



جمهورية العراق  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
كلية التربية – جامعة كربلاء

## الدور الوقائي لحامض الفوليك في التأثيرات الفسلجية والنسيجية الناتجة من الإستخدام المفرط للميثيونين في الأرانب المحلية

رسالة تقدمت بها

رقية كريم محمد الكنائي

الى مجلس كلية التربية في جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة  
الماجستير في علوم الحياة- حيوان  
بكالوريوس تربية - علوم حياة 2004

إشراف

الأستاذ المساعد الدكتورة  
وفاق جبوري محمد البازي  
2010م

الأستاذ الدكتور  
سعد حمد عبد اللطيف  
1431هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
فَأَمَّا الزَّبَدُ فَيَذْهَبُ جُفَاءً وَأَمَّا مَا يَنْفَعُ  
النَّاسَ فَيَمْكُتُ فِي الْأَرْضِ كَذَلِكَ  
يَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَالَ \*

صدق الله العلي  
العظيم  
سورة الرعد - الآية

# الأهداء

الى من أمني رضاه وغايتي حبه ورجائي غفرانه ...

الله رب العالمين

الى من أذهب الله عنهم الرجس وطهرهم تطهيرا .. سادتي ومعتدي والضياء الذي  
ينير دربي ...

محمد واله الاطهار - ع -

الى أعلى شئ في حياتي ...

وطني

الى القلب الذي غمرني حبا "وحنانا" وعظفا"

والدي

ينبوع الحب والعطاء والصبر .. نور طريقي وعبير أنفاسي ...

والدتي

الى كل يد أمتدت لمساعدتي ...

رقية





# شكر وتقدير

اللهم أذهلني عن إقامة شركك تتابع طولك وأعجزني عن أحصاء ثنائك فيض فضلك  
فلك الحمد على سبوغ نعمائك حمدا" يوافق رضاك يا أكرم الأكرمين والصلاة  
والسلام على نبينا محمد واله الطيبين الطاهرين ...

إنه لمن دواعي سروري وقد شارفت رسالتي على الأنتهاء ويطيب لي بأعتزاز بالغ  
ويشرفني أن أشكر وأتقدم بعميق إمتناني وجل إحترامي الى أستاذي الفاضلين  
القديرين الأستاذ الدكتور سعد حمد عبد اللطيف والأستاذ المساعد الدكتورة وفاق  
جبوري محمد البازي لتفضلهما بأقتراح موضوع الرسالة وإشرافهما المباشر على  
العمل والكتابة ولدعمهما واسنادهما لي طوال فترة البحث ولجهدهما المتواصل  
لأعداد وانهاء الرسالة والنصائح القيمة التي أمداني بها وما وهباني من تشجيع  
وعطف مستمرين طيلة فترة البحث ، أمدهما الله بالصحة والعافية ..

أود أن أتقدم ببالغ شكري وتقديري الى رئاسة جامعة كربلاء لأتاحتها الفرصة  
لأكمال دراستي ، وبخالص شكري وتقديري الى عمادة كلية التربية وقسم علوم  
الحياة وكافة منتسبي القسم لجهودهم المبذولة في دعم طلبة الدراسات العليا ...

مع خالص شكري وفائق تقديري الى الدكتور رياض مصطفى إختصاص الامراض  
الباطنية والقلبية والدكتور عايد (كلية الطب البيطري) والى كل يد امتدت لمساعدتي  
ولكل انسان لم يبخل عليّ بنصيحة أو بدعاء ...

وأسأل الله العلي العظيم الموفقية للجميع .

رقية

## قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
أ	الخلاصة	
ت	المحتويات	
خ	قائمة المختصرات	
ذ	قائمة الجداول	
ز	قائمة الأشكال و الصور	
الفصل الأول المقدمة وأستعراض المراجع		
1	المقدمة	1-1
3	استعراض المراجع	2-1
3	الميثيونين	1-2-1
3	الأسماء الكيميائية	2-2-1
4	مصادر الميثيونين	3-2-1
4	الاستخدامات الوظيفية والعلاجية للميثيونين	4-2-1
5	أيض الميثيونين / الهوموسيستين	5-2-1
8	أسباب حدوث HHcy	6-2-1
9	التأثيرات الضارة لفرط الميثيونين	7-2-1
10	حامض الفوليك	1-3-1
12	مصادر حامض الفوليك	2-3-1
13	نقص حامض الفوليك	3-3-1
14	الكوليستيرول	1-4-1
14	الكليسيريدات الثلاثية	2-4-1
15	الشحوم البروتينية	3-4-1
16	هرمون الأستيروجين	1-5-1
16	التخليق الحيوي للأستيروجين	2-5-1
18	الوظائف البايولوجية للأستيروجين	3-5-1
19	مصير الأستيروجين	4-5-1
20	هرمون البروجيستيرون	5-5-1

## قائمة المحتويات

20	التخليق الحيوي للبروجيسترون	6-5-1
22	الوظائف البيولوجية للبروجيسترون	7-5-1
23	مصير البروجيسترون	8-5-1
23	هرمونات القند	9-5-1
24	مخطط كهربائية القلب	1-6-1
الفصل الثاني المواد وطرق العمل		
27	حيوانات التجربة	1-2
27	تصميم التجربة	2-2
28	الأجهزة والمواد	3-2
28	الأجهزة	1-3-2
28	الأدوات الزجاجية والبلاستيكية	2-3-2
29	المواد الكيميائية	3-3-2
30	طرائق العمل	4-2
30	جمع عينات الدم	1-4-2
31	قياس تركيز TC في مصل الدم	2-4-2
32	قياس تركيز TAG	3-4-2
33	قياس تركيز HDL	4-4-2
35	قياس تركيز LDL	5-4-2
35	قياس تركيز VLDL	6-4-2
36	قياس تركيز هرمون الأستروجين	7-4-2
38	قياس تركيز هرمون البروجيسترون	8-4-2
40	قياس تركيز هرمون FSH	9-4-2
42	قياس تركيز هرمون LH	10-4-2
44	حساب معدل النبض	11-4-2
44	حساب سرعة التنفس	12-4-2
44	تسجيل ECG	13-4-2
45	التحضيرات النسيجية	1-5-2

## قائمة المحتويات

45	التقطيع النسيجي	2-5-2
45	التصوير المجهرى	3-5-2
45	التحليل الأحصائي	1-6-2
الفصل الثالث النتائج		
46	تأثيرات فرط الميثيونين على بعض المعايير الكيموحيوية والفسلجية .	1-3
46	التغيرات في معدلات الكوليستيرول الكلي TC ملغم / ديسي لتر	1-1-3
47	التغيرات في مستوى تركيز ثلاثي أسيل الكليسيرول TAG ملغم/ ديسي لتر	2-1-3
48	التغيرات في مستوى تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL ملغم/ ديسي لتر	3-1-3
49	التغيرات في مستوى تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL ملغم/ ديسي لتر	4-1-3
50	التغيرات في مستوى تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا "VLDL ملغم/ ديسي لتر	5-1-3
51	التغيرات في مستوى تركيز الاستيروجين بيكو غرام/ ديسي لتر	6-1-3
52	التغيرات في مستوى تركيز البروجيستيرون مايكرو غرام/ ديسي لتر	7-1-3
53	التغيرات في مستوى تركيز FSH مايكرو غرام/ ديسي لتر	8-1-3
54	التغيرات في مستوى تركيز LH مايكرو غرام/ ديسي لتر	9-1-3
55	التغيرات في معدلات سرعة التنفس مرة/دقيقة	10-1-3
56	التغيرات في معدلات النبض ضربة/دقيقة	11-1-3
57	التغيرات في طول موجة QRS ملي ثانية	12-1-3
58	التغيرات في طول QT ملي ثانية	13-1-3
59	التغيرات النسيجية	2-3

