

Protective Role Of Folic Acid In Oxidative Stress Induced By Methionine Over Load On Electro Cardio Graph On Femal New Zealand Rabbits.

الدور الوقائي لحامض الفوليك للاجهاد التأكسدي المستحدث من فرط الميثيونين على المخطط الكهربائي للعضلة القلبية في إناث الأرانب النيوزلندية .

الكناني ، رقية كريم محمد و عبد اللطيف ، سعد حمد و البازي ، وفاق جبوري
جامعة كربلاء- كلية التربية / قسم علوم الحياة

الخلاصة

قسمت 18 أنثى أرنب نيوزلندية بالغة عشوائياً الى ثلاثة مجاميع ،ضمت المجموعة الواحدة 6 حيوانات ، المجموعة الأولى Group1 G1 جرعت الماء فموياً ولمدة شهر واحد وأستخدمت كمجموعة سيطرة ، أما حيوانات المجموعة الثانية Group2 G2 فقد جرعت يومياً 100 ملغم /كغم ميثيونين ولمدة شهر واحد ، في حين جرعت أرانب المجموعة الثالثة G3 Group3 يومياً 100 ملغم /كغم ميثيونين و 0.07 ملغم/كغم حامض الفوليك ولمدة شهر واحد.تم سحب الدم كل عشرة أيام لقياس تركيز هرمون الاستيروجين وتم تسجيل مخطط القلب Electro Cardio Gram (ECG) بعد كل عشرة أيام من التجربة وأظهرت النتائج حدوث ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في تركيز الاستيروجين و أظهرت نتائج ECG حدوث انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في معدل ضربات القلب و زيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في طول الفترة QRS وطول الفترة QT في المجموعة المعاملة بالميثيونين G2 ، في حين لوحظ وجود ارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في معدل ضربات القلب وإنخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في طول فترة QRS وطول الفترة QT في المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3

SUMMARY

Eighteen adult female were divided into three equal groups (6/ group) and were treated for one month as follows: first group (control) G1, which were intubated ordinary tap water, second treated group (G2) , animals in this group were intubated orally with 100mg / kg B.w of methionine for one month ,while the third group(G3) were handled in G2 plus oral intubation of folic acid (0.07mg / kg B.w). fasting blood samples were collected each 10 days for measuring Estrogen hormone, Electro cardio graphy was recording for rabbits after each 10 days of treatment .The results conducted that A significant increase ($P < 0.05$) in Esterogen hormone concentration and a significant decrease ($p < 0.05$) in heart rat and a significant increase ($p < 0.05$) in QRS and QT interval in (G2) . While treatment of animals with folic acid caused a significant increase ($p < 0.05$) in heart rat and a significant decrease ($p < 0.05$) in Esterogen hormone concentration and QRS and QT interval in (G3).

المقدمة

الميثيونين من الأحماض الأمينية الأساسية التي تحتوي على الكبريت ، وهذا الحامض الأميني يتواجد في مختلف البروتينات أو يحضر صناعياً . كما يستخدم كأحد المضافات الغذائية أو الدوائية (1)، يشترك الميثيونين وبصورة أساسية من البروتين الغذائي مثل ، الرز أو الكازئين أو الألبان أو البيض أو اللحم أو الدواجن أو الأسماك (2) يعتبر الميثيونين المصدر الرئيسي للكبريت للكثير من المركبات الضرورية في الجسم ويستخدم الكبريت لنمو الشعر و الجلد ، وللكبريت دور مهم في إنتاج الليسيثين (lecithin) المهم لخفض الدهون في الكبد (3) وللميثيونين أهمية في إذابة أو منع تكوين حصى الكلى (urolithiasis) (4) ، ويعد فرط الميثيونين أحد العوامل الأساسية التي تؤدي الى حدوث خلل في أيض الهوموسيستين (Hcy) (Homocystin) حيث يتراكم مؤدياً الى حدوث حالة زيادة تركيز الهوموسيستين في الدم . Hyperhomocystinemia (HHcy) (7,8) وتسبب HHcy الكرب التأكسدي (Oxidative Stress) من خلال تكوين الجذور الحرة مثل بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) إذ تفقد الطبقة الطلائية للأوعية الدموية وظائفها الطبيعية ويحصل تأكسد موضعي لها مما يؤدي الى زيادة جهد التأكسد في النسيج الوعائي والذي يكون ناتج من عجز البطانة الداخلية من إنتاج Endothial nitric oxide (eNo) ، وتقوم بإنتاج جذر الأوكسجين الفعال وخاصة Superoxide بواسطة إنزيم

