مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الحادي والعشرون - المجلد الرابع - علوم الحياة - آيار 2023 م
doi.org/10.52866/esj.2021.04.21.07

دراسة معامل الارتباط لبعض متغيرات هرمونات الغدة الدرقية مع مضادات وميزان الاكسدة لدى الاشخاص المصابين بالسمنة في بغداد.

حنين أحمد زيدان ، أ.م. د. قصي نوري ردام المحمدي ، د. فراس فاضل فياض
الجامعة العراقية الجامعة العراقية / كلية التربية الجامعة العراقية / كلية الطب
كلية التربية / قسم علوم الحياة qussay.raddam@aliraqia.edu.iq

مستخلص:

شملت هذه الدراسة 32 حالة عشوائية من المصابين بالسمنة الذين يراجعون العيادات التخصصية الاهلية في بغداد وقد ثبت اصابتهم بالسمنة من خلال قياس وزن الجسم ، ومؤشر كتلة الجسم بالاضافة الى اجراء فحوصات وظائف الغدة الدرقية Thyroid Functions Test وقياس تراكيز مضادات وميزان الاكسدة (MDA, GSH, Gpx, SOD, LDH) Antioxidant Concentrations Tests لهم وقد اثبت الدراسة بان هناك علاقة ارتباط ضعيفة سالبة بين هرمون T3 [P = 2 , r = - 0.2905] وميزان الاكسدة [MDA] كذلك كان هناك علاقة ارتباط ضعيفة موجبة بين هرمون T3 [P = 2 , r = 0.225] وميزان الاكسدة [GSH] كما وتبين انه لاتوجد علاقة ارتباط بين الهرمونين TSH , T4 وبين ميزان ومضادات الاكسدة [MDA, GSH, Gpx, SOD, LDH] في هذه العينة المدروسة.

الهدف من البحث: معرفة فيما اذا كان هناك علاقة ارتباط بين هرمونات الدرقية [T3, T4, TSH] ومضادات الاكسدة [MDA, GSH, Gpx, SOD, LDH] لدى الاشخاص المصابين بالسمنة في بغداد.

النتائج: أكدت الدراسة على وجود علاقة ارتباط ضعيفة سالبة بين هرمون T3 ومضاد الاكسدة [MDA] كما وتوجد علاقة ارتباط ضعيفة موجبة بين هرمون T3 ومضاد الاكسدة [GSH] بينما لم تسجل هذه الدراسة علاقة ارتباط بين هرموني [T4, TSH].

الاستنتاجات: استنتجت الدراسة الى عدم وجود علاقة ارتباط معنوية قوية بين هرمونات الدرقية [T3, T4, TSH] وميزان / مضادات الاكسدة [MDA, GSH, Gpx, SOD, LDH] في هذه العينة المدروسة.

Study of the Correlation coefficient of some Thyroid Hormones Variables with Antioxidants and Oxidation Balance among Obese people in Baghdad.

By Haneen Ahmed Zaidan[1], D. Qussay Noori Raddam[2], D. Firas Fadhil Fayyadh[3]
[1] University / College of Education
[2]Aliraqia University / College of Education / department of biology, Baghdad, Iraq,
[3] University Lecturer at Aliraqia University / College of Medicine.
[2] Email: qussay.raddam@aliraqia.edu.iq
[3] Email: firas_fadhil78@yahoo.com

Abstract :

This study included 32 random cases of obese people who attended private specialized clinics in Baghdad, and it was confirmed that they were obese by measuring body weight, body mass index, in addition to conducting Thyroid Functions Test and measuring the concentrations of antioxidants and oxidation scales (MDA, GSH, Gpx, SOD, LDH) Antioxidant Concentrations Tests for them, and the study proved that there is a weak negative correlation between T3 hormone [P = 2, r = -0.2905] and the oxidation balance [MDA] as well as there was a weak positive correlation between T3 hormone [P = 2, r = 0.225] and the oxidation balance [GSH] and it was found that there is no correlation between the two hormones T4 and TSH and the balance of antioxidants [MDA, GSH, Gpx, SOD, LDH] in this sample.

The aim of the research: To find out whether there is a correlation between thyroid hormones [T3, T4, TSH] and antioxidants [MDA, GSH, Gpx, SOD, LDH] among obese people in Baghdad.

Results: The study confirmed the existence of a weak negative correlation between T3 hormone and the antioxidant [MDA], and there was a weak positive correlation between T3 hormone and the antioxidant [GSH], while this study did not record a correlation between the hormones [T4, TSH].

Conclusions: The study concluded that there is no strong significant correlation between thyroid hormones [T3, T4, TSH] and balance / antioxidants [MDA, GSH, Gpx, SOD, LDH] in this sample.

Keywords: Obesity, Correlation Coefficient, Thyroid Hormones, Antioxidants .

المقدمة :

تعرف السمنة Obesity حسب منظمة الصحة العالمية (WHO) بأنها تراكم غير طبيعي أو مفرط للدهون قد يلحق الضرر بالصحة. [1] كذلك يستخدم مصطلح Obesity للإشارة الى زيادة وزن الجسم عن الوزن الطبيعي والذي يُشار اليه من خلال مؤشر كتلة الجسم.(مؤشر كتلة الجسم Body Mass Index (BMI) والتي تحسب من خلال الوزن بالكيلوجرام مقسوماً على مربع الارتفاع بالأمتار). [2] والصيغة هي:

$$BMI = kg/m2$$

حيث (kg) هو وزن الشخص بالكيلوجرام و(m2) هو الطول بالمتر. [3] كما يمكن تعريف السمنة بأنها حالة عدم التوازن بين الطاقة المكتسبة والطاقة المستهلكة بمعنى آخر أن كمية السعرات الحرارية التي تدخل الى الجسم أعلى من كمية السعرات الحرارية التي يحتاجها الجسم للقيام بالفعاليات الحيوية لذلك يقوم الجسم بخزن السعرات الحرارية الفائضة عن حاجة الجسم الى دهون تخزن في الجسم وتترسب تحت الجلد والبطن والعضلات الكبيرة وتحيط بأجهزة الجسم الداخلية الحيوية مثل الأمعاء والقلب والشرايين. [4]

وحسب منظمة الغذاء والدواء الامريكية (Food and Drug Administration FDA) فان المقياس الطبيعي للوزن المثالي يكون فيه مؤشر كتلة الجسم BMI= 24 اما في حالة الزيادة عن الوزن المثالي فيكون مؤشر كتلة الجسم BMI= 26 اما اذا كان مؤشر كتلة الجسم BMI= 28 فهذا مؤشر على وجود السمنة. ومن قياس BMI= 30 فما فوق يسمى فرط سمنة. [5]

