تأثير سم النحل *Apis mellifera L.* في بعض الصفات الفسلجية والنسجية لذكور الجرذان السليمة والمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين

Effect of Bee venom *Apis mellifera L.* in some physiological and histological aspects for healthy male rats and treated by hydrogen peroxide.

†انتصار منصور عبد الرسول* كرم هاشم الملاح ** مزاحم ايوب الصائغ ***

* فرع الفسلجة ** فرع الامراض / كلية الطب البيطري *** قسم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة الموصل / الموصل / العراق .

† **e-mail : ent_man1971@ yahoo.com**

الخلاصة

صممت الدراسة الحالية للتعرف على امكانية سم النحل في تعديل بعض التغييرات الدموية ، الكيميوحيوية والمرضية النسجية في ذكور الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين فضلاُ عن دراسة تأثيره في الجرذان السليمة البالغة. قسمت الحيوانات بعمر (4–5) أشهر ووزن (200–230) غم عشوائياً الى 4 مجاميع(6/ مجموعة) ، الاولى (السيطرة) والثانية عوملت ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 1% عن طريق ماء الشرب لمدة 49 يوماً ووخزت هاتين المجموعتين بالدبوس لتوحيد الشعور بالألم مع المجاميع الملسوعة ، الثالثة لسعت بسم النحل حسب البرنامج 155 لسعة ، اما المجموعة الرابعة فقد عوملت ببيروكسيد الهيدروجين 1% مع لسعها بسم النحل . أظهرت النتائج انخفاضاً في معدل خضاب الدم ومعدل حجم الخلايا المرصوصة في الحيوانات المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وسم النحل لوحدهما وفي حيوانات المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل فضلاً عن حدوث ارتفاع في العدد الكلي لكريات الدم البيض في الحيوانات المعاملة بسم النحل . رافق ذلك تغيرات كيميوحيوية اذ احدث بيروكسيد الهيدروجين زيادة معنوية في مستوى الكلوكوز ، الكوليستيرول ، الكليسيريدات الثلاثية وفي فعالية أنزيم الاسبرتيت ناقل الامين وانزيم الفسفتاز القلوي في حين لم يتمكن سم النحل من التغلب على تأثيرات بيروكسيد الهيدروجين عند اعطائه للجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين باستثناء رجوع مستوى الكلوكوز والكليسيريدات الثلاثية الى قيمها الطبيعية المقاربة لقيم السيطرة . لم يكن لسم النحل لوحده أي تأثيرات معنوية في القياسات الكيميوحيوية باستثناء انخفاض معنوي في مستوى كلوكوز الدم، وأظهر الفحص المرضي النسجي وجود تغيرات نسجية طفيفة الى متوسطة الشدة في الكبد والكليتين تمثلت بالأحتقان والتورم الخلوي الحاد وبؤر من النخر التجلطي في المجاميع المعاملة_وتغيرات عصيدية في الأبهرعند مجموعتي بيروكسيد الهيدروجين مع وبدون لسع النحل ، فضلا عن_تغيرات تنكسية طفيفة في العضل القلبي في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع لسع النحل. وقد استنتج من الدراسة الحالية ان سم النحل لم يكن له القدرة في التغلب على التأثيرات الضارة لبيروكسيد الهيدروجين في الجرذان .

Abstract

This study designed to demonstrate the ability of Bee venom (*Apis mellifer L.*) venom to restore some hematological , biochemical and histopathological changes in male rats treated with hydrogen peroxide , Also studying the effects of crude bee venom on normal rats, Animals randomely divided to 4 groups(6/ group) , Group (1) as control treated with false stings using a pins head at the same treatment rhythm . Group (2) received 1% hydrogen peroxide in drinking water for (49) days . Group (3) stinged with a viable bee venom according to (155) sting program while group (4) received 1% hydrogen peroxide with stings . the results revealded a significant decrease in hemoglobin concentration and packed cell volume at groups (2,3 and 4) with increase in total white blood cells count at group (3) . These hematological changes were combined by biochemical changes in which there was significant increase in serum glucose , cholesterol , triglycerides levels and aspartate aminotransferase , alkaline phosphatase activities at group (2) . Bee venom at group (4) could not adverse the harmfull effects of hydrogen peroxide except regression of glucose and

triglyceride levels to normal value as control. No biochemical ulteration histopathological examination demonstrate mild to moderate changes at treated groups in liver and kidneys manifested by congestion , acute cell swelling and focal coagulative necrosis in some individuals . Atherosclerotic changes in aorta and some arteries at groups (2 and 4). Several mild degenerative changes were obsearved in myocardium in some individuals from group (4). From this study we concluded that bee venom administration could not prevent or revers the harmful effects of hydrogen peroxide in rats .

Key words: bee venoum , hematology , cholesterol, rats.

المقدمة

ينتمي نحل العسل *Apis mellifera L.* الى مجموعة الحشرات اللاسعة من عائلة النحل رتبة غشائية الاجنحة (Hymenoptera: Apidae) والتي وصفها المصريون القدماء بكونها تحمل سماً مؤذياً للفقريات ,وهم اول من سجل تأريخيا حالات لموت الانسان بسبب لسع النحل(1).

لقد صنفت التأثيرات الحيوية لسم النحل في الفقريات بأنها ذات سمية عصبيةNeurotoxic حالة للدمHemolytic هاضمة للأنسجة Digestive محدثة للنزيفHemorrhagic ومؤلمة Aglogenic(2) . وأنها تعطي شعوراً بالتخديش والحكة والألم في مكان اللسع نتيجة الإلتهاب الموضعي والتي وجد بأن المسؤول عنها مركبات متعددة الببتيد يعرف بالميليتين Mellitin والذي يمثل متعدد الببتيد الرئيسي في سم النحل ، الا أن ما يشكل الخطورة الحقيقية على ضحايا لسع النحل هو تطور التفاعل الأرجي الناتج من أرتباط الأجسام المضادة IgE مع الخلايا البدينة محرراً سلسلة من الوسائط الكيميائية التي تحدث تفاعلاً ألتهابياً لاحقاً Late phase reaction (3) . وقد أشارت بعض الدراسات أن 25% من البشر المتعرضين للسع النحل قد تطورت لديهم حساسية ضد لسع النحل تصل في الحالات الشديدة الى الفشل القلبي التنفسي Cardiorespiratory failure وكذلك الصدمة التأقية الجهازيةSystemic anaphylactic shock مؤدية الى موت الفرد (4) .

وبالأضافة للكثير من الدراسات التي تحذر من مخاطر لسع النحل فقد ظهرت دراسات أخرى تبين فعالية أستخدام سم النحل أو مركباته كعلاج لحالات مرضية متعددة ودعمت هذه البحوث فرضيات وملاحظات بعض المعالجين الشعبيين الذين لاحظوا فوائد هذا النوع من العلاج على بعض الحالات المرضية الشائعة ، حيث لاحظ الباحثون (7,6,5) أن سم النحل يختزل وبشكل كبير شدة ألتهاب المفاصل وألتهاب المفصل الرثوي والألم الناتج عنه وأن لسم النحل تأثيراً مضاداً للألتهاب بسبب قدرته على أيقاف عملية الCycloxygenase لحامض الأرشيدونيك Arachedonic acid وبالتالي أيقاف تحرير بعض الوسائط الألتهابية ، بالأضافة الى تأثيره على الغدة النخامية وتحفيزه لأفراز الكورتيزول من قشرة الكظر والذي يخفض بدوره من شدة الالتهاب (9,8) . ولوحظ أن له قيمة علاجية كبديل عن الأدوية في حالات تصلب الاعصاب المتعدد Multiple sclerosis وداءالشقيقة Migrains في الأنسان(8) . فضلاً عن فعاليته في تخدير الألام الموضعية لأحتوائه على متعدد الببتيد

Adolapin والذي يشكل2–5% من ببتيدات سم النحل(9) وأشارت بعض المصادر أن الميليتين الذي يشكل 52% من ببتيدات سم النحل يعتبر مضاداً للأكسدة (10) ومضاداً قوياً للألتهاب (9) ولذلك فقد صممنا دراستنا الحالية للتحري عن تأثير سم النحل بطريقة اللسع المباشر ولفترة طويلة في بعض الصفات الفسلجية والمرضية النسجية لذكور الجرذان السليمة والجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين.

المواد وطرائق العمل

الحيوانات المستخدمة

استخدم في هذا البحث 24 من ذكور الجرذان البيض Albino Rats تراوحت أوزانها (200_230) غم والتي تمت تربيتها وتكاثرها في بيت الحيوانات في كلية الطب البيطري وأخذ الجيل الثاني منها بصورة نقية .تراوحت أعمارها مابين 4_5 أشهر، وضعت هذه الحيوانات في أقفاص ذات أبعاد (20×25 ×20) سم . وأخضعت الجرذان لظروف مختبرية خاصة تمثلت بدورة ضوئية طبيعية 10 ساعات إضاءة و14 ساعة ظلام وبدرجة حرارة 22 +2 م°. وأعطيت الجرذان الماء والعليقة بصورة حرة *Adlibitum* .

النحل وطريقة اللسع

تم التقاط شغالات نحل العسل البالغة (Hony bee workers) من طوائف نحل قوية وجمعت في قناني بلاستيكية شفافة ذات اغطية مثقوبة حفاظاً على الشغالات من الموت ، حلقت المنطقة الظهرية للجرذان من الشعر وصولاً الى الجلد، لسعت الجرذان في النطقة المحددة بالتقاط النحلة بملقط خاص حيث تم غرس شوكة النحلة وتركت لمدة 5 دقائق لتفريغ محتويات غدة السم تم أزيلت.