Endothelial nitric oxide synthase وإن الزيادة في إنتاج الجذور الحرة يؤدي إلى انخفاض في تركيز الكلوتاثيون Glutathione (ببتيد ثلاثي) يعمل ككاسح للجذور الحرة وله دور دفاعي ضد التحطم الخلوي بواسطة التأكسد بواسطة إنزيم GSH-Peroxidase وإستنزاف هذا الببتيد يزيد من احتمال حدوث أمراض القلب (9,10). إن حامض الفوليك هو من الفيتامينات الضرورية للجسم يحصل عليه الجسم من الغذاء لعدم قدرته على تصنيعه، وهو من الفيتامينات الذائبة بالماء. ويستخدم لعلاج بعض الأمراض، تلعب الفولات دور العامل المساعد (co-enzyme) في كثير من التفاعلات حيث تكون الفولات كمستقبل وواهب لذرة كاربون واحدة خلال تفاعلات متنوعة مثل أيض الأحماض الأمينية والأحماض النووية (11,12) وللـ فولات دور في أيض الأحماض الأمينية حيث تكون كعامل مساعد في بناء الميثيونين من الهوموسيسيتين بوجود فيتامين B12 (13) ومن التأثيرات البايولوجية لنقص معدلات هذا الفيتامين في الجسم حدوث نقص في بناء الميثيونين وارتفاع معدلات Hcy في الدم و حدوث حالة HHcy والتي تشكل عامل خطورة لحدوث أمراض القلب الوعائية (14,15,16) وبسبب التأثيرات الضارة لفراط الميثيونين ودوره في إحداث ضرر في القلب ونظراً لقلة الدراسات التي تناولت تأثير فراط الميثيونين على مخطط القلب الكهربائي فقد هدفت هذه الدراسة إلى معرفة تأثير فراط الميثيونين ودور حامض الفوليك على الأجهاد التأكسدي الناتج عنه من خلال قياس المعايير الفسلجية التالية:

- 1- تركيز هرمون الأستروجين في مصل الدم .
- 2- معدلات النبض .
- 3- طول موجة QRS .
- 4- طول موجة QT .

المواد وطرائق العمل :

