

# بررسی اثر مارگارین پردازش شده بر میزان نشانه‌های استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی نر جوان

\*زهرا سالمی

استادیار بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی

\*اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک

Zsalemi @ ibb.ut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۸۹/۵/۱۱، پذیرش: ۸۹/۸/۲)

**چکیده** - استرس اکسیداتیو، مشکل عمدۀ قرن و سرچشمۀ پیدایش بیماری‌های گوناگون، از آب مروارید تا سرطان است. استرس اکسیداتیو زمانی ایجاد می‌شود که میزان رادیکال‌های آزاد در بدن، از میزان آنتی‌اکسیدان‌ها بیشتر باشد. برخی مطالعات بر این موضوع دلالت دارند که مارگارین، به‌دلیل داشتن اسیدهای چرب ترانس، مولد رادیکال‌های آزاد بوده و در افزایش نشانه‌های استرس اکسیداتیو مؤثر است. اما مطالعات دیگر با تأکید بر وجود افزاینده‌های آنتی‌اکسیدان، مانند آلفا و بتا کاروتون، ویتامین C و بھویژه ویتامین E به مارگارین، نشان داده‌اند که مصرف مارگارین در حذف رادیکال‌های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو مؤثر است. گزارشات متناقض، ما را بر آن داشت که آثار مارگارین را بر استرس اکسیداتیو بررسی کنیم. به‌این سبب دو گروه کنترل و آزمایش، هر یک شامل ده موش نر، از نژاد ویستار به‌مدت ۴ ماه، به‌ترتیب با غذای استاندارد و غذای استاندارد همراه با ۱۵ درصد مارگارین، تغذیه شدند و آثار آن با سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسماء، میزان پراکسیداسیون لیپیدی و میزان گروه‌های تیول پروتئین‌های پلاسماء، ارزیابی شد. نتایج نشان می‌دهد که ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسماء ( $P < 0.05$ ) و میزان گروه‌های تیول پروتئین‌های پلاسماء در موش‌های تغذیه شده با مارگارین، بیشتر از موش‌های کنترل است، هم‌چنین میزان پراکسیداسیون لیپیدی در موش‌های دریافت کننده مارگارین کمتر از گروه کنترل است. نتایج بالا نشان‌دهنده تأثیر مثبت مارگارین بر کاهش نشانه‌های استرس اکسیداتیو است و به‌نظر می‌رسد که تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، با مصرف مارگارین غنی شده، در کاهش آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد مؤثر است.

**کلیدواژگان:** مارگارین، استرس اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدان، موش‌های صحرایی.

با انتقال الکترون به رادیکال های آزاد، آنها را به شکل پایدار تبدیل کرده و از آثار زیان بار این مولکول ها بکاهند [۱۶]. آنتی اکسیدان های اصلی شیمیایی عبارتند از ویتامین های A، C، E، آلفا و بتا کاروتون، فلاونوئید های طبیعی، یووی کینون، سلنیوم، روی و ترکیبات پلی فنلی موجود در چای سبز در اغلب موارد برای کاستن از رادیکال های آزاد و کاهش علامت های استرس اکسیداتیو، برخی از این ترکیب ها آنتی اکسیدان قوی، مانند ویتامین های C، E و آلفا و بتا کاروتون به مارگارین تجاری افزوده می شود [۴، ۵، ۶] این آنتی اکسیدان های بیوشیمیایی، نه تنها رادیکال های آزاد را جارو می کنند، بلکه تشکیل آنها را در بدن مهار می کنند [۱۴] بنابراین استفاده از غذا و گیاهان غنی از آنتی اکسیدان و مارگارین غنی شده می تواند در کاهش میزان نشانه های استرس اکسیداتیو و حذف رادیکال های آزاد ایجاد شده از طریق اسید های چرب غیر اشباع موجود در آن، مفید باشد [۲۰]. با توجه به گزارشات متناقض در این زمینه، هدف از این تحقیق، بررسی اثر مصرف مارگارین بر میزان نشانه های استرس اکسیداتیو در موش های صحرایی نر جوان است.