برنامج اللسع

أعتمد برنامج اللسع وفقا لـ (11) والذي يتضمن 155 لسعة نحل ، تضمن البرنامج خمسة أيام لسع لتقوية الجهاز المناعي للحيوان أبتداءً بلسعة في اليوم الأول ووصولاً الى خمسة لسعات في اليوم الخامس ويكون مجموع ماتلقاه خلال هذه الفترة 15 لسعة ، اعطيت الحيوانات استراحة لمدة يومين تهيئة للفترة الثانية التي تلقى فيها الحيوان 40 لسعة نحل خلال مدة 8 ايام أي بمعدل خمسة لسعات يومياً ، اعطيت الحيوانات استراحة لمدة 7 ايام تهيئة للفترة الثالثة من برنامج اللسع الذي يتضمن 50 لسعة نحل خلال مدة عشرة ايام (5 لسعات يومياً). اعطيت الحيوانات استراحة لمدة اسبوع لتطبيق الفترة الرابعة للسع والتي تتضمن 50 لسعة نحل لمدة عشرة ايام فاصبح مجموع ماتلقاه كل حيوان 155 لسعة خلال فترة التجربة 49 يوماً.وخلال هذه الفترات سجلت اوزان الحيوانات اسبوعيا وقيست درجة الحرارة الشرجية لحيوانات التجربة بعد ساعة من اللسع مرتين في كل فترة لسع ، الاولى اول يوم اللسع والثانية في اخر يوم اللسع رافق ذلك اخذ نماذج الدم من الظفيرة الوريدية العينية (Ophthalmic venous plexus) وفقا لـ (12) باستخدام انابيب شعرية ، في انابيب بلاستيكية صغيرة حاوية على مانع التخثر EDTA في نهاية الفترات الثلاثة الاخيرة فقط لحساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض ،العد التفريقي لخلايا الدم البيض ، قياس حجم خلايا الدم

المرصوصة % (PCV) (13) وقياس تركيز خضاب الدم باستخدام عدة التحليل Kit المجهزة من قبل(شركة Syrbio السورية) .وفي نهاية التجربة تم جمع 2–3 مل من الدم في انابيب زجاجية تركت فترة لحين حصول التجلط ثم فصل مصل الدم بوساطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة وحفظ مصل الدم في عبوات بلاستيكية صغيرة معلمة بدرجة التجميد (−20 م°) لحين اجراء الاختبارات اللازمة عليها وهي قياس تركيز الكلوكوز ، الكوليستيرول ،الالبومين ،فعالية انزيم الالانين ناقل الامين Alanine amino transferase (ALT) ،فعالية انزيم الاسبرتيت ناقل الامين Aspartate amino transferase (AST)في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الجاهزة(شركة Syrbio السورية) وتركيز الكليسيريدات الثلاثية و فعالية انزيم الفسفتاز القلوي Alkaline phosphatase في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الجاهزة (شركة BioMeriux الفرنسية)وتركيز البروتينات الكلية في مصل الدم باستخدام طريقة بايوريت Biuret method (14) واستخرج تركيز الكلوبيولين في مصل الدم حسابياً من خلال طرح تركيز الالبومين من تركيز البروتينات الكلية .وبعد ذلك قتلت الحيوانات باستخدام الايثر واجريت عليها الصفة التشريحية واخذ جزء من نسيج الكبد ،القلب ،الابهر والكلية لغرض الفحص النسجي (15)

تصميم التجربة

أجريت التجربة على 24 حيواناً من ذكور الجرذان البيض البالغة ، قسمت عشوائياً بعد وزنها الى 4 مجاميع وكل مجموعة تتكون من 6 حيوانات. المجموعة الاولى اعتبرت مجموعة سيطرة تم وخزها باستخدام رأس دبوس بنفس عدد واوقات اللسعات والمجموعة الثانية اعطيت بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 1% عن طريق ماء الشرب لمدة 49 يوماً ووخزها برأس دبوس بنفس عدد واوقات اللسعات والمجموعة والمجموعة الثالثة لسعت بسم النحل حسب البرنامج المذكور اعلاه اما المجموعة الاخيرة فقد اعطي لها بيروكسيد الهيدروجين 1% عن طريق ماء الشرب مع لسعها بسم النحل حسب البرنامج اعلاه .

التحليل الاحصائي

حللت البيانات المعلمية parametric باستخدام تحليل التباين باتجاه واحد او باتجاهين one or two way analysis of variance وحددت الاختلافات الخاصة بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن (Duncan test). وكان مستوى الاختلاف المعنوي للاختبارات كافة عند مستوى احتمالية (أ $\leq$ 0.05) .(16)

النتائج

الوزن

يوضح الجدول (1) عدم وجود فروقات معنوية في معدل وزن جسم الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 1% عن طريق ماء الشرب والجرذان المعاملة بسم النحل وفي الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تركيز 1% مع سم النحل طيلة فترة التجربة باستثناء الانخفاض المعنوي (أ ≥ 0.05) الملاحظ في مجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل في الاسبوع السابع من التجربة.

جدول (1):تأثير بيروكسيد الهيدروجين (1%) وسم النحل وبيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل في معدل وزن ذكور الجرذان البالغة.

الاسبوع / المجاميع	الاسبوع 1	الاسبوع 2	الاسبوع 3	الاسبوع 4	الاسبوع 5	الاسبوع 6	الاسبوع 7
السيطرة	2.8±214 أ	224.4 أ	32± 2 3 أ	244 4 ± أ	3.5 ±263 أ ب	3.7 ±274 أب	4.1 ±289 أ
بيروكسيد الهيدروجين (1%)	± 29 .824 أ	9 ±231.6 أ	8 ±236.6 أ	243 ± 9.7 أ	6 ±246.2 ب	9 ±255.4 ب	10 ± 263 ب
سم النحل	6.8±226 أ	8 ±242.2 أ	7 ±253.8 أ	262 5.5 ± أ	3.9 ±280 أ	4 ±285.2 أ	3.7 ±295 أ
بيروكسيد الهيدروجين (1%) +اسم النحل	6.6±216 أ	232.6 أ	242.4 7 ± أ	245.6 ± 8 أ	8.3 ±255 ب	8 ±259.6 ب	.22638 ± ب

عدد الحيوانات : 6 حيوانات

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي.الحروف المختلفةعمودياً تعني فرقاً معنوياً عند مستوى احتمالية (أ≥ 0.05)

درجة حرارة الجسم

لم تشر النتائج الى ان اعطاء بيروكسيد الهيدروجين (1%) عن طريق ماء الشرب وسم النحل في الجرذان قد احدث تغييرات معنوية في معدل درجة حرارة الجسم باستثناء ارتفاع معنوي(أ ≥ 0.05) في درجة حرارة جسم الجرذان المعاملة بسم النحل في نهاية التجربة مقارنة بمجموعة السيطرة. في حين ادى اللسع بسم النحل للجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين الى ارتفاع معنوي (أ ≥ 0.05) في درجة حرارة الجسم في الايام الاخيرة من فترات الثلاثة الاخيرة مقارنة بالسيطرة ومع درجة حرارتها في اليوم الاول من اللسع للفترات ذاتها.

صور الدم

تظهر النتائج المسجلة في الجدول (3) وجود انخفاض معنوي(أ ≤ 0.05) في معدل تركيز خضاب الدم ومعدل حجم الخلايا المرصوصة في المجاميع الثلاثة المعاملة عند مقارنة قيمها مع قيم مجموعة السيطرة طيلة فترة التجربة. لم تسجل اختلافات معنوية في قيم تركيز خضاب الدم ومعدل

جدول (2): تأثير بيروكسيد الهيدروجين(1%) وسم نحل العسل وبيروكسيد الهيدروجين مع سم نحل العسل في معدل درجة حرارة الجسم لذكور الجرذان البالغة.

الفترات	فترة اللسع الاولى		فترة اللسع الثانية		فترة اللسع الثالثة		فترة اللسع الرابعة	
الايام	اليوم الاول	اليوم الاخير	اليوم الاول	اليوم الاخير	اليوم الاول	اليوم الاخير	اليوم الاول	اليوم الاخير
السيطرة	0.13 ±38.3 أ	0.11±38.2 أ	0.28±38.12 أ	0.09±38.32 ب	0.12±38.4 أ	0.14±38.18 ب	0.14 ±38.1 أ	0.2±38.2 ب
بيروكسيد الهيدروجين	0.1± 38.38 أ	0.12±38 أ	0.22±38.1 أ	0.13±38.2 ب	0.1 ±38.16 أ	0.2±37.9 ب	0.08±38.12 أ	0.15 ±37.8 ب
سم النحل	0.1 ±38.18 أ	0.1±38.14 أ	0.09 ±38.5 أ	0.2±38.26 ب	0.09 ±38.2 أ	0.07±38.28 ب	0.11±38.22 أ	* 0.1±39.12 أ
بيروكسيد الهيدروجين + سم النحل	0.08 ±38.4 أ	0.08±38.28 أ	0.19±38.26 أ	*0.23±39.1 أ	0.05 ±38.1 أ	*0.13±39.12 أ	0.16±38.1 أ	*0.12±39.06 أ

عدد الحيوانات: 6 حيوانات

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي . الحروف المختلفة عمودياً تعني فرقاً معنويا عند مستوى احتمالية(أ≤0.05)

حجم الخلايا المرصوصة بين المجاميع الثلاثة المعاملة خلال التجربة باستثناء الارتفاع المعنوي(أ ≤ 0.05) المسجل في معدل تركيزخضاب الدم في الحيوانات المعاملة بسم النحل لوحده ومع بيروكسيد الهيدروجين في نهاية فترة التجربة مقارنة بقيمها في الفترتين الثانية والثالثة وكذلك عند مقارنتها مع قيمها في الحيوانات المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين في نهاية التجربة، رافقه ارتفاع معنوي (أ ≤ 0.05) في معدل حجم الخلايا المرصوصة في الحيوانات المعاملة بسم النحل مع بيروكسيد الهيدروجين في الفترة الرابعة مقارنة بقيمها في المجموعة المعاملة بسم النحل لوحده وبيروكسيد الهيدروجين لوحده . فضلا عن حدوث في انخفاض معنوي (أ ≤ 0.05) في معدل حجم الخلايا المرصوصة في مجموعة بيروكسيد الهيدروجين في نهاية التجربة بالمقارنة مع قيمها في الفترة الثانية.

