54: 295-317.
- BEDIZ, C.S., BALTACI, B.A., MOGULKOC, R. AND OZTEKIN, E.** Zinc supplementation ameliorates electromagnetic field-induced lipid peroxidation in the rat brain. *Tohoku J. Exp. Med*. 2006; 208: 133-140.
- BELETSKY,I.P., MATYASOVA,J., NIKONOVA,L.V., SKALKA,M., UMANSKY,S.R.** On the role of Ca, Mg-dependent nuclease in the postirradiation degradation of chromatin in lymphoid tissues. *Gen Physiol Biophys* 1989; 8: 381-398.
- BERBER,M.M.** Les oligo-éléments-Quoi de neuf? Forum Med Suisse N°31 30 juillet 2003 pp720-726.
- BERNHARD,W.R., VASAK,M., AND KAJI,J.H.** Cadmium binding and metal cluster formation in metallothionein: a differential modification study: EXS. 1987;52: 243-246.
- BETTGER,W.J., O'DELL,B.D.** A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. *Life Sci*, 1981; 28: 1425-1438.

- BETTGER,W.J., REEVES,P.G., SAVAGE,J.E., O'DELL,B.D.** Interaction of zinc and vitamin E in the chick. *Oroc Soc Exp Biol Med*, 1980; 163: 432-436.
- BHATNAGAR,S., TANEJA,S.** Zinc and cognitive devepoment. *Br J Nutr* 2001; 85(supp12):s139-s145.
- BLOXMAN,D.L., WILLIAMS,N.R., WASKETT,R.J.D., PATTINSON-GREEN,P.M., MERARJI,Y. AND STEWART,S.G.** Maternal zinc during oral iron supplementation in pregnancy: a preliminary study. *Clin Sci*. 1989; 76: 59-65.
- BOREK C.** Antioxidants and cancer. *Sciense & medicine* . 1997, 52: 778-790.
- BORS W., HELLER W., MICHEL C., SATAN M.** Flavonoids as antioxidants : determination of radical-scavenging-efficiencies. *Methods in Enzymology*, 1990, 186:p343.
- BOURGEOIS,C.** Determination of vitamin E: tocopherol and tocotrienols. Elsevier Aplied Science,London, 1992; 162p.
- BRANDSCH C., RINGSEIS R., AND EDER K.** High dietary iron concentration enhance the formation of cholesterol oxidation products in the liver of adult rats fed salmon oil with minimal effects on antioxidant status. *J. Nutr.*2002; 132: 2263-2269.
- BRANDSCH.C., RINGSEIS.R.AND EDER.K.** High dietary iron concentration enhance the formation of cholesterol oxidation products in the liver of adult rats fed salmon oil with minimal effect on antioxidant status.*J.Nutr.*2002,132 : 2263-2269.
- BRAY,T.M. AND BETTGER,W.J.** The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radical radical Biol. Med.* 1990; 8: 281-291.
- BRAY,T.M., KUBOW,S., BETTGER,W.J.** Effect of dietary zinc on endogenous free radical production in rat lung microsomes. *J Nutr.*1986; 116: 1054-1060.
- BRISSOT P., PIGEON C., MOIRAND R. ET AL.** Le métabolisme du fer et son exploitation en biologie clinique. *Ann Biol Clin*, 1998, 56 : 5-10.
- BRISSOT P., WRIGHT T.L., MA W.L., WEISIGER R.A.** Efficient clearance of non-transferrin –bound iron by rat liver .Implication for hepatic iron loading in iron overload states. *J Clin Invest*, 1985,76: 1463-70.
- BRUNET S, THIBAUT L., DELVIN E., YOTOV W., BENDAYAN M., & LEVY E.** Dietary iron overload and induced lipid peroxidation are associated with impaired plasma lipid transport and hepatic sterol metabolism in rats. *Hepatology*. 1999; 29: 1809- 1817.
- BUCKLEY,W.T.** Trace elements dynamics. In: J.P.E. D’Mello (eds), Farm animal metabolism and nutrition, CABI Publishing, Edinburgh, Uk,161-182.
- BUNK,M.J., DNISTRIAN,A.M., SCHWARTZ,M.K. AND RIVLIN,R.S.** Dietary zinc deficiency decreases plasma concentration of vitamin E. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1989; 190: 379-384.

BUREAU.L., FIELDS.M., LEWIS.C.G. Dietary components that raise hepatic iron are potential risk factors for cardiovascular disease and myocardial injury in rats.*Environmental & Nutritional.*1998, 2 :21-34.

BURREAU L., FIELDS M., LEWIS G.G. Dietary components that raise hepatic iron are potential risk factor for cardiovascular disease and myocardial injury in rats.*Environnemental & Nutritional interactions.* 1998;2: 21-34.

CADET J., BELLON S., BERGER M., BOURDAT A.G., DOUKI T., DUARTE V., FRELON S., GASPARUTTO D., MULLER E., RAVANAT J.L., SAUVAIGO S. Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases. *Biol. Chem.*, 2002, 386(6);, p.93.

CADET, E., GADENNE, M., CAPRON, D., ROCHETTE,J. Données recentes sur le métabolisme du fer : un état de transition. *Rev Med Intern.* 2005; 26:315-24.

CAI,D.,YUAN,M., FRANTZ,D.F., MELENDEZ,P.A., HANSEN,L., LEE,J. AND SHOELSON,S.E. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of ikk-beta and NF-kappa B. *Nat Med.* 2005; 11: 183-90.

CALZADA, C., VERICEL,E., MITEL,B., COULON,L. AND LAGARDE,M. Ellosatetraenoic acid increases arachidonic acid availability in collagen primed platelets. *J. Lipid Res.* 2001; 42: 1467-1473.

CAMPUZANO V., MONTERMINI L., LUTZ Y. ET AL. Frataxin is reduced in Friedreich ataxia patients and is associated with mitochondrial membranes. *Hum Mol Genet.* 1997; 6: 1771-1780.

CARR,A.C., ZHU,B.Z. AND Frei,B. Potential antithrombotic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circ Res.* 2000; 87: 349-54.

CASANEUVA.E. & VITERI.F.E. Nutrition as a preventive strategy against adverse pregnancy outcome. Iron and oxidative stress. *J.Nutr.* 2003,133 :1700

CASANUEVA,E. VITERI,F.E. Iron and oxidative stress in pregnancy. *J nutr* 2003;133(suppl):1700s-8s.

CATTAN, D. Régulation de l'absorption du fer. Données nouvelles. EMC Hépatologie 2004

CHAI, F., TUANG-TRAN, A.Q., EVDOKIOU, A., YOUNG, G.P., ZALEWSKI,P.D. Intracellular zinc depletion induces caspase activation and p21Waf1/Cip1 cleavage in human epithelial cell lines. *J Infect Dis* 2000; 182 (suppl1) : s85-s92.

CHAPPUIS.P., FAVIER.A. Les oligo-éléments en médecine et en biologie.*Lavisier,Tec & Doc,Paris.*1995,474p.

- CHEN, K., SUH, J., CARR, A.C., MORROW, J.D., ZEIND, J. AND FREI, B.** Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000; 279: E1406-12.
- CHIESA R., MELISSANO G., CASTELLANO R., ET AL.** L'augmentation des LDL oxydées constitue-t-elle un marqueur biologique de haut risque des plaques athérosclérotiques de la carotide ? *Ann Chir Vasc* .1998, 12 : 1-9.
- CHIMIENTI, F., SEVE, M., RICHARD, S., MATHIEU, J., FAVIER, A.** Role of cellular zinc in programmed cell death: temporal relationship between zinc depletion, activation of caspases and cleavage of Sp family transcription factors. *Biochem Pharmacol* 2001; 62: 51-62.
- CHVAPIL M., STANKOVA L., ZUKOSKI C.T.** Inhibition of some function of polymorphonuclear leucocytes by in vitro zinc. *J.Labo.Clin. Med.* 1977; 89:135-146.
- CHVAPIL, M.** New aspects in the biological role of zinc : a stabiliser of macromolecules and biological membranes. *Life Sci*, 1973; 13: 1041-1049.
- CHVAPIL, M., PENG, Y.M., ARONSON, A.L., ZUKOSKI, C.** Effect of zinc on lipid peroxidation and metal content in some tissues of rats. *J Nutr* , 1974; 104: 434-443.
- CLARKE, I.S., LUI, E.M.K.** Interaction of metallothionein and carbon tetrachloride on the protective effect of zinc on hepatotoxicity. *Can J Physiol Pharmacol*, 1986; 64: 1104-1110.
- CNERNA-CNRS.** In : Les apports nutritionnels conseillés pour la population française. Paris : Tec & Doc Lavoisier ; 2001.p. 168-70.
- COLELL, A., GARCIA-RUIZ, C., MIRANDA, M., ARDITE, E., MARI, M., MORALES, A., ET AL.** Selective glutathione depletion of mitochondria by ethanol sensitizes hepatocytes to tumor necrosis factor. *Gastroenterology* 1998; 115 : 1541-51.
- CONNELL, P., YOUNG, V.M., TOBOREK, M., COHEN, D.A., BARVE, S., McCLAIN, C.J. ET AL.** Zinc attenuates tumor necrosis factor-mediated activation of transcription factors in endothelial cells. *J Am Coll Nutr* .1997; 16: 411-417.
- CONNOR J.R., SNYDER B.S., AROSINO P., LOEFFLER D.A., LE WITT P.A.** Quantitative analysis of isoferritin's in select regions of aged, Parkinsonian and Alzheimer's diseased brains. *J Neurochem.* 1995; 65: 717-24.
- CONTOR, A.b, OCKLIN, S.H.** Transcriptional regulation of erythropoiesis : an affair involving multiple partners. *Oncogene*, 2002; 21: 3368-3372.
- COOK J.D., REDDY M.D.** Efficacy of weekly compared with daily iron supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995; 62: 117-120.

COPPEN DE.RICHARDSON DE.COUSIN RJ. Zinc suppression of free radicals induced in cultures of rat hepatocytes by iron , t-butyl hydroperoxide, and 3-methylindole. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1988; 189: 100-109.

COPPEN,D.E., RICHARDSON,D.E, COUSINS,R.J. Zinc suppression of free radicals induced in cultures of rat hepatocytes by iron; t-butyl hydroperoxide, and 3-methylindol. *Pro Soc. Exp. Biol Med*, 1988; 189: 100-409

COUDERC R., BONNARDOT J.P., AND LARUELLE P. Biologie prospective. Pont à Mousson -France – 1989 ; pp : 577-600.