## ۲- مواد و روش ها

این مطالعه، در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اراک روی موش های صحرایی نر ۵ ماهه، از نژاد ویستار، با وزن بین ۳۰۰ تا ۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای  $24 \pm 2$  درجه سانتی گراد نگهداری شدند. گروه کنترل، شامل ده عدد موش، به مدت ۴ ماه، از غذای استاندارد تهیه شده با شرکت دانه پارس تهران تغذیه شدند. در حالی که ده موش گروه آزمایش، در خلال این مدت، همراه با غذای استاندارد، میزان (w/w) ۱۵٪

## ۱- مقدمه

رادیکال های آزاد، اتم ها یا مولکول هایی هستند که به سبب دارا بودن یک یا چند الکترون جفت نشده، از فعالیت زیادی برخوردارند و بدليل داشتن تک الکترون، هنگام گردش خون، می توانند به ماکرو مولکول های حیاتی جانداران مانند DNA، لیپیدها، پروتئین ها و کربوهیدرات ها متصل شده و آسیب جبران ناپذیری وارد کنند [۶]. در افراد سالم، بین میزان تولید رادیکال های آزاد و دفاع آنتی اکسیدان بدن تعادل مناسبی وجود دارد. بروز اختلال در این تعادل، سبب ایجاد استرس اکسیداتیو شده و این مسئله، تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی و افزایش تولید رادیکال های آزاد را در پی دارد [۱۷].

برخی مطالعات نشان می دهد که روغن های گیاهی پردازش شده مانند، مارگارین در غذا، می تواند منشاء تولید رادیکال های آزاد در بدن باشد. علت این مسئله، وجود مقادیری ایزومر غیر طبیعی ترانس در اسید های چرب موجود در مارگارین است که در خلال هیدروژن اسیون روغن های گیاهی در دمای بالا، ایجاد می شود [۱۳]. اسید های چرب ترانس، نه تنها به دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپید، میزان تولید رادیکال های آزاد را اثبات کرد [۱۵ و ۲۱]. آثار را اثبات کرد [۱۵ و ۲۱].

در عین حال، مطالعاتی دیگر، حاکی از آن است که علاوه بر سیستم دفاع شیمیایی و بیوشیمیایی بدن برای کنترل و خشی کردن رادیکال های آزاد، آنتی اکسیدان های شیمیایی نیز که به صورت افزودنی، به مارگارین اضافه می شوند، می توانند

شاخص برای بررسی فرایند لیپید پراکسیداسیون محسوب می‌شود. انکوباسیون نمونه‌های مورد مطالعه، در دمای  $59^{\circ}\text{C}$  با مصرف تیوبار بیتورویک اسید (TBA) انجام می‌شود که منجر به تشکیل کمپلکس MDA-TBA می‌شود که صورتی رنگ است و بیشینه جذب نوری آن در محدوده طول موج ۵۳۵ تا ۵۳۲ نانومتر است [۵ و ۶].

**ج- اندازه‌گیری گروه‌های تیول پروتئین‌های پلاسمای اینروش در سال ۱۹۹۴ توسط HU ابداع شده است.** با توجه به این‌که گروه‌های تیول پلاسمای به آسیب اکسیداتیو حساس بوده و در نتیجه این آسیب‌ها کاهش می‌یابند، می‌توانند به عنوان علامت آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد محسوب شوند. همان‌طور که اشاره شد، برای ارزیابی گروه‌های تیول از روش کالری‌متري HU و از معرف DTNB (۲ و ۲ دی‌نیتروبنزوئیک اسید) یا همان معرف Ellman (Ellman) استفاده شد. گروه‌های تیول در دمای اتاق با DTNB کمپلکس زرد رنگی ایجاد می‌کنند که در طول موج  $412\text{nm}$ ، بیشینه جذب را داراست [۶].

#### د- آزمونهای آماری مورد استفاده:

محاسبات آماری، پس از جمع‌آوری داده‌ها، با استفاده از برنامه کامپیوتری SPSS انجام شد و آزمون t مستقل، برای ارزیابی معنی‌دار بودن تفاوت مشاهده شده بین میانگین پارامترهای مورد مطالعه انجام شد.  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

### ۳- نتایج

نتایج آماری نشان داد که میانگین ظرفیت آنتی اکسیدان‌های تام پلاسمای در موش‌های تغذیه شده با مارگارین  $990/5 \pm 178$  و در موش‌های گروه کنترل،  $796/0 \pm 163$  نانومول بر میلی‌لیتر است. میزان P در این تست کمتر از