وترتبط بالزيادة الوزنية العديد من الحالات المرضية والتي منها أمراض القلب والأوعية الدموية ومرض السكري النوع 2 واضطرابات العضلات والعظام واضطراب وظيفة الجهاز التنفسي. [6] كما وتشارك هرمونات الغدة الدرقية Thyroid Hormones بشكل أساسي في توازن الطاقة والتمثيل الغذائي للدهون والجلوكوز وارتفاع ضغط الدم حيث أن الأشخاص الذين يعانون من انخفاض في وظائف الغدة الدرقية الطبيعية هم في خطر متزايد للإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية. [7]

أسباب السمنة: Causes of Obesity

تتطور السمنة عندما يتجاوز تناول الطاقة على مدى فترة طويلة من الزمن، مما يؤدي إلى تراكم الدهون في الجسم. ويتم تنظيم وزن الجسم من خلال منطقة ما تحت المهاد، وهناك العديد من التطورات الحديثة في فهم توازن الطاقة التي قد تساعد في فهم سبب إصابة بعض الأفراد بالسمنة، وتؤدي إلى علاجات جديدة. تساهم العوامل الوراثية والبيئية في تطور السمنة. يُظهر التحديد الأخير لعيوب الجين المفردة النادرة التي تسبب البدانة المبكرة الشديدة، مثل نقص هرمون اللبتين، أن العوامل الوراثية يمكن أن تكون عوامل تحديد قوية لكتلة الجسم. ومع ذلك، فقد شهدت السمنة زيادة سريعة في جميع أنحاء العالم في العقدين الماضيين، لذلك يبدو من غير المرجح أن يكون لهذا التغيير أساس وراثي. يبدو من المعقول أكثر أن الوزن المتزايد لمعظم السكان هو استجابة بيولوجية مناسبة لبيئة غير طبيعية، تتميز بسهولة توافر غذاء رخيص الثمن كثيف الطاقة إلى جانب انخفاض هائل في مستويات النشاط البدني لدى السكان. يتمثل التحدي في الوقاية من مرض السكري من النوع 2 في عكس هذه الاتجاهات، ومساعدة أولئك الذين يعانون من السمنة المفرطة بالفعل على تبني أسلوب حياة يشجع على فقدان الوزن، بما في ذلك اتباع نظام غذائي صحي ومزيد من النشاط البدني. [8]

مضادات الاكسدة: Anti-Oxidants

مضادات الأكسدة هي جزيء مستقر بدرجة كافية للتبرع بإلكترون لجذر حر هائج وتحييده، وبالتالي تقليل قدرته على الإضرار. تعمل مضادات الأكسدة هذه على تأخير أو تثبيط الضرر الخلوي بشكل رئيسي من خلال خاصية إزالة الجذور الحرة. يمكن لمضادات الأكسدة منخفضة الوزن الجزيئي أن تتفاعل بأمان مع الجذور الحرة وتنهي التفاعل المتسلسل قبل أن تتلف الجزيئات الحيوية. يتم إنتاج بعض مضادات الأكسدة، بما في ذلك الجلوتاثيون والأوبيكوينول وحمض البوليك، أثناء عملية التمثيل الغذائي الطبيعية في الجسم. توجد مضادات أكسدة أخف في النظام الغذائي. على الرغم من وجود العديد من أنظمة الإنزيمات داخل الجسم التي تزيل الجذور الحرة، إلا أن مضادات الأكسدة الأساسية للمغذيات الدقيقة (الفيتامينات) هي فيتامين E (α-tocopherol) وفيتامين C حمض الأسكوربيك وبيتا كاروتين .B-carotene لا يستطيع الجسم تصنيع هذه المغذيات الدقيقة، لذلك يجب توفيرها في النظام الغذائي. ركزت الأبحاث المبكرة حول دور مضادات الأكسدة في علم الأحياء على استخدامها في منع أكسدة الدهون غير المشبعة، والتي هي سبب التنانة. يمكن قياس نشاط مضادات الأكسدة ببساطة عن طريق وضع الدهون في وعاء مغلق به الأكسجين وقياس معدل استهلاك الأكسجين. ومع ذلك، كان تحديد الفيتامينات A و C و E كمضادات للأكسدة هو الذي أحدث ثورة في هذا المجال وأدى إلى إدراك أهمية مضادات الأكسدة في الكيمياء الحيوية للكائنات الحية. [9]

المواد وطرائق العمل:

بعد جمع عينات الدم Blood من الاشخاص المستهدفين في الدراسة بواقع 5 مل من كل شخص. في الفترة الواقعة بين 25 / أيلول / 2021 و لغاية 2 / تشرين الثاني / 2021 وكان عدد العينات (32) عينه مقسمة على (3) مجاميع إذ اشتملت المجموعة الاولى على (10) اشخاص والتي اعتبرت مجموعة السيطرة con-trol group حيث كان لديهم مؤشر كتلة الجسم يتراوح بين (18.5–24.9) اما المجموعة الثانية فاشتملت على(8) اشخاص الذين لديهم زيادة في الوزن ×Over weight والذين يتراوح لديهم مؤشر كتله الجسم بين (25.0–29.9) اما المجموعة الثالثة فقد اشتملت على (32) شخص ممن لديهم سمنة obesity وكان لديهم مؤشر كتلة الجسم من 30.0 أو أكثر.

قياس تركيز هرمونات الغدة الدرقية في الدم:

الاساس العلمي: يجري الفحص على مبدأ ساندويتش. المدة الإجمالية للمقايسة: 18 دقيقة. باستخدام جهاز كوباس سي 311 .(Cobas c 311)

الحضانة الأولى: يتفاعل 50 ميكرولتر من العينة، وهو جسم مضاد أحادي النسيلة TSH أحادي النسيلة، وجسم مضاد أحادي النسيلة TSH محدد مع مركب الروثينيوم ليشكل مجمع شطيرة.

الحضانة الأولى: 15 ميكرولتر من العينة ، يتفاعل جسم مضاد أحادي النسيلة T3 أحادي النسيلة حيوياً، وجسم مضاد أحادي النسيلة T3 ، T4 – مُسمى بمركب الروثينيوم لتشكيل مجمع شطيرة.