## قائمة المحتويات

الفصل الرابع المناقشة		
68	الدهون والشحوم البروتينية	1-4
69	دور حامض الفوليك	1-1-4
69	الهرمونات	2-4
69	هرمون الاستيروجنين	1-2-4
70	دور حامض الفوليك	2-2-4
70	هرمون البروجيسترون	3-2-4
71	دور حامض الفوليك	4-2-4
71	هرمون LH و FSH	5-2-4
71	دور حامض الفوليك	6-2-4
72	معدلات النبض	3-4
72	دور حامض الفوليك	1-3-4
73	سرعة التنفس	4-4
73	دور حامض الفوليك	1-4-4
73	طول موجة QRS	5-4
74	دور حامض الفوليك	1-5-4
74	طول QT	6-4
74	دور حامض الفوليك	1-6-4
75	التغيرات النسيجية	7-4
75	دور حامض الفوليك	1-7-4
76	الاستنتاجات	
77	التوصيات	
78	الملاحق	
91	المصادر العربية	
94	المصادر الاجنبية	
-	الخلاصة باللغة الانكليزية	

قائمة المختصرات

Deoxy riboneucleic acid	DNA
Ribonucleic acid	RNA
Adenosintriphospat	ATP
Homeocystine	Hcy
Methylatetrahydrofolat	MTHF
S-adenosyl-methionine	SAM
S-adenosyl homocystine	SAH
Methionine synthase	MS
Total cholestoles	TC
High density lipoprotein	HDL
Low density lipoprotein	LDL
Very low density lipoprotein	VLDL
Triglyaglcerol	TAG
Follicular stimulating hormone	FSH
Luteinizing hormone	LH
Electro cardiogram	ECG
Cystathionien-B-synthase	CBS
Estrone	E1
Estradiol	E2
Estriol	E3
Absorbans	A

قائمة المختصرات

Hyperhomocystenimia	HHcy
Least Significant Difference	L.S.D
Comple randomized design	CRD

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	ت
28	الأجهزة المستخدمة والشركة المصنعة والمنشأ .	(1)
28	الأدوات الزجاجية والبلاستيكية المستخدمة والشركة المصنعة والمنشأ .	(2)
29	يبين المواد الكيميائية المستخدمة والشركة المصنعة والمنشأ	(3)
31	طريقة قياس تركيز TC	(1-2)
34	المرحلة الاولى لقياس HDL	(2-2)
34	المرحلة الثانية لقياس HDL	(3-2)
46	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الكوليستيرول الكلي TC ملغم / ديسي لترفي إناث الأرانب.	(1-3)
47	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز ثلاثي أسيل الكليسيرول TAG ملغم / ديسي لترفي إناث الأرانب.	(2-3)
48	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL ملغم / ديسي لترفي إناث الأرانب	(3-3)
49	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL ملغم / ديسي لترفي إناث الأرانب	(4-3)
50	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا" VLDL ملغم / ديسي لترفي إناث الأرانب	(5-3)
51	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز هرمون الأستيروجين بيكوغرام / ديسي لترفي إناث الأرانب	(6-3)



قائمة الجداول

52	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز هرمون البروجيسترون مايكروغرام/ديسي لترفي إناث الأرانب	(7-3)
53	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز هرمون المحفز الجريبات FSH مايكروغرام/ديسي لترفي إناث الأرانب	(8-3)
54	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الهرمون اللوتيني LH مايكروغرام/ديسي لترفي إناث الأرانب	(9-3)
55	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على معدلات التنفس مرة/دقيقة في إناث الأرانب	(10-3)
56	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على معدلات النبض ضربة/دقيقة في إناث الأرانب.	(11-3)
57	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على طول الموجة QRS ملي ثانية في إناث الأرانب	(12-3)
58	تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على طول الموجة QT ملي ثانية في إناث الأرانب	(13-3)

## قائمة الأشكال والصور

الصفحة	العنوان	ت
3	التركيب الكيميائي للميثيونين	شكل 1
7	أيض الميثيونين / هوموسيسيتين	شكل 2
11	خطوات بناء DNA بوجود الفولات	شكل 3
12	بناء الميثيونين بوجود الفولات	شكل 4
17	التركيب الكيميائي للأستيروجين	شكل 5
21	التركيب الكيميائي لمركبات البروجيستيرون	شكل 6
78	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الكوليستيرول الكلي TC ملغم/ديسي لتر في اناث الارانب	شكل (1-3)
78	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز ثلاثي أسيل الكليسيرول TAG ملغم/ديسي لتر في اناث الارانب	شكل (2-3)
79	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL ملغم/ديسي لتر في اناث الارانب	شكل (3-3)
80	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL ملغم/ديسي لتر في اناث الارانب	شكل (4-3)
80	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الشحوم البروتينية واطئة جدا VLDL ملغم/ديسي لتر في اناث الارانب	شكل (5-3)
81	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز هرمون الاستيروجين بيكوغرام/ديسي لتر في اناث الارانب	شكل (6-3)
81	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز هرمون البروجيستيرون مايكروغرام/ديسي لتر في اناث الارانب	شكل (7-3)

## قائمة الأشكال والصور

82	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحمض الفوليك على مستوى تركيز هرمون FSH مايكروغرام/ديسي لتر في اناث الارانب	شكل (8-3)
82	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحمض الفوليك على مستوى تركيز هرمون LH مايكروغرام/ديسي لتر في اناث الارانب	شكل (9-3)
83	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحمض الفوليك على معدلات التنفس مرة/دقيقة	شكل (10-3)
83	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحمض الفوليك على معدلات النبض ضربة/دقيقة	شكل (11-3)
84	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحمض الفوليك على طول الموجة QRS ملي ثانية	شكل (12-3)
84	رسم بياني يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحمض الفوليك على طول الموجة QT ملي ثانية	شكل (13-3)
60	مقطع مستعرض في الكبد في مجموعة السيطرة.	صورة 1
61-62	مقطع مستعرض في الكبد في المجموعة المعاملة بالميثيونين لمدة 30 يوم .	صورة 2 و 3
63	مقطع مستعرض في الكبد في المجموعة المعاملة بالميثيونين وحمض الفوليك لمدة 30 يوم.	صورة 4
64	مقطع مستعرض في القلب في مجموعة السيطرة.	صورة 5
65-66	مقطع مستعرض في القلب في المجموعة المعاملة بالميثيونين لمدة 30 يوم .	صورة 6 و 7
67	مقطع مستعرض في القلب في المجموعة المعاملة بالميثيونين وحمض الفوليك لمدة 30 يوم.	صورة 8

## 1-1 المقدمة

إن فرط تناول الأغذية الغنية بالبروتينات لاسيما البروتينات الحيوانية يؤدي الى حدوث أمراض مختلفة، وذلك لأن البروتينات الحيوانية تتصف بأحتوائها على وحدات أو عناصر غنية بالكبريت مثل الحامضين الأمينيين الميثيونين والسيستين واللذين تشتق منهما أحماض أمينية أخرى تحتوي على الكبريت مثل - Keto Methionene , Homocystin , Taurine , Cysteic acid ,Cystathionen (Paulsen,2001) . وإن فرط توفر هذه الأحماض الأمينية في الجسم يكون له عدة آثار سلبية على وظائف الجسم منها ضعف العظام وإضطرابات الكلى و يعد الكبريت الناتج من هذه الأحماض العامل الرئيسي لحدوث تسمم الأمعاء وإضطرابات القولون والرائحة المميزة في الفم والبطن (رائحة الكبريت) (Remer , 2000) . ويعد الميثيونين حامض أميني أساسي يحصل عليه الجسم من الغذاء مثل اللحوم والأسماك والدواجن والأجبان ، والأفراط في تناول هذه الأغذية الغنية بالميثيونين يكون سبب لحدوث العديد من الأمراض . حيث يعد فرط الميثيونين أحد العوامل الأساسية التي تؤدي الى حدوث خلل في أيض الهوموسيستين Hcy حيث يتراكم مؤدياً الى حدوث حالة زيادة تركيز الهوموسيستين في الدم (HHcy) Hyperhomocystinemia (Lijfering *et al.* , 2007) التي يمكن أن تحدث أيضاً "بسبب نقص في العوامل الضرورية لأيض الميثيونين مثل (B9- B6-B12) (Gupta *et al.* ,2008) .