COUDRAY C., RICHARD M.J., LAPORTE F., FAURE P., ROUSSEL A.M., AND FAVIER A. Superoxide dismutase activity and zinc status: a study in animals and man. *Journal of Nutritional Medicine*. 1992; 3: 13-26.

COUDRAY,C., BOUCHER,F., RICHARD,M.J., ARNAUD,J., DE LEIRIS,J., FAVIER,A. Zinc deficiency, ethanol, and myocardial ischemia affect lipoperoxidation in rats.*Biol Trace Elem Res*, 1991; 30 : 103-117.

COULON, C., CALZADA,C., MOULIN,P., VERICEL,E. AND LAGARDE,M. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase / cytosolic phospholipase A₂ cascade in hydroperoxide-stressed platelets. *Free Radic Biol Med*. 2003;35 : 616-625.

COUSINS,R.J. Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev*. 1985; 65: 238-309.

COUSINS,R.J. ZINC. In: Filer,L.J. and Ziegler,E.E. (eds), Present knowledge in nutrition, 7th edition, Washington,29; 293-307.

CRAVEN C.M., ALEXANDER J., ELDRIDGE M., KUSHNER J.P., BERNSTEIN S., KAPLAN J. Tissue distribution and clearance kinetics of non-transferrin-bound iron in the hypotransferrinemic mouse: a rodent model for hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci* , 1987, 84: 3457-61.

CRICHTON R.R., WARD R J . Iron homeostasis. *Met Ions Biol Synt*, 1998, 35: 633-665.

CRICHTON R.R., WARD R.J. Iron homeostasis.*Met Ions Biol Syst* , 1998, 35: 633-65.

CURTIS A.R., FEY C., MORRIS C.M., BINDOFF L.A., INCE P.G., CHINNERY O.F. ET AL. Mutation in gene encoding ferritin light polypeptide causes dominant adult-onset basal ganglia disease *Nat Genet*. 2001; 28 (4): 350-4.

DALLMAN P. Tissue effects in furnace atomic absorption spectrometry. In: iron in *biochemistry and medicine*, 1974: 437-472.

DALTON T.P., SHERTZER H.G., PUGA A. Regulation of gene expression by reactive oxygen , *Signaling*, 2002, 14, p.879.

- DAR, M.S., TOWNSEND,S.M., WPPLES,W.R.** Protective effect of zinc against ethanol toxicity in mice. *J Toxicol Env Health*, 1986; 18: 41-48.
- DAVIES M.J.** Stable markers proteins damage and degradation by oxygen radicals : general aspects. *JBC*, 1987, 262: 9895-9901.
- DAVIES M.J.** Stable markers proteins of oxidant damage to proteins and their application in the study of human diseases. *Free Rad Biol Med*, 1999, 27: 1080-1086.
- DAWSON E.B., ALBERS J., Mc GRANITY W.** Serum zinc changes due to iron supplementation in teen age pregnancy. *Am. J.Clin. Nutr.*,1988; 58: 848-852
- DEBBAG A.J., MANNION K., LYNCH S.M., & FREI B.** The effect of iron overload on rat plasma and liver oxidant statut in vivo. *Biochem. J.* 1994; 300: 799 - 803.
- DeDOMENICO I.,McVEY WARD D., KAPLAN J.** Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked disorder. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(1): 72-81.
- DELABY,C., DEYBACH,J.C. AND BEAUTMONT,C.** L'hepcidine et le metabolisme du fer.La revue de médecine interne 2007 ; 28 : 510-512.
- DELATTRE,J., BEAUDEUX,J.L., ROUSSELOT,B.** Radicaux libres et stress oxydant : aspect biologique et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris 2005 ; p 1-405.
- DEMAEYER E.** Prévenir et combattre l'anémie ferriprive dans le cadre des soins de santé primaire. OMS éd. Genève, 1991.
- DHE-PAGANON S., SHIGETA R., CHI Y.I, ET AL.** Crystal structure of human frataxin. *J Biol Chem.* 2000; 275: 30753-30756.
- DIJKHUIZEN,M.A., WIERINGA,F.T., WEST,C.E. AND MARTUTI,S.** Effects of iron and zinc supplementation in Indonesian infants on micronutrient status and growth. *J. Nutr.* 2003; 131: 2860-2865.
- DOTSCH,J.,HOGEN.N., NYUL.Z., HANZE.J., KINNER.I., KIRSHBAUM.M. & RASCHER.M.** Increase in endothelial nitic oxide synthase and endothelin-1 mRNA expression in human placenta during gestation.*Eur.J.Obstetgynecol.Reprod.Biol.*2001,97 :163-167.
- DROGE W.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Cellular Physiol. Rev*, 2002, 82, p 47.
- EISENSTEIN R.S.** Interactioin of the hemochromatosis gene product HFE with transferrin receptor modulates cellular iron metabolism. *Nutr Rev*, 1998, 56: 356
- EL-KATIBS,M.T.** The role of inflammation on iron and erythropoietin resistance. *Journal of Nephrology and renal transplantation (JNRT)*, 2009; 2: 45-54.

EL-SOHEMY A., BAYLIN A., SPIEGELMAN D., ASCHERIO A., CAMPOS H.

Dietary and adipose tissue gamma tocopherol and risk of myocardial infraction .
Epidemiology , 2002, 13: 216-23.

ERIKSSON, U. J. The pathogenesis of congenital malformations in diabetic pregnancy.
Diabetes Metab. Rev. **1995**; 11: 63–82.

ERNSTER L., AND DALINER G. Biochemical, biophysiological and medical aspect of ubiquinone function. *BBA*,1995,1271: 195- 204.

EVANS,G.W. Normal and abnormal zinc absorption in men and animals the try orophan connection. *Nutr. Rev.* 1980; 38: 137-141.

EVANS,J.L., GOLDFINE,I.D., MADDUX,B.H. AND GRODSKY,G.M. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction?
Diabetes. 2003; 52: 1-8.

FACCHINI,F.S.,HUA,N.W., STOOHS,R.A. Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 931-939.

FAHN.S. , COHEN.R. The oxidant stress hypothesis in parkinson disease : evidence supporting it. *Ann Neurol* , 1992,32 : 804-812.

FAURE,H.S., FAVIER,A., AND PEYRIN,G.C. Zinc in surgery. *Journal of Nutritional Medicine.* 1992; 3: 129-136.

FAURE,P., ROUSSEL,A.M., RICHARDM,M.J., FOULON,T., GROSLAMBERT,P., HADJIAN,A., FAVIER,A. Effect of an acute zinc depletion on rat lipoprotein distribution and peroxidation. *Biol Trace Elem Res*, 1991; 30: 103-117.

FAVIER A. Relevance of trace element supplement in women of different ages. Therapeutic uses of trace element, editedby Nève et al. *Plenum Press*, New York, 1996; pp: 83-91.

FAVIER A. Stress oxydant et mécanismes cellulaires: effets délétères des radicaux libres et défenses antiradicalaires. 2è colloque international – Monastir- TUNISIE – 17- 18 Avril 1998.

FAVIER A. Zinc-ligand interactions and oxygen free radicals formation in Handbook on metal-ligand interactions in biological fluids. In: Berthon G ed. *Bioinorganic chemistry*. New York : Marcel Dekker,1995 : 876-887.

FAVIER A., MAJOURNAL,B.,LATURAZE,J. Données actuelles sur la biuchimie des oligoéléments. II Le zinc.*Lyon Pharmaceutique*,1990 ; 31 : 357-366.

FAVIER,A. Hormonal effects of zinc on growth in children. *Biol Trace Elem Res* 1992; 32: 383-398.

FAVIER,M., HININGER-FAVIER,I. Is systematic iron supplementation justified during pregnancy. *Gynecol Obset Fertil* 2004; 32: 245-50.

- FAVIER.A.E.** The role of zinc in reproduction hormonal mechanisms. *Biol. Trace Element Res.* 1992,32 :363-382.
- FEDER J.N., GNIRKE A., THOMAS W., TSUCHIHASHI Z., RUDDY D.A., BASAVA A., ET AL.** A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet*, 1996; 13: 399- 408.
- FEDER J.N., TSUCHIHASHI Z., IRRINKI A., LEE V.K., MAPA F.A., MORIKLANG E., ET AL.** The hemochromatosis founder mutation in Hha-H disrupts beta2- microglobulin interaction and cell surface expression. *J. Biol Chem*, 1997; 272: 14025-8.
- FELLAHI,E., KIMIAGAR,M., NAZARI,A., HASSANVAND,M.A. AND SEIFI,M.** Effect of zinc and iron supplementation on indicators of iron, zinc and vitamin A status of primary school children. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2007; 10: 1088-1092.
- FERNANDEZ-MADRID.P.,PRASAD.A.S.,OBERLEAS.D.** Zinc in collagen metabolism .in :Prasad AS ,Oberleas deds.Zinc and copper.New york :Academic Press.1976 :257-265.
- FERNANDEZ-REAL, J. M., LOPEZ-BERMEJO, A. & RICART, W.** Perspectives in diabetes: cross talk between iron metabolism and diabetes. *Diabetes* **2002**; 51: 2348–2354.
- FERREIRA A.L.A., MACHABO P.E.A., AND MATSUBARA L.S.** Lipid peroxidation, antioxidant enzymes and glutathione levels in human erythrocytes exposed to colloidal iron hydroxide in vitro. *Braz.J.Med.Biol.Res.* 1999; 32(6): 689-694.
- FERREIRA,A.L.A., MACHADO,P.E.A. AND MATSUBARA,L.S.** Lipid peroxidation, antioxidant enzymes and glutathione levels in human erythrocytes exposed to colloidal iron hydroxide in vitro. *Braz J Med Biol Res.* 1999; 32: 689-694.
- FILLEBEEN C., MITCHELL V., DEXTER D., BENAISSA M., BEAUVILLARIN J., SPIK G., ET AL.** Lactoferrin is synthesized by mouse brain tissue and its expression is enhanced after MPTP treatment. *Brain res Mol.* 1999; 72: 183-94.
- FINCH.C.A., HUBER.H.A., MILLER.L.R., JOSEPHSON.B.M., SHEPARD.T.H.AND BRUCE MACKLER.M.D.** Feta liron balance un the rat. *Amer.J.Clin.Nutr*, 1983,37 :910-17.
- FISCH.R.O. ET AL.** Potential toxicity of iron overload in successive generations of rats. *Am.J.Nutr.*1975,28 :136-139.
- FLEET J.C.** Identification of Nramp2 as an iron transport protein; another piece of the intestinal iron absorption puzzle. *Nutr Rev*, 1998, 56: 88-89.
- FLEMING M.D., ROMANO M.A., SU M.A. ET AL.** Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat : evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. *Proc Natl Acad Sci USA*,1998, 95: 1148-1153.
- FLEMING R.E., BACON B.R.** Orchestrtrion of iron homeostasis. *N Engl J Med* . 2005; 352: 1741-44.