لم تشر النتائج الى وجود اختلافات معنوية في اعداد خلايا الدم البيضاء في المجموعتين المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده ومع سم النحل معاً، في حين سجل سم النحل لوحده زيادة معنوية(أ ≤ 0.05) في اعداد خلايا الدم البيضاء مقارنة بقيمها مع مجاميع التجربة الثلاثة طيلة فترة التجربة .كذلك لم توضح النتائج الى وجود أي اختلافات معنوية في اعداد خلايا الدم البيضاء للمجاميع

الثلاثة المعاملة وضمن المجموعة الواحدة خلال فترة التجربة باستثناء وجود ارتفاع معنوي (أ $\geq$ 0.05) في المجموعة المعاملة بسم النحل في الفترة الثانية عن قيمتها في الفترتين الثالثة والرابعة.

احدث بيروكسيد الهيدروجين زيادة معنوية (أ $\geq$ 0.05) في معدل معامل البلعمة مقارنة بمجموعة السيطرة في الفترتين الثالثة والرابعة من التجربة وبلغ اعلى زيادة له في نهاية الفترة الرابعة، رافقه زيادة معنوية(أ $\geq$ 0.05) في معدل معامل البلعمة في المجموعة المعاملة بسم النحل مع بيروكسيد الهيدروجين مقارنة بمجموعة السيطرة في نهاية التجربة.

جدول (3):تأثير بيروكسيد الهيدروجين (1%) وسم النحل و بيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل في صورة الدم لذكور الجرذان البالغة.

القياس	المجاميع / الفترة	السيطرة	بيروكسيدالهيدروجين 1%	سم نحل العسل	بيروكسيدالهيدروجين + سم نحل العسل
معدل تركيز خضاب الدم (غرام/100مل)	الثانية	0.37 +17.9 أ	0.57 +13.99 ج د هـ	0.42 +12.76 هـ	0.4+14 د هـ
	الثالثة	0.2 + 18.8 أ	1.87 +13.89 د هـ	0.19 +12.86 هـ	0.56 +13.79 ج د هـ
	الرابعة	0.28 + 17.72 أ	0.2+ 14.29 ج د	0.47 +16.43 ب	0.58 +16.39 ب
معدل حجم الخلايا المرصوصة (%)	الثانية	0.4± 37.1 أ ب	0.7 +33.16 ج د	1.4 +31.8 ج د هـ	1.5 +32 ج د هـ
	الثالثة	0.7 + 36.5 أ ب	1.06+32 ج د هـ	1.7 +33.2 ج د	0.67 + 31.9 ج د هـ
	الرابعة	0.85 +38 أ	0.49 +29.6 هـ	1.1 +30.66 د هـ	0.7 +34.6 ب ج
العدد الكلي لخلايا الدم البيض (خلية × 10^3/ملم^3)	الثانية	0.19 +8.97 ج د	0.34 +9.13 ج	0.84 +14.7 أ	0.46 + 7,9 د
	الثالثة	0.38 +8.99 ج د	0.93+10.46 ج	1.13 +12.61 ب	0.62 + 9.1 ج د
	الرابعة	0.4 +9.01 ج د	0.31 +9.66 ج	0.54 +12.1 ب	0.67 +7.85 د
معامل البلعمة %	الثانية	0.9 +26.01 د هـ	3.9+31.61 ج د هـ	1.6 +19.4 هـ	11.5+ 34.7 ج د
	الثالثة	2.8 +27.16 د هـ	4.98 +43.38 ب ج	3.5 +30.63 ج د هـ	2.3 +30.58 ج د هـ
	الرابعة	3.7 +25.8 د هـ	7 +60.78 أ	6.4+35.5 ج د	3.1 + 51.96 أ ب

عدد الحيوانات : 6 حيوانات

القيم معبر عنها بالمعدل + الخطأ القياسي . الحروف المختلفة افقيا وعموديا تعني فرقا معنويا عند مستوى احتمالية (أ $\geq$ 0.05) .

لم تظهر نتائج العد التفريقي لخلايا الدم البيض المبينة في الجدول (4) أي اختلافات معنوية في النسب المئوية للخلايا اللمفية في المجاميع الثلاثة مقارنة بمجموعة السيطرة وكذلك بين المجاميع ذاتها طيلة فترة التجربة باستثناء ارتفاع معنوي (أ $\geq$ 0.05) في النسب المئوية للخلايا اللمفية في الحيوانات المعاملة

ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل مقارنة بقيمها في المجموعة المعاملة بسم النحل والمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين في نهاية الفترتين الثانية والثالثة من التجربة . كذلك لم تسجل اي اختلافات معنوية ضمن المجموعة الواحدة خلال فترة التجربة باستثناء انخفاض معنوي(أ ≤ 0.05) في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل في نهاية التجربة مقارنة مع قيم الفترتين الثانية والثالثة من التجربة.

جدول (4):تأثير بيروكسيد الهيدروجين (1%) وسم النحل و بيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل في العد التفريقي لخلايا الدم البيض لذكور الجرذان البالغة.

القياس	المجاميع / الفترة	السيطرة	بيروكسيدالهيدروجين 1%	سم نحل العسل	بيروكسيدالهيدروجين + سم نحل العسل
النسبة المئوية للخلايا المفيئة %	الثانية	75.16 ± 0.47 أب	70.16 ±2.58 ب ج	69.83 ±1.8 ب ج	77.83 ±3.2 أ
	الثالثة	72.33 ± 1.3 أب ج	70.5 ±1.87 ب ج	69.83 ±1.7 ب ج	76.83 ±1.32 أ
	الرابعة	74.07 ± 1.43 أ ب ج	72.66 ±2.34 أب ج	69.9 ±1.85 ب ج	67.83 ±2.02 ج
النسبة المئوية للخلايا العدلة %	الثانية	18.66 ± 0.91 أ ب	24.33 ±2.8 أ	22.83 ±1.4 أ	16.66 ±2.5 ب
	الثالثة	22 ± 2.3 أ ب	22.46 ±2.27 أ ب	22.83 ±2.27 أ ب	19 ± 1.57 أ ب
	الرابعة	20.83 ±1.64 أ ب	22.5 ±2.52 أ ب	21.66 ±2.33 أ ب	22.5 ± 1.99 أ ب
النسبة المئوية للخلايا وحيدة النواة %	الثانية	2.16 ±0.65 ج	3.33 ±0.16 ب ج	6.16 ±1.44 أ	2.66 ± 0.66 ج
	الثالثة	2.66 ±0.42 ج	4 ±0.47 أ ب ج	4.16 ±0.54 أ ب ج	2.33 ± 0.42 ج
	الرابعة	2.83 ±0.7 ج	2.66 ±0.71 ج	5.33 ±1.45 أ ب	3.16 ±0.47 ب ج
النسبة المئوية للخلايا الحمضة %	الثانية	2.33 ±0.33 ب	1.66 ±0.4 ب	2.83 ±0.79 ب	2.33 ± 0.84 ب
	الثالثة	2.5 ±0.56 ب	2.5 ±0.76 ب	2.83 ±0.79 ب	1.5 ± 0.34 ب
	الرابعة	1.83 ±0.3 ب	1.66 ±0.42 ب	3.16 ±0.47 ب	6 ± 1.26 أ
النسبة المئوية للخلايا القعدة %	الثانية	0.5 ± 0.23 أ	0.5 ± 0.33 أ	0.5 ±0.34 أ	0.5 ± 0.22 أ
	الثالثة	0.5 ±0.22 أ	0.66 ±0.33 أ	0.5 ±0.34 أ	0.33 ± 0.21 أ
	الرابعة	0.5 ±0.03 أ	0.5 ±0.22 أ	0.5 ±0.23 أ	0.16 ± 0.13 أ

عدد الحيوانات : 6 حيوانات

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي . الحروف المختلفة افقيا وعموديا تعني فرقا معنويا عند مستوى احتمالية (أ ≤ 0.05) .

لم تلاحظ اختلافات معنوية في النسب المئوية للخلايا العدلة والوحيدة النواة والحمضة والقعدة في المجاميع الثلاثة المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة وكذلك بين المجاميع ذاتها وضمن المجموعة الواحدة خلال فترات التجربة باستثناء ارتفاع معنوي(أ ≤ 0.05) في النسب المئوية للخلايا وحيدة النواة في

المجموعة المعاملة بسم النحل في نهاية الفترة الثانية والرابعة من التجربة مقارنة بقيمها في المجاميع الثلاثة ومن ضمنها مجموعة السيطرة ، رافق ذلك ارتفاع معنوي (أ ≤ 0.05) في النسب المئوية للخلايا الحمضة في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل في نهاية التجربة.