- الحضانة الثانية: بعد إضافة الجسيمات الدقيقة المطلية بالستربتافيدين ، يصبح المركب مرتبطًا بالمرحلة الصلبة عن طريق تفاعل البيوتين والستربتافيدين.
- يُسحب خليط التفاعل إلى خلية القياس حيث يتم التقاط الجسيمات الدقيقة مغناطيسيًا على سطح القطب الكهربي. يتم بعد ذلك إزالة المواد غير المقيدة باستخدام Pro Cell / Pro Cell M. ثم يؤدي تطبيق جهد على القطب الكهربائي إلى انبعاث مضيء كيميائي يتم قياسه

بواسطة مضخم ضوئي.

يتم تحديد النتائج عبر منحنى المعايرة وهو أداة تم إنشاؤها خصيصًا بواسطة معايرة نقطتين ومنحنى رئيسي يتم توفيره عبر الرمز الشريطي للكاشف أو الرمز الشريطي الإلكتروني.

الكواشف ومحلول العمل:

تحمل حزمة رف الكاشف TSH ، T4 ، T3.

M الجسيمات الدقيقة المطلية بالستربتافيدين (غطاء شفاف) ، زجاجة واحدة ، 12 مل:

الجسيمات الدقيقة المطلية بالستربتافيدين 0.72 مجم / مل ، مادة حافظة.

R1: Anti-TSH-Ab ~ البيوتين (غطاء رمادي) ، زجاجة واحدة ، 14 مل: جسم مضاد أحادي النسيلة مضاد لـ TSH (فأر) 2.0 مجم / لتر ؛ عازلة الفوسفات 100 مليمول / لتر ، ودرجة الحموضة 7.2 ؛ مادة حافظة.

R2: Anti-TSH-Ab ~ Ru (bpy) غطاء أسود، زجاجة واحدة ، 12 مل: جسم مضاد أحادي النسيلة مضاد لـ TSH (فأر / بشري) مُسمى بـ مجمع الروثينيوم 1.2 ملغم / لتر ؛ عازلة الفوسفات 100 مليمول / لتر، ودرجة الحموضة 7.2 ؛ مادة حافظة.

جمع العينات وتحضيرها:

يتم جمع المصل باستخدام أنابيب أخذ العينات القياسية أو الأنابيب التي تحتوي على هلام الفصل. K3 EDTA ، NH -heparin ، Na- ، Li- ، سترات الصوديوم وفلوريد الصوديوم / بلازما أكسالات البوتاسيوم. المعيار: الاسترداد في حدود 110-90٪ من قيمة المصل أو الميل 1.1-0.9 + التقاطع ضمن <± 2x حساسية تحليلية (LDL) + معامل الارتباط> 0.95. مستقر لمدة 7 أيام عند 8-2 درجة مئوية ، شهر واحد عند -20 درجة مئوية .7 تجميد مرة واحدة فقط.

حساب النتائج:

يقوم المحلل تلقائيًا بحساب تركيز التحليل لكل منها

العينة إما في pmol / L أو ng / dL أو ng / L.

عوامل التحويل: pmol / L x 0.077688 = ng / dL

نانوغرام / ديسيلتر pmol = 12.872 x / لتر

بمول / لتر × 0.77688 = نانوغرام / لتر. [10]

الاكسدة ومضادات الاكسدة Oxidative stress parameters & Anti-Oxidative

تقدير تركيز اللاكتات ديهيدروجينيز في مصل الدم

Lactate Dehydrogenase concentration in blood serum (LDH)

تم تقدير تركيز LDH في المصل باستعمال أختبار الاليزا (ELISA) وحسب التعليمات الواردة في عدة الفحص المجهزة من شركة CUSABIO الامريكية وكما يأتي :

طريقة العمل : Procedures

أُحضرت جميع الكواشف والعينات إلى درجة حرارة الغرفة قبل الاستخدام. ووضع العينات في جهاز الطرد المركزي مرة أخرى بعد ذوبانها قبل اجراء الفحص

حُضرت جميع الكواشف ومعايير العمل والعينات حسب التعليمات.

الرجوع إلى ورقة تخطيط المقايسة لتحديد عدد الحفر التي سيتم استخدامها .

تم إضافة 100مايكروليتر من المحلول القياسي في كل حفرة ،واغطيها بواسطة لاصق وتحفظ لمدة ساعتين

عند 37 درجة مئوية، ومن ثم إزالة السائل من اللوحة بدون غسل .

تم إضافة 100مايكروليتر من الأجسام المضادة للبيوتين (Biotin-antibody (1x) (1x) لكل حفرة. قم بتغطيتها بالشريط اللاصق ،ووضعها في الحاضنة لمدة 1 ساعة عند 37 درجة مئوية.

غسل الحفرة وتكرر العملية مرتين الى ثلاث مرات وتغسل عن طريق ملء كل حفرة باستخدام Wash Buf-fer 200 مايكروليتر باستخدام زجاجة بخ ، أو ماصة متعددة القنوات ، وتركها لمدة دقيقتين ،بعد الغسل الأخير ، قم بإزالة أي مخزن غسيل متبقي عن طريق الشفط أو الصب. اقلب اللوحة وامسحها بمناشف ورقية نظيفة تمت أضافة 100مايكروليتر من HRP-peroxidase Horseradish avidin (1x) لكل حفرة. ثم تغطية لوحة microtiter بشريط لاصق جديد. ثم توضع في الحاضنة لمدة ساعة واحدة عند 37 درجة مئوية.

كررت عملية الغسيل خمس مرات كما في الخطوة 5.

تم أضافة 90 مايكرو ليتر من TMB Substrate (Tetramethyl-benzidine) إلى كل حفرة. ووضعها في الحاضنة لمدة 30-15 دقيقة عند 37 درجة مئوية. ويجب حمايتها من الضوء.

تم أضافة 50 مايكرولتر من محلول الإيقاف Stop Solution لكل حفرة ، واضغط برفق على اللوحة لضمان الخلط الشامل. قراءة الكثافة البصرية لكل حفرة خلال 5 دقائق ، باستخدام قارئ صفيحة ميكروسكوبية مضبوطة على 450 الطول **الموجي نانومتر** .