مارگارین دریافت کردند. برای حذف احتمال اکسیداسیون لیپیدی مارگارین در خلال تغذیه، مارگارین روزانه به غذا اضافه و با آن مخلوط می‌شد و مازاد غذای مصرف نشده، پس از گذشت ۲۴ ساعت برداشته و حذف می‌شد. پس از گذشت ۴ ماه تغذیه، موش‌ها به مدت ۱۲ ساعت، ناشتا نگهداری شده و از هر کدام، ۵ میلی‌لیتر خون (از بطن راست) گرفته شد. پلاسمای خون جدا شد و با انجم آزمایش‌های زیر، میزان آنتی اکسیدان‌های تام پلاسمای، پراکسیداسیون لیپید و گروه‌های تیول پروتئین‌های پلاسمای اندازه‌گیری شد.

#### الف- روش FRAP یا اندازه‌گیری ظرفیت

آنـتـی~اـکـسـیدـاـنـ تـامـپـلاـسـماـ (StainـBenzicـ1996ـ وـ)

روشـ FRAPـ روـشـیـ حـسـاسـ،ـ تـکـارـپـذـیرـ وـ دقـيقـ استـ [۱۰ـ].ـ درـ اـینـ روـشـ،ـ عـوـاملـ آـنـتـیـ اـکـسـیدـاـنـ مـوـجـوـدـ درـ نـمـوـنـهـ مـوـرـدـ مـطـالـعـهـ سـبـبـ تـبـدـیـلـ کـمـپـلـکـسـ "ـفـرـیـکـ تـرـیـ پـیـرـیـدـیـلـ تـرـیـاـزـیـلـ"ـ بـهـ فـرـمـ "ـفـرـوـ"ـ مـیـشـوـدـ،ـ کـهـ درـ مـحـیـطـ اـسـیدـیـ،ـ آـبـیـ رـنـگـ بـوـدـ وـ بـیـشـینـهـ جـذـبـ نـورـیـ آـنـ درـ طـوـلـ مـوـجـ  $593\text{nm}$ ـ اـسـتـ.ـ سـرـعـتـ وـاـكـنـشـ باـ قـدـرـتـ اـحـيـاـكـنـدـگـیـ نـمـوـنـهـ رـابـطـهـ خطـیـ دـارـدـ [۱۱ـ].ـ

#### ب- اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید

(Kellyـ Brownـ 1996ـ وـ)

اسـیدـهـایـ چـرـبـ غـيرـاـشـبـاعـ مـوـجـوـدـ درـ فـسـفـولـیـپـیدـهـاـ وـ کـلـسـتـرـولـ اـسـتـرـیـفـیـهـ،ـ درـ اـثـرـ فـرـایـنـدـ اـکـسـیدـاـسـیـوـنـ،ـ بـهـ لـیـپـیدـ هـیـدـرـوـپـرـاـکـسـیدـ وـ نـهـایـتـاـ رـادـیـکـالـهـایـ لـیـپـیدـ پـرـوـکـسـیـ تـبـدـیـلـ مـیـشـوـنـدـ کـهـ طـیـ وـاـكـنـشـهـایـ زـنـجـرـهـایـ،ـ رـادـیـکـالـهـایـ آـزادـ،ـ قـادـرـ بـهـ وـارـدـ سـاـخـنـ صـدـمـاتـ جـدـیـ بـهـ سـلـولـهـاـ وـ بـافـتـهـایـ بـدـنـ هـسـتـنـدـ.ـ عـلـاوـهـ بـرـ اـيـنـ،ـ تـجزـيـهـ لـیـپـیدـ هـیـدـرـوـپـرـاـکـسـیدـهـاـ منـجـرـ بـهـ تـشـکـیـلـ مـقـادـیرـ زـیـادـیـ مـالـوـنـیـلـ دـیـ آـلـدـیـلـ (MDA)ـ مـیـشـوـدـ.ـ بـهـمـیـنـ دـلـیـلـ اـنـداـزـهـ گـیرـیـ غـلـظـتـ MDAـ درـ نـمـوـنـهـهـایـ بـیـولـوـژـیـکـ بـهـ عـنـوانـ مـهـمـتـرـینـ