القياسات المصلية الكيموحيوية

يوضح الجدول (5) ان اعطاء بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 1% احدث زيادة معنوية (أ ≤ 0.05) في تركيز الكلوكوز ، الكوليستيرول ، الكليسيريدات الثلاثية وفي فعالية انزيم الاسبرتيت ناقل الامين وانزيم الفسفتازالقلوي وقد استعاد سم النحل التراكيز الطبيعية لكل من الكلوكوز، الكليسيريدات الثلاثية وفعالية انزيم الفسفتاز القلوي في الجرذان عند مقارنتها مع قيمها في مجموعة السيطرة في حين لم يتمكن سم النحل من التغلب على تأثير بيروكسيد الهيدروجين في تركيز الكوليستيرول وفعالية انزيم الاسبرتيت ناقل الامين اذ بقيا مرتفعان معنويا(أ ≤ 0.05) مقارنة بمجموعة السيطرة . لم يحدث سم النحل لوحده أي تأثيرات معنوية في القياسات اعلاه باستثناء انخفاض معنوي(أ ≤ 0.05) في تركيز الكلوكوز مقارنة بمجاميع التجربة الثلاثة ومن ضمنها مجموعة السيطرة وانخفاض معنوي(أ ≤ 0.05) بتركيز الكوليستيرول مقارنة بمجموعة الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وفي الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل. لم تسجل أي تغيرات معنوية في تركيز البروتينات الكلية ، الالبومين ، الكلوبيولين وفي فعالية انزيم الالانين الناقل الامين في المجاميع الثلاثة المعاملة مقارنة بقيمها في مجموعة السيطرة، في حين سجلت اختلافات معنوية في القياسات اعلاه بين المجاميع المعاملة حيث اظهرت المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل ارتفاعاً معنوياً(أ ≤ 0.05) في تركيز البروتينات الكلية والكلوبيولين مقارنة بمجموعتي بيروكسيد الهيدروجين وسم النحل لوحده. وارتفاعاً معنوياً (أ ≤ 0.05) في فعالية انزيم الالانين ناقل الامين في مجموعة سم النحل عند مقارنتها مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين وارتفاع معنوي(أ ≤ 0.05) في فعالية انزيمي الاسبرتيت ناقل الامين والفسفتاز القلوي في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين عند مقارنتها مع مجموعة سم النحل.

الفحص المرضي العياني والنسجي :

لم تلاحظ تغيرات مرضية عيانية مميزة بين المجاميع المعاملة ولكن لوحظ وجود مناطق من الشحوب والأحتقان والتورم الطفيف عند الكبد والكلية متفاوتة الشدة بين أفراد هذه المجاميع مقارنة بمجموعة السيطرة التي لم تظهر هذه التغيرات . أظهر الفحص المرضي النسجي وجود تغيرات مميزة عن المجموعتين المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده ومع سم النحل مقارنة بمجموعة السيطرة، اذ لوحظ ظهور مراحل مختلفة من التصلب العصيدي للشريان الأبهر عند معظم حيوانات المجموعتين وكانت أشدها وضوحاً عند مجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل، اذ تميزت بظهورتغييرات تنكسية في بطانة الشريان الأبهر وتكاثر الخلايا العضلية الملساء وظهور الخلايا الرغوية وأرتشاح

العدلات والبلاعم الكبيرة ضمن الجدار الشرياني. الصور (1، 2 ، 3).كما أظهر الفحص المرضي النسجي للقلب وجود أحتقان الأوعية الدموية مع إرتشاحات ألتهابية متفرقة بين

الألياف العضلية القلبية أغلبها لمفية، في عدة حيوانات من المجموعتين المعاملة ببيروكسيد

جدول (5):تأثير بيروكسيد الهيدروجين (1%) وسم النحل بيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل في القياسات المصلية الكيميوحيوية لذكور الجرذان البالغة .

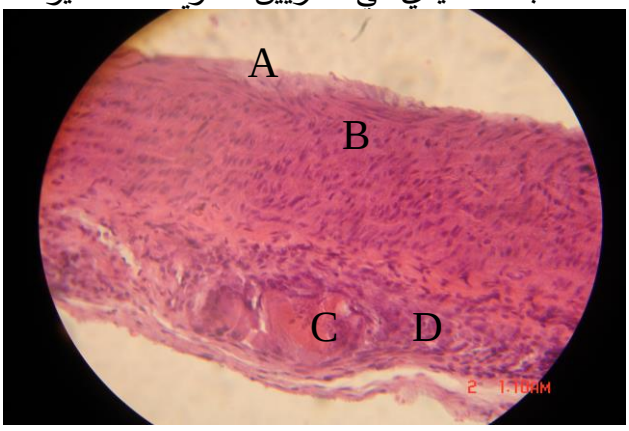
المجموعة / القياس	السيطرة	بيروكسيد الهيدروجين (1%)	سم النحل	بيروكسيد الهيدروجين 1%+ سم النحل
تركيز الكلوكوز (ملغم/100مل)	3.1 ± 90.6 ب	5.1 ± 110.9أ أ	9.1 ± 66.7 ج	2.5 ± 84.6 ب
تركيز الكوليستيرول (ملغم/100مل)	3.7 ± 85.07 ب	8.9 ±124.28 أ	5.3 ± 86.4 ب	1.2 ±113.3 أ
تركيز الكليسيريدات الثلاثية(ملغم/100مل)	4.4 ± 84.5 ب	7.3 ± 103.8 أ	1.4 ± 81.68 ب	5.2 ± 90.5 ب
تركيز البروتينات الكلية (غرام/100مل)	0.38 ± 7.76 أب	0.31 ± 6.7 ب	0.19 ± 5.96 ب	1.18 ± 9.49 أ
تركيز االالبومين (غرام/100مل)	0.28 ± 4.43 أ	0.2 ± 4.97 أ	0.23 ± 4.46 أ	0.4 ± 4.41 أ
تركيز الكلوبيولين (غرام/100مل)	0.4 ± 3.3 أب	0.5 ± 1.73 ب	0.3 ± 1.59 ب	2.3 ± 5.08 أ
فعالية أنزيم الالانين ناقل الامين (وحدة / لتر)	0.3 ±11.7 أب	0.74 ± 9.6 ب	0.6 ±13 أ	1.1 ±11.27 أب
فعالية أنزيم الاسبرتيت ناقل الامين (وحدة / لتر)	0.5 ± 54.9 ب	1.1 ± 73.32 أ	0.9 ± 50.4 ب	1.7 ± 69 أ
فعالية أنزيم الفسفتاز القلوي (وحدة /100مل)	9.5 ± 48.96 ب	4.69 ± 70.3 أ	3.3 ± 47.95 ب	4.7 ± 59 أب

عدد الحيوانات : 6 حيوانات

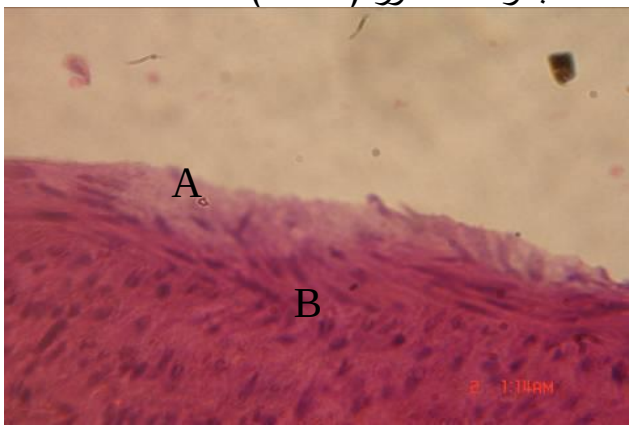
القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي.الحروف المختلفة افقيا تعني فرقا معنويا عند مستوى احتمالية(≤ 0.05)

الهيدروجين لوحده ومع سم النحل، فضلاً عن ظهور التصلب العصيدي للفروع الشريانية التاجية عند حيوان واحد من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل وتنكس فجوي في العضل القلبي عند 3 حيوانات من نفس المجموعة .الصور (4 ،5 ،6). في حين لم تظهر أي افات مرضية نسجية في شريان الابهر والقلب في حيوانات مجموعة سم النحل عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة. لوحظ في الكبد أحتقان الجيبانيات والأوردة المركزية والتنكس الفجوي الطفيف الى متوسط الشدة عند معظم حيوانات المجموعتين المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده ومع سم النحل مقارنة بالسيطرة مع أرتشاح بؤري للخلايا الألتهابية وأنزفة خفيفة في عدة حيوانات من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم

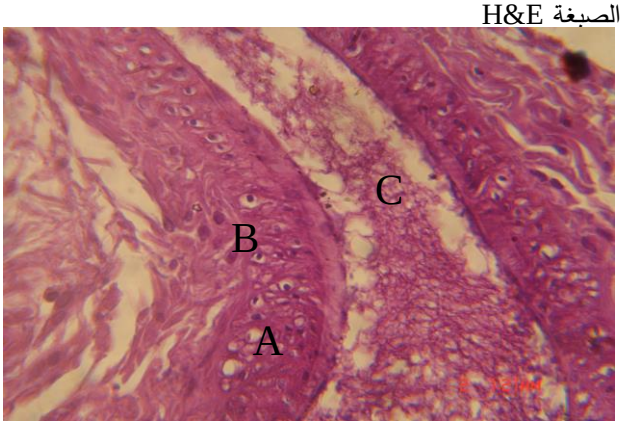
النحل وحيوان واحد من المجموعة المعاملة بسم النحل مع تثخن بسيط للحواجز الليفية بين الفصوص الكبدية وجدران الشرايين البابية عند بعض حيوانات المجموعتين المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده ومع سم النحل فضلاًعن وجود النخر التجلطي حول الاوردة المركزية والباحات البابية عند حيوانين من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدوجين مع سم النحل. الصور(7،8،9) .اما في الكليتين فقد سجلت تغيرات مرضية متوسطة الشدة عند المجاميع المعاملة، تمثلت بالتورم الغيمي لخلايا النبيب الكلوي وأحتقان الأوعية الدموية وكانت أكثرها شدة عند المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وسم النحل ،مع حدوث النخر التجلطي البؤري وأرتشاحات ألتهابية عند عدة حيوانات من هذه المجموعة فضلاعن التصلب العصيدي في الشرايين الكلوية لأحد حيوانات هذه المجموعة. الصور (10،11) .