FLEMING R.E., SLY W.S. Ferroportin mutation in autosomal dominant hemochromatosis : loss of function, gain in understanding. *J Clin Invest*, 2001; 108: 521- 528.

FLEMING R.E., SLY W.S. Ferroportin mutation in autosomal dominant hemochromatosis: loss of function, gain in understanding. *J Clin Invest*, 2001, 108: 521-522.

FONTECAVE M., PIERRE J.L. Activation et toxicité de l'oxygène. Principes des thérapeutiques antioxydantes. *Biol Soc Chim Fr*, 1991 , 128 : 505-520.

FOOD AND DRUG RESEARCH LABORATORIES. Teratologic evaluation of FDA 73-83(ferrous sodium pyrophosphate) in and rats. Unpublished report from food and drug research laboratories, Inc., Waverly.n.y., United States of America. Submitted to the World Health Organization by the United States Food and Drug Administration.(1975)

FOSSATI P.,PENCIPE L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*, 1982,28 :2077-2080.

FRANZISKA D.B. Régulation du métabolisme du fer. *Forum Med Suisse*, 2009, 9 (36) :630-3-632.

FRIDOVICH I. The trail to superoxide dismutase. *Protein Sci.* 1998; 7: 2688-90.

FRIDOVICH ,I. Hypoxiand oxygen toxicity .*Adv.Neurol.* 1979,26 :255-259.

GEISSER P. Iron therapy with special emphasis on oxidative strees. Vifor (International) Inc, 1998.

GEORGE,D.K., GOLD,W., McDONAD,G.A.,GOULEY,L.L., WALKER,N.I., WARD,P.J ET AL. Increased hepatic iron concentration in noalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology* 1998; 114 : 311-318.

GHIRLANDA G., ORADEL A., MANTA A.ET AL. Evidence of plasma CoQ10-lowering effect by HMG-CoA reductase inhibitors: a double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Pharmacol.* 1993,33:226-229.

GILLOOLY M., BOTHWELL T.H., TORRANCE J.D., MACPHAIL A.P., DERMAN D.P.,ET AL. Effects of organic acids, phytates and polyphenols on the absorption of iron from vegetables. *Br J Nutr*, 1983,49: 331-342.

GIROTTI ,A.W., THOMAS,J.P. ? JORDAN,J.E. Inhibitory effect of zinc II on free radical lipid peroxidation in erythrocyte membranes. *J Free Radical Biol Med*, 1985; 1: 395-401.

GOTO,T., KOMAI,M., SUZUKI,H., FURUKAWA,Y. Long-term zinc deficiency decreases taste sensitivity in rats. *J Nutr* 2001 ;131 : 305-310.

GUALLEANO M., AND PUNTA R. Role of an antioxidant on the erythrocytes resistance to lipid peroxidation after acute iron overload in rats. *Biochimical et Biophysica Acta.* 1995; 1271: 321-326.

GUNDER W.G., NARAYANAN S., WISSAR H., ZAWTA B. List of analytes ;pre-analytical variables . Brochure dans :Samples :From the patient to the laboratory . Darmstadt ;GIT Verlag.1996.

GUNSHIN H., MACKENZIE B., BERGER U.V. ET AL. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature*, 1997, 388: 482-488.

GUNSHIN H., MacKENZIE B., BERGER U.V., ET AL. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter . *Nature*,1997; 388: 482-488.

GUNTHER,T., HOLLRIEGL,V. Lipid peroxidation in mitochondria and microsomes from adults and fetal rat tissues. Effect of Zn deficiency, Fe, and Salicylate. *Biol Trace Elem Res*, 1989; 22: 165-177.

GUNTHER.T., GROSSRAN.R., HOLLRIEGL.V., AND VORMAN.J. Effect of Fe, salicylate and Zn on metallothionein and lipid peroxidation in vivo. *J.Trace.Elem.Electrolytes Health.Dis*, 1991,5 :95-100.

GUNZLER W.A., KREMERS H., FLOHEL L. An improved coupled test procedure for glutathione peroxidase in blood.*Z.Klin Chem Klin Biochem* ,1974,12 :444-448.

HADDAD JOHN G. Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors , *Annu. Rev Pharmacol. Toxicol.*, 1999,39,p. 67.

HALIWELL.B. & GUTTERIDGE.J.M. Free radicals in medicine and biology.2ndedition. Clarendon Press. Oxford.1999.

HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C. Free radicals in biology and medicine. Oxford: Oxford Univ. Press, 1989

HALLIWELL.B. Current status review : Free radicals, reactive oxygen species and human disease : a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Path*,1989 ,70: 737-757.

HARRIS,J.E. Hepatic glutathione, metallothionein and zinc in the rat on gestational day 19 during chronic ethanol administration. *J. Nutr.* 1990; 120: 1080-1086.

HATTORI I., NAKAMURA H., MASUTAI H. ET AL . Thioedoxin-dependant redox regulation – implication in aging and neurological diseases. Critical review of oxidative stress and aging. Vol II RG Cutler and H Rodriguez Eds. World Scientific 2003 pp 87-101.

HAZELL0T., JOHNSON I.T. IN vitro estimation of iron availability from a range of plant foods: Influence of phytate, ascorbate and citrate. *Br J Nutr*,1987,57: 223-234.

HEMMINKI L., RIMPELÄ U., YLÄ-OUTINEN A. Iron prophylaxis during pregnancy and infections. *J. Vit. Nutr. Res*, 1991; 61: 370- 371.

HENKEL,R., BITTNER,J., WEBER,R., HUTHER,F., MISKA,W. Relevance of zinc in human sperm flagella and its relation to motility. *Fertil Steril*, 1999; 71: 1138-1143.

HERBERG S., GALAN P. Assesment of iron deficiency in population. *Rev. Epidemiol. Santé publique*, 1985; 33: 228-239.

HERBERG S., PRESIOZI, GALA P., DEHEEGER M., DUPIN H. Apports nutritionnels d'un échantillon représentatif de la population du Val de Marne III. Ses apports en vitamines en minéraux et en vitamines. *Rev Epidémiol Santé Publ*, 1991 ; 39 : 245-261.

HERBERG,S., GALAN,P., PRESIOZI. La déficience en fer au cours de la grossesse en france. *Cah Nutr Diet* 2000 ; 35 : 13-23.

HERCBERG S. Evaluation du statut en fer des populations: choix des indicateurs et dimension du problème de la carence en fer en termes de santé publique. Thèse d'état en biologie génétique, Paris 1986.

HEZODE, C., DHUMEAUX,D. Fer et hépatopathies chroniques (en dehors de l'hémochromatose génétique et de l'hépatosidérose dysmétabolique). *Gastroentérologie Clinique & Biologique* 2000; 24: 82-87.

HIDER, R.C. Nature of non transferrin-bound iron. *Eur j Clin Invest*, 2002; 32: 50-54.

HILL,T., MEUNIER,N., ANDRIOLLO-SANCHEZ,M., CIARAPICA,D., HININGER-FAVIER,I., POLITO,A. ET AL.The relationship between the zinc nutritive status and biochemical markers of bone turnover in older European adults: the zenith study. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59 (suppl12):s73-s78.

HIRAYAMA K., YASUTAKE A. Free radicals and trace elements. *J Trace Elem Exp Med*.1998; 11: 209-217.

HOLVOET P., VANHAECKE J., JANSSENS S., VAN DE WERF F., AND COLLEN D. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery diseases. *Circul*, 1998, 98: 1487- 1494.

HUANG,J.S., MUKHERJEE,J.J., CHUNG,T., CRILLY,K.S., KISS,Z. Extracellular calcium stimulates DNA synthesis in synergism with zinc, insulin and insulin-like growth factor in fibroblasts. *Eur J Biochem* 1999; 266: 943-951.

HURLEY,L.S., AND SWENERTON,H. Congenital malformation resulting from zinc deficiency in rats. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1966; 123: 692-696.

HURRELL R.F. Bioavailability of iron. *Eur J Clin Nutr*,1997 51: 54-58.

HUYNEN M.A., SNEL B., BORK P. ET AL. The phylogenetic distribution of frataxin indicates a role in iron-sulfur cluster protein assembly. *Hum Mol Genet*. 2001; 10: 2463-2468.

- IMBERDORFS,R., RUHLIN,M., BALLMER,P.E.** Zinc- un olygoélément vital à grand potential. *Forum Med Suisse* 2010; 10: 764-768.
- INACG-WHO-UNICEF.** Guidelines for the use of supplements to prevent and treat iron deficiency anemia. In: Stoltz fus RJ, Dreyfus ML, EDs. Washington, DLI ILSI Press, 1998.
- INTERNATIONAL NUTRITIONAL ANEMIA CONSULTATIVE GROUP.** Guidelines for the eradication of iron deficiency. The nutrition foundation, NEW-YORK, 1977.
- IWASAKI.K., SALO.M.** Inhibitory effects of some heavy metal ions on taste nerve responses in mice. *Jpn. J. Physiol*, 1984,34 :907-918.
- JAESCHKE,H.** Cellular adhesion molecules: regulation and functional significance in the pathogenesis of liver disease. *AM J Physiol* 1997; 273: 602-11.
- JAESCHKE,H., SMITH,W.** Mechanisms of neutrophil-induced parenchymal cell injury. *J leukoc Biol* 1997; 61: 647-53.
- JENSEN-WAERN.M.,MELIN.L.,LINDBERG.R., JOHANNISSON.A.,PETERSON.L., WALLGREN.P.** Dietary zinc oxide in weaned pigs :effects on performance, tissue concentrations, morphology, neutrophil functions and faecal microflora. *Res. Vet.Sci.* 1998,64 :225-231.
- JOHN,J.H., JEANNE,I.R., THOMAS,F.X.C., THOMAS,N.B., JAMES,I.R., AND CHRISTINE,A.K.** Developmental effects and mineral interaction in rats fed textured vegetable protein. *Teratology* 1990; 42: 62-68.
- JÜRGENS G., HOFF H.F., CHISOLM G.M., ESTERBAUER H.** Modification of human serum low density lipoprotein by oxidation. Characterisation and pathophysiological implication. *Chem Phys Lipids*, 1987; 45: 315-336.
- KADIISKA M.B., BURKITT M.J., XIANG Q.H., AND MASON R.P.** Iron supplementation generates hydroxyl radical in vivo. *The Journal of Clinical Investigation Inc*, 1995; 96: 1653- 1657.
- KANG,H.S. AND MATSUO,T.** Effects of 4 weeks iron supplementation on haematological and immunological status in elite female soccer players. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2004; 13: 353-358.
- KARACAGIL,M., SADE,M., AND TURKAYILMAZ,R.K.** Effect of zinc ,arginine, fructose and seminal supernatant of normal semen on the triple ATPase activities of the spermatozoa from males with oligoasthenozoospermia. *Andrologia* 1985;17: 383-388.
- KAYNAR H., MERAL M., TURHAN H., KELLES M., CELIK G. AND AKCAY F.** Glutathione peroxidase, glutathione-s-transferase, catalase, xanthine oxidase, CU-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malandialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer. *Cancer Lett.* 2005; 227: 133-139.