استعمل في هذه الدراسة 18 من إناث الأرانب النيوزلندية البالغة أعمارها (8-9) أشهر ومتوسط أوزانها 1.400 - 1.500 كغم ، وقد تم شراء هذه الحيوانات من السوق المحلية وتم أيوائها في أقفاص معدة لهذا الغرض في البيت الحيواني التابع لجامعة كربلاء – كلية التربية تحت ظروف تهوية مناسبة وغذاء مكون من العليقة الحيوانية أعطي بصورة حرة ad libitum وبدرجة حرارة 25م ، واعتمدت الأضواء الطبيعية طول مدة الدراسة الممتدة من بداية شهر كانون الثاني وحتى بداية شهر شباط من العام 2010 وبواقع 10 ساعات ضوء و 14 ساعة ظلام وقد تركت الحيوانات 10 أيام لكي تتأقلم مع الظروف المشار إليها أعلاه قبل إجراء التجربة. أما مدة التجربة فقد استغرقت شهر واحد من شهر كانون الأول إلى شهر كانون الثاني. وزعت الحيوانات عشوائياً على ثلاث مجاميع متساوية المجموعة الواحدة 6 حيوانات ، المجموعة الأولى (G1) جرعت الماء فموياً ولمدة شهر واحد وأستخدمت كمجموعة سيطرة ، أما حيوانات المجموعة الثانية (G2) فقد جرعت يومياً 100 ملغم /كغم ميثيونين ولمدة شهر واحد (17) ، في حين جرعت أرانب المجموعة الثالثة (G3) يومياً 100 ملغم /كغم ميثيونين و 0.07 ملغم /كغم حامض الفوليك ولمدة شهر واحد (18) وقد تم التجريع في الساعة التاسعة من صباح كل يوم. وتم سحب الدم من الحيوانات بعد تجويعها طول فترة الليل وإستخدام المصل لقياس تركيز هرمون الأستروجين باستخدام جهاز Minividas وتم القياس في مختبر الدراسات العليا في كلية التربية جامعة كربلاء بأستخدام عدة فحص خاصة بهرمون الأستروجين (Biomerieux, Germany)، وتم تسجيل المخطط الكهربائي للقلب (Electro cardio graphy ECG) لكل حيوان بواقع مرة واحدة كل عشرة أيام أثناء مدة المعاملة باستخدام جهاز التخطيط الكهربائي (Marquette cardio Serv, German) ونظم الجهاز بحيث كان إرتفاع الملي قولت الواحد يعادل إزاحة عن الخط الأساسي مقدارها 20 ملليمتر وبلغت سرعة سير الورقة (5 سم / ثانية) . إعتد تسجيل المخطط الكهربائي للقلب على إستعمال قطبين فعالين اللذين يعبر عنهما ب standard biopolar limb, LI, LII, LIII

تم إستخدام الطرف الخلفي الأيمن للحيوان كعازل أرضي لتقليل التداخلات الكهربائية وإستخدمت ألواح أقطاب المسارات المستخدمة في الإنسان بعد تحويلها بحيث أصبحت ملائمة للأستخدام الخارجي في الأرانب . تم حلاقة الشعر وتم وضع اللوح عليها . تم حساب طول فترة QRS (ملي . ثانية) وطول فترة QT (ملي . ثانية) وتم حساب تردد القلب ضربة / دقيقة باستخدام عداد النبض المحور من قبل (19) وهو جهاز مكون من سماعة طبية ودائرة إلكترونية ومضخم صوت . حيث يتم وضع السماعة الطبية الملحقة بالجهاز على المنطقة الصدرية للحيوان وبذلك تعمل الدائرة الإلكترونية على تحويل الموجات الصوتية (نبضات القلب) إلى وحدات رقمية تظهر على شاشة الجهاز ويتم ضبط العداد على نقطة الصفر بواسطة زر التحكم بالتصغير ، وتم تثبيت الحيوان على سطح منضدة وربط السماعة الطبية إلى الجهة الصدرية ولتلافي عوامل الخوف والفرع يترك الحيوان بمفرده في مكان هادئ وخافت الأضواء وبعيد عن الأصوات لمدة 5-10 دقيقة. تم تحليل النتائج على وفق نموذج التصميم العشوائي الكامل (Compleat randomized design CRD) بأستخدام إختبار F للاستدلال على المعنوية ، وإستخدام إختبار أقل فرق معنوي (Least Significant difference L.S.D) لأظهار معنوية النتائج ، وتم إستخراج المتوسط الحسابي (Mean M) والخطأ القياسي (Standaard Error S.E) . علماً أن التحليل الإحصائي تم بأستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS .

النتائج

تشير نتائج الجدول (1) إلى وجود إرتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستوى تركيز هرمون الأستروجين في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G1 و G3 ، ووجود إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في المجموعة G3 بالمقارنة مع G2. في حين لم يلاحظ وجود فروق معنوية في تركيز الهرمون في المجموعة G3 بالمقارنة مع المجموعة G1 وباستمرار فترة التجربة. ومن جانب آخر لم يكن للفترة الزمنية تأثير معنوي على تركيز هرمون الأستروجين في المجموعة G2 ، في حين لوحظ وجود تأثير معنوي

($P < 0.05$) للفترة الزمنية في المجموعة G3 ويتضح هذا التأثير عند مقارنة التراكيز في العشرة أيام الاولى والثانية من التجربة مع العشرة أيام الأخيرة.