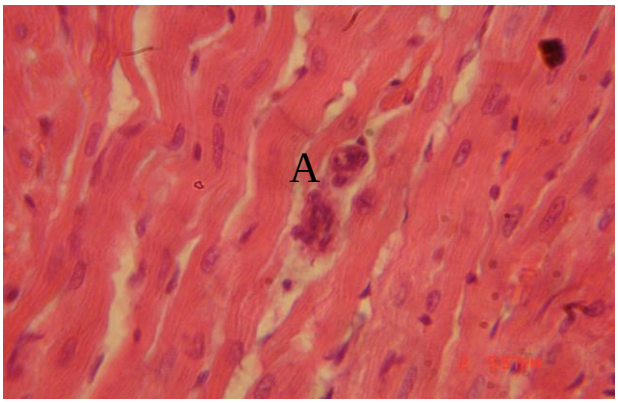
صورة (1) : مقطع في جدار الشريان الابهر لجرذ من المجموعةالمعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل يوضح ظهور تغيرات تنكسية في بطانة الابهر (A) وتكاثر الخلايا العضلية الملساء في الطبقة تحت البطانية (B) وأحتقان الأوعية الدموية الشعرية في جدار الأبهر(C) وأرتشاح خلايا ألتهابية أغلبها من العدلات والبلعمات الكبيرة (D) .قوة التكبير X 165 الصبغة H&E



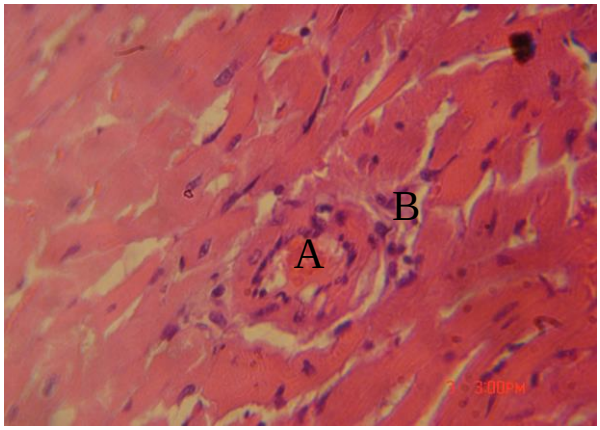
صورة (2) :صورة مكبرة للشكل السابق توضح ظهور التنكس الفجوي في خلايا بطانة الأبهر (A) وتكاثر الخلايا العضلية الملساء (B) .قوة التكبير X 650 الصبغة H&E



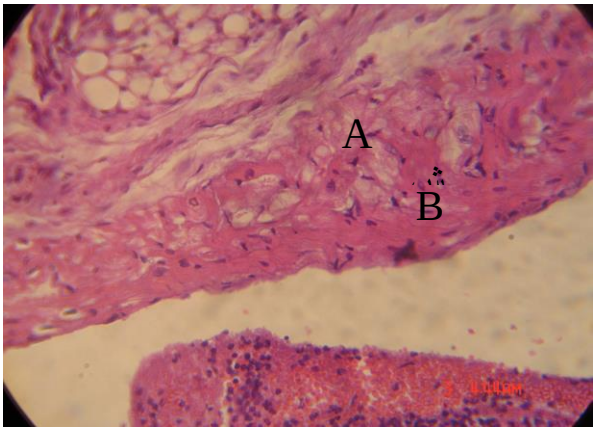
صورة (3) : مقطع في الشريان الأبهر لجرذ من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل يوضح تكون الخلايا الرغوية في الطبقة العضلية للشريان الأبهر (A) مع تثخن جدار الشريان (B) وتضيق الجوف الشرياني (C) . قوة التكبير X 450 الصبغة H&E



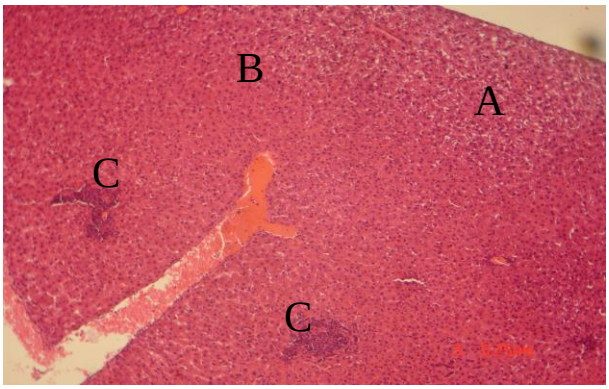
صورة (4): مقطع في عضل القلب لجرذ من المجموعة المعاملة بسم النحل يوضح أرتشاح خلايا لمفية بين الألياف العضلية القلبية (A) .قوة التكبير X 650 الصبغة H&E



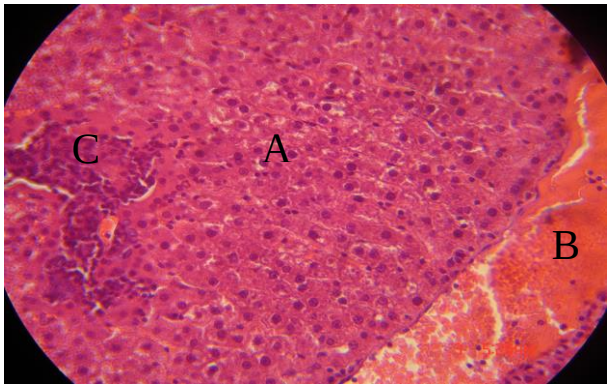
صورة (5): مقطع في عضل القلب لجرذ من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل يوضح أحتقان الأوعية الدموية الشعرية(A) وأرتشاح الخلايا الألتهابية أغلبها من اللمفيات (B) .قوة التكبير X 650 الصبغة H&E



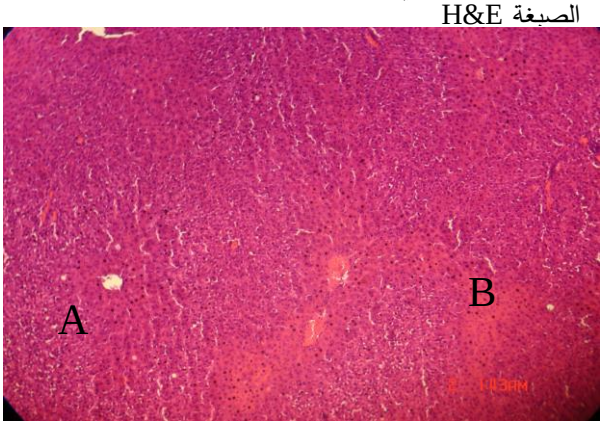
صورة (6): مقطع في العضل القلبي لأذين جرذ من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل يوضح التنكس الفجوي في العضلات القلبية (A) وأرتشاح البلاعم الكبيرة في العضل القلبي (B) .قوة التكبير X 370 الصبغة H&E



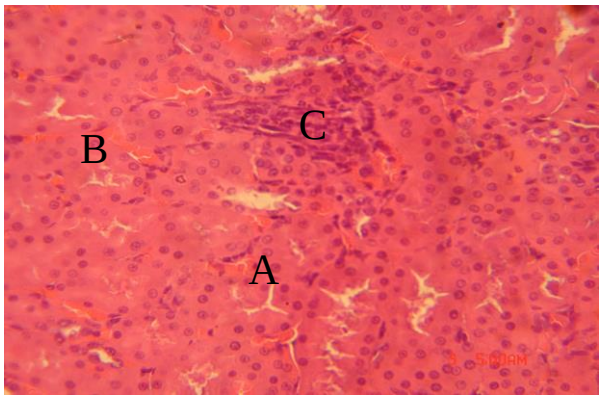
صورة (7):مقطع في الكبد لجرذ من المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل يوضح التنكس الفجوي للخلايا الكبدية المتنية (A) وأحتقان الجيبانيات (B) وأرتشاح الخلايا الألتهابية في المتن الكبدي (C) .قوة التكبير X 165 الصبغة H&E



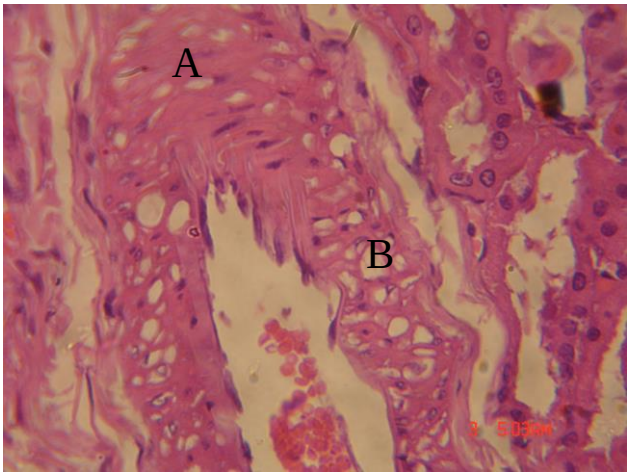
صورة (8):صورة مكبرة للشكل السابق توضح التنكس الفجوي للخلايا المتنية الكبدية (A) وأحتقان الجيبانيات (B) وأرتشاح الخلايا الألتهابية في المتن الكبدي أغلبها لمفيات وبلاعم كبيرة (C) .قوة التكبير X 280 الصبغة H&E



صورة (9) : مقطع في كبد جرذ من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل يوضح التنكس الفجوي المنتشر في المتن الكبدي (A) والنخر التجلطي حول الجيبانيات الكبدية والأوردة المركزية (B) .قوة التكبير X 100 الصبغة H&E



صورة (10) : مقطع في الكلية لجرذ من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل يوضح التورم الغيمي للنبيبات الكلوية مع تضيق تجاويفها التي تأخذ شكلاً نجمياً (A) وكذلك وجود النخر التجلطي لخلايا النبيبات الكلوية (B) وأرتشاح خلايا ألتهابية أغلبها من اللمفيات والبلاعم الكبيرة ضمن المتن الكلوي (C) .قوة التكبير X 560 الصبغة H&E



صورة (11) : مقطع في الكلية لجرذ من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل يوضح تطور تصلب الشرايين العصيدي في الشرايين الكلوية ضمن متن الكلية تمثلت بتثخن جدران الشريان (A) وتكون الخلايا الرغوية ضمن الجدار الشرياني (B) .قوة التكبير X 370 الصبغة H&E.