- KE Y., QIAN Z.M.** Brain iron metabolism: neurobiology and neuro chemistry. *Prog Neurobiol.* 2007; 83(3): 149-73.
- KEEN, C.L.** Zinc deficiency and immune function. *Annu. Rev. Nutr.* 1990; 10:715-31.
- KEEN, C.L., AND HURLEY, L.S.** Effects of zinc deficiency on prenatal and postnatal development. *Neurotoxicology* 1987; 8(3): 379-388.
- KERKENI A.** Radicaux libres, systèmes antioxydants et pathologies oxydatives. Deuxième colloque international Eléments trace, radicaux libres et pathologies oxydatives. Monastir-Tunisie, 17-18 Avril 1998.
- KIRCHGESSNER, M., PAULICKS, B.R., ROTH, H.P.** Zinc in animal nutrition : function, deficiency, diagnosis, requirement, supply and absorption. *Ciencia e Investigacion Agraria.* 1993, 20 :182-201.
- KIRKEBOEN, K.A., & STRAND, O.A.** The role of nitric acid in sepsis-an overview. *Acta anaesthesiol. Scand.* 1999, 43 :275-288.
- KIRKMAN H.N., ROLFO M., FERRARIS A.M. AND GAETANI G.F.** Mechanism of protection of catalase by NADPH. *Kinetics and stoichiometry. J Biol Chem.* 1999; 274 : 13908-14.
- KIRKSEY, A., & TABACCHI, M.H.** Pyridoxine deficiency and iron metabolism in the pregnant rat : maternal responses. *J. Nutr.* 1967, 93 :229-240.
- KOHEN, J.J., DUKE, R.C.** Glucocorticoid activation of calcium-dependent endonuclease in thymocyte nuclei leads to cell death. *J Immunol* 1984; 132: 38-42.
- KOMAI, M., GOTO, T., SUZUKI, H., TAKEDA, T., FURUKAWA, Y.** Zinc deficiency and taste dysfunction ; contribution of carbonic anhydrase, a zinc-metalloenzyme, to normal taste sensation. *Biofactors*, 2000; 12: 65-70.
- KOTORV, A.N. & SHILINAN, M.** Effect of zinc metallothionein on lipid peroxidation in blood plasma and in mouse liver in acute alcoholic intoxication. *Ukr. Biokhim. Zh.* 1995; 67: 80-87.
- KOTTKE B.A.** Rôle of macrophage in lipid metabolism. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1987, 10(suppl.9): 57-510.
- KOUKAY N., FAVIER A.** Zinc et radicaux libres (étude in vitro). In : Le zinc en médecine et biologie. Paris : Technique et documentation, 1987 : 64-68.
- KOURY, M.J., SAWYER, S.T., BRAND, S.J.** New insights into erythropoiesis. *Curr Opin Hematol.* 2002; 9: 93-100.
- KREBS, N.F.** Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *J. Nutr.* 2000; 130(suppl): 1374s-1377s.

KREGEL K.C. Heat shock proteins : modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Appl Physiol*, 2002, 92: 2177-2186.

KRUSE-JARRES,J.D. The significance of zinc for humoral and cellular immunity. *J Trace Elem Electrytes Health Dis* 1989; 3: 1-8.

KRYSTAL R.G. Introduction. *Am.J.Med*,1991;91(suppl.3C): 1S-13S.

KUCHTA.B. Experiments and ultrastructural investigations on the mouse embryo during early teratogen-sensitive stages. *Acta anat.* 1982, 113:216-225.

KUHN L.C. Iron and gene expression: molecular mechanisms relating cellular iron homeostasis. *Nutr Rev*, 1998, 56: S11-S19.

LACHILI B., HININGER I., ARNAUD J., ROUSSEL A.M. Peroxydation lipidique accrue chez la femme enceinte supplementée en fer. 6^{ème} Forum Recherche. Lyon-Grenoble-Dijon 10 Avril 1997.

LACHILI B., ROUSSEL A.M., ARNAUD J., RICHARD M.J., BENLATRECHE C., AND FAVIER A. Plasma antioxidant trace element levels and related metalloenzymes in Algerian women: Impact of pregnancy. Therapeutic uses of trace elements, edited by Nève et al . Plenum Press, New York, 1996, pp: 203-205.

LACHILI,B., HININGER,I., FAURE,H., ARNAUD,J., RICHARD,M.J., FAVIER,A., AND ROUSSEL,A.M. Increased lipid peroxidation in pregnant women after iron and vitamin c supplementation. *Biological Trace Element Research.* 2001; 80: 1-8.

LACHILI,B. Etude du stress oxydant et de son origine nutritionnelle chez la femme algerienne, conséquences de la grossesse. Biologie,Médecine et santé.Université Joseph fourier Grenoble,2001

LAFOND J.L. & ARNAUD J. Métabolisme du fer. *La revue du praticien* ,2000, 50 : 945-949.

LAGENDIJK J., UBBINK J.B.,AND VERMAAK J.H. Measurement of the ratio between the reduced and oxidized forms of coenzyme Q10 in human plasma as a possible marker of oxidative stress. *J Lipid Res*,1996, 37: 67-75.

LAITY,J.H., LEE,B.M, WRIGHT,P.E. Zinc finger proteins: new insights into structural and functional diversity. *Curr Opin Struct Biol.* 2001; 11: 39-46.

LAO, T. T., TAM, K. F. & CHAN, L. Y. Third trimester iron status and pregnancy outcome in non-anemic women; pregnancy unfavourably affected by maternal iron excess. *Hum. Reprod.* **2002**; 15: 1843–1848.

LARSEN,K.S., AULD,D.S. Carboxypeptidase A: mechanism of zinc inhibition. *Biochemistry* 1989; 28: 9620-9625.

LAUFFER.R.B. Iron stores and the international variation in mortality from coronary artery diseases. *Medical Hypotheses*. 1992, 35 :96-102.

LEHCHILI B., ISABELLE,H. , FAURE,H., ARNAUD,J. RICHARD,M.J., FAVIER ,A., AND ROUSSEL,A.M. Increased lipid peroxidation in pregnant women after iron and vitamin C supplementation. *Biological Trace Element Research*, 2001;80:1-7.

LEHCHILI B. Modification des vitamines (vit A , E et β -carotène)et des oligo-éléments (Fer, Cuivre, Zinc et Sélénium) chez la femme enceinte de l'Est Algérien. Thèse de doctora en science Médicales.Université de Constantine 2000.

LEHTIMAKI T., LEEHTINEN S., SOLAKIVI T., ET AL. Autoantibodies against oxidized low density lipoprotein in patients with angiographically verified coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19: 23-27.

LIANG,L.J., MARET,W. & VALLE ;B.L. The ATP-metallothionein complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998a; 95: 9146-9149.

LIANG,L.J., MARET,W. & VALLE ;B.L. The glutathione redox couple modulates zinc transfer from metallothionein to zinc-depleted sorbitol dehydrogenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998b. 95: 3483-3488.

LIN,M., YIN,W., WANG,S.O., OHATA,M., PHAM,T.V., BRITTENHAM,G, ET AL. Iron dependency of kupffer cell NF-KB activation and cytokine expression in experimental ALD(abstract). *Hepatology*, 1996; 24: 185A

LIN.H.J., AND KIRKSEY.A. Effect of different levels of dietary iron on pregnancy superimposed upon growth in the rats. *Downloaded from j. nutrition.org.by on february 23.2010 :543-553*.

LONG,P.J. Rethinking iron supplementation during pregnancy . *J Nurse Midwifery* , 1995; 40: 36-40.

LONG,Y., SUN,C., WANG,C. Influences of iron overload on lipid peroxidation in rats and inhibiting effects of antioxidant vitamins. *Wei Sheng Yan Jiu* , 2003; 32: 209-11.

LOREAL O., TROADEC M.B., LOURRELAUD B., ET BRISSOT P. Le métabolisme du fer : de nouveaux gènes pour des pathologies historiques, FLAMMARION médecine – sciences- journée de diabétologie. 2002, Rennes, France. 44-54.

LOTZ J., HAFNER G., PRELLWITZ W. Reference study for ferritin assays. *Kurzmitteilung Clin lab* 1997,43(11) :993-994

LOWE,N.M., FRAZER,W.D., JACKSON,M.J. Is there a potential therapeutic value of copper and zinc for osteoporosis. *Proc Nutr Soc* 2002; 61:181-5.

MACPHAIL A.P., PATEL R.C., BOTHWELL.T.H., LAMPARELLI R.D. EDTA and the absorption of iron from food. *Am J Clin*, 1994, 59: 644-668.

MAIOLI M., PETTINATO S., CHERCHI G.M., GIRAUDI D., PACIFICO A., PUPITA G. & TIDORE M.G. Plasma lipids in beta-thalassemia minor. *Atherosclerosis*, 1989; 75: 245-248.

MARKLUND S. & MARKLUND G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J. Biochem* , 1974, 47 :469-474.

MARTIN A. Apports nutritionnels conseillés pour la population française ,édition Tec & Doc Lavoisier/ AFSSA, Paris , 3 édition , 2001.

MASTIER-DUMAS. Le fer: Agent pro-oxydant et facteur de risque ? Rappel de publication récentes. *Méd et Nutr* ,1996 ; T32, N° 1 : 38-40.

MATSUBARA,J. Alteration of radiosensitivity in metallothionein induced mice and a possible role of Zn-Cu-thionein in GSH-peroxidase system. *Exp. Suppl.* 1987; 52: 603-612.

MATSUBARA,J., SHIDA,T., ISHIOKA,K., EGAWA,S., INADA,T., MACHIDA,K. Protective effect of zinc against lethality in irradiated mice. *Environ Res*, 1986; 41: 558-567.