بينما أظهرت نتائج جدول (2) إنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في معدلات النبض في المجموعة G2 بالمقارنة مع G1 و G3، كما يشير الجدول الى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في المجموعة G3 بالمقارنة مع المجموعة G2، ويلاحظ هذا التأثير خلال العشرة أيام الاولى والثانية من التجربة في المجموعة G3، حيث كان الارتفاع غير معنوي في هذه المجموعة (G3) في العشرة أيام الثالثة من التجربة وكان للفترة الزمنية تأثيراً معنوياً ($P < 0.05$) وبمستويات مختلفة في المجموعة G2 و G3.

يتبين من الجدول (3) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في طول الموجة QRS في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G1 و G3، وإنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في المجموعة G3 بالمقارنة مع المجموعة G2، ويلاحظ هذا التأثير خلال العشرة أيام الاولى والثانية من التجربة في المجموعة G3 حيث كان الانخفاض غير معنوي في هذه المجموعة في العشرة أيام الثالثة من التجربة. ولم يكن للفترة الزمنية تأثيراً معنوياً على طول الموجة باستمرار فترة التجربة.

وأظهرت نتائج الجدول (4) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في طول الموجة QT في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G1 و G3، وإنخفاض معنوي ($P < 0.05$) في المجموعة G3 بالمقارنة مع المجموعة G2، ويلاحظ هذا التأثير خلال العشرة أيام الاولى والثانية من التجربة في المجموعة G3 حيث كان الانخفاض غير معنوي في هذه المجموعة في العشرة أيام الثالثة من التجربة. ولم يكن للفترة الزمنية تأثيراً معنوياً على طول الموجة باستمرار فترة التجربة.

جدول (1) تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز هرمون الأستروجين بيكوغرام /ديسي لتر في إناث الأرانب النيوزلندية

المجموعة	المجموعة السيطرة	المجموعة المعاملة بالميثيونين	المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك
الفترة الزمنية	G1 بيكوغرام/ديسي لتر. المعدل ± الخطأ القياسي	G2 بيكوغرام/ديسي لتر. المعدل ± الخطأ القياسي	G3 بيكوغرام/ديسي لتر. المعدل ± الخطأ القياسي
بعد عشرة أيام	1797 ± 0.0046 Aa	2451 ± 0.0113 Ba	1878 ± 0.0045 Aa
بعد عشرين يوم	1789 ± 0.0043 Aa	2467 ± 0.0091 Ba	1957 ± 0.0031 Aa
بعد ثلاثين يوم	1806 ± 0.0037 Aa	2523 ± 0.0099 Ba	2080 ± 0.0037 Cb
المجموع الكلي	1797 ± 0.0022 A	2480 ± 0.0055 B	1972 ± 0.0029 C

المعدل ± الخطأ القياسي ، $n = 6$ / مجموعة .

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية أفقياً تحت مستوى $P < 0.05$

الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عمودياً تحت مستوى $P < 0.05$

جدول (2) تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على معدلات النبض ضربية/دقيقة في إناث الأرانب النيوزلندية

المجموعة	المجموعة السيطرة	المجموعة المعاملة بالميثيونين	المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك
الفترة الزمنية	G1 ضربية /دقيقة المعدل ± الخطأ القياسي	G2 ضربية /دقيقة المعدل ± الخطأ القياسي	G3 ضربية /دقيقة المعدل ± الخطأ القياسي
بعد عشرة أيام	260.5 ± 5.685 Aa	207.67 ± 10.045 Ba	193.17 ± 4.246 Ca
بعد عشرين يوم	256.5 ± 5.104 Aa	163.67 ± 14.518 Bb	198.5 ± 2.094 Ca
بعد ثلاثين يوم	237.17 ± 15.11 Aa	180.5 ± 4.201 Ba	206.0 ± 2.0 Bb
المجموع الكلي	251.39 ± 5.851 A	183.94 ± 7.185 B	199.22 ± 2.054 C

المعدل ± الخطأ القياسي ، $n = 6$ / مجموعة .