المناقشة

الوزن

ادى اعطاء بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 1% عن طريق ماء الشرب الى انخفاض معنوي (أ $\leq$ 0.05) في معدل وزن جسم الجرذان مقارنة بقيمها في مجموعة السيطرة وهذا يتفق مع (17،18،19)وكذلك وجدت النتائج ذاتها في الفئران (20) . ويعود السبب الى ان اعطاء بيروكسيد الهيدروجين في ماء الشرب يؤدي الى تزنخ الشحوم داخل جسم الحيوان وتحرر جذور الاوكسجين الحرة والتي ينتج عنها اعاقة للنمو بسبب التداخل مع عمليات الايض ومعدل التحويل الغذائي (21).

صور الدم

ان الانخفاض الملاحظ في معدل حجم الخلايا المرصوصة في الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (1%) تتفق مع مالاحظته (22)في الارانب وربما يعود هذا الانخفاض الى الاجهاد لهذه المادةعلى كريات الدم الحمر. اذ يعد بيروكسيد الهيدروجين من العوامل المؤكسدة (23) حيث لوحظ ان الاكسدة تؤدي الى فقدان الكترون من أيون الحديدوز Fe^{+2} من جزيئة الهيموكلوبين الى الاوكسجين وتكوين ايون السوبر أوكساید السالب(O_2^-) والميتهيموكلوبين الذي يتأكسد فيه أيون الحديدوز الى أيون الحديديك Fe^{+3} ونظراً لكون السوبر اوكساید من الجذور الحرة الفعالة جداً فأنه سيؤدي الى اكسدة الدهون والبروتينات الموجودة في أغشية الكريات الحمر مما تؤدي الى تحللها (24) وهذا سينعكس في حجم الخلايا المرصوصة لاسيما وان التأثيرات التأكسدية الهدامة تؤدي الى زيادة زناخة الدهون والتالي استنزاف الكلوتاثيون المختزل GSH. حيث لوحظ ان الكلوتاثيون يتواجد بتراكيز عالية في كريات الحمر. وان الدور الرئيسي الذي يلعبه هو ابطال فعالية السوبر اوكساید ، اذ يتحول الاخير الى بيروكسيد الهيدروجين بوساطة انزيم اوكساید ديسميوتاز ، ثم يتحول بيروكسيد الهيدروجين الى الماء والاوكسجين بوساطة انزيم الكلوتاثيون بيروكسيداز وفي هذا التفاعل يتأكسد الكلوتاثيون المختزل GSH الى الشكل

المؤكسد GSSG وان اختزال الكلوتاثيون المؤكسد لتكوين الكلوتاثيون المختزل يتم بوجود انزيم الكلوتاثيون ريداكتاز ومادة NADPH المجهزة من خلال تفاعلاتالبنتوزفوسفات وعليه فان الكلوتاثيون المختزل يؤدي دوراً مهماً في تنظيم حالة التأكسد_ الاختزال وفي ازالة سمية النواتج الوسطية الفعالة الناتجة خلال ايض المواد الداخلية المنشأ او المواد الخارجية (24).

اما الانخفاض الملاحظ في معدل خضاب الدم في الحيوانات المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين يتفق مع مالاحظته(22) في الارانب وقد يعود السبب الى ان الجذور الحرة للاوكسجين قد تؤدي الى تلف الهيموكلوبين وتكوين ترسبات داخل الخلية تدعى جسم هينز Heinz body وتؤدي هذه الاجسام الى تحلل كريات الدم الحمر (25) كما وان اكسدة الهيموكلوبين تعد احدى العمليات التي تسبق الاكسدة المسببة للتحلل الدموي للكريات وذلك لان الهيموكلوبين يعد ضرورياً لاحداث زناخة الدهون في اغشية الكريات (26).

اما الانخفاض الحاصل في معدل حجم الخلايا المرصوصة وخضاب الدم في الحيوانات المعاملة بسم النحل ربما يعود سببه الى قابلية سم نحل العسل على تحلل كريات دم الحمر العائد لتأثير مادة الميلتين اذ لاحظت احدى الدراسات ان الميلتين له القدرة على تحلل كريات الدم الحمربحوالي 30% او من خلال زيادة فعالية نشاط انزيم الفوسفولايبيز A2 الذي يؤثر على الغشاء الخلوي لكريات الدم الحمر(27)، فضلا عن قابلية سم النحل على زيادة هشاشة كريات الدم الحمر (28) وبالتالي فان انخفاض كريات الدم الحمر سوف يؤدي الى انخفاض معدل حجم الخلايا المرصوصة وخضاب الدم.

درجة حرارة الجسم

سجل سم النحل لوحده في نهاية التجربة وفي المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل في الفترات الثلاثة الاخيرة من التجربة الى ارتفاع درجة حرارة جسم الجرذان , وقد يعود السبب الى فعل الميلتين، اذ ادى حقن الانسان بخمسة مايكرغرام من الميلتين المستخلص من سم النحل الى ارتفاع درجة حرارة الجسم (29).

القياسات الكيميوحيوية المصلية

أ-الكلوكوز

ادى اعطاء بيروكسيد الهيدروجين الى ارتفاع معنوي($أ \leq 0.05$) في معدل مستوى الكلوكوز وهذا مشابه لما لاحظه(30) في الجرذان وربما يعلل السبب الى ان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين تؤدي الى زيادة انواع الاوكسجين الفعالة ROS والتي بدورها تعمل على عدة مسارات تؤدي الى نتيجة واحدة هي ارتفاع مستوى الكلوكوز في الدم من خلال اما التحطيم الجزئي لخلايا بيتا في البنكرياس والتي تضطلع بوظيفة افراز هرمون الانسولين ذي الدور الاساسي في ايض الكلوكوز او من خلال التأثير السلبي في مستقبلات الانسولين في الخلايا المحيطية وكلتا الفرضيتان تحتاجان الى اثبات عن طريق قياس مستوى هرمون الانسولين في بلازما الدم مع دراسة جزيئية متخصصة على مستوى المستقبلات ، هذا فضلا عن

وجود فرضية ثالثة مفادها ان انواع الاوكسجين الفعالة وبضمنها الجذور الحرة قد تعمل على تحطيم الانزيمات المسؤولة عن ايض الكلوكوز في الخلية عن طريق مسار تحليل السكر لاهوائياً glycolysis. اما الانخفاض الملاحظ في المجموعة المعاملة بسم النحل قد يعود الى تأثير الميليتين اذ سجلت احدى الدراسات بانه يخفض كلوكوز الدم باليات غير معروفة (31).

ب- الكوليستيرول والكليسيريدات الثلاثية

لوحظ ان أعطاء بيروكسيد الهيدروجين أحدث زيادة معنوية (أ $\leq$ 0.05) في مستوى الكوليستيرول والكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم اذ تتفق هذه النتائج مع ماحصل عليه (18،19،30،32). بان اعطاء بيروكسيد الهيدروجين كفيل بخلق حالة من الاجهاد التأكسدي وزيادة مستويات الجذور الحرة مما يرفع من معدلات أكسدة LDL-C و VLDL-C فضلا عن تحطيم اوكسيد النتريك NO ذي الخواص المضادة للتعصد هذا علاوة على اذى الخلايا المبطنة للشرايين مما يؤدي الى اختلال وظائف التقلص والانبساط (33) حيث يؤدي بيروكسيد الهيدروجين الى احداث الاذى التأكسدي من خلال اطلاقه لجذر الهيدروكسيل ضمن عملية ايضية معقدة في نظام الاكسجة الاحادي الانزيم Microsomol monoxygenase والتي غالباً ماترافق تزنخ الدهون وتعطيل وظيفة الكبد (34). ان لبيروكسيد الهيدروجين القدرة على توليد جذر الهيدروكسيل ذي القابلية العالية على تحطيم الانسجة اما عن طريق سحب الهيدروجين او اضافة اصرة مزدوجة او نقل الكترونات وتكوين جذور حرة فعالة وتعد عملية تكوين جذر الهيدروكسيل بحد ذاتها من الاليات المحطمة للخلايا بسبب فرط جهد الحديد داخل الخلية والناتج عن تحرره من الفيرتين (35) كما ينتج عن جذور الاوكسجين الحرة تلف في القنوات والمضخات الايونية في غشاء البلازما مما يعزز عملية التعصد (36). لوحظ مؤخراً ان بيروكسيد الهيدروجين المعطى عن طريق الفم له القدرة على رفع ضغط الدم البطيني وتقليل مستوى ATPفي خلايا الانسجة مما يتداخل مع وظيفة التوسع للخلايا المبطنة للشرايين (37).