Mc CORD J.M. Iron, Free radicals , and Oxidative injury. *Seminars in Hematology*, 1998; 35 (1): 6-12.

McCORD J.M. Iron,free radicals and oxidative injury. *J.Nutr*, 2004; 134: 3171s-3172s.

McCORMIK,C.C., MENARD,M.P., & COUSINS,R.J. Induction of hepatic metallothionein by feeding zinc to rats of depleted zinc status . *Am. J. Physiol.* 1981; 240: E414-E421.

MCKIE A.T., BARROW D., LATUNDE-DADA G.O. ET AL. An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science*, 2001, 291: 1755-1759.

MCKIE A.T., MARCIANI P., ROLFS A. ET AL. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Molecular Cell*,2000, 5: 299-309.

MEHANASHO H., KANERVA R.L., HUDEPOHL G.R., SMITH K.T. Calcium bioavailability and iron-calcium interaction in orange juice. *J Am Coll Nutr*,1989, 8: 61-68.

MEISTER,A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant in animals. *J Biol Chem.* 1994; 269: 9397- 400.

MENARD,M.P., McCORMIK,C.C.,& COUSINS,R.J. Regulation of intestinal metallothionein biosynthesis in rats by dietary zinc. *J. Nutr.* 1981; 111: 1353- 1361.

MENEGHINI R. Iron homeostasis, oxidative stress and DNA damage. *Free Radical Biology & Medicine*, 1997; 23(5): 783-792.

MERAIHI,Z. Phosphatase alcaline du foie de fœtus de vache : caractérisation et purification au cours du développement fœtale (2 à 7 mois) propriété, influence des effecteurs métaboliques et organiques . Thèse de magister en biochimie 2004- ISN Université de constantine

MEZZETTI A., PIERDOMENICO S.D., COSTANTINI F., ROMANO F., DE CEZARE D., CUCCURULLO F., IMBASTARO T. ET AL. Copper/zinc ratio and systemic oxidant load : effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic Biol Med.* 1998; 25: 676-81.

MILLER,J., MCLANGLAN,A.D., KLUG,A. Repetitive zinc-binding domains in the protein transcription factor IIIA from *Xenopus* oocytes. *OMBO/* 1985; 4: 1609-1614.

MILMAN,N., GRANDAL,N., NIELSON,O.J., AGGAR,A.O. Serum erythropoietin during normale pregnancy : relationship to hemoglobin during normal and impact of iron supplementation in a longitudinal, placebo-controlled study on 118 women. *Int J Hematol,* 1997; 6: 159-168.

MIYAJIMA H.; NISHIMURA Y., MIZOGUCHI K., SAKAMOTO M., SHIMIZU T., HONDA N. Familial apoceruloplasmin deficiency associated with blepharospasm and retinal degeneration. *Neurology,* 1987; 35(5):761-7.

MOGHADASIAN M.H. Experimental atherosclerosis: a historical overview. *Life Sci,*2002; 70: 855-865.

MOIRAND,R, MORTAJI,A.M., LOREAL,O., PAILLARD,F., BRISSOT,P., DEUGNER,Y. A new syndrome of liver overload with normal transferring saturation. *Lancet* 1997; 349 : 95-7.

MOOS T., MORGAN E.H. The metabolism of neuronal and its pathogenic role in neurological disease: review. *Ann NY Acad Sci.* 2004; 1012: 14-16.

MORAN L.K., GUTTERIDGE J.M., QUINLAN G.L. Thiols in cellular redox signaling and control. *Curr Med Chem ,* 2001, 8: 763-772.

MUNOZ,E.C., ROSADO,J.L., LOPEZ,P., FURR,H.C. AND ALLEN,L.H. Iron and zinc supplementation improves indicators of vitamin A status of Mexican preschoolers. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71: 789-794.

MURA,C., RAGUENES,O., FEREC,C. HFE mutation analysis in 711 hemochromatosis probands: evidence for S65C implication in mild form of hemochromatosis.*Blood,*1999;93: 2502-2505.

NADJAR Y. Le metabolisme du fer participe-t-il à la physiopathologie de la sclérose latérale amyotrophique ? Etude des paramètres plasmatiques de l'implication du gène DMT1 sur le risque de survenue de la maladie. Thèse doctorat en Médecine, 2009 ; Paris

NAVEAU, S. Mécanisme de la réaction inflammatoire impliquée dans l'hépatite alcoolique aiguë expérimentale. *Gastroenterol Clin Biol* 2001 ; 25 : 135-143.

NEGRE-SALVAYRE A., HIRTZ C., CARRERA G., ET AL. A role for uncoupling protein as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation. *FASEB J*, 1997, 11 : 809-815.

NEMETH, E., TUTTLE, M.S., POWELSON, J., VAUGHN, M.B., DONOVAN, A., WARD, D.M., GANZ, T., KAPLAN, J. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*. 2004; 306: 2090-3.

NOMIYAMA, T., IGARASHI, Y., TAKA, H., MINEKI, R., UCHIDA, T., OGIHARA, T., CHOI, J.B. ET AL. Reduction of insulin-stimulated glucose uptake by peroxynitrites is concurrent with tyrosine nitration of insulin receptor substrate 1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 320: 639-47.

OHKAWA N. OHISHI N. YAGI. Assay of lipides peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem*. 1979 ; 95 : 351-358.

OHNO, H., DOI, R., YAMAMURA, K., YAMASHITA, K., LIZUKA, S., AND TANIGUSHI, N.A. Study of zinc distribution in erythrocytes of normal human. *Bull*, 1985; 50: 113-116.

OMARA, F.O. & BLAKLEY, B.R. The effect vitamin E is protective against iron toxicity and iron-induced hepatic vitamin E depletion in mice. *American Institute of Nutrition*, 1993; 1650-1655.

ONETA, C.M., DUFOUR, J.F. Non alcoholic fatty liver disease: treatment options based on pathogenic considerations. *Swiss Med Wkly* 2002; 132: 493-505.

OSKI F.A. The non hematologic manifestations of iron deficiency. *Am. J. Dis. Child.*, 1979; 133: 315-322.

OTEIZA, P.I., ADONAYLE, V.N. & KEEN, C.L. Cadmium induced testes oxidative damage in rats can be influenced by dietary zinc intake. *Toxicology*, 1999; 137: 13-22.

OZTURK, A., BALTACI, A.K., MOGULKOC, C., OZTEKIN, E. ET AL. Effects of zinc deficiency and supplementation on malondialdehyde and glutathione levels in blood and tissues of rats performing swimming exercise. *Biological Trace Element Research*, 2000; 94: 157-165.

OZTURK, A.O., BALTACI, A.K., MOGULKOC, R., OZTEKIN, E., SIVRIKAYA, A., KURTOGLU, E., AND KUL, A. Effects of zinc deficiency and supplementation on malondialdehyde and glutathione levels in blood and tissues of rats performing swimming exercise. *Biological Trace Element Research*. 2003; 94: 157-165.

PACKER L. Protective role of vitamin E in biological systems. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991, 53, p.1050s

- PALINSKI W., ROSENFELD M.E., YLA-HERTTUALA S., GURTNER G.C., SOCHER S.A., BUTLER S.W., PARHASARATY S., CAREW T.E., STEINBERG D., WITZTUM J.L.** Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* , 1989, 86: 1372- 1376.
- PARAT,M.O., RICHARD M.J., BEANI,J.C. & FAVIER,A.** Involvement of zinc in intracellular oxidant/antioxidant balance. *Biol Trace. Elem. Res.* 1997; 60: 187-204.
- PARK,J.A., KOH,J.Y.** Induction of an immediate early gene egr-1 by zinc through extracellular signal-regulated kinase activation in cortical culture: its role in zinc-induced neuronal death. *J Neurochem* 1999; 73: 450-456.
- PETERSON D.A., GERRARD J.M., PELLER J., RAO G.H.R., WHITE J.G.** Interaction of zinc and arachidonic acid. *Prostaglandins and medicine*, 1981; 6: 91-9
- PETIT;P. & ZARSKI,J.P.** Les steato-hépatiques non alcooliques. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 2000 ; 24 : 157-159.
- PFEIFER H., CONRAD M., ROETHLEIN D., KYRIAKOPOULOS A. ET AL.** Identification of a specific sperm nuclei selenoenzyme necessary for protamine thiol cross-linking during sperm maturation. *Faseb j.* 2001; 15: 1236-8.
- PINERO D.J., HU J., LOOK B.M., SCADUTO R.C., CONNER J.R.** Interleukin-1 beta increases binding of the iron regulatory protein and the synthesis of ferritin by increasing the labile iron pool. *Biochim Biophys. Acta* 2000; 1497(3): 279-88.
- PISANI T.,GEBSKI C.P.,LEARY E.T.,et al.** Accurate direct determination of low-density lipoprotein cholesterol assay. *Arch Pathol Lab Med*,1995 :119-127.
- POLI,G. , ALBINO,E. & DIANZANI,M.V.** The role of lipid peroxidation in liver damage. *Chem. Phys. Lipids* 1987; 45: 117-142.
- PORPO,G., DE SOUSA,M.** Iron overload. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4707-15.
- PORTER,J.B.,** Practical management of iron overload. *British Journal of haematology*, 2001; 115: 239-52.
- POULSEN,H.D., LARSEN,T.** Zinc excretion and retention in growing pigs fed increasing levels of zinc oxide. *Livest. Prod. Sci.* 1995 ;43 : 235-242.
- POWEL SAUL R.** The antioxidant properties of zinc. *American society for Nutritional Sciences.J.Nutr.*2000; 130: 1447s-1474s.
- PRAZAD,A.S., BECK,F.W., ENDRE,L., HANDSCHU,W., KUKURUGA,M., KUMAR,G.** Zinc deficiency affects cell cycle and deoxythymidine kinase gene expression in Hut-78 cells. *J Lab Clin Med* 1996; 128: 51-60.

PROCTOR P.H., REYNOLDS E.S. Free radicals and disease in man. *Physiol Chem Phys*, 1984, 16: 175-195.

QUANUNGO.S. & MUKHERJEA.M. Ontogenic profile of some antioxydands and lipid peroxidation in human placenta and fetal tissues *.Mol.Cell.Biochem.2000 ;215 :11-19.*

RATZIU,V., FROMENTY,B., PYONARD,T. Stéatopatie non alcoolique: 2 aspects physiopathologiques. *Hépto-Gastro* 2002 ; 9 : 199-207.

REBECCA D.CRAWFORD. Proposed role for combination of citric acid and ascorbic acid in the production of dietary iron overload: a fundamental cause of disease. *Biochemical and Molecular Medicine*, 1995, 54: 1-11.