#### ۴- بحث

در این کار تحقیقی، تأثیر مصرف مارگارین بر میزان نشانه های استرس اکسیداتیو در موش های صحرابی نر جوان بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد که موش هایی که به مدت ۴ ماه همراه با رژیم غذایی استاندارد، میزان (W/W) ۱۵٪ مارگارین مصرف کرده بودند، در مقایسه با گروه کنترل، دارای ظرفیت آنتی اکسیدان های قائم پلاسمای بیش تری هستند و همچنین میزان گروه های تیول پلاسما در آنها بالاتر است. (جدول ۱)

در ارتباط با اثر مارگارین بر نشانه های استرس اکسیداتیو، گزارش های زیادی وجود دارد. مطالعات Seis و همکاران در سال ۱۹۹۱ نشان داد که رادیکال های آزاد در بدن، به طور طبیعی و از تجزیه ترکیبات شیمیایی مختلف، از جمله مواد غذایی ایجاد می شوند. مصرف روغن های گیاهی پردازش شده و حرارت دیده در دمای های بالا، تغولاتی مانند بیسکویت، چیپس، کیک، غذاهای آماده، اسنک و سبزی زمینی سرخ شده، منبع اصلی ایجاد رادیکال های آزاد است [۱۷]. رادیکال های آزاد از سم زدایی برخی داروها، رنگ ها، اسانس های مصنوعی، دود، مواد نگهدارنده، غذاها، الكل، سیگار، آب آشامیدنی کلردار، حشره کش ها، تشبع، مایعات پاک کننده، فلزات سنگین مانند سرب، کادمیوم و هیدروکربن های آروماتیک مانند بنزن و نفتالین نیز ایجاد می شوند. استرس روحی نیز با رها کردن هورمون ها در بدن، سهم عمده ای در ایجاد رادیکال های آزاد دارد [۱۶].

همان طور که اشاره شد، مصرف مارگارین نیز موجب تولید رادیکال های آزاد می شود. در هر حال رادیکال های آزاد تولید شده از منابع مختلف در بدن در شرایط عادی با آنتی اکسیدان های موجود در بدن خشی

۰/۰۵ بوده و اختلاف معنی داری وجود دارد (معنی دار بودن اختلاف با ستاره روی جدول مشخص شده است) بنابراین می توان نتیجه گرفت که موش هایی که مارگارین دریافت کرده اند، دارای ظرفیت آنتی اکسیدان بالاتری نسبت به گروه کنترل هستند.

نتایج آماری در مورد میانگین پراکسیداسیون لیپیدی در موش های تغذیه شده با مارگارین،  $1/6 \pm 2/7$  و در موش های کنترل  $2/9 \pm 4/7$ ، نانومول بر میلی لیتر است. هر چند اختلاف معنی دار نیست ولی میزان پراکسیداسیون لیپیدی در موش های تغذیه شده با مارگارین نسبت به گروه کنترل پایین تر است.

در مورد مقایسه میانگین گروه های تیول پروتئین های پلاسمای به ترتیب مقادیر  $0/28 \pm 0/28$  و  $0/59 \pm 0/5$  برای موش های تحت آزمایش و گروه کنترل به دست آمده است (جدول ۱) معنی دار نبودن اختلاف به منزله عدم تفاوت است.

طبق نتایج حاصل، می توان ادعا کرد که مصرف مارگارین در موش ها از میزان علامت های استرس اکسیداتیو در مقایسه با گروه کنترل، کاسته است.

**جدول ۱** وضعیت پارامترهای استرس اکسیداتیو در گروه های مورد مطالعه

پارامترهای استرس اکسیداتیو	گروه کنترل موش ۱۰ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)	گروه آزمایش موش ۱۰ (انحراف معیار $\pm$ میانگین)
ظرفیت آنتی اکسیدانی تم پلاسمای (نانومول در میلی لیتر)	.۷۹۷ $\pm$ ۱۶۳	.۹۹۰ $\pm$ ۱۷۸
گروه های تیول پلاسمای (نانومول در میلی لیتر)	.۰/۵۹ $\pm$ ۰/۵	.۰/۶۹ $\pm$ ۰/۲۸
پراکسیداسیون لیپیدی (نانومول در میلی لیتر)	۴/۷ $\pm$ ۲/۹	۲/۷ $\pm$ ۱/۶

(معنی دار بودن اختلاف با ستاره روی جدول مشخص شده است).