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية أفقياً تحت مستوى $P < 0.05$

الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عمودياً تحت مستوى $P < 0.05$

جدول (3) تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على طول الموجة QRS ملي ثانية في إناث الأرانب

المجموعة	المجموعة السيطرة	المجموعة المعاملة بالميثيونين	المجموعة المعاملة
الفترة الزمنية	G1 طول الموجة/ملي ثانية. المعدل ± الخطأ القياسي	G2 طول الموجة/ملي ثانية. المعدل ± الخطأ القياسي	بالميثيونين وحامض الفوليك G3 طول الموجة/ملي ثانية. المعدل ± الخطأ القياسي
بعد عشرة أيام	28.5±1.088 Aa	42.33±1.382 Ba	36.0±1.844 Ca
بعد عشرين يوم	28.33±.919 Aa	43.0±1.125 Ba	35.0±1.317 Ca
بعد ثلاثين يوم	25.67±4.695 Aa	45.33±.760 Ba	37.33±.558 Ba
المجموع الكلي	27.5±1.568 A	43.56±.682 B	36.11±.766 C

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 6/ مجموعة .

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية أفقياً "تحت مستوى P<0.05

الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عمودياً "تحت مستوى P<0.05

جدول (4) تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على طول الموجة QT ملي ثانية في إناث الأرانب

المجموعة	المجموعة السيطرة	المجموعة المعاملة بالميثيونين	المجموعة المعاملة
الفترة الزمنية	G1 طول الموجة/ملي ثانية. المعدل ± الخطأ القياسي	G2 طول الموجة/ملي ثانية. المعدل ± الخطأ القياسي	بالميثيونين وحامض الفوليك G3 طول الموجة/ملي ثانية. المعدل ± الخطأ القياسي
بعد عشرة أيام	97.72±3.0050 Aa	114.2033±3.2809 Ba	105.1833±2.709 Aa
بعد عشرين يوم	89.083±3.1221 Aa	112.25 ±5.5760 Ba	103.5±2.855 Ca
بعد ثلاثين يوم	89.267±4.2871 Aa	114.0017±6.010 Ba	104.84±2.949 Ba
المجموع الكلي	91.9428±2.150 3 A	113.485±2.773 B	104.5072±1.550 C

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 6 / مجموعة .

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية أفقياً "تحت مستوى P<0.05

الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية عمودياً "تحت مستوى P<0.05

المناقشة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن التجريع الفموي اليومي للميثيونين 100 ملغم / كغم لمدة 30 يوم أدى الى حدوث إرتفاع معنوي (P < 0.05) في تراكيز هرمون الأستروجين ، وقد يعود سبب هذا الأرتفاع الى حدوث فرط الكوليستيرول في الدم hypercholesterolemia الناتجة من فرط الميثيونين . حيث يعتبر الكوليستيرول الوحدة الاساسية لتخليق الأستروجينات (20) حيث إن HHcy تلعب دور في زيادة بناء الكوليستيرول من خلال المشاركة في ترجمة وإستساخ 3-hydroxy - 3-methylgluaryl co enzyme A rductase وهو الأنزيم المسؤول عن البناء الحياتي للكوليستيرول (21) وإنخفاض معنوي (P < 0.05) في معدلات النبض وقد يعود سبب هذا الانخفاض الى حدوث موت لجزء من عضلة القلب بسبب قلة كمية الأوكسجين الواصلة إليها وبسبب النقص الحاد في كمية الدم الذي يصل لعضلة القلب تفقد المنطقة المتضررة قدرتها على النقل وتوصيل الجهد الكهربائي (22) أو قد يعزى السبب الى تحرر الجذور الحرة مثل H2O2 نتيجة لحدوث HHcy الذي يؤدي الى تحطم البطانة الداخلية ، ويسبب H2O2 تشبع الدهون مثل LDL وتحرر الأواصر المزدوجة لهذه الدهون حيث تميل هذه الدهون