REECE, E. A., HOMKO, C. J. & WU, Y. K. Multifactorial basis of the syndrome of diabetic embryopathy. *Teratology* 1996;54: 171–182

REED,B.R., AND CLARK,R.A. Cutaneous tissue repair practical implications of current knowledge. II *J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 919-941.

REHEMA,A., ZILMER,M., ZILMER,K., KULLIZAAR,T., VIHALEM,T. Could long-term alimentary iron overload have an impact on the parameters of oxidative stress? *Ann Nutr Metab.* 1998; 42: 40-43.

REUNANEN.A.,TAKKUNEN.H.,KNEKT.P.,SEPPANEN.R.&AROMAA.A. Body iron stores,dietary iron intake and coronary heart disease mortality.*J.Intern.Med.*1995,238 :223-230.

REVV,P.S., JONDREVILLE,C., DOURMAD,J.Y., NYS,Y. Le zinc dans l'alimentation du porc : oligoélément essentiel et risque potentiel pour l'environnement. *INRA Prod. Anim.*, 2003 ; 16 : 3-18.

REVV,P.S., JONDREVILLE.C., DOURMAD.J.Y., NYS.Y. Le zinc dans l'alimentation du porc : oligo-élément essentiel et risque potentiel pour l'environnement.*INRA Prod.Anim.* 2003,16 :3-18.

RICE-EVANS,C., BAYSAL,E., KONTOGHIORGHES,G.J.,FLYNN,D.M. & HOFFBRAND,A.V. Oxidative effects of iron on erythrocytes. *Free Radical Research Communications*, 1985; 1: 55-62.

RICHARD M.J., PORTAL B., MEO J., COUDRAY C., HADJION A. ET FAVIER A. Malondialdehyde kit evaluated for determining plasma and lipoprotein fractions that react with thiobarbituric acid. *Clin. Chem*, 1992, 38, 5 :704-709.

RIEU D. Fer et grossesse. *Arc Pédiatr* 1995 ; 2 : 1209-1218.

RISSANEN T.H., VOUTILAINEN S., NYSSONEN K., SALONEN R., KAPLAN G.A., SALONEN J.T. Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. *Am J Clin Nutr.* 2003, 77: 133-138.

ROBICHON,C., GIRARD.G. AND POSSTIC.C. L'hyperactivité de la lipogénèse peut elle conduire à la stéatose ? Implication de facteur de transcription ChREBP. *Médecine/Science* 2008 ;24 : 841-6.

ROE J.A., BUTLER A.B., SCHOLLER D.M., VALENTINE J.S. Differential scanning calorimetry of Cu, Zn superoxide dismutase. The apoprotein and its zinc-substituted derivatives. *Biochemistry*. 1988; 27: 950-958.

ROMERO.R. Intrauterine infection, premature birth and the fetal inflammatory response syndrome. *J.Nutr.*2003,133 :1668s-1673s.

ROSSMAN,T.G. & GANCHAROVA,E.I. Spontaneous mutagenesis in mammalian cells is caused mainly by oxidative events and can be blocked by antioxidants and metallothionein. *Mutat. Res.* 1998; 402: 13-110.

ROUSSEL,A.M., HININGER-FAVIER,I. Elements-trace essentiels en nutrition humaine; chrome, selenium, zinc, et fer. EMC(Elsevier Masson SAS, Paris), *Endocrinologie-Nutrition*, 2009 ; 10-359-B-10

RUCKER,R.B., LONNERDAL,B., KEEN,C.L. Intestinal absorption of nutritionally important trace elements . In: Johnson,L.R. (ed). *Physiology of the gastrointestinal tract* 1994; 2183-2202. Raven press, New York.

RUDICH,A., TIROSH,A., POTASHNIK,R., KHAMAISI,M. AND BASHAN,N. Lipoic acid protects against oxidative stress induced impairment in insulin stimulation of protein kinase band glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia*. 1999 ; 42 : 949-57.

RYTER S.F., TYRRELL R.M. the heme synthesis and degradation pathways : role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties. *Free Rad Biol Med*, 2000, 28: 289-309.

SACHET,P. Fer et grossesse : faut-il supplémenter toutes les femmes enceintes . In rapport des x èmes journée de technique avancées en gynécologie obstétrique et périnatalogie , 1995 ; 3 : 655-666.

SAKAGUCHI,S., LIZUKA,Y., FURUSAWA,S., ISHIKAWA,M., SATOH,S. & TAKAYANAGI,H. Role of Zn(2+) in oxidative stress caused by endotoxin challenge. *Eur. J. Pharmacol.* , 2002; 451: 309-316.

SALONEN J.T. High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern Finnish men. *Circulation* , 1992, 86: 803-811.

SALONEN J.T., NYSSONEN.K., KORPELA.H., TUOMILEHTO.J., SAPPANEN.R., AND SALONEN.R. High stored iron level are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern finnish men.*Circulation*.1992, 86 :803-811.

SALONEN J.T., YIÄ-HERTTUALA S , YAMAMOTO R. ET AL. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis.*The Lancet*,1992, 339: 883-887.

- SALTIEL,A.R. AND PESSIN,J.E.** Insulin signaling pathways in time and space. *Trends Cell Biol.* 2002; 12: 65-71.
- SANDSTEAD, H.H.** Zinc deficiency: a public health problem? *American Journal of diseases of children* 1991; 154: 853-859.
- SANDSTEAD, H.H.** Zinc in human disorders of mineral metabolism 1981; 1: 93-157.
- SARAZIN,M., ALEXANDRE,C. THOMAS,T.** Influence on bone metabolism of dietary trace elements, protein, fat, carbohydrates and vitamins. *Spine Joint Bone* 2000; 67: 408-18.
- SCHMUCK, A.** Carence en zinc et peroxydation lipidique chez le rat Wistar: Défenses antiradicalaires et étude in vitro de la capitation des LDL par le macrophage P 388 D₁. Thèse 26 juin 1992 Grenoble France.
- SCHROEDER,J.J., COUSIN,R.J.** Interleukin 6 regulates metallothionein gene expression and zinc metabolism in hepatocyte monolayer cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 3137- 3141.
- SCOTT P.H. , GERGER H.M., KENWART C., SCOTT P. WHARTON B.A.** Effect of gestational age and intra uterine nutrition on plasma transferrin and iron in the newborn. *Arch. Of Dis. Of Childh.*, 1975, 50: 796-798.
- SEMPOS.C.T.,LOOKER.A.C.,GILLUM.R.F.& makuc.d.m..**Body iron stores and the risk of coronary heart disease.*N.Engl.J.Med.*1994, 330 :1119-24.
- SEVE,M., FAVIER,A.** Metabolisme du zinc. *Encycl Med Chir.* 2002; 10: 359-D-10
- SIDHU,P., GARG,M.L. & DHAWAN,D.K.** Protective effect of zinc on oxidative stress enzymes in liver of protein-deficient rats. *Drug Chem. Toxicol*
- SILVANA M.L., RIBEIRO T., SILVA M.E., DEOCLECIO A., CHIANCA H., ET AL.** Iron overload in hypercholesterolemic rats affects iron homeostasis and serum lipids but not blood pressure. *J. Nutr.* 2003 January; 133: 15-20.
- SILVANAM.L., TURBINO- RIBERIRO., SILVA.M.E., CHIANACA.D.A., PULA.H., LEONARDO.M.C., COLOMBARIE., AND PEDROSAM.L.***J.Nutrition, 2003,133 :15-30.*
- SIMAN, C. M. & ERIKSSON, U. J.** Vitamin C supplementation of the maternal diet reduces the rate of malformation in the offspring of diabetic rats. *Diabetologia* 1997; 40: 1416–1424.
- SIOW,R.C., RICHARD,J.P., PEDLY,K.C., LEAKE,D.S. AND MANN,G.E.** Vitamin C protects human vascular smooth muscle cells against apoptosis induced by moderately oxidized LDL containing high levels of lipid hydroperoxides. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19: 2387-94.

SIVAN, E., REECE, A. E., WU, Y. K., HOMKO, C. J., POLANSKY, M. & BORENSTEIN, M. Dietary vitamin E prophylaxis and diabetic embryopathy: Morphologic and biochemical analysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1996; 175:** 793–799.

SJODIN T. , WESTUS Y.H., AND APPLE F.S. Biochemical formation during exercise. *Sport Med*, 1990, 10 :236-254

SMITH.J.W., TOKACH.M.D., GOODMAN.D.R.D., ET AL. Effects of the interrelationship between zinc and copper sulfate on growth performance of early-weaned pigs. *J.Anim.Sci.* 1997, 75 :1861-6.

SREEDHER,B., SUBRAMANIYAN,R. AND MADHAVAN NAIR,R. A protective role for zinc on intestinal peroxidative damage during oral iron repletion. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004; 318: 992-997.

SREEDHER,B., SUBRAMANIYAN,R., AND MADHAVAN NAIR,K. A protective role for zinc on intestinal peroxidative damage during oral iron repletion. *Biochemical and Biophysical Research communications* 2004; 318: 992-997.

STANKIEWICS J., PANTER S.S., NEEMA M., ARORA A., BATT C.E., BAKSHI R. Iron in chronic brain disorders: imaging and neurotherapeutics. 2007 Jul; 4(3): 371-386.

STOLTZFUS R., DREYFUSS M. Guidelines for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anemia. INAGG/WHO/UNICEF, 1998, 39p.

STOOKEY L.L. Ferrozine a new spectrophotometric reagent for iron . *Anal Chem*, 1970, 42 :779-781.

SUN J.Y., WENG L.J.FEU., XU Z.R., JING M.Y., FU.L.J., AND WANG J.F. Effect of dietary zinc levels on the activities of enzymes, weights of organs , and the concentrations of zinc and copper in growing rats. *Biological Trace Element Research.* 2005; 107: 159-165.

SUN.J.Y., GING.M.Y., WENG.X.Y., FU.L.J., XU.Z.R., ZI.N.T., AND WANG.J.F. Effects of dietary zinc levels on the activities of enzymes, weights of organs, and the concentration of zinc and copper in growing rats. *Biological Trace Element Research.* 2005, 107 :153-165.

SUSAN J. FAIRWEATHER-TAIT AND VIV PAYNE. The effect of iron supplements on pregnancy in rats given a low-zinc diet. *British Journal of Nutrition* (1984), 52, 79-86

SWANSON,C.A. AND KING,G.J.C. Zinc and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr.* 1987; 46: 763-71.

SWERDEL,M.R.& COUSINS, R.J. Induction of kidney metallothioneine and metallothionein messenger RNA by zinc and cadmium. *J. Nutr.* 1982; 112: 801-809.