تقدير تركيز المالون ثنائي الالديهايد في مصل الدم

Malondialdehyde (MDA) concentration in blood serum

الأساس العلمي: Principle استخدمت طريقة تفاعل حامض الثايوباربيتيورك Thiobarbituric acid - TBA المحورة المتبعة من قبل [11] لقياس تركيز MDA وهو يمثل احد النواتج الرئيسة لبيروكسدة الدهن ،اذ تعتمد الطريقة على التفاعل بين بيروكسيدات الدهون وبشكل رئيسي MDA وبين حامض الثايوباربيوتريك ويتم هذا التفاعل في وسط حامضي ويكّون ناتج ملون يتم قياس شدة الامتصاصية له عند 532 نانوميتر

المحاليل المستعملة: Solutions used

1. محلول الثايوباربيتيورك TBA- Solution .: حضر بأذابة 0.6 غم من مادة الـ TBA في 20 سم^3 من 0.05 مولاري هيدروكسيد الصوديوم مع التسخين القليل ثم أكمل الحجم الى 100 سم^3 من نفس المحلول، وحضر المحلول آنيا عند الاستعمال.

2. محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro acetic acid - TCA solution : حُضِّرَ هذا المحلول بتركيزين :-

* التركيز الأول 17.5 ٪ : حضر بإذابة 17,5 غم من مادة TCA في 20 سم^3 من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى 100 سم^3.

* التركيز الثاني 70 ٪ : حضُر بإذابة 70 غم من مادة TCA في 20 سم^3 من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى 100 سم^3 وحفظ في الثلاجة لحين الأستعمال .

طريقة العمل: Procedure

اتبعت الخطوات الأتية الموضحة في الجدول التالي لتقدير تركيز MDA في مصل الدم .

جدول رقم (2) الكواشف والمواد المستخدمة في تقدير تركيز المالون ثنائي الالديهايد في مصل الدم

المحاليل	العينة	الكفيء
مصل الدم	0.15 سم^3	.....
ماء مقطر	.....	0.15 سم^3
TCA (17.5٪)	1 سم^3	1 سم^3
TBA	1 سم^3	1 سم^3
مُزِجت الأنابيب جيدا وحضنت في حمام مائي مغلي لمدة 15 دقيقة ثم ترك ليبرد قبل إضافة		
TCA (70٪)	1 سم^3	1 سم^3

حُضنت الانابيب عند درجة حرارة 37 ºم لمدة 20 دقيقة ، ثم فصل الرائق باستعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/ دقيقة لمدة 5 دقائق وثم قراءة شدة الامتصاصية للرائق المتكون عند طول موجي 532 نانوميتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي.

الحسابات: Calculation

تم تقدير تركيز المالون ثنائي الالديهايد اعتماداً على المعادلة الآتية:

The Con. of MAD (µmol /L) = Abs (sample) / E_0 * L * D

E_0 = 1.56x105 / مولاري. سم

L = مسار الضوء بـ (سم)

D = الحجم الكلي / حجم المصل = 21

أعلاه طبقا لـ [11]

تقدير تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم

Glutathione (GSH) concentration in blood serum

الأساس العلمي: Principle تم تقدير الكلوتاثيون في المصل باستعمال الطريقة المحوّرة [12] اذ تعتمد الطريقة على استعمال كاشف المان Elman's reagent الحاوي على مادة 5,5 –ثنائي ثايو بس –2– نترو حامض البنزويك Dithio bis-2-nitrobenzoic acid- DTNB - 5,5 ، إذ يتفاعل الكاشف بسرعة مع الكلوتاثيون ويختزل بوساطة مجموعة السلفاهيدرال الكلوتاثيون لينتج مركب أصفر اللون يتم قراءة الامتصاصية له عند طول موجي 412 نانوميتر.

المحاليل المستعملة: Solutions used

1. محلول حامض السلفوسالسيليك Sulfosalicylic Acid Solution: حُضر بإذابة 4 غم من حامض السلفوسالسيليك في 20 سم3 من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى 100 سم3 ،وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال

2. محلول الفوسفات المنظم Phosphate buffer solution : حضر المحلول بمزج A و B وضبط عند pH = 8 .

– **محلول** (A) : حُضر بإذابة 8.16 غم من KH_2PO_4 في 20 سم^3 من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى 100 سم^3.

– **محلول** (B) : حُضر بإذابة 0.568 غم من K_2HPO_4 في 20 سم^3 من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى 100 سم^3.

3. **محلول كاشف المان** : حُضر بإذابة 0.004 غم

من مادة DTNB في 20 سم^3 من محلول الفوسفات المنظم عند أُس هيدروجيني 8 ثم أكمل الحجم الى 100 سم^3 من المحلول المنظم ووضع في قنينة معتمة بعيداً عن الضوء ويحضر المحلول آنياً .

طريقة العمل: Procedure

تم اعتماد الخطوات الاتية لتقدير الكلوتاثيون في مصل الدم :

جدول رقم (3) طريقة عمل تقدير تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم

المحاليل	العينة	الكفيء
مصل الدم	0.15 سم^3	.....
ماء مقطر	.....	0.15 سم^3
حامض السلفاسالسليك	0.15 سم^3	0.15 سم^3
مزجت الانابيب ووضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دوره لمدة خمس دقائق		
الرائق	0.15 سم^3	....
كاشف إلمان	4.5 سم^3	4.5 سم^3

تُركت الأنابيب لمدة 5 دقائق وبعدها قرأت الامتصاصية للمحلول عند الطول الموجي (412) نانومتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي بعد التصفير على الجهاز بوساطة الكفيء

الحسابات: Calculation

يحسب تركيز الكلوتاثيون في مصل الدم باستعمال المعادلة الاتية :

The Con. of GSH (µmol / L) = Abs (sample) / E*L

E = \13600 مولاري سم^3

L = مسار الضوء بـ (سم). حسب [12]

تقدير فعالية انزيم سوبر اوكسديز دسميوتيز في مصل الدم

Effective Superoxide Dismutase (SOD) in blood serum

تم تقدير تركيز SOD في المصل باستعمال أختبار الاليزا (ELISA) وحسب التعليمات الواردة في عدة الفحص المجهزة من شركة CUSABIO الامريكية وكما يأتي :

طريقة العمل: Procedure

أُحضرت جميع الكواشف والعينات إلى درجة حرارة الغرفة قبل الاستخدام. وتم وضع العينات في جهاز الطرد المركزي مرة أخرى بعد ذوبانها قبل اجراء الفحص .