الى الترسيب داخل الأوعية الدموية مما يؤدي الى تحفيز إستجابة مناعية حيث تقوم خلايا macrophage بأبتلاع هذه الدهون وتكوين خلايا الرغوة Faom cells في الوعاء الدموي مما يؤدي الى حدوث إنسداد في الوعاء الدموي وإنخفاض في كمية الدم الواصلة للقلب (23). أو قد يعزى السبب الى الأنخفاض في تركيز الأنزيم glutathione(GSH) بسبب المعدلات العالية للميثيونين داخل الخلية حيث تعمل هذه الكميات العالية للميثيونين على إحداث خلل في الأنزيم المسؤول عن تحول Hcy الى cystien وهو cystathionien – B- synthase) فلا يتحول Hcy الى cystien ويتراكم مكون HHcy ونقصان في معدلات cystien وبالتالي نقصان في معدلات أنزيم GSH الذي يعمل ككاسح للجذور الحرة مثل H_2O_2 (24). وأشارت الدراسة الحالية إن التجريع الفموي اليومي لحامض الفوليك 0.07 ملغم / كغم لمدة 30 يوم سبب إرتفاع معنوي ($P < 0.05$) في معدلات النيض وقد يكون سبب هذه النتيجة هو إختزال حامض الفوليك لتركيز Hcy والتقليل من إنتاج الجذور الحرة التي زادت مستوياتها في الجسم بعد حدوث HHcy أو قد يكون دور حامض الفوليك ناتج من زيادة مستويات GSH الذي يعمل ككاسح للجذور الحرة (25). و أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن فرط الميثيونين أدى الى حدوث إرتفاع معنوي ($P < 0.05$) في طول موجة QRS وقد يعزى سبب هذه النتيجة الى حالة فشل القلب الناتجة من حدوث إنسداد في أحد الأوعية الدموية نتيجة تكون Foma cells في الوعاء الدموي، فقلت بذلك كمية الدم الواصلة للقلب وحدث اضطراب في البطين مما أدى الى إنخفاض شدة تقلصه (26)، وقد أكد (27) وجود علاقة إرتباط عكسي بين شدة تقلص البطين وطول فترة QRS لذلك فمن المحتمل إن حدوث الأختزال في شدة تقلص البطين أدى الى حدوث زيادة في فترة QRS. وكان لحامض الفوليك دور في التقليل من الزيادة الحاصلة في طول هذه الفترة وقد يكون سبب هذه النتيجة هو دور حامض الفوليك في مقاومة الأسباب المؤدية لحدوث فشل القلب من خلال دوره في خفض معدلات Hcy (28). إن فرط الميثيونين ولمدة 30 يوم أدى الى حدوث إرتفاع معنوي ($P < 0.05$) في طول فترة QT وقد يعود سبب هذه النتيجة الى حدوث إرتفاع في تركيز هرمون الأستروجين، حيث يعمل الأستروجين على إطالة فترة QT من خلال تأثيره على قنوات الكالسيوم الموجودة في أغشية العضلة القلبية والتي تكون مسؤولة عن تحفيز العملية التقصصية حيث تعمل أيونات الكالسيوم المتحررة من هذه القنوات على تحفيز التفاعلات الكيميائية التي تستحث إنزلاق خيوط الأكتين والمايوسين على بعضها البعض فيولد بذلك تقلص العضلة (29) ووجود الأستروجين بتركيز عالية يعمل على إختزال فعالية هذه القنوات مما يقلل من إنتشار أيونات الكالسيوم في سايتوبلازم العضلة القلبية ويسبب إرتخاء العضلات الملساء في العضلة القلبية ومؤدياً الى إطالة ترة QT (30).