خوراکی در درمان پلاک‌های آترواسکلروتیک و کاهش انعقاد خون مؤثر است [۱۱]. آلفا توکوفرول، گیرنده چربی‌های رادیکالی است و از این طریق به واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های چربی خاتمه می‌دهد و به عنوان آنتی‌اکسیدان اثر خود را اعمال می‌کند. در این واکنش‌ها، یک رادیکال کم انرژی آلفا توکوفروکسیل تشکیل می‌شود که دیگر نمی‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کند. این فرم رادیکالی ویتامین E توسط ویتامین C به وضعیت اولیه‌اش بر می‌گردد. و از آن پس دوباره فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود را از سر می‌گیرد. علاوه بر این، ویتامین E می‌تواند از پروتئین‌های غشایی حاوی سلنیوم یا سولفور محافظت کند. با وجود غلظت کم ویتامین E در اپیدرم، که حدود  $1\text{ nmol/g}$  است، این ترکیب مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان محلول در چربی موجود در غشا محسوب می‌شود. تأثیر مثبت ویتامین E بر پوست بدن و محافظت آن در برابر نور، به خاطر عملکرد آن در جذب نور و خشی کردن رادیکال‌های آزاد است. تحقیقات نشان داده است که غلظت‌های پلاسمایی بالای توکوفرول در سالماندان، می‌تواند آن‌ها را در برابر عفونت‌ها و سرطان مقاوم‌تر کند [۳].

بنابراین مارگارین دارای تأثیر بد، به دلیل وجود اسید چرب ترانس و تأثیر خوب به دلیل وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف بهویژه ویتامین E است. امروزه کارخانه‌های تولید کننده مارگارین برای کاهش و یا حذف اسیدهای چرب ترانس تلاش کرده‌اند و این تلاش منجر به تهیه مارگارین خوب شده است. نوع خوب مارگارین، همان نوع مایع است که به مرتب از کره بهتر است و در عین حال به دلیل تهیه شدن از روغن‌های گیاهی، قیمت آن پایین است. با وجود تنافض در ایجاد و یا حذف رادیکال‌های آزاد با مارگارین، مطالعه حاضر نشان داد که گرچه مارگارین در

می‌شوند و استرس اکسیداتیو زمانی بروز می‌کند که میزان رادیکال‌های آزاد تولید شده بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدان بدن باشد [۱۸]. با توجه به این که میزان رادیکال‌های آزاد در بروز استرس اکسیداتیو مؤثر است، برای ارزیابی آن می‌توان میزان رادیکال‌های آزاد موجود در بدن را اندازه‌گیری کرد ولی به دلیل پایین بودن نیمة عمر رادیکال‌ها، اندازه‌گیری آن‌ها با دستگاه ESR مشکل و پرهزینه است. بنابراین برای ارزیابی استرس اکسیداتیو می‌توان نشانه‌های این پدیده را بررسی کرد [۶].

با توجه به تأثیر منفی اسید چرب موجود در مارگارین بر استرس اکسیداتیو، کارخانه‌های سازنده، به غنی‌سازی آن مبادرت می‌ورزند و معمولاً ترکیباتی چون آلفا و بتا کاروتین، ویتامین C، A و مهم‌تر از همه ویتامین E به آن می‌افزایند. مطالعه صورت گرفته در سال ۱۹۹۸ به بررسی تأثیر این افزودنی‌ها به مارگارین، در وضعیت آنتی‌اکسیدانی افراد پرداخته، نتیجه تحقیق حاکی از آن است که مصرف این ترکیبات در فرم غنی شده مارگارین، به عنوان جزئی از رژیم غذایی، تا حد زیادی در افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها در خون تأثیر گذاشته است [۱۹].