1. حُضرت جميع الكواشف ومعايير العمل والعينات حسب التعليمات.
2. الرجوع إلى ورقة تخطيط المقايسة لتحديد عدد الحفر التي سيتم استخدامها .
3. تم إضافة 100مايكروليتر من المحلول القياسي في كل حفرة ،واغطيها بواسطة لاصق وتحفظ لمدة ساعتين عند 37 درجة مئوية، ومن ثم إزالة السائل من اللوحة بدون غسل .
4. تم إضافة 100مايكروليتر من الأجسام المضادة للبيوتين (Biotin-antibody (1x) (1x) لكل حفرة.

قم بتغطيتها بالشريط اللاصق ،ووضعها في الحاضنة لمدة 1 ساعة عند 37 درجة مئوية.

5. غسل الحفرة وتكرر العملية مرتين الى ثلاث مرات وتغسل عن طريق ملء كل حفرة باستخدام Wash Buffer 200 مايكروليتر باستخدام زجاجة بخ ، أو ماصة متعددة القنوات ، وتركها لمدة دقيقتين ،بعد الغسل الأخير ، قم بإزالة أي مخزن غسيل متبقي عن طريق الشفط أو الصب. اقلب اللوحة وامسحها بمناشف ورقية نظيفة

6. تم أضافة 100مايكروليتر من HRP-avidin (1x) peroxidase Horseradish) لكل حفرة . ثم تغطية لوحة microtiter بشريط لاصق جديد. ثم توضع في الحاضنة لمدة ساعة واحدة عند 37 درجة مئوية.

7. كررت عملية الغسيل خمس مرات كما في الخطوة 5.

8. أضافة 90 مايكرو ليتر من TMB Substrate (Tet-ramethylbenzidine) إلى كل حفرة. ووضعها في الحاضنة لمدة 15 – 30 دقيقة عند 37 درجة مئوية. ويجب حمايتها من الضوء.

9. تم أضافة 50 مايكرولتر من محلول الإيقاف Stop Solution لكل حفرة ، واضغط برفق على اللوحة لضمان الخلط الشامل.

1. قراءة الامتصاصية لكل حفرة خلال 5 دقائق ، باستخدام قارئ صفيحة ميكروسكوبية مضبوطة على الطول الموجي 450 نانومتر .

تقدير فعالية الكلوتاثيون بيروكسيديز في مصل الدم

Effective Glutathione Peroxidase (GPX) in blood Serum

1 – **المحاليل المستعملة** Solutions used:

– محلول (0.0017 مولاري) بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2

– محلول (0.0025 مولاري) 4– امينو انتي بايرين و (0.17 مولاري) فينول

2– **طريقة العمل** : اتبعت طريقة العمل الموضحة بالجدول أدناه لتقدير فعالية انزيم ال GPX .

جدول (4) طريقة عمل تقدير فعالية الكلوتاثيون بيروكسيديز في مصل الدم

المحاليل	الأنابيب
الفينول +- 4 Amino antipyrine	$1.4cm^3$
0.0017 مولاري بيروكسيد الهيدروجين	$1.5cm^3$

تم حضن المزيج اعلاه بدرجة حرارة (25 م°) لمدة 3 – 4 دقائق ، ثم بدأ التفاعل بإضافة ($0.1\ cm^3$) من المصل ثم سجلت الامتصاصية من زمن الاضافة مباشرة عند طول موجي 510 نانومتر ، سجلت الامتصاصية بعد مرور 5 دقائق بحسب: [13]

3. **الحسابات**: Calculation

$$\text{فعالية انزيم الكلوتاثايون بيروكسديز (وحدة/ لتر)} = \frac{\Delta A/min}{E} \times \frac{Vt}{Vs} \times 100000$$

Vt= الحجم الكلي ، Vs = حجم المصل ، E=50000

$$\Delta A/min = \frac{\text{الامتصاصية في الدقيقة 5} - \text{الامتصاصية في الدقيقة 0}}{5}$$

التحليل الاحصائي:

تم استخدام برنامج نظام التحليل الإحصائي- SAS (2018) للكشف عن تأثير عوامل الاختلاف في معاملات الدراسة. تم استخدام أقل فرق معنوي – اختبار LSD تحليل التباين- (ANOVA) للمقارنة المهمة بين المتوسطات. معامل الشخص. تم استخدام اختبار Chi-square للمقارنة المعنوية بين النسبة المئوية (0.05 و 0.01) احتمالية في هذه الدراسة. [14]

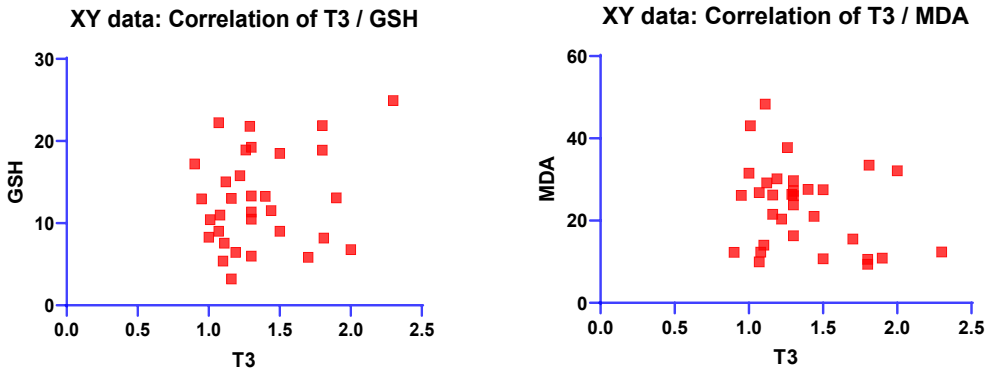
النتائج:

أشارت الدراسة كما في الجدول رقم [1]، شكل [1,2] بان هناك علاقة ارتباط ضعيفة سالبة بين هرمون T3 [P = 2 , r = - 0.2905] وميزان الاكسدة [MDA] كذلك كان هناك علاقة ارتباط ضعيفة موجبة بين هرمون T3 [P = 2 ، r = 0.225] وميزان الاكسدة [GSH] كما وتبين انه لاتوجد علاقة ارتباط بين هرمون TSH , T4 وبين ميزان ومضادات الاكسدة [MDA, GSH, Gpx, SOD, LDH] في هذه العينة المدروسة. كما اشارت الدارسة الى ان مستوى هرمون [T3,TSH] في مجاميع المصابين بزيادة الوزن والسمنة كانت ضمن المدى الطبيعي مقارنة بمجموعة السيطرة بينما لوحظ انخفاض في مستوى هرمون T4 بشكل عكسي مع زيادة الوزن قياسا لمجاميع السيطرة. كما في الاشكال [3,4,5,] وكذلك لوحظ من نتائج الدراسة الحالية ان مستويات تراكيز مضادات الاكسدة تزداد بزيادة الوزن الى السمنة حيث تكون بمستويات عالية مقارنة بمجموعة السيطرة. كما هو مبين في الشكل (6،7،8،9،10).