ج- الانزيمات

تشير النتائج بان اعطاء بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 1% مع ماء الشرب قد احدث زيادة في فعالية انزيمي الاسبرتيت ناقل الامين والفسفتاز القلوي في الجرذان وان الزيادة الملاحظة في فعالية هذين الانزيمين في مصل الدم تدل على وجود حالة من التحطم الخلوي حدث بموجبها خروج لهذين الانزيمين والتي تتموضع وظيفتها الاساس داخل الخلية الى الدم مع مايترتب عليه فقدان للوظيفة او تحطم جزئي . حيث يعد انزيم الاسبرتيت ناقل الامين متعلق وظيفيا بايض الاحماض الامينية اذ يتخصص بنقل مجاميع الامين بين حامض الاسبرتيك والالانين عن طريق حامض الكلوتاميك. وتحصل هذه التفاعلات تحديدا في بيوت الطاقة رغم تشخيص الباحثين لوجود الانزيم في السايتوبلازم والذي يظهر في الدم عند الاذى الخلوي الخفيف . اما التحطم الخلوي الشديد فيؤدي الى ظهور شكل الانزيم الخاص ببيوت الطاقة الى الدم (38).

اما بخصوص زيادة فعالية انزيم الفسفتاز القلوي في مصل دم الجرذان اذ من المتعارف ان وظيفة هذا الانزيم تتحدد بتحفيزه للتحلل المائي لعدد من المركبات داخل الجسم وازالة مجموعة الفوسفات منها ويعتقد ان مادة الاساس التي يعمل عليها هذا الانزيم يتخصص في phosphotidylethanolamine والموجودة في اغشية الخلايا وهو مايؤيد صحة الفرضية القائلة بان وظيفة هذا الانزيم هي نقل الدهون (39).

التغييرات النسجية

إن ظهور التصلب العصيدي في الأبهر وشرايين القلب والكلى عند المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل بشكل أكثر شدة من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده يدفع للأعتقاد بأن أحد مركبات سم النحل له دوراً في تطور هذه الحالة من خلال إحداثه لضرر الخلايا البطانية الشريانية بشكل مباشر أو ربما من خلال حثه لتكوين الجذور الحرة ، والتي يعرف عنها إحداث مثل هذه التأثيرات عند المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (40). ولم تشر المصادر المتوفرة الى وجود علاقة بين سم النحل وحدوث التصلب العصيدي ربما لعدم وجود دراسات مماثلة تتناول تأثيرسم نحل العسل لفترة طويلة . وكذلك لم يتم العثور على دراسات تتناول تأثير سم النحل على أفراز الجذور الحرة وتكوين الجهد التأكسدي ، ولكن وجد بعض الباحثون إشارات تدل على تكون الجهد التأكسدي في بعض الأعضاء حيث ذكر الباحثون (41) . أن الميليتين يمكن أن يسبب الضرر الرئوي التأكسدي Oxidative lung injury من خلال تحفيز العدلاتNeutrophils في المزارع الخلوية وأن ذلك يحدث من خلال زيادة نشاط خميرة الفوسفولايبيز A2 في هذه الخلايا وأنه يمكن منعه كلياً بواسطة حامض Artisolic acid المثبط لخميرة الفوسفولايبيز A2 وجزئياً بواسطة خمائر الCatalase وهي من كاسحات بيروكسيد الهيدروجين ، ومن ذلك يمكن الأقتراح بأن تكوين الليكوترين Leukotriene- B4 B4– من أيض حامض الأرشيدونيك Arachedonic acid بطريقة ال Lipoxygenase يشرح ألية الميليتين في أحداث الضرر الرئوي التأكسدي ، إن إحتمال حدوث ذلك في عدة أنسجة من الجسم بفعل الميليتين قد يؤدي الى حدوث التصلب الشرياني العصيدي الذي لوحظ في أعضاء مختلفة .

لقد أظهرت النتائج أيضاً وجود التغيرات التنكسية في العضل القلبي لبعض جرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل وهذا قد يعود الى التأثير السمي لبعض مركبات سم النحل على العضلات ، حيث ذكر الباحثون (42) أن مركبي الميليتين وخميرة الفوسفولايبيز A2 في سم النحل يمكن أن يسببا نخر العضلات الهيكلية عند حقنهما في الفئران ، وهذا أيضاًً يشابه ما ذكره الباحثون (43) من أن إضافة الميليتين بتركيز 4.5 مايكروغرام/مل لمزرعة الخلايا العضلية القلبية للفئران يسبب ظهور تأثيرات تقلصية وتغيرات شكلية وتركيبية في هذه الخلايا تمثلت أساساً بالتنكس الفجوي أو الأنتفاخي Balloon degeneration للخلايا القلبية وأن ذلك يمكن أن يعزى الى تعطيل نظام تبادل أيونات الكالسيوم والصوديوم في الغشاء الخلوي من قبل الميليتين مسبباً منع دخول الكالسيوم الى الخلية

وتراكم الصوديوم داخلها مما يسبب إعاقة وظيفتها التقلصية وأنتفاخها .إن أحتمال حدوث النخر لبعض الألياف العضلية القلبية ينتج عنه بالضرورة إرتشاحات للخلايا الألتهابية في هذه المناطق وأن ظهور التغيرات المرضية بوضوح عند المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم نحل العسل قد تعود الى تأثير الميليتين متأزراً مع الجهد التأكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين وربما يكون ذلك مرتبطاُ مع ارتفاع مستوى البروتينات الكلية في مصل الدم عند هذه المجموعة عن مجموعتي سم النحل وبيروكسيد الهيدروجين .

إن ملاحظة وجود تغيرات مرضية في الكبد والكلى عند المجموعتين المعاملتين ببيروكسيد الهيدروجين قد يعود الى تأثيرات هذه المادة المعروفة على هذه الأنسجة (40) بسبب الجهد التأكسدي ، وأن كون هذه التغيرات أكثر شدة في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع سم النحل وكذلك ظهورها عند مجموعة سم النحل تعكس وجود سمية واضحة لسم النحل على هذه الأعضاء عند هذا المستوى والكثافة من اللسع ، وإن ذلك قد يعزى الى دور الميليتين حيث ذكر الباحثون (44) أن إضافة الميليتين الى الزرع المختبري لأكباد الجرذان يعمل على إفراز البروستاكلاندين D2 والثرمبوكسان B2 واللذان يعتبران من النواقل الألتهابية والتي تعمل على إستحداث أستجابة إلتهابية وأحداث الضرر النسجي .إن هذه التغيرات المرضية في النسيج الكبدي يمكن أن تعزى أيضاً الى دور سم النحل في أحداث تغيرات في أيض الدم Heme metabolisim داخل الخلايا الكبدية بسبب التغيرات في نشاط الخمائر المايكروسومية الكبدية Hepatic microsomal enzymes حيث يثبط نشاط ال Cytochrom P-450 ونشاط بعض الخمائر المصاحبة لها مثل خميرتي ethylmorphin N-dimethylase وbenzo[a] pyrene hydroxylase (45) وهذا ما ايدته نتائج الفحوصات الدموية التي اظهرت انخفاضاً معنوياً في معدل خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوصة في الحيوانات المعاملة بسم النحل. وذكر الباحثون (46) أن لسع الحشرات غشائية الأجنحة كالنحل والزنابير يمكن أن تسبب حدوث الفشل الكبدي والكلوي عند بعض الاطفال . ووجد الباحثون (47) أن حقن الميليتين في الجرذان بجرعة 0.5 ملغم / كغم يسبب أنخفاضاُ شديداً لمعدل الترشيح الكبيبي ومعدل جريان الدم في النسيج الكلوي في القشرة واللب خلال 70 دقيقة من الحقن في حين تظهر التغيرات النسجية متمثلة بالضرر النبيبي الحاد وترسب خضاب المايوكلوبين بعد 24 ساعة من الحقن . أن هذه النتائج تظهر بوضوح الى وجود تأثيرات سمية لسم النحل على الأعضاء المتناولة في الدراسة الحالية وأن معظم الدراسات المشابهة تقترح ان للميليتين دوراً في أحداث الضرر النسجي من خلال تحفيزه لخميرة الفوسفولايبيز A2 (41) وبالتالي تنشيط السلسلة الالتهابية المعتمدة على أيض حامض الأركيدونيك ، وأن هذا لا يتفق مع نتائج باحثين أخرين وجدوا دوراً للميليتين في تحفيز أفراز الستيرويدات القشرية من قشرة الكظر (48) والذي يفترض بأنه يثبط أفراز خميرة الفوسفولايبيز A2 ويقلل من أفراز سلسلة النواقل الألتهابية ويقلل من الأرتشاحات الألتهابية

وأفراز الجذور الحرة (49) وقد يعود هذا التباين الى الجرعة أو كثافة اللسع المستخدمة في هذه الدراسات .

شكر وتقدير

يتقدم الباحثون بجزيل الشكر والتقدير الى عمادة كلية الطب البيطري في المساعدة على انجاز هذا البحث.