از میان ترکیبات آنتی‌اکسیدان افزوده شده به مارگارین، ویتامین E اهمیت به سزاوی دارد. فرم فعال این ویتامین یعنی آلفا و گاما توکوفرول و البته بیشتر فرم آلفا، به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی فعالیت می‌کند. آلفا توکوفرول به طور طبیعی در غشای سلول‌ها و ارگان‌های سلولی حضور دارد و با خشی کردن رادیکال‌های اکسیژن از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع موجود در ساختمان فسفولیپیدهای غشا جلوگیری می‌کند و غشا را در برابر صدمات ناشی از فسفولیپاز A، اسیدهای چرب آزاد و لیزوفسفولیپیدها محافظت می‌کند. لذا ویتامین E

- tocopherols, ascorbyl Palmitate, and lecithin on antioxidation of fish oil. AO CSJ. 75(7), 813-823.
- [8] Hras AR, Hadolin M, Knez Z, Bauman D. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with alfa-tocopherol. Ascorbyl Palmitate, and citric acid in Sunflower Oil. Food Chemistry J. 71, 229-233.
- [9] Hu ML, Dilard CJ. 1994. Plasma SH and GSH measurement. Method in Enzymology 233, 381-385.
- [10] Iris, F, Benzic F, Stain S. 1996. The ferric reducing ability of Plasma FRAP a measure of antioxidant Power the FRAP assay. Ana. Biochem. 239, 70-76.
- [11] Iris F, Benzic, F, Stain S. 1999. Reducing antioxidant assay. Method in Enzymology. 222, 15-27.
- [12] Katan M.B, Mensink RP, Zock PL. 1995. Trans fatty acids and their effect on lipoproteins in humans. Annu. Rev. Nutr. 15, 473-493.
- [13] Mensink RP, Katan M.B. 1990. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. N. Engl. J. 323, 439-445.
- [14] Montagnier O, Pasquier E. 1998. Oxidative Stress in Cancer, Aids and
- ایجاد رادیکال آزاد نقش دارد ولی غنی سازی آن با آنتی-اکسیدان های مناسب، به ویژه ویتامین E، سبب حذف رادیکال های آزاد و کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو می شود.
- ## ۵- مراجع
- [1] Bandarra NM, Campos RM, Batista I, Nunes M.L, Empi JM. 1999. Antioxidant synergy of  $\alpha$ -tocopherol and phospholipids. Aocs J. 76(8), 905-913.
  - [2] Chu YH, HsU HF. 1999. Effects of antioxidants on peanut oil stability. Food Chemistry J. 66, 29-34.
  - [3] Drauelos Z. 1999. Vitamins & their cutaneous effects. Cosmetic Dermatol. 9, 17-20.
  - [4] Esterabur H, Cheeseman k. 1990. Determination of aldehyds lipid Peroxidation Products. Method in Enzymology 186, 407-421.
  - [5] Hai-D vargo JS. 1995. Effects of an organophosphate on the antioxidant system of fish tissues. Acta-Biol. J. 46(1), 39-50.
  - [6] Hallwell B, Gutteridge JMC. 1990. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch. Biochem. Biophys. 280, 1-3.
  - [7] Hamilton RJ, Kula C, MCNeill GP, Padley FB, Pierce, JH. 1998. Effects of

- [20] Yanishlieva NU, Marinova EM. 1996. Antioxidant effectiveness of some natural antioxidants in Sunflower oil. *Zeitschrift fur Lebensmitteluntersuchung und Forshung*. 203, 220-223.
- [21] Zock PL, Katan MB. 1992. Hydrogenation alternatives: effects of trans fatty acids and Stearic acid versus linoleic acid on Serum lipids and lipoproteins in humans. *J. Lipid Res.* 33, 339-410.
- Neuro-degenerative diseases. Markdekker Inc. New york, 20, 153-155.
- [15] Nestel P, Noakes M, Belling B. 1992. Plasma lipoprotein and LP(a) changes with substitution of elaidic acid for oleic acid in the diet. *J. Lipid Res.* 33, 1029-1036.
- [16] Roberto giraldo MD. 1997. Aids and stressors. *Fundation Artery ciencia* 1, 20-25.
- [17] Seis,H. 1991. oxidaative Stress: Oxidants and antioxidants. Academic Press 2, 1-10.
- [18] Siro Passi A. 1998. Progressive increase in Oxidative stress in advancing human immunodeficiency. *Continum J.* 5, 15-20.
- [19] Van Het Hof K H, Tijburg LB, deBoer HS, Wiseman SA, Weststrate TA. 1998. Antioxidant fortified margarine increases the antioxidant status. *Eur- J- Clin- Nutr.* 52(4), 292-299.