جدول رقم (5) يبين معامل الارتباط [r] بين هرمونات الدرقية وتوازن الاكسدة / مضادات الاكسدة

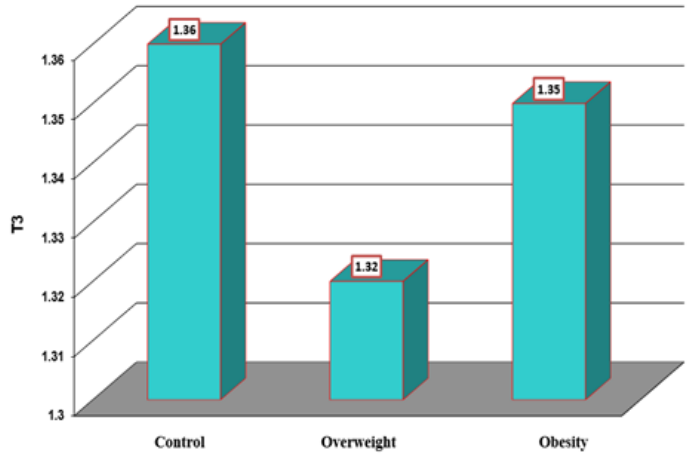
Antioxidant/ Thyroid H.	MDA	GSH	Gpx	SOD	LDH	P - Value
TSH	r = 0.166	r=0.07	r=0.05	r = -0.007	r=0.09	NS
T3	r=-0.29	r=0.22	r=0.19	r=0.11	r=0.07	NS
T4	r=0.14	r=0.058	r=0.02	r=0.01	r=0.12	NS

ملاحظة: [r = Correlation Coefficient] و [NS = non-Significant]

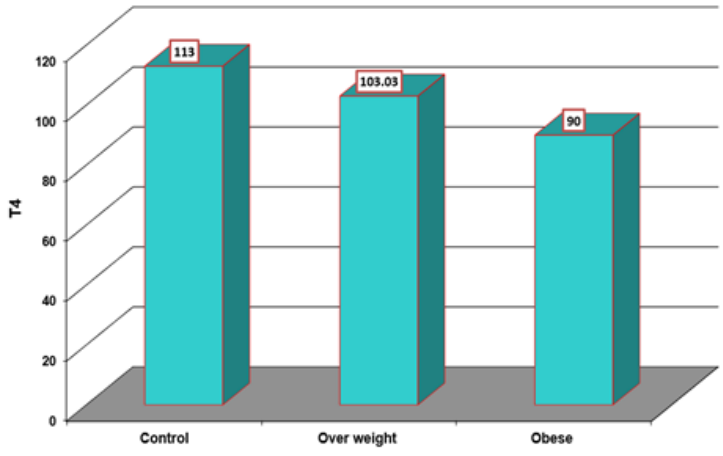


شكل [1] يوضح علاقة الارتباط بين T3 و MDA

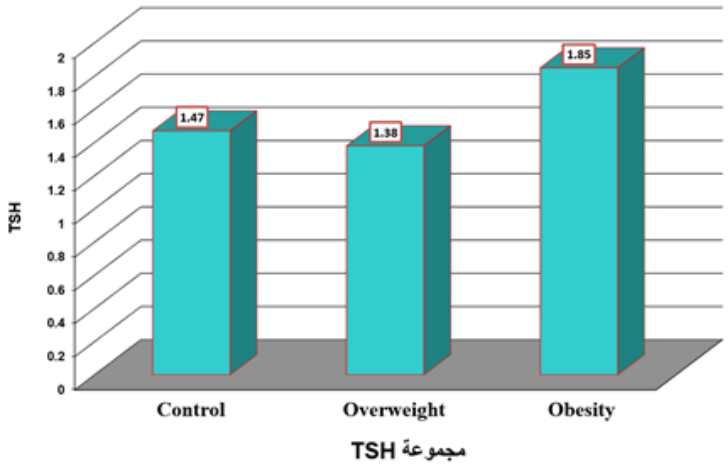
شكل [2] يوضح علاقة الارتباط بين T3 و GSH



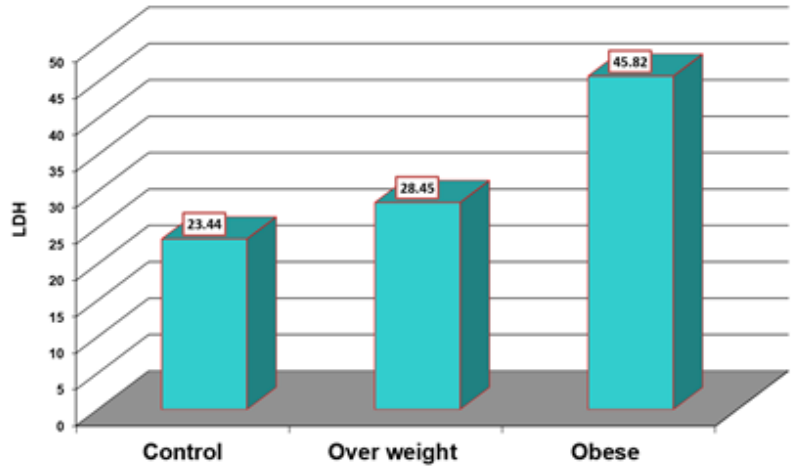
شكل (3) مقارنة بين مختلف المجموعات لهرمون T3



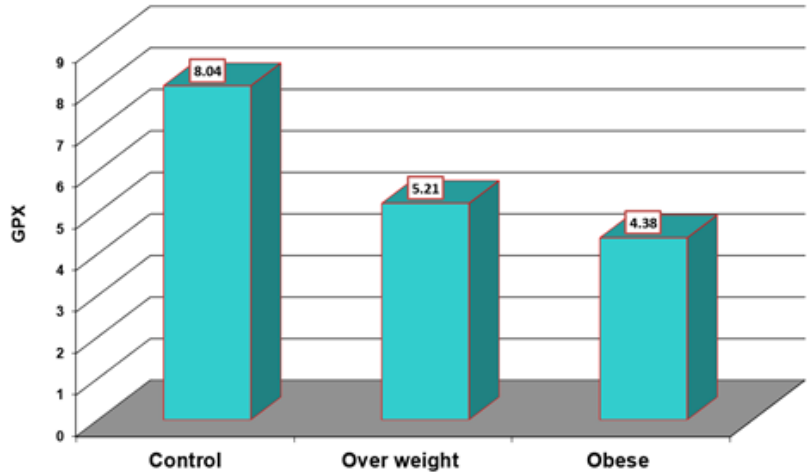
شكل (4) مقارنة بين المجموعات المختلفة لهرمون T4