المصادر

1. Cohen, S.G and Bianchine, P.J . Hymenoptra .Hypersensitivity and history : A prologue to current day concepts and practices in the diagnosis treatment and prevention of insect sting allergy .Ann Allergy Asthma Immunol . 1995 ; 74 : 198-217 .
2. Blum, M.S . Chemical defenses in arthropods . Academic Press . New york . 1981 : 562
3. Golden, D.B.K. Epidemiology of allergy to insect venoms and stings . Allergy Proc . 1989 ; 10 : 103- 107 .
4. Przybella, B. Bee and wasp allergy – Clinical picture and diagnosis . J Eur Acad Dermatol Venereol . 1999 ; 9 : 84 .
5. Lee, J.D ; Kim, S.Y; Kim, T.W; Lee, S.H; Yang ,H. I; Lee, D.I and Lee, Y.H. Antiinflammatory effect of bee venom on type II collagen induced arthritis . Am J Chin Med . 2004 ; 32: 361- 367 .
6. Kwon, Y.B; Kim, J.B;Yoon, J. H; Lee, J.D; Han, H. J; Mar, W.C; Beitz, A.J and Lee, J. H. The analgesic efficacy of bee venom acupuncture for knee osteoarthritis : a comparative study with needle acupuncture . Am J Chin Med .2001 ; 29: 187-199 .
7. Park, H. J; Lee, S. H; Son, D. J; Oh, K.W; Kim; K.H; Song, H.S; Kim, G.J; Oh, G.T;Yoon, D.Y and Hong, J.T. Antiarthritic effect of bee venom : Inhibition of inflammation mediator generation by suppression of NF-Kappa B through interaction with the P50 subunit . Arthritis Rheum . 2004; 50:3504-3515 .
8. http://www.arthritis-ms.com/FAQ.htm
9. Meier, J and White, J.Clinical toxicology of animal venom and poisons .CRC Press , INC . 1995 .
10. http://www.thehealthierlife.co.uk/natural-remdies/alternative-therapies/bee-venom-therapy-increase-mobility-00393.html
11. رقية محمد الحلوجي . العلاج بلسع النحل . مطابع دار المأمون ، (ج .م . ع) رقم الايداع 2740 . 1966.
12. Timm, K. Orbital venous anatomy of the rat. Lab. Animals Sci. 1979 ; 2: 663- 670.
13. Jain, N.C. Schalm's Veterinary Haematology. 4th ed., Lea and Febiger, Philadelphia, USA; 1986: 1050
14. Wotton, I.D. Microanalysis Medical Biochemistry. 5th ed., Churchill livingston, Edinburgh and London; 1974.156-158.
15. Luna, L.G. Manual of histologic staining methods of the armes forces institute of pathology.3rd ed. McGraw-Hill book company , New york .1968.
16. Bruning, J.L and Kintz BL .Computational Handbook of Statistics. Scott, Foresman and Co.,Glenview, Illinois, 1977:18.
17. عزيز ، بسام نجيب. بعض التغيرات الكيمياوية الحياتية في حالات الجوع والكرب التأكسدي وداء السكر التجريبي في الجرذان : تأثير بعض النباتات الطبية والهرمونات الجنسية الانثوية. (اطروحة دكتوراه) .الموصل : جامعة الموصل ، 1999 .
18. علي ، جيان سلام حسن .تأثير نقيع اوراق الجوز على مستوى شحوم الدم في الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والكولستيرول . (رسالة ماجستير).الموصل : جامعة الموصل ، 2001.

19. كلو ، معن سمير . تأثير مستخلصات فستق الحقل وزهرة الشمس على مستويات شحوم الدم في الجرذان المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والشحوم الحيوانية. (رسالة ماجستير).الموصل : جامعة الموصل ، 2005.

20. Aziz, B.N . Effect of hydrogen peroxide induced oxidative stress on epidymal sperm of mice . Iraq J. Vet. Sci. 2000;13(1) : 61-65.

21. Okwusidi, J.I ; Wong, H.Y ; Cheng, K.S . Effects of diazepam , Psychosocial stress and dietary cholesterol in experimental atherosclerosis. Artery .1991 ;18(2) : 71-85.

22. حسن ، اشواق احمد .تأثير الاجهاد التأكسدي على بعض مكونات الدم في الارانب البالغة. (رسالة ماجستير).الموصل : جامعة الموصل ، 1997.

23. Rao,G.N.Hydrogen peroxide induces complex formation of SHC-Grb2-SOS with receptor tyrosine kinase and activates Ras and extracellular signal-regulated protein kinases group of mitogen-activated protein kinases. **Oncogene. 1996; 13(4):713-**9

24. Emslie _ Smith, D ; Paterson, C.R ; Scratcherd, T and Read, N.W. Molecular Biochemistry . Churcill Livngstone .Edinburgh . (eds). 1988

25. Jain, S. K . The neonatal erythrocyte and its oxidative susceptibility . Seminars in Hematology . 1989 : 26 :286-300.

26. Mills, G.C and Randall H P . Hemoglobin catabolism. J. biochem.; 1958 : 232 : 589.

27. Cezary, W and Jan, K . Hemolytic potency and phospholipase activity of some bee and wasp venoms . Pharmacology 1990 ; 97 (1) : 187-194.

28. Hort - Herz A . Effect of the venom of the bee *Apis mellifera* on osmotic fragility of cattle RBC. Toxicon ; 1968 5(3) : 181-186.

29. Natsu, K ; Kazuhiko, H ; Koichiro, H ; Kenjiro, D and Toshikatsu Y . Computer_ assisted infrared thermographic study of axon reflex induced by intradermal melittin . Pain 2000; 84 (2-3): 133-139 .

30. عبد الرحمن ، صائب يونس. تأثير الجوع وداء السكر التجريبي على مستويات الكلوتاثيون وزناخة الدهن في انسجة الجرذان . (اطروحة دكتوراه) .الموصل : جامعة الموصل ، 1995 .

31.Morgan, N.G and Montigue, W . Stimulation of insulin secreation from isolated rat islets of langerhans by melittin . Biosci Rep ; 1984 4 (8) : 665-671 .

32.Khudiar, K.K . The role of aqueous extracts of olive (Olea europaca) leaves and garlic (Allium sativum) in ameliovating the effects of experimental induced atherosclerosis . [dissertation]. Baghdad: University of Baghdad.

33. Stevinkel, P ; Diczfalusg, U ; Lindholm, B and Heimburger, O . Phospholipid increased plasmalogen , asurrogate marker of oxidative stress, is associated with cardiovascular mortality . Nephrol.Dial.Tranplant. 2004; 19(4): 972-976.

34. Rakotovao, A ; Delorgeril, M and Salen, P .Ethanol , wine, and experimental cardioprotection in ischemia / reperfusion : role of prooxidant / antioxidant balance . Antioxid . Redox Signal, 2004; 6(2): 431-438.

35. Lawerence, A; Jones, C.M ; Brkitt, M. J . Evidance for the role of peroxidase compound type-1 intermediate in the oxidation of glutathione , NADH. Ascorbate for and dichloroflurscin by apoptosis. J. Bio. Chem.; 2003 278(32): 29410-29419.

36. Walia, M ; Kwan, C.Y and Groven, A.K . Effects of free radicals on coronary artery . Med. Prin. Pract. 2003 ;12(1):1-9.

37. Hara, A ; Matsumura, H and Abiko,Y . Lidocaine attenuates both mechanical and metabolic changes induced by hydrogen peroxide in rat heart . J.Biochem. 2004; 270 (23):4655-4661 .

38. Mayne, P.D. Clinical chemistry indiagnosis and treatment 6 th, Oxford University Press. Inc., New York. 1999 : 225-241.

39. Burtis, C.A and Ashwood, E.R. Tietz textbook of clinical chemistry. Saunders Company. 1999 .

40. Al-Allaf, E. S. M. The effect of garlic and vitamin E on the pathogenesis of atherosclerosis induced by hydrogen peroxide in rabbits. [Master`s thesis]. Mosul , university of Mosul .2004.27p.
41. Lintter, M.R and Lott, F.D. Increase in filtration coefficient from actions of milittin on neutrophils in isolated rabbit lungs . Am J Respir Crit Care Med ; 1994. 149:867-872 .
42. Ownby, C.L; Powell, J.R and Fletcher, J.E. Melittin and phospholipase A2 from bee(*Apis mellifera*) venom cause necrosis of murine skeletal muscle *in vivo* .Toxicon ;1997.35: 67-80 .
43. Okamato, T; Isoda, H ;Kubota, N; Takhana, K; Takhana, T; Kishi, T; Nakamura T;Muromachi, Y; Matsui, Y and Goshima, K . Melittin cardiotoxicity in cultured mouse cardiac myocytes and its correlation with calcium overload . Toxicology and Applied Pharmacology , 1995;133: 150- 163 .
44. Garcia-Sainz, J.A; Hernandez-Sotomayor, S.M and Macias-Silva, M. Melittin stimulats liver glycogenolysis and the release of prostaglandin D2 and thromboxan B2 . Biochem J.;1990. 269: 273-275 .
45. Eiseman, J.L ; Von Bredow, J and Alvares, A.P. Effect of honey bee (*apis mellifra)* venom on the course of adjuvant- induced arthritis and depression of drug metabolisim in the rat . Biochemical Pharmacology ;1982.31:1139 -1146
46. Pramanik, S and Benerjee, S. Hymenoptra stings with multisystem dysfunction . Indian Pediatr; 2007 . 44: 788-790 .
47. Grisotto, L.S; Mendes, G.E; Castro, I; Maria, A.S ;Baptista, A.A; Venancio, A.A and Burdman, E . A. Mechanisims of bee venom – induced acute renal failure . Toxicon; 2006. 48: 44-45 .
48. Couch, L.T and Benton AW. The effect of venom of the honey bee (*Apis mellifera)* on th adrenocortical response of the adult male rat .Toxicon ; 1972 . 10 : 55-62 .
49. Kumar, V; Cotran, D and Robins Md.Basic pathology.6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company ;1997.