SZEBENI J., ESKELSON C.D., CHVAPIL M. the effect of zinc on iron induced lipid peroxidation in different lipid systems including liposomes and micelles. *Physiol Chem Phys*, 1988, 20; 205-211.

TAHMAZ,L., GOKALP,A., KIBAR,Y., KOCAK,I., YALCIN,O. & OERCAN,Y. Effect of hypothyroidism on the testes in mature rats and treatment with levothyroxine and zinc. *Andrologica*, 2000; 32: 85-59.

TAKEHARA,Y., YODSHIOTA,T., SASAKI,J. Changes in the levels of lipoperoxides and antioxidant factors in human placenta during gestation. *Acta Med Okayama*. 1990; 44:103-111

TAKEYA R., AND SUMIMOTO H. Molecular mechanism for activation of superoxide-producing NADPH oxidases. *Molecules and cell*, 2003, 16 : 271-277.

TESTUD,A. Role de la vitamine E dans la prevention du risque cardiovasculaire. Thèse de doctorat en pharmacie 11 juillet 2001 Grenoble.

THORNALLEY P.J., VASAK M. Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochim Biophys Acta*, 1986, 827: 36-44.

TIETZE,F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: application to mammalian placenta and other tissues. *Analytical biochemistry* 1969; 27 : 502-522.

TROADEC, M.B., LOREAL,O., BRISSOT,P. Métabolisme du fer. EMC(Elsevier Masson SAS, Paris), *Endocrinologie-Nutrition* 2006 ;10-359-A-10

U,Z., WANG,LZHO., SONG,Z., SAARI,J.T.,MCCLAIN,C.J. ANDKANG,Y.J. Zinc supplementation prevents alcoholic liver injury in mice through attenuation of oxidative stress. *American Journal Pathology* 2005; 166: 1681-1690.

UDOMKESMALE,E., DHANAMITTA,S., SIRISINHA,S ET AL. Effect of vitamin A and zinc supplementation on the nutrition of children in northeast Thailand. *Am. J. Clin Nutr* 1992; 56: 50-57.

UNITED NATIONS ACCSCN. Third report on the world nutrition situation .Geneva, 1997.

URITSKI R., BARSHACK I., BILKIS I., GEBREMESKEL K., AND REIFEN R. Dietary iron affects inflammatory status in a rat model of colitis. *J.Nutr.* 2004;134: 2251-2255.

VALKO,M., MORRES,H. AND CRONIN, M. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*; 2005; 12: 1161-1208.

VALLEE,B.L., AULD,D.S. Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochemistry* 1990; 29: 5647-5659.

VAN KAMPEN E. AND ZIJLSTRA W. *Clin. Chem Acta* ,1961,6 :538-44

VELAZQUEZ,R.A., CALY,Y., SHI,Q., LARSON,A.A. The distribution of zinc selenite and expression of metallothionein-III mRNA in the spinal cord and dorsal root ganglia of the rat suggest a role for zinc in sensory transmission. *J Neurosci* 1999; 19: 2288-2300.

VERMET M. Le recepteur de la transferrine: role dans le metabolisme de fer et intérêt en biologie clinique. *Biol Clin.* 1999 ; 57 : 9-17.

VERRET.J. Toxic and teratogenic effects of GRAS salts. Unpublished reports from the United states food and drug administration. Submitted to the world health organisation by the United states food and drug administration.(1978).

VIATTE L., VAULONTS S. L'hépcidine : un nouveau regard sur le métabolisme du fer. *Hépatocastro*, 2005 ; 12 : 199-209.

VIDAILHET M. Apports nutritionnels conseillé pour les enfants et adolescents sportifs de haut niveau de performance , édition Tec & Doc Lavoisier/ AFSSA , Paris ,2004.

VULPE C.D., KUO Y.M., MURPHY T.L. ET AL. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet*, 1999, 21: 195-199.

WAHEED A., GRUBB J.H., ZHOU X.Y., TOMATSU S., FLEMING R.E., COSTALDI M .E. Regulation of transferrin-mediated iron uptake by HFE, the protein defective in hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002; 99: 3117-3122.

WHO. Iron deficiency : indicators assessment and strategies for prevention. Document WHO/NUT/96.12, Geneva, 1997, 29p.

WHO. Iron supplementation during pregnancy: why are not women complying? A revue of available information. Document WHO/MCH/90.5 Gen7ve 1990,48p

WIERINGA,F.T., DIJKHUIZEN,M.A., WEST,C.E. ET AL. Redistribution of vitamin A after iron supplementation in Indonesian infants. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003; 77: 651-657.

WILSON R.L. Zinc and iron in free radical pathology and cellular control. In : Zinc in human biology. Berlin : Springer-Verlag, 1988 : 147-172.

WOLTERS M., HERMANN S., GOLF S., KATZ N. AND HANY A. Selenium and antioxidant vitamin status of elderly German women. *Eur J Clin Nutr.* 2006; 60: 85-91.

WOOD Z.A., POOLE L.B., AND KARPLUS P.A. Peroxidation evolution and the regulation of hydrogen peroxide signaling. *Science.* 2003; 300: 650-653.

WOOD,R.J., ZHENG,J.J. High dietary calcium intakes reduce zinc absorption and balance in humans. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1803-9.

WRIGHT R.M., GINGER L.A., KOSILA N., ELKINS N.D., ESSARY B., Mc MANAMAN J.L., REPINE J.E. Mononuclear phagocyte xanthine oxidoreductase

contribute to cytokine –induced acute lung injury. *American journal of respiratory cell Molecular Biology*, 2006 ,30(40) : 479-490.

YAMADA T., TSUJIOKA Y., TAGUCHI J., TAKAHASHI M., TSUBOI Y., MOROO I., ET AL. Melanotransferrin is produced by senile plaque-associated reactive microglia in Alzheimer's disease, *brain Res.* 1999; 845(1): 1-5.

YIN,X.,WU,H., CHEN,Y. & KANG,Y.J. Induction of antioxidants By adriamycin in mouse heart *Biochem. Pharmacol.* 1998;56:87-93.

YOSHIKAWA T., YAMAMOTO Y., NAITO Y. Free radicals in chemistry . *Biology and Medicine* . Ed. Oica international, Londres,2000.

YOUNG,I.S., TROUTON,T.G., TURNEY,J.J., CALLENDER,M.E. AND TRIMBLE,E.R. Antioxidant stress and lipid peroxidation in hereditary hemochromatosis. *Free Radical Biol Med*, 1994; 16: 393-397.

YOUSEF,M.I., EL-HENDY,H.A., EL-DEMERDASH,F.M. & ELAGAMY,E.L. Dietary zinc deficiency induced-change in the activity of enzymes and the levels of free radicals, lipids and protein electrophoretic behavior in growing rats. *Toxicology*, 2002; 175: 223-234.

ZERIM,M., KARAKIL CLIK,A.Z., RIADAM,M., BAYDAS,G. Effect of intraperitoneally injected copper and zinc on plasma vitamin E concentration in dogs. *Trace Elements and Electrolytes*, 2003; 20: 192-195.

ZHANG,J.R., SCHERCH,H.M., HALL,E.D. Direct measurement of lipid hydroperoxides in iron-dependant spinal neuronal injury. *J. Neurochim.* 1996; 66: 355-366.

ZHOU B., WESTAWAY S.K., LEVINSON B. ET AL. A novel pantothenate kinase gene (PANK2) is defective in Hallervorden-Spatz syndrome. *Nat Genet.* 2001; 28: 345-212.

ZOUAGHLY., LACHIL.B., ACHIL.N., DERRI.S., BENLATRECHE.C. Effet tératogène de la carence en zinc : Etude expérimentale. *Jam.* 1998, 2 :78-85.

Online resources

Allain, p. fer – effets (2008)

http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Fer_2.php [consulté 2010]

Bordessoule,D.(2006). Les elements nécessaires à l'érythropoïèse

<http://www.hematolin.fr/LinkClick.aspx> [consulté 2010]

Favier A.(2003) Le stress oxydant :intérêt conceptionnel et experimental dans la compréhension des mécanismes, des maladies et potentiel thérapeutiques(decembre2003)

www.maomusique.com/uploaded/Joylulu/Favier.pdf [consulté 2008]

Zandecki M. (2007). Thrombocytoses réactionnelle et thrombocytemie essentielle

www.esculape.com/biologie/zz_thrombocytemies.pdf [consulté 2009]

الملحق

3. Méthodes de dosage

3.3. Dosage du fer plasmatique

Téchnique utilisée : methode guanidine/ferrozine

La cassette COBRAS INTEGRA Iron contient des réactifs de diagnostic *in vivo* destinés à la détermination quantitative du fer dans le sérum et le plasma (test IRON,0-058) sur les analyseurs COBAS INTEGRA 700/800.

Principe :

Le Fe(III) est séparé de la transferrine par le chlorhydrate de guanidine et réduit en Fe(II) par l'ascorbate et l'hydroxylamine. Les ions du fer bivalent forme avec la ferrozine un complexe chélaté rouge. Pour éliminer l'interférence des ions cuivre, ceux-ci sont liés à la thiourée.

L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration en fer. Elle déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 532 nm.

3.4. Dosage de ferritine plasmatique

Technique utilisée : methode « sandwich » utilisant des anticorps monoclonale anti-ferritine spécifique marqué à la bioyine.

Principe :

Méthode « sandwich », durée totale du cycle analytique : 18 minutes.

- 1^{ère} incubation : une prise d'essai de 10 µl d'échantillon est mise en présence d'un anticorps monoclonal anti-ferritine spécifique marqué à la biotine et d'un anticorps monoclonal anti-ferritine spécifique marqué au ruthénium. Il se forme un « sandwich ».
- 2^{ème} incubation : les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesuré par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une couche de calibration. Une courbe de référence est mémorisée dans le code-barres du reactif et est réajustée ; pour l'analyseur utilisé, par une calibration en deux points.

Ce test par électrochimiluminescence « ECLIA » s'utilise sur les analyseurs Elecsys 1010/2010 et MODULAR ANALYTICS E170 (module Elecsys).

3.5. Dosage du zinc par spectrophotométrie d'absorption atomique en flamme

Principe de l'absorption atomique

En résumant très brièvement le principe de la l'absorption atomique, on peut considéré que les éléments mis à l'état atomique (c'est-à-dire ni ionisé, ni excité) peuvent absorber certaines radiations lumineuses très étroites (qui sont les mêmes que celle que l'atome excité peut émettre).