إن حدوث HHcy يرتبط مع حدوث العديد من الأمراض مثل إنفصام الشخصية Schizophrenia والخرف Alzheimer (White *et al.*,2001; Berre *et al.*,2006;Scarpa *et al.*,2006) وإلتهاب المفاصل الروماتيزمية Rheumatoid arthritis وتترخر العظام Osteoporosis (Sahi *et al.*,2006)، وقد أكدت كثير من الدراسات إن HHcy تعد عامل خطورة للأصابة بأمراض الشرايين التاجية Coronaryarteriesdisease وإحتشاء العضلة القلبية Myocardial infraction (Rowan *et al.*,2007;Haim *et al.* , 2007) . وتسبب HHcy الكرب التأكسدي OxidativeStress من خلال تكوين الجذور الحرة مثل بيروكسيد الهيدروجين H2O2 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 (NO) ، وتقوم أنتاج جذور الأوكسيجين الفعال وخاصة Superoxide بواسطة إنزيم Endothelialnitric Oxide Synthase

وإن الزيادة في إنتاج الجذور الحرة يؤدي الى إنخفاض في تركيز الكلوتاثيون Glutathione (بيتيد ثلاثي) يعمل ككاسح للجذور الحرة وله دور دفاعي ضد التحطم الخلوي بواسطة التأكسد بواسطة إنزيم GSH-Peroxidase وإستنزاف هذا البيتيد يزيد من إحتمال حدوث أمراض القلب (Jamison *et al.*,2007;Tounz&Schiffrin,2008)

هذا بالإضافة الى أن HHcy لها تأثير ضار على الكبد ، مثل حالة تضخم الكبد Liver enlargmeul و تشحم الكبد Fatty Liver . (Petrak *et al .*,2007) .

وبسبب التأثيرات الضارة لفرط الميثيونين ودوره في إحداث ضرر في القلب والكبد، ونظراً لقلّة الدراسات التي تناولت تأثير فرط الميثيونين على النظام الهرموني في الجسم لاسيما الهرمونات الجنسية والهرمونات مغذية المناسل ،وبسبب الدور الوقائي لمضادات الأكسدة مثل فيتامين E وفيتامين C وحامض الفوليك (Fernandez – Robredo *et al .*,2005)

فقد هدفت هذه الدراسة الى معرفة تأثير فرط الميثيونين ودور حامض الفوليك على الأجهاد التأكسدي المتسبب عنه من خلال قياس المعايير الكيموحيوية والفسلجية التالية :

- 1- تراكيز الدهون TC و TAG في مصل الدم .
- 2- تراكيز الشحوم البروتينية VLDL, LDL, HDL في مصل الدم .
- 3- تركيز هرمون الأستيروجين في مصل الدم .
- 4- تركيز هرمون البروجيسترون في مصل الدم .
- 5- تركيز هرمون محفز الجريب FSH في مصل الدم .
- 6- تركيز الهرمون اللوتيني LH في مصل الدم .
- 7- معدلات النبض .
- 8- سرعة التنفس .
- 9- طول موجة QRS .
- 10- طول موجة QT .
- 11- أخذ مقاطع نسيجية في الكبد والقلب لغرض دراسة التغيرات النسيجية المرضية .

الفصل الأول  
المقدمة وإستعراض  
المراجع

## 2-1 إستعراض المراجع

## 1-2-1 الميثيونين : Methionine

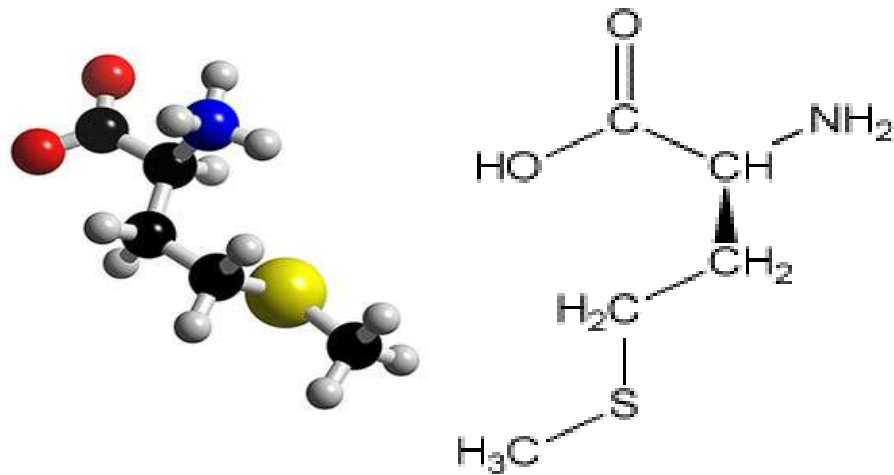
الميثيونين من الأحماض الأمينية الأساسية التي تحتوي على الكبريت ، وهذا الحامض الأميني يتواجد في مختلف البروتينات أو يحضر صناعيا" . كما يستخدم كأحد المضافات الغذائية أو الدوائية . ( Shoob *et al* .,2001 )

## 2-2-1 الأسماء الكيميائية : Chemical Names

2-amino-4-methyl thiobutyric acid.

$\alpha$ -amino- $\gamma$ -methyl mercaptobutyric acid.

DL-methionine, D- methionine, L-methionine .



شكل (1) التركيب الكيميائي للميثيونين . ( Shoob *et al* .,2001 ) .

**3-2-1 مصادر الميثيونين : Sources of Methioneine**

يشتق الميثيونين وبصورة أساسية من البروتين الغذائي مثل ، الرز ، الكزائين ، الأجبان ، البيض ، اللحم ، الدواجن والأسماك . بالإضافة لتواجده في الفواكه وبكميات قليلة في الخضراوات . طبقاً لما أقرته منظمة الصحة العالمية (WHO) ومنظمة الفاو (FAO) فإن الكمية الصحية اليومية للميثيونين للشخص البالغ . (Sahi *et al* .,2006) .

**4-2-1 الاستخدامات الوظيفية والعلاجية للميثيونين :****Biological Function & Therapeutic Uses of Methioniene:**

يعتبر الميثيونين المصدر الرئيسي للكبريت للكثير من المركبات الضرورية في الجسم ويستخدم الكبريت لنمو الشعر و الجلد ، وللكبريت دور مهم في إنتاج اللسيثين lecithin المهم لخفض الدهون في الكبد (Pettrak *et al* ., 2007) وللميثيونين أهمية في إذابة أو منع تكوين حصى الكلى (Wideman *et al* ) urolithiasis (Pamela *et al* .,1989) . ويشارك الميثيونين في تخليق الكالكوز والكلايكوجين (Pamela *et al* .,2005) . وقد أشارت الكثير من البحوث الى ان الميثيونين يعتبر كعامل حماية ضد الكثير من أمراض الكبد مثل منع تجمع الدهون في الكبد ; (Mato *et al* ., 2002) (Sahi *et al* ., 2006) ، كما يسهل جريان المادة الصفراء (Sahi *et al* ., 2006; Olivero *et al* ., 2006) . وللميثيونين أهمية في حماية الكبد من سمية بعض الأدوية مثل acetaminophen, methotrexate (Desmet *et al* .,2005) . كما يستخدم للأغراض العلاجية مثل التوازن الأيوني و الحامضي (FuFagawa.,2008) . أما في مجالات الإنتاج الحيواني وخاصة الدواجن يستخدم كمضاف غذائي مهم في العلف اعتماداً على العمر والمرحلة الإنتاجية (Xie *et al* ., 2007) . لأهمية هذا الحامض الأميني في إنتاج اللحوم والبيض في الدواجن ( Bunchasak *et al* ., 2006) .