المصادر:

- 1-Shoob, H. Reoger, D. and Sargen, J. (2001). Dietary methionine is involved in the etiology of neural tube defect – related pregnaneles in Gumans . Journal on nutrition., 131: 2653.
- 2-Sahi , A; Pan ,X ; Paul, R; Malladi ,P ; Kahli, R and Whittington, F.(2006). Roles of phosphotidylinsitol 3- kinase and osteopontin in steatosis and aminotransferase roles release by hepatocytes treated with methionine –choline deficient medium. Am. J. physiol. Gastro. Intest. physiol.liver physiol., 291(1)55-62.
- 3-Petrak ,D; Myslivcva, P; Man, R; Cmejla , J; Vylor, M; Elleder, V ;Vulp , C(2007). Proteomic analysis of hepatic iron overload in mice suggests deregulation of urea cycle impairment of fatty acid oxidation and changes in the methylation cycle. Am. J. physiol. Gastro. Intest. Physiol. liver physiol., 292(6):490-498
- 4- Wideman, R.F.; Roush, W. B.; Satnick, J.L. ;Glahn, R. P. and Oldroyd, N. O. (1989). Methionine hydroxy analog (free acid) reduces avian kidney damage and urolithiasis induced by excess dietary calcium. J Nutr ., 119(5): 818-28.
- 5-Lijfering, W.M.Veeger,N.J.G.M.;Brouwer,J.L.P. and Van der Merer,J. (2007).The risk of venous and arterial thrombosis in hyperhomocysteinemic subjects may be a result of elevated factor VIII levels.Haematol.,92:1703-1706.
- 6-Gupta, S.; Wang, L.; Hua, X.;Krijt.; Koich, V. and Kruger, W.(2008). Cystathionine β –synthase p.s 466l mutation causes Hyperhomocysteinemia in mice .Human Mutation., 29(8):1048-1054.
- 7-Rowan, E.; Dickinson , H.; Stephenns , S.; Ballard , C.; Kalaria , R.and Anne Kenny , R.(2007) . Homocysteine an post –stroke cognitive decline . Aging ., 36:339-343.
- 8-Haim, M.; Tanne, D.; Goldbourt, U.; Doolman, R.; Boyko, V.; Brunner, D.; Sela, B.-A. and Beha, S. (2007). Serum Homocysteine and long-term risk of myocardial infarction and sudden death in patients with coronary heart disease. Cardiology. , 107:52-56.
- 9Jamison,R.L.;Hartigan,P.;Kaufman,J.S.;Goldfarb,D.S.;Warren,S.R.;Guarino,P.D. and Gaziano,J.M.(2007).Effect of Homocysteine lowering on mortality and vascular disease