En général, les appareils basées sur ce principe utilisent :

- des lampes cathode creuse ou les lampes sans électrodes pour émettre la radiation lumineuse
- un système optique et dispersif (momochromateur pour sélectionner la longueur d'onde).
- Une flamme ou un four chauffe par effet Joule pour porter par effet thermique les éléments à doser à l'état atomique.
- Un système de mesure.

1- Réactifs :

- Solution mère stock à 1g/l prête à l'emploi
- Solutions filles de 1 à 150 $\mu\text{mol/l}$ et de 2 à 50 $\mu\text{mol/l}$ dans l'HCl 0.1 Mole.
- Calibrants à 0 – 5 – 10 – 20 – et 30 $\mu\text{mol/l}$ dans l'HCl 0.1 M. Dilution au 1/5 de ces calibrants.

2- Manipulation :

- Dilution du sérum au 1/5 dans l'HCl 0.1M.
- Traiter de même façon un blanc eau désionisée, chacune des solutions de la gamme est un sérum de contrôle de qualité.

3- Réglage de l'appareil :

Spectrophotomètre :

- Lampe cathodique creuse momnoélémentzinc
- Longueur d'onde 213.9 nm .
- Fente 0.7mm
- Flamme : air-acétylène

4- Expression des résultats

Zinc plasmatique en $\mu\text{mol/l}$ = Zn en $\mu\text{g}/100\text{ml}$ x 0,153

Zinc Plasmatique en $\mu\text{g} /100 \text{ ml}$ = Zn en $\mu\text{mol}/$ x 6,538

3.12. Dosage des vitamines A et E par HPLC

Principe : après extraction par l'hexane et addition de l'étalon interne (acétate d' α -tocophérol), les vitamines A et e sont analysées par HPLC en phase inverse avec détection spectrophotométrique dans l'ultrat-violet. La séparation chromatographique se fait en mode isocratique avec une phase mobile à base d'acetonitrile, sur colonne C₁₈ polyfonctionnelle de 25 cm.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier la toxicité du fer par son impact sur la peroxydation lipidique pendant la grossesse et en même temps de connaître l'importance et l'effet du zinc dans la protection contre l'action oxydante du fer. Nous avons utilisé des rats femelles de la souche Wistar, pesant entre 180 et 220g. Les femelles fécondées sont réparties en quatre groupes. Chaque groupe est composé de 16 femelles fécondées. Le premier groupe (T) est utilisé comme témoin avec un régime équilibré en fer et en zinc. Le deuxième groupe(Fe) a le même régime plus une injection d'une dose de fer estimée à 10mgFe/kg de poids corporel, sous forme de gluconate ferreux. Le troisième groupe(Fe+Zn) a le même régime que le groupe témoin avec en plus une injection de la même dose du fer et du zinc à la dose de 100 μ molZnCl₂/kg de poids corporel. Le quatrième groupe(Fe-Zn) est soumis à un régime carencé en zinc et supplémenté en fer par la même dose précédente. Les rats ont été injectés toute les 48heures pendant 21 jours de la gestation.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que la supplémentation en fer a entraîné une réduction dans le gain de poids des rats, la quantité d'aliment prise par jour et une augmentation du poids relatif du foie et de la rate. Ainsi elle a causé la mort d'environ 27,27% des animaux. Le développement fœtal a été affecté avec un pourcentage de fœtus infectés de 17,24%. Concernant les paramètres biochimiques, la supplémentation en fer a conduit à une augmentation significative des concentrations plasmatiques de cholestérol, triglycérides, et de ferritine. Elle a également entraîné une augmentation des taux des MDA dans le plasma et le foie. Cependant la supplémentation en fer a conduit à une diminution significative de la concentration plasmatique de zinc et de la vitamine E, ainsi que la réduction de GSH plasmatique et hépatique. Par contre la supplémentation en fer et en zinc a entraîné la diminution du taux de mortalité et de la proportion des fœtus infectés. Elle a modifié les concentrations des lipides et des MDA dans le plasma et le foie, où elles sont devenues significativement non différentes par rapport au témoin. La supplémentation en fer ou en fer et zinc, dans les deux cas il n'y a pas eu de changement significatif dans l'activité de la SOD et GPx des globules rouges. Par contre, il y a eu une diminution significative de l'activité GPx plasmatique dans le groupe supplémenté en fer et le groupe supplémenté en fer et carencé en zinc

En conclusion, ces résultats confirment que les surcharges en fer durant la grossesse augmentent la gravité de la peroxydation lipidique et que le stress oxydant est accentué en cas de carence en zinc et diminué en cas de la supplémentation en zinc. Cela indique que l'effet délétère de la surcharge en fer peut être neutralisé par le zinc.

Mots clés : fer, zinc, interaction, peroxydation lipidique, radicaux libres, stress oxydant

Abstract

The objective of this research is to study the toxicity of iron by its impact on lipid peroxidation during pregnancy and at the same time knowing the importance and effect of zinc in protection against the oxidizing iron. The female rats of Wistar albino strain with average weights between 180-220g were used. The pregnant females were divided into four groups. Each group consisted of 16 females mated. The first group (T) was used as a control, who consumes a balanced diet with iron and zinc. The second group (Fe) obtaining the same diet and injected with a dose of iron estimated 10mgFe/kg body weight as ferrous gluconate. The third group (Fe + Zn) received the same food and injected both with the same dose of iron and zinc at a dose of 100 μ molZnCl₂/kg body weight. The fourth group (Fe-Zn) is subjected to a deficient diet supplemented with zinc and iron by the same previous dose. Rats were injected every 48 hours for 21 days of gestation.

The results obtained in this study show that iron supplementation resulted in a reduction in weight gain in rats, the amount of food taken per day and increased relative liver and spleen. Thus she caused the death of approximately 27.27% of the animals, well, its effect on fetal development, where the percentage of infected fetus has reached 17.24%. Concerning biochemical parameters, iron supplementation resulted in a significant increase in plasma cholesterol, triglycerides, and ferritin. It has also led to increased levels of MDA in plasma and liver. However, iron supplementation resulted in a significant decrease in plasma zinc and vitamin E and reducing plasma and hepatic GSH. Nevertheless the supplementation with iron and zinc reduced the rate of mortality and proportion of infected fetuses. Thus, it changed the concentrations of lipids and MDA in plasma and liver, where they are now not significantly different from control. The supplementation with iron or iron and zinc, in both cases there was no significant change in the activity of SOD and GPx in red blood cells. But, there was a significant decrease in plasma GPx activity in the group supplemented with iron and the group supplemented with iron and fed a zinc-deficient diet

In conclusion, these results confirmed that the iron overload during pregnancy increases the severity of lipid peroxidation and oxidative stress is exacerbated in case of zinc deficiency and decreased in case of zinc supplementation. This indicates that the deleterious effect of iron overload can be neutralized by zinc.

Keywords: iron, zinc, interaction, lipid peroxidation, free radicals, oxidative stress

الملخص

الهدف من هذا البحث هو دراسة سمية الحديد من خلال أثره على الأكسدة الفوقية للبيبيدات أثناء فترة الحمل و في نفس الوقت معرفة أهمية التزويد بالزنك في الحماية ضد الفعل التأكسدي للحديد. أستعملت في هذه الدراسة جرذان إناث من سلالة Wistar، يتراوح وزنها بين 180 و 220 غرام . قسمت الإناث الملقحة في اليوم صفر من الحمل إلى أربعة مجموعات، كل مجموعة مكونة من 16 أنثى ملقحة. المجموعة الأولى (T) أستعملت كشاهد، تحصل على غذاء محضر به كمية كافية من الحديد و الزنك. المجموعة الثانية (Fe) تحصل على نفس الغذاء بالإضافة إلى حقنها بالحديد بجرعة تقدر ب 10 مغ/Fe/ كغ من وزن الحيوان، على شكل جليكونات الحديدوز. المجموعة الثالثة (Fe+Zn) تحصل على نفس غذاء الشواهد و تم حقنها بنفس جرعة الحديد السابقة و بالزنك بجرعة تقدر ب 100 ميكرومول $ZnCl_2$ / كغ وزن الحيوان. المجموعة الرابعة (FE-Zn) تحصل على غذاء يفتقر للزنك (2 مغ Zn/ كغ غذاء) بالإضافة إلى حقنها بنفس جرعة الحديد السابقة. كانت تحقن الجرذان في كل 48 ساعة لمدة 21 يوم من الحمل.

أوضحت النتائج المحصل عليها في هذه الدراسة، أن الحقن بالحديد تسبب في إنخفاض كل من الوزن المكتسب والغذاء المستهلك يوميا والزيادة في الوزن النسبي للكبد والطحال كما تسبب في موت حوالي 27.27% من الحيوانات. بالإضافة إلى تأثيره على نمو الأجنة، حيث وصلت نسبة الأجنة المصابة إلى 17.24% . على مستوى المؤشرات البيوكيميائية، أدى التزويد بالحديد إلى زيادة معنوية في التراكيز البلازمية للكولسترول، الجليسيريدات الثلاثية، الفيريتين. كذلك تسبب في ارتفاع في نسبة MDA البلازمي و الكبد في حين أدى إلى إنخفاض معنوي في التراكيز البلازمية للزنك والفيتامين E وكذلك إنخفاض GSH في كل من البلازما والكبد. على العكس من ذلك، أدى التزويد بالحديد والزنك معا إلى أنخفاض في نسبة الوفيات ونسبة الأجنة المصابة. كما أدى على مستوى المؤشرات البيوكيميائية، إلى تعديل تراكيز الليبيدات البلازمية وتراكيز MDA في البلازما و الكبد، حيث أصبحت لا تختلف معنويا مقارنة بالمجموعة الشاهدة. إن التزويد بالحديد أو التزويد بالحديد والزنك معا، في كلتي الحالتين لم يسجل أي تغير معنوي في نشاط GPx و SOD للكريات الحمراء. بينما سجل إنخفاض معنوي في نشاط GPx البلازمي لدى المجموعة المزودة بالحديد والمجموعة المزودة بالحديد ومنقوصة الزنك.

هذه النتائج تؤكد أن إفراط الحديد خلال الحمل يزيد من حدة الأكسدة الفوقية للبيبيدات وأن فعله التأكسدي كان له تأثيرا على صحة الجرذان و نمو الأجنة. كما تبين هذه النتائج أن الجهد التأكسدي يزداد في حالة نقص الزنك و ينخفض في حالة توفره مما يؤكد أن الزنك كان له مفعول وقائي ضد سمية الحديد.

الكلمات المفتاحية: iron, zinc, lipid peroxidation, interaction, free radicals, stress oxidant