## 1-2-5 أيض الميثيونين / الهيموسيسستين

**Methionine/Homocysteine:Metabolism**

الهيموسيسستين Homocystein(Hcy) هو حامض أميني يوجد في الدم ، وهو من الأحماض الأمينية التي تحتوي على كبريت ، وهو نتاج متوسط intermediate في سلسلة التفاعلات التي يتحول فيها الميثيونين في الجسم الى سيستاثيونين cystathathionine ومن ثم الى سيستين cysteine، ويعد Hcy من الناحية الكيميائية مماثلاً للسيستين أي أنهما متشابهان الى حد ما من حيث التركيب ، لكنهما يختلفان في الوظيفة ، ولا يدخل Hcy في بناء البروتينات وهو ذو تأثيرات سامة على الخلايا . يتأيض Hcy خلال طريقين هما الأول : إعادة المثيلة remethylation حيث يتحول Hcy الى ميثيونين. الثاني: نقل مجموعة كبريت Trans-sulfuration: حيث يتحول Hcy الى سيستين . (Wijckoon *et al* ,2007). ويتحول الميثيونين الى S-adenosyl-methionine (SAM) بوجود أنزيم methionine adenosyltransferase والذي يعتبر واهب رئيسي لمجموعة المثيل الضرورية للعديد من التفاعلات الخلوية (Castro *et al* ,2005; Melynck *et al* ,2006). وبأزالة مجموعة مثيل demethylation من SAM وبوجود methyltransferase ينتج S-adenosyl homocysteine (SAH) الذي يتحلل مائياً بوجود SAH-hydrolase لينتج في وقت واحد Hcy و adenosine معاً" (Stipanuk,2004). في أغلب الأنسجة بوجود الأنزيم methionine synthase(MS) الذي يستخدم فيتامين B12 كعامل مساعد و 5-methyltetrahydrofolate كواهب لمجموعة المثيل . إن إعادة تحول Hcy الى ميثيونين يساعد في الحفاظ على خزين tetrahydrofolate داخل الخلايا (Hashimoto *et al*.,2007;Williams and schalinske,2007) أو قد يتحول Hcy الى سيستاثيونين cystathionine بوجود فيتامين B6 (pyridoxin) بعملية التشبع بالكبريت trans-sulfuration والتي تتطلب بالإضافة لوجود B6 ،وجود الأنزيم cystathionine-B-synthase و serin حيث ينتج cystathionine والذي يتحلل مائياً" بوجود فيتامين B6 وأنزيم cystathinase لينتج أخيراً "cysteine و  $\alpha$ -ketobutyrate .

السيستين الناتج يدخل في بناء البروتينات وبناء الكلوتاثيونين GSH الذي يعتبر مضادا للأكسدة. (Lamoers *et al* .,2004). ويوضح الشكل (2) خطوات أيض الميثيونين .

## 1-2-6 أسباب حدوث الزيادة في تركيز الهوموسيستين في الدم : Hyperhomocysteinemia (HHcy)

يعتبر الميثيونين الموجود في الغذاء مصدر Hcy في الدم ، أن معدلات Hcy في الدم تعتمد على كمية الميثيونين الداخلة للجسم عن طريق الغذاء ، وعلى كمية Hcy المتأیضة بوجود الفيتامينات ( B6 -B9 -B12 ) ( Chwatko *et al* .,2007;Mato *et al* .,2008) أن المعدلات الطبيعية لوجود Hcy تتراوح ما بين ( 15-5Mmol/L ) (Schwab *et al* ,2006) وقد ناقشت العديد من الدراسات أن حدوث ارتفاع في معدلات Hcy يؤدي الى حدوث (HHcy) التي تعتبر أحد الأسباب المهمة للأصابة بأمراض القلب الوعائية (Wald *et al* .,2002 ; Sundstrom and Vasan,2004; Suematsu *et al* .,2007 ) ومن الأسباب المهمة لحدوث HHcy هو توفر الحامض الأميني الميثيونين في الدم وبمعدلات عالية حيث أن فرط الميثيونين ممكن أن يؤدي الى خلل في أيض Hcy مما يؤدي الى تراكمه في الجسم وحدث HHcy .

ففي دراسة على مجموعة من الفئران تناولت غذاء يحتوي كميات عالية من الميثيونين أظهرت النتائج حدوث زيادة في معدلات Hcy والتي قد تكون ناتجة من حدوث خلل في أنزيم cystathione -B- synthase وهو الأنزيم المسؤول عن تحول Hcy الى Cystine . وبالتالي تراكمه وزيادة معدلاته في الدم ( Rowan *et al* .,2007;Hillenbrand *et al* ;2008 )

في حالة وصول معدلات Hcy الى نسب تتراوح ما بين (30-15Mmol/L) فإن هذه الحالة توصف بأنها Mild Hyperhomocysteinemia . بينما الحالة التي تتراوح فيها معدلات Hcy في البلازما ما بين ( 100-31Mmol/L ) فتوصف بأنها Moderate Hyperhomocysteinemia . أما الحالة التي تكون فيها معدلات Hcy في البلازما أكثر من (100Mmol/L) فتوصف بأنها حالة Sever Hyperhomocysteinemia (Assadin *et al* .,2007).

في الظروف الطبيعية يتحول 50% من Hcy الى ميثيونين في حالة حاجة الجسم للميثيونين ، بينما في حالة توفر البروتين أو الميثيونين فإن Hcy سوف يكون أو يشكل Cystien . وحدث أي خلل أو ضرر في هذه الظروف سوف يؤدي الى تراكم Hcy وحصول حالة HHcy، حيث يخرج Hcy من الخلايا الى البلازما مما يؤدي الى زيادة معدلاته في البلازما (Herrmann *et al* .,2004) .

أن Mild Hyperhomocysteinemia تحدث نتيجة خلل في أحد العوامل الضرورية في عملية المثيلة Remthylation مثل حدوث نقص في الفولات أو فيتامين B12 أو B6 هذا بالإضافة الى أن الإصابة بالأمراض مثل سرطان المبايض أو سرطان البنكرياس يكون مقترن مع حدوث Mild Hyperhomocysteinemia (Castro et al., 2003; Pezzins et al., 2007) أما حالة sever Hyperhomocysteinema فأنها تحدث بسبب وجود تشوهات وراثية مثل وجود نقص في (CBS) cystathionene-B-synthase أو MethylaTetraHydrofolat (MTHF)

(Buemie et al., 2001; Statbler et al., 2006; Halsted et al., 2007)

إن أستهلاك (4 أكواب /يوميا") من القهوة يؤدي الى إرتفاع في معدلات Hcy (Donnelly et al., 2005; Symons et al., 2006., Verhof et al., 2007) كذلك فإن التدخين يرتبط مع حدوث إرتفاع في معدلات Hcy.

(Baccarelli et al., 2007; Collinges et al., 2008) .بالإضافة الى ذلك فإن معدلات Hcy ممكن أن ترتفع عند الأشخاص الذين يتناولون الكحول وبشكل مستمر مما يؤدي الى حدوث اضطراب في أيض Hcy وحدث HHcy (Huliberg et al., 2005., Robinson et al., 2005)

ومن الأسباب الأخرى لحدث HHcy هو حصول نقص في الفولات داخل الجسم أو حصول سوء أمتصاص لفيتامين B12 مما يؤدي الى عدم تحول Hcy الى ميثيونين وتراكمه داخل الخلايا ومن ثم خروجه الى البلازما مما يؤدي الى زيادة معدلاته في البلازما وحدث حالة HHcy (Smith and Hagen, 2003)

### 7-2-1- التأثيرات الضارة لفرط الميثيونين Adverse effect of methionien overload

تشير الدراسات الى أن حالة HHcy في الدم هي دلالة على عامل خطورة للأصابة بأمراض جهاز القلب الوعائي (CVP) (Wald et al., 2002; Sundstrom & Vasan 2004; Suematsu et al., 2007). والأوعية المحيطية وختار الاوردة venous thrombosis . (Rowan et al., 2007; Hillenbrand et al., 2008) . أن زيادة Hcy في الدم تؤدي الى قلة في الفعالية الوظيفية لأوكسيد النتريك Nitric oxide

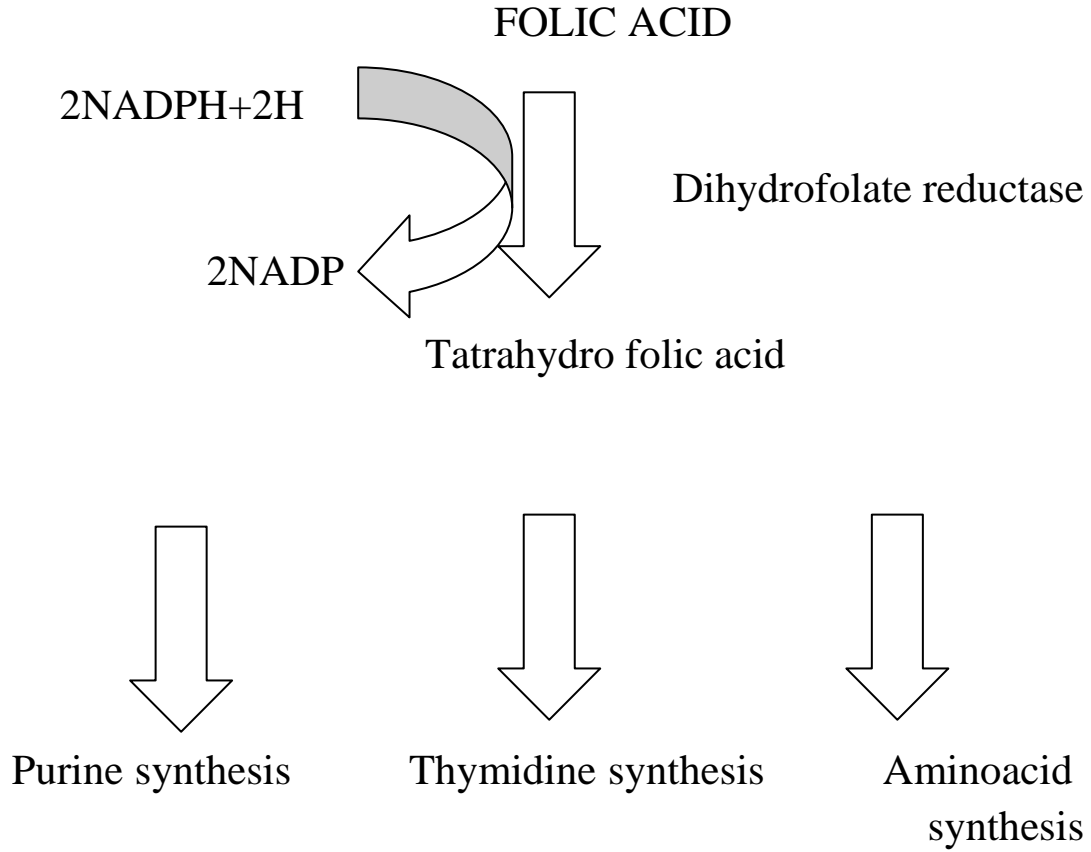
التي تؤدي الى زيادة التقلص الوعائي وبالتالي حصول حالة اضطراب للجهاز القلبي الوعائي (Busse & Fleminy 1995; Suematsu *et al* ., 2007) هذا بالإضافة الى أن HHcy لها تأثير ضار على الكبد ، مثل حالة تضخم الكبد Liver Enlargment و تشحم الكبد Fatty Liver (Pettrak *et al* .,2007) .  
 أذ أشار الباحثين الى ان HHcy تؤدي الى زيادة الاجهاد التأكسدي Oxidativ stress في كبد حيوانات التجارب (Mario *et al*.,2006;Robert *et al*.,2005) كما أشار العديد من الباحثين الى ان الاعطاء المفرط للميثيونين يؤدي الى خفض الشهية للطعام (Symones *et al* ., 2006) والتخلف الذهني mental retardation والشدة العضلي skeletal deformities وحالات أنفصام الشخصية schizophrenia (Applebanm *et al* ., 2004) ومرض الزهايمر Alzheimer disease (Berre *et al* .,2006 ; Scarpa *et al* .,2006) . وقد أشار الباحث ( Villadsen *et al* .,2005) الى ان HHcy تؤدي الى حالة هشاشة العظام بسبب زيادة الاجهاد التأكسدي والذي يعمل على زيادة في ارتشاف العظام Resorption العظام من خلال تحفيز خلايا Osteoclast خلايا ناقضة للعظم .

### 1-3-1 حامض الفوليك (Folic Acid (Vitamin B9 :

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 كربون واحدة خلال تفاعلات متنوعة مثل أيض الاحماض الأمينية والاحماض النووية

(Pfanzagl *et al* .,2003;Reed *et al*.,2006) فخلال أيض الاحماض النووية تلعب الفولات دور في أيض الحمض النووي DNA بطريقتين:

الأولى : بناء الحمض النووي DNA من خلال بناء القواعد النايتروجينية الثايميدين Thymidin والبيورين Pyrine حيث تكون الفولات عامل مساعد في هذه التفاعلات .

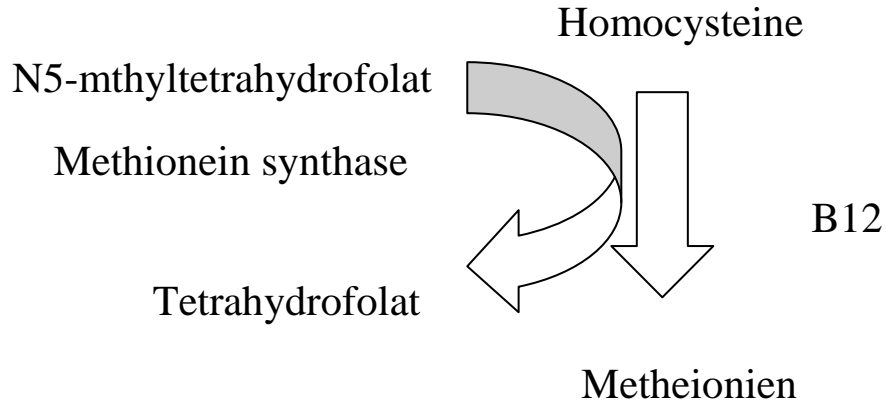


شكل (3) خطوات بناء DNA بوجود الفولات كعامل مساعد.

(Mc Cully , 1996)

الثانية : بناء الحامض الأميني الميثيونين وهذه العملية تتطلب وجود الفولات كعامل مساعد، وتعد العملية (بناء الميثيونين) ضرورية لبناء S-adenosyl methionine (SAM) (الشكل الفعال للميثيونين) وهو مجموعة مثيلية تحتوي ذرة كربون واحدة توهب أو تستخدم في كثير من التفاعلات البيولوجية المثيلية لعدد من المواقع ضمن DNA, RNA، وهذه التفاعلات ضرورية للوقاية من الإصابة بالسرطان (Finkelston, 2000; Maj et al., 1997).

وللفولات دور في أيض الأحماض الأمينية حيث تكون كعامل مساعد في بناء الميثيونين من الهوموسيسيتين بوجود فيتامين B12 (Kerkeni et al., 2006).



شكل (4) بناء الميثيونين بوجود الفولات (MC Cully , 1996) .

هذا الفيتامين ضروري لتأبيض البروتين والدهون، ويساعد في صيانة القناة الهضمية والجلد والشعر والجهاز العصبي والعضلات وأنسجة أخرى في الجسم. ويساعد حامض الفوليك في السيطرة على إنتاج خلايا الدم الحمراء وتوزيع الحديد بشكل صحيح في الجسم (Ambroszcziemicz *et al*., 2006).

وقد بينت عدة دراسات أن حامض الفوليك له دور في خفض معدلات Hcy في الدم في الأشخاص الذين يعانون من HHcy وبالتالي خفض نسبة الأصابة بأمراض القلب الوعائية (Gursu *et al* ; 2004:Gzeizel , 1996)

### 1-3-2 مصادر حامض الفوليك Sources of folic acid :

أن المصادر الرئيسية لحامض الفوليك هي الخضراوات المورقة مثل السبانغ واللفت والقرنبيط والفراولة والفاول بأنواعه (الأخضر- الأحمر- الأصفر) والفاصوليا والبازلاء المجففة. ويوجد في بعض الفواكهة مثل البرتقال (HallandSolehdin , 1998)

**3-3-1 نقص حامض الفوليك Folic Acid deficiency :**

يحدث نقص في معدلات حامض الفوليك في الجسم نتيجة سوء التغذية أو الأدمان المقترن مع سوء التغذية ، حيث يعمل الأدمان على التقليل من امتصاص حامض الفوليك ، كذلك فإن تناول العقاقير يسهم في حدوث نقص في معدلات حامض الفوليك في الجسم ،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 (Shaw *et al* .,1995) (Bostom *et al* .,2000; Symons *et al* .,2006)

أن حدوث فقر الدم من نوع Megaloblastic أو Macrocytic يعد مؤشرا"على نقص معدلات حامض الفوليك في الجسم ، حيث يكون تجهيزه للخلايا المنقسمة في نخاع العظم غير كافي فتنتج كريات دم حمراء كبيرة الحجم وبأعداد قليلة ، مما يؤدي الى انخفاض معدل نقل الأوكسجين وبالتالي الشعور بالتعب والأنهاك (MCCully ,1996).

وفي دراسة أستغرقت عشر سنوات لرجال تناولوا غذاء غني بحامض الفوليك ، لوحظ انخفاض في معدلات أمراض القلب الوعائية بنسبة %55 مقارنة مع رجال تناولوا غذاء تميز بقله أحتوائه على هذا الفيتامين. حيث أكدت هذه الدراسة أن وجود حامض الفوليك بكميات عالية في الغذاء يسبب انخفاض في معدلات Hcy في الدم . (Gzeizel,1996)

وقد أكدت دراسات أخرى أن ارتفاع معدلات حامض الفوليك في الجسم كان مقترنا"مع انخفاض معدلات الإصابة بسرطان الثدي (Tolarova and Harris,1995)



**1-5-1 هرمون الأستروجين Estrogen :**

كلمة Estrogen معناها المسبب للشياخ أو الهياج الجنسي . التركيب البنائي لهرمون الأستروجين يكون على ثلاث صور :

. Estrone (E1) -1

. Estradiol (E2) -2

. Estriol (E3) -3

ويعتبر E2 هو الأستروجين النشط الرئيسي ، ويكون المبيض المسؤول عن إفراز E2,E1 بينما يكون E3 ناتج هدم لكل من E2 و E1 في النساء الغير حوامل ويوجد بتركيز عالي في البول أثناء فترة الحمل . ( James , 1972 )

**2-5-1 التخليق الحيوي للأستروجين: Biosynthesis of estrogene:**

تنتج الأستروجينات في غلاف الخلايا الداخلية Thecae int eran لجريبات كراف الناضجة في المبيض ، وتصنع الأستروجينات من تمثيل الأندروجينات في الغدد الصم وأماكن أخرى في الجسم . كما يحتوي سائل الجريبات المبيضية ovarian follicular fluid على كميات من الأستروجين . وتفرز غدة الكظر والخصية والمشيمة في الحوامل الأستروجين ، إضافة الى أن الأستروجين يوجد في النباتات البقولية كالباقلاء والبزاليا وغيرها . (غايتون وهال ، 2004 ) .

ويعد المبيض الموقع الرئيسي لإنتاج الأستروجين في الأنثى غير الحامل ، كما يلاحظ أن المصدر الرئيسي لتصنيع الهرمونات الجنسية الثانوية يتمثل في تحول الخلات الى كوليستيرول ثم الى أندروستيبيديون ليتحول الى تيستوستيرون وبالتالي يتحول الى أستيريون وأستيرادول . (العلوجي ، 1989) .

ويعد الكبد الموقع الرئيسي لأيض الأستروجينات حيث ينتج عن ذلك مركبات خاملة فاقدة للنشاط الأستروجيني تطرح مع البول . كما توجد الأستروجينات في بلازما الدم بصورة حرة أو مرتبطة مع بروتينات البلازما . (Segal ,1974)

الشكل رقم (5) يبين التركيب الكيميائي للمركبات الأستروجينية :

**1-4-1 الكوليستيرول Cholesterol :**

هو مادة دهنية قليلة الذوبان جدا" في الماء عند درجة حرارة 25 م ، تركيزه في بلازما الدم عند الأشخاص صحيحي البدن يتراوح من 100-200 ملغم وهذه القيمة هي ضعف تركيز كلكوز الدم (آل فليح، 2000 )

ويعود سبب كون الكوليستيرول عالي الذوبان في البلازما لوجود نوعين من البروتينات الدهنية lipoproteins (LDL , HDL) والتي تقوم بحمله داخل مجرى الدم. ويصبح الكوليستيرول خطرا" عندما تبلغ نسبته في الدم أكثر من 240 ملغم (الكبيسي ، 2002) . يدخل الكوليستيرول في تركيب الأغشية الخلوية وخاصة في الدماغ . ويعطي عند أختزاله أحماض الصفراء مثل cholic acid التي تصنع في الكبد والتي تسهل عملية امتصاص الكليسيريدات الثلاثية Triglycerides والفيتامينات . وكذلك فإن الكوليستيرول يدخل في تركيب الهرمونات الجنسية وهرمونات قشرة الكظر . ويخلق الكوليستيرول في جميع خلايا الجسم و بشكل كبير في الكبد والأمعاء وقشرة الكظر وأنسجة التكاثر مثل المبايض والخصى (جميل وآخرون ، 1985) .

**2-4-1 الكليسيرات الثلاثية (TG) Triacylglyceride :**

وهي أبسط أنواع الدهون وأكثرها وفرة ، وهي عبارة عن ثلاث ذرات كاربون تتصل بها ثلاث مجاميع OH (عزيز وآخرون ، 1978) . وهو النوع السائد في غذاء الانسان اذ يكون حوالي 95% من الدهون المخزونة في الانسجة الدهنية Adipose tissue ويكون له مصدران الاول خارجي المنشأ Exogenous من الغذاء . ومصدر داخلي المنشأ Endogenous اذ يعد الكبد والانسجة الدهنية من المواقع الرئيسية لتخليقه (الوافي ، 2001) . وأظهرت دراسة ان TG هو احد عوامل الخطورة لاحداث الاصابة بامراض القلب الوعائية (Forrester , 2001).

### 3-4-1 الشحوم البروتينية Lipoproteins

تعرف بأنها جزيئات من الدهون غير الذائبة في الماء Hydrophobic محاطة بطبقة من البروتينات ، وتنتقل بسهولة في مجرى الدم وتسهم في نقل الدهون الى أنحاء الجسم المختلفة (الحكاك ، 2002) .

وتصنف البروتينات الدهنية استنادا" الى خاصية الطرد المركزي وكثافتها الى اربعة انواع :

1- دقائق الكيلوسية Chylomicrons

2- الشحوم البروتينية عالية الكثافة High Density Lipoproteins(HDL)

3- الشحوم البروتينية واطئة الكثافة Low Density Lipoproteins(LDL)

4- الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا" Very Low Density

Lipoprotienes (VLDL)

وكل هذه الانواع تحتوي على نسب متباينة من البروتين والكوليستيرول والكليسيرات الثلاثية والشحوم المفسفرة ، وان كل نوع من البروتينات الدهنية له اهمية فسلجية وكيميائية في الجسم . (ال فليج ، 2002 ) .

وأكدت دراسة على مجموعة من ذكور الأرانب النيوزلندية إن التجريع الفموي اليومي للحامض الأميني الميثيونين وبتراكيز عالية (100ملغم/كغم من وزن الجسم) ولمدة 4 أسابيع أدى وبشكل ملحوظ زيادة في معدلات الكوليستيرول الكلي (TC) والشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL والشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا" VLDL.وأظهرت النتائج أن التجريع أدى الى حدوث نقص في معدلات HDL (البازي، 2009)

وفي دراسة أجريت على مجموعة من الجرذان أستمرت في تناول غذاء يحتوي نسبة عالية من الميثيونين(75ملغم/كغم من وزن الجسم ) ولمدة 4 أسابيع ،حيث أظهرت النتائج حدوث زيادة في مستويات الكوليستيرول في المصل مع حدوث نقصان في معدلات HDL وقد يعود سبب نقصان معدلات HDL الى الزيادة الحاصلة في معدلات Hcy الناتجة من فرط الميثيونين في الغذاء حيث أدت هذه الزيادة الى حدوث خلل في أحد العوامل الضرورية لإنتاج HDL

(Velez-Carrasco *et al*;2008)

### 1-5-1 هرمون الأستروجين Estrogen :

تنتج الأستروجينات في القراب الداخلي Theca interna لجريبات كراف الناضجة في المبيض ، وتصنع الأستروجينات كلمة Estrogen معناها المسبب للشياخ أو الهياج الجنسي . التركيب البنائي لهرمون الأستروجين يكون على ثلاث صور :

1- Estrone (E1) .

2- Estradiol (E2) .

3- Estriol (E3) .

ويعتبر E2 هو الأستروجين النشط الرئيسي ، ويكون المبيض المسؤول عن إفراز E1, E2 بينما يكون E3 ناتج هدم لكل من E2 و E1 في النساء الغير حوامل ويوجد بتركيز عالي في البول أثناء فترة الحمل ( James , 1972 )

### 2-5-1 التخليق الحيوي للأستروجين: Biosynthesis of esterogen:

من تمثيل الأندروجينات في الغدد الصم وأماكن أخرى في الجسم . كما يحتوي سائل الجريبات المبيضية ovarian follicular fluid على كميات من الأستروجين . وتفرز غدة الكظر والخصية والمشيمة في الحوامل الأستروجين ، إضافة الى أن الأستروجين يوجد في النباتات البقولية كالباقلاء والذرايا وغيرها ( غايتون وهال ، 2004 ) .

ويعد المبيض الموقع الرئيسي لإنتاج الأستروجين في الأنثى غير الحامل ، كما يلاحظ أن المصدر الرئيسي لتصنيع الهرمونات الجنسية الثانوية يتمثل في تحول الخلايا الى كوليستيرول ثم الى أندروستيرويدون ليتحول الى تيستوستيرون وبالتالي يتحول الى أستيريون وأستيرادول (العلوجي ، 1989) .

ويعد الكبد الموقع الرئيسي لأيض الأستروجينات حيث ينتج عن ذلك مركبات خاملة فاقدة للنشاط الأستروجيني تطرح مع البول . كما توجد الأستروجينات في بلازما الدم بصورة حرة أو مرتبطة مع بروتينات البلازما (Segal ,1974)

الشكل (5) يبين التركيب الكيميائي للمركبات الأستروجينية :

### 3-5-1 الوظائف البايولوجية للأستروجين Biological actions of estrogen:

هرمون الأستروجين يسبب زيادة حساسية الخلايا الحبيبية Granulosa cells في المبيض لهرمون FSH كذلك يزيد إنقسام الخلايا في النسيج الظهاري الجرثومي Germinal epithelium . كمايسبب الهرمون زيادة حركة قناة البيض Motility of the oviduct . تفرز الأستروجينات أثناء الطفولة بكميات ضئيلة وتزداد عند البلوغ بتأثير هرمونات الغدة النخامية الى حوالي 20 ضعف أو أكثر . ويزداد حجم الرحم خلال السنين القليلة بعد البلوغ لعدة أضعاف (الضعف أوثلاثة أضعاف) والأكثر أهمية من زيادة الحجم هي التغيرات التي تحدث في بطانة الرحم بتأثير الأستروجينات ، حيث تسبب هذه الهرمونات تكاثر "بينيا" في سدى بطانة الرحم وزيادة كبيرة في تطور غددها التي تقوم بعد ذلك بالمساعدة في تغذية البيضة المغروسة (Leung,1987).

وتزيد الأستروجينات من سرعة الأيض كما إنها تسبب زيادة في كميات الدهون التي تترسب في الأنسجة تحت الجلدية ، وكنتيجة لذلك يصبح الثقل النوعي الكلي لجسم الأنثى أقل من الثقل النوعي لجسم الذكر الذي يحتوي بروتينات أكثر ودهنا" أقل كما تسبب الأستروجينات ترسب الدهون في الثديين و الألتين والفخذين ممايولد مميزات خاصة لجسم الأنثى (Mycek et al .,2000) .

ويكون للأستروجينات تأثير على الثديين من خلال تطور الانسجة السدوية Stroma للثدي ونمو نظام قنوي واسع وترسيب الدهون في الثدي ، ويكون تطور الفصيصات والأسناخ في الثدي لدرجة قليلة تحت تأثير الأستروجينات لوحدها حيث يكون البروجيسترون والبرولاكتين هما اللذان يسببان النمو الفعال وتحفيز هذه النبيبات (Bray et al ., 1999) .

ويكون للأستروجين تأثير على الهيكل العظمي حيث تسبب الأستروجينات زيادة في الفعالية البانية للعظم حيث يلاحظ النمو السريع للأنثى عند وصولها سن البلوغ وللأستروجينات تأثير أخر على نمو الهيكل العظمي حيث تسبب الأتحاد المبكر للمشاشات مع جذوع العظام الطويلة . وهذا التأثير في الأنثى أشد كثيرا"من التأثير المشابه له للتيسترون في الذكر . وكنتيجة لذلك يتوقف النمو في الأنثى قبل موعد النمو في الذكر بعدة سنوات (غايتون وهال, 2004) .

وتسبب الأستيروجينات كما في الألدوستيرون أحتباس الصوديوم والماء بواسطة النيببات الكلوية ، لكن هذا التأثير ضعيف ونادرا "مايكون مهما" الأ عند الحمل (Muell *et al.* ,1972) .

ويكون للأستيروجينات دور في تخليق البروتينات وبالتالي تغير الوظيفة الخلوية ،حيث تدور الأستيروجينات في الدم لمدة بضع دقائق فقط قبل أن تصل الخلايا المستهدفة Target. وعند دخولها هذه الخلايا تتحد مع بروتين في الساييتوبلازم Cytoplasm لتنشط أقساما" نوعية معينة من DNA وتبدأ عملية الأستنساخ ويتكون RNA خلال بضعة دقائق .بالإضافة لذلك يمكن أن يولد DNA جديد لعدة ساعات ممايتولد عنه في النهاية أنقسام الخلية وانتشار RNA خلال الهولي حيث يولد زيادة كبيرة في تكوين البروتين وبالتالي تغير الوظيفة الخلوية (Ganong,2003) .

وقد أكدت دراسة الدور الوقائي للأستيروجين ضد أمراض القلب مثل تصلب الشرايين atherosclerosis واحتشاء عضلة القلب Myo Caraiial Infraction (Barrett& Bush,1991) .

وأظهرت دراسة إن للأستيروجين دور في خفض معدلات Hcy مما يقلل خطر الإصابة بأمراض القلب (Dimitrovak *et al.* ,2001)

وأكدت الدراسة التي أجراها (Damjanovae,1996) إن الرجال أكثر عرضة لحدوث التصلب في الأوعية الدموية من النساء قبل سن اليأس بسبب وجود هرمون الأستيروجين الذي يعمل على زيادة مستوى HDL وتقليل TC وLDL ويعمل على تنشيط عملية تكاثر الطبقة الوسطى Tanica media في جدار الوعاء الدموي .

#### 4-5-1 مصير الأستيروجينات Esterogene Fate :

يقرن الكبد الأستيروجينات لتكون غلوكورونيدات وسلفات ، ويفرغ حوالي خمس هذه النتاجات المقترنة الى الصفراء بينما يفرغ الباقي الى البول . كما أن الكبد يحول الأستيروجينين الفعالين الأسترايدول و الأستيرون الى أستيروجين الأستيروول الغير فعال بصورة تامة تقريبا".ولهذا فأن أي خلل في وظائف الكبد يزيد من نسبة الأستيروجينات في الجسم (Bischof and Islami ,2002)



**1-5-5 هرمون البروجيسترون Progesterone hormone :**

كلمة progesterone تعني ديمومة الحمل (المادة التي تحافظ على أبقاء الحمل). وهرمون البروجيسترون يفرز أساساً من الجسم الأصفر corpus luteum في المبيض وقد يفرز أيضاً من المشيمة placenta كما أن بعض من هرمون البروجيسترون ينتج من الحويصلات في مراحل النمو المتأخرة (العلوي، 1989)

ويظهر البروجيسترون بصورة مفاجئة عند الإباضة ، حيث يظهر في البول نتيجة تأيضه وتحوله بشكل رئيسي الى بركناندايول pregnanediol لذلك يمكن اعتبار البروجيسترون أحد مشتقات البركنان pregnane ويتصف البروجيسترون بذوبانه في كافة المذيبات العضوية عدا الكحول المخفف والأسيتون والأثير ، كما أنه لا يذوب في الماء (غايتون وهال ، 2004) .

**1-5-6 التخليق الحيوي للبروجيسترون: Biosynthesis of progesteron:**

يتم تصنيع البروجيسترون من الخلايا التي تحول الى كوليسترول ليتحول بدوره الى المركب الرئيسي البركنينولون pregnenolone حيث ينتج بعد ذلك البروجيسترون . ويتم أختزاله في الكبد بصورة رئيسية ليتحول بعد ذلك بركناندايول الذي يطرح مع البول (محي الدين وآخرون ، 1990).

الشكل (6) يبين التركيب الكيميائي للبروجيسترون :



### 1-5-7 الوظائف البيولوجية لهرمون البروجيسترون : progesteron hormone

أن أهم وظيفة للبروجيسترون هي تعزيز التغيرات الأفرزية لبطانة الرحم خلال النصف الأخير من الدورة الشهرية الجنسية للأنثى، وبهذا يهيأ بطانة الرحم لأنغراس البيضة المخصبة فيه. بالإضافة لهذا التأثير على بطانة الرحم، فإن البروجيسترون يقلل من تردد تقلصات الرحم وشدتها ويساعد بذلك في منع بثق البيضة المنغرس (Felcher, 1987). ويعزز البروجيسترون تنامي فصيصات وأسناخ الثديين، مما يسبب تكاثر الخلايا السنخية وضخامتها، فتصبح ذات طبيعة أفرزية ومع ذلك فإن البروجيسترون لا يؤدي بالأسناخ إلى أفراز اللبن لأن اللبن لا يفرز إلا بعد أن ينبه الثدي المهياً بالبرولاكتين الذي تولده النخامي الأمامية. ويسبب البروجيسترون أيضاً "انتفاخ الثديين ويعود جزء من هذا التأثير إلى التطور الأفرزي في الفصيصات والأسناخ، وقسماً" آخر من الانتفاخ يتولد من زيادة السوائل في النسيج تحت الجلدي نفسه (Glodsworthy et al., 1981) ويمكن البروجيسترون بكميات كبيرة كما في الأستروجينات والتسترون من تعزيز إعادة أمتصاص الصوديوم والكلوريد والماء من النبيبات الكلوية القاصية وبالرغم من أن هرمون البروجيسترون يفرز بكميات عالية عن هرمون الأستروجين إلا أن تأثيره غير معنوي على الجسم كله مقارنة بهرمون الأيستروجين، فعندما يعمل البروجيسترون بمفرده فهو يسبب تميز للخلايا أكثر من تضاعفها. كما أن لهرمون البروجيسترون آثار أخرى منها تنشيطه لنمو وتطور الحويصلات Alveoli في الغدد اللبنية كما أن له تأثير حراري Thermogenic effect على درجة حرارة الجسم (غايون وهال، 2004). وفي دراسة على ذكور الجرذان البالغة تم توضيح أن للبروجيسترون دور في التقليل من الإصابة بأمراض القلب الوعائية من خلال تحفيزه لجين Calcitonin gene related peptide (CGRP) في منطقة Dorsal root ganglia neurons (DRG) حيث يقوم هذا الجين بتقليل مقاومة الوعاء الدموي وينظم جريان الدم في الشرايين في الجرد (Lanlua et al., 1999).

**1-5-8 مصير البروجيستيرون :**

يدرك تقريبا" كل البروجيستيرون بعد إفرازه ببضع دقائق الى ستيروئيدات أخرى ليس لها تأثير بروجيستيروني ، وكما هو الحال مع الأستيروجينات فأن الكبد مهم جدا" بصورة خاصة لهذا التدرك الأيضي . والناتج الرئيسي لتدرك البروجيستيرون هو البريغنانديول pregnanediol ويطرح في البول حوالي 10% من البروجيستيون الأصلي بهذا الشكل ولهذا فمن الممكن تقدير سرعة تكون البروجيستيرون في الجسم من سرعة هذا الطرح للبريغنانديول (James, 1972)

**1-5-9 هرمونات القند Gonadotropic hormones**

وتشمل هرمونين هما الهرمون المحفز للجريب Follicle Stimulating hormone (FSH) . والهرمون اللوتيني (LH) Luteinizing hormone . وهذان الهرمونان هما عبارة عن بروتينات سكرية glycoprotein ذات وزن جزيئي يقدر ب 30,000 دالتون . يتكون كل منهما من وحدتين من البيبتيدات المتعددة polypeptide وهي ألفا  $\alpha$  وبتا  $\beta$  وتتكون جزيئة ألفا في الهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات من 92 حامضا"أمينيا" . أما وحدات بيتا في الهرمون اللوتيني تتكون من 21 حامضا" أمينيا" ، بينما في الهرمون المحفز للجريبات فتتكون من 111 حامضا"أمينيا" . وتتألف الهرمونات أعلاه كذلك من الكربوهيدرات بنسبة 20% من الوزن الجزيئي لهما (العلوجي، 1989) . يفرز كل من الهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات بالنمط نفسه من الفص الأمامي من الغدة النخامية سيطرة من تحت المهاد hypothalamus ، ويحفز الهرمون اللوتيني إنتاج الهرمونات الأستيرويدية (هرمون الشحمون الخصوي عند الرجال ، وهرمون الأسترايدول estradiol في النساء) . كما أن الهرمون اللوتيني مسؤول عن إرسال الأيعاز الى المبايض لأفراز هرمونات أخرى مثل هرمون البروجيستيرون الذي يجهز بطانة الرحم لأستقبال وتغذية الجنين .

بينما يحفز هرمون محفز الجريبات إفراز الهرمون المثبط inhibin والذي بدوره يتحكم بأفراز الهرمون المحفز للجريبات عن طريق آلية التغذية الأسترجاعية Feed back mechanism (الجميل، 2002) .

ويكون الهرمون اللوتيني في منتصف دورة الطمث مسؤولاً عن الإباضة، وأفرازه بصورة مستمرة يحفز الجسم الأصفر *corpus luteum* لإنتاج البروجيستيرون كما أن نمو وتطور الجريبات المبيضية يقع تحت تأثير الهرمون المحفز للجريبات بصورة كبيرة. أما إنتاج الأستروجين من هذه الجريبات فيعتمد على كل من الهرمون المحفز للجريبات والهرمون اللوتيني (العلوي، 2005).

وفي النساء اللواتي يحضن بصورة طبيعية فإن كلا من الهرمونين LH,FSH سيؤثران وبصورة مباشرة في نمو وتطور الجريبات المبيضية وزيادة أفرانها للستيرويدات *steroids*. كذلك يحفز الهرمون FSH الخلايا على