- and end –stage renal disease:a randomized control trial .JAMA.,298(10):116 3-1170.
- 10-Tounyz, R.and Schiffrin, E. (2008). Reactive oxygen species and hypertension antioxidants and redox signaling . Eng. J . Med., 10(6):1041-1044.
- 11-Pfanzagle, B.; Tribl, F.; Koller, E. and Maslinger, T.(2003). Homocysteine strongly enhance metal catalyzed LDL oxidation in the presence of cysteine . Atherosclerosis. , 168:39-48.
- 12-Reed , M . C.; Nijhout, H. F.; Neuhouser , M . L.; Gregory, J.F.; Shan, B.; James, S.J.; Boynton,A.andUlrich,C.M.(2006) Mathematical model give in sights in to nutritional and genetic aspects of folate. Mediated one –carbon metabolism. J. Nut., 136:-2653-61.
- 13-Kerkeni, M.; Addad, F. and Xhauffert, M. (2006). Hyperhomocysteinemia, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and risk of coronary artery disease. Ann. Clin. Bio., 43:200-6
- 14- Shaw G M , O, Malley C D , Wasserman C R , Tolarova MM,Lammer E J.(1995).Maternal periconceptional use of multivitamins and reduced risk for conotruncal heart defects. AmJ Med Genel;59:536-45.
- 15-Bostom, A G.; Shemin, D; Baylary, p. (2000). Contrlled comparion of L-5-methyltetrahydrofolate versus folic acid for the treatment of Hyperhomocysteinemia in hemodialysis patient's circulation. , 101: 2829-2832.
- 16-Symons, J. D.; Rutledge, J. C.; Simonsen, U. and Pattathu, R. A. (2006). Vascular dysfunction produced by Hyperhomocysteinemia is more severe in the presence of low folate. Am. J. Phys. Heart. Circ .Physio., 290(1):H181-H191.
- 17-Seshadri,.N.and Robinson.(2000).Homocysteine ,B vitamin and coronary artery disease .Med .Clin. North.Am., 84(1):215-237.
- 18-Woo,C.W. (2007). Role of Hyperhomocysteinemia in liver injury and abnormal lipid metabolism (protective effect of folic acid supplementation) . ph .D, Thesis . University of Manitoba.
- 19- الزبيدي، نصير مرزعة حمزة.(2006).دراسة مقارنة للعلاقة بين معدل النبض ووزن الجسم والعظام والعضلات في بعض الفئريات .رسالة ماجستير.كلية التربية، جامعة كربلاء.
- 20-Block, J.H. and Beal, J.M.(2004). Willson and Gisvolds Textbook of Pharmaceutical Chemistry .11th ed . Lippincott Williams and Willkins : 657-660.
- 21-Glueck , C.J.; Shaw, P.E.; Tracy, T.; Sieve-Smith, L. and Wang , Y.(1995). Evidence that Homocysteine an independent risk factor for atherosclerosis in hypolipidemic patient's .Am J Card.,75:132-136.
- 22-Gould,B.(1997).Pathophysiology For Health-Related Professions .Phildelphia.Saunders:40.
- 23-Badimon, J.;Zaman,A. and Helft , G .(2004) .Acute Coronary Syndromes .Pathophysiology and preventive priorities thromb.Haemostas . J., 82:997-1008.
- 24-الطائي ، بان محمد حسين .(2006) . دراسة فعالية متشابهات أنزيم الكرياتين كايينز وبعض مضادات الأكسدة في المصل وكريات الدم البيضاء في الأرانب المستحدث فيها مرض السكري . رسالة ماجستير.كلية العلوم . جامعة بابل
- 25-Vermeulen, E. G.; Stehouwer, C. D. and Twisk, J. W R. (2000). Effect of Homocysteine lowering treatment with folic acid plus vitamin B6 on progression of sub clinical atherosclerosis. a randomized , placebo controlled trail. Lancet ., 355:517-22.
- 26-الأسدي ، مواهب بشير جاسم .(2008) . العلاقة بين تدهور وظائف القلب وبعض التبدلات الكيموحيوية لمرضى الجهاز الدوري في كربلاء . رسالة ماجستير. كلية التربية ، جامعة كربلاء .
- 27-Potacova .A, Adamcova .M,Cajnakova . H, Hrbatova. L, Sterba.M, Popelova . O, Stumunek . T,Ponka . I, Gersl .V .(2007) .Evaluation of ECG Tim Inter vals in a Rabbit Model of Anthracyclin – Induced Cardiomyopathy AUseful Tool for Assessment of Cardioprotective Agents .Physiological Research. 251-254.
- 28-Scott, J.(2004). Homocysteine and cardiovascular risk. Am. J. Clin. Nutr., 72:333-334.
- 29-غابتون وهال .(2004) . المرجع في الفيزيولوجيا الطبية . دار المنجد . قسم النشر الطبي : 235 .
- 30-Tanabe Seiko, Hata Toshio , Hiroaka M asayasu .(1999). Effects of estrogen on action potential and membrane currents in guinea pig ventricuurrents in guinea pig ventricular myocytes . Medical Research: Institute 350-451.