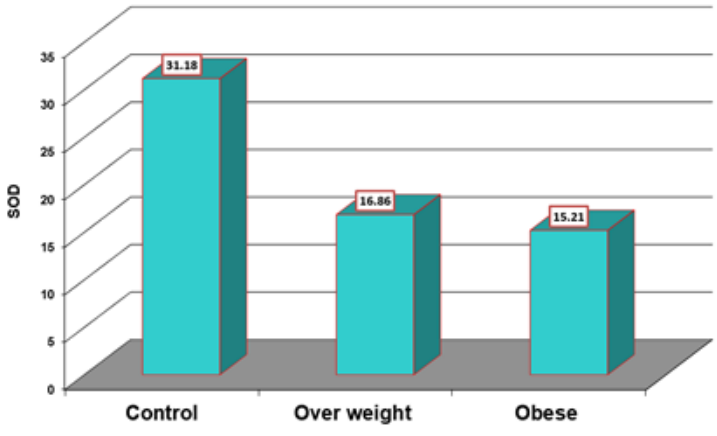
شكل رقم (5) مقارنة بين المجاميع المختلفة لهرمون TSH



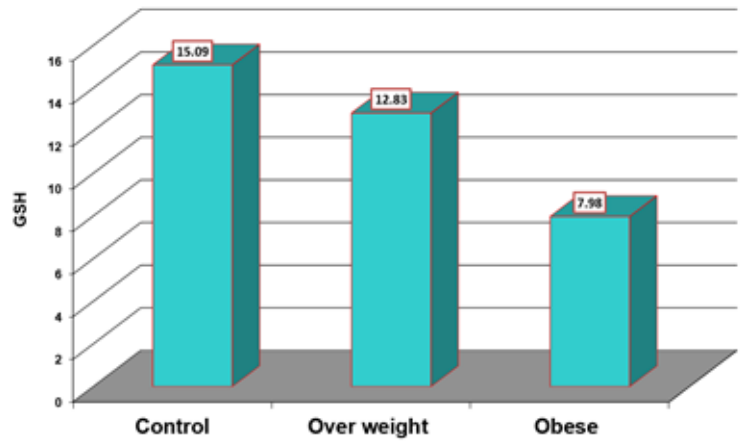
شكل 6 مقارنة بين المجاميع المختلفة في LDH



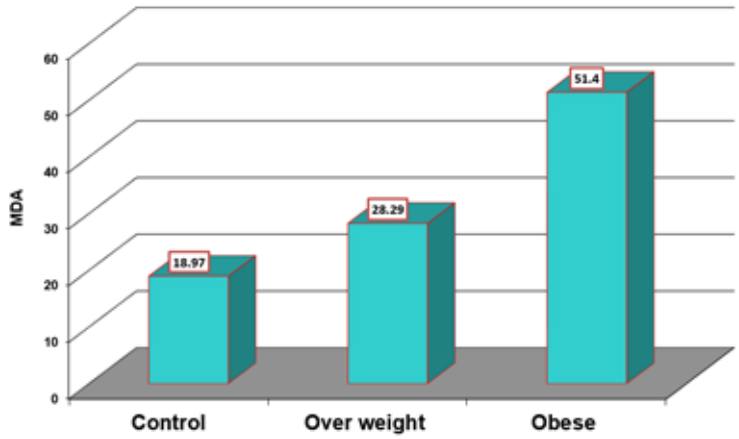
شكل [7] مقارنة المجاميع المختلفة مع Gpx



شكل [8] مقارنة المجاميع المختلفة مع SOD



شكل [9] مقارنة المجاميع المختلفة مع GSH



شكل [10] مقارنة بين المجاميع المختلفة في MDA

المناقشة:

يشير الجدول رقم (5) والشكل رقم (1) و(2) الى علاقة ارتباط ضعيفة سالبة بين T3 ومضاد الاكسدة MDA وهذا ربما يعود الى فعالية وظيفة ال MDA ضد الاجهاد التاكسدي حيث تزيد نسبة الدهون الضارة في البلازما مما يؤدي الى زيادة مستوى MDA ولانه العلاقة عكسية بين انخفاض فعالية الدرقية والسمنة وطردية بين السمنة ومضادات الاكسدة كان النتيجة على هذا النحو كما اكدت ذلك الدراسة التالية. [15]كما ان هذه الدراسة تتوافق مع [16] حيث اشار الى ان في كبد الفئران ، وجد أن فرط نشاط الغدة الدرقية الناجم عن T3 مرتبط بتغير مؤشرات بيروكسيد الدهون ، بما في ذلك المستويات المرتفعة من المواد المتفاعلة لحمض الثيوباربيتوريك (TBARS) والهيدروبيروكسيدات [17] و [18] و [19]على العكس من ذلك، لم يلاحظ أي تغيير في TBARS في الكبد المتجانس من الفئران المصابة بفرط نشاط الغدة الدرقية عن طريق إعطاء T4 خلال فترة 4 أسابيع [20]. فيما يتعلق بالخصية، لم يلاحظ أي تغيير كبير في بيروكسيد الدهون (تم تقييمه

على أنه TBARS أو (hydro peroxides) للفئران البالغة التي تعاني من فرط نشاط الغدة الدرقية، ولكن فرط نشاط الغدة الدرقية عزز معدل أكسدة البروتين كما يتضح من المحتوى المحسن للكربونيل المرتبط بالبروتين [21] ومن المهم التأكيد على حقيقة التباين المرتبط بالأنسجة في تأثيرات فرط نشاط الغدة الدرقية على نشاط إنزيمات مضادات الأكسدة Mn-superox-ide dismutase (SOD) أو Cu ، Zn-SOD، الكاتلاز (CAT)، الجلوتاثيون-بيروكسيداز) مع التأثيرات التفاضلية لهرموني الغدة الدرقية [22] وربما يعود السبب لاصابتهم بامراض القلب والرئتين وهذا ما اكده [23] كما ويشير [24] الى ان وجود اضطرابات الدرقية يشكل سببا اخر في تاثر مضادات الاكسدة سلبا او ايجابا مع هرمونات الدرقية. كما هو موضح في الشكل (6،7،8،9،10) في اعلاه:

المصادر

[1]	WHO حزيران ،» السمنة والوزن الزائد,« 2016. [Online]. Available: https://apps.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/ar/index.html.
[2]	Itani, L., Kreidieh, D., El Masri, D., Tannir, H., Chehade, L., & El Ghoch, M. “Revising BMI cut-off points for obesity in a weight management setting in Lebanon.,” *International journal of environmental research and public health,* vol. 17, no. 11, p. 3832, 2020.
[3]	Canada Diabetes, “Body Mass Index (BMI) Calculator,” Diabetes Canada, 16 August 2018. [Online]. Available: https://www.diabetes.ca/managing-my-diabetes/tools---resources/body-mass-index-(bmi)-calculator.
[4]	المحنا، رافد سعد هادي. السمنة ومشاكلها عند الاطفال، مجلة كربلاء لعلوم التربية الرياضية، المجلد 4، رقم 1، 11-10 .pp، 2017.
[5]	Food and Drug Adminsteration FDA “Weight-Loss and Weight-Management Devices,” 27 Apri 2020. [Online]. Available: https://www.fda.gov/medical-devices/products-and-medical-procedures/weight-loss-and-weight-management-devices.
[6]	ابراهيم، رقية خليل، «تأثير معدل السمنه على متغيري العمر والجنس لنموذج من طلبة التعليم الديني والدراسات الاسلامية ومدرسيها.» مجلة سامراء للعلوم الصرفة والتطبيقية، المجلد 4، رقم 22، 33-41 .pp.، 2022.
[7]	Özer, S., Bütün, İ., Sönmezgöz, E., Yılmaz, R., & Demir, O. “Relationships among thyroid hormones and obesity severity, metabolic syndrome and its components in Turkish children with obesity.,” *Nutricion hospitalaria,* vol. 32, no. 2, pp. 645-651, 2015.
[8]	Wilding, John P.H. “Causes of obesity,” 15 November 2001. [Online]. Available: https://doi.org/10.1002/pdi.277.
[9]	Lobo, V et al “Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health,” *Pharmacogn Rev,* vol. 4, no. 8, pp. 118-126, July-December 2010.
[10]	Roch, Cobas Elecsys TSH,” in *Thyroid Hormones Analyzer User’s Guid -11, V 1.0 English*, 2018.
[11]	Guidet, & Shah, S. V. “Enhanced in vivo H2O2 generation by rat kidney in glycerol-induced renal failure.,” *American Journal of Physiology-Renal Physiology,* vol. 257, no. 3, pp. F440-F445, 1989.

[12]	Al-Zamely, Oda. Y., Al-Nimer, M. S., & Al-Muslih, R. K. et al "Detection the level of peroxynitrite and related antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction.," *Nation. J. Chem,,* pp. 625-637, 2001.
[13]	Cunningham-Rundles, S. "Zinc modulation of immune function: specificity and mechanism of interaction.," *The Journal of laboratory and clinical medicine,,* vol. 128, no. 1, pp. 9-11, 1996.
[14]	SAS ،"Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. «،*Version 9.6th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA*.2018 ،
[15]	Maureen Jepkorir Cheserek, 1,2,4 Gui-Rong Wu,2 Arsene Ntazinda,1 Yong-Hui Shi,1,2 Li-Ye Shen,3 and Guo-Wei Le1,2 "Association Between Thyroid Hormones, Lipids and Oxidative Stress Markers in Subclinical Hypothyroidism," *J Med Biochem. 2015 Jul;,* vol. 34, no. 3, p. 323–331., 2015.
[16]	Antonio Mancini, 1,* Sebastiano Raimondo,1 Chantal Di Segni,1 Mariasara Persano,1 Giovanni Gadotti,1 Andrea Silvestrini,2 Roberto Festa,3 Luca Tian "Thyroid Hormones and Antioxidant Systems: Focus on Oxidative Stress in Cardiovascular and Pulmonary Diseases," *Int J Mol Sci. 2013,* vol. 14, no. 12, p. 23893–23909., December 2013.
[17]	Fernandez V., Barrientos X., Kipreos K., Valanzuela A., Videla L.A. "Superoxide radical generation, NADPH oxidase activity and cytochrome P-450 content of rat liver microsomal fractions in a experimental hyperthryoid state: Relation to lipid peroxidation.," *Endocrinology.,* vol. 117, p. 496–501., 1985.
[18]	Venditti P., Balestrieri M., di Meo S., de Leo T. "Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defenses and susceptibility to oxidative stress in rat tissues.," *J. Endocrinol.,* vol. 155, p. 151–157., 1997.
[19]	Venditti P., Daniele M.C., Masullo P., di Meo S. "Antioxidant-sensitive triiodothyronine effects on characteristics of rat liver mitochondrial population.," *Cell. Physiol. Biochem.,* vol. 9, p. 38–52., 1999.
[20]	Swaroop A., Ramasarma T. Heat exposure and hypothyroid conditions decrease hydrogen peroxide generation in liver mitochondria.," *Biochem. J.,* vol. 226, p. 403–408., 1985.
[21]	Choudhury S., Chainy G.B.N., Mishro M.M. "Experimentally induced hypo- and hyper-thyroidism influence on the antioxidant defense system in adult rat testis.," *Andrologia.,* vol. 35, p. 131–140., 2003.
[22]	Venditti P., di Meo S. "Thyroid hormone-induced oxidative stress.," *Cell. Mol. Life Sci.,* vol. 63, p. 414–434, 2006.

[23]	Antonio Mancini, 1,* Sebastiano Raimondo,1 Chantal Di Segni,1 Mariasara Persano,1 Giovanni Gadotti,1 Andrea Silvestrini,2 Roberto Festa,3 Luca Tian "Thyroid Hormones and Antioxidant Systems: Focus on Oxidative Stress in Cardiovascular and Pulmonary Diseases," *Int J Mol Sci.,* vol. 14, no. 2, p. 23893–23909, Dec;ember et al 2013.
[24]	Jawadulb, Dr. Razia Sultana Ara Dr.Shahin HaqueMd. "Measurement of oxidative stress and total antioxidant capacity in hyperthyroid patients following treatment with carbimazole and antioxidant," *Heliyon,* Vols. 8,, no. 1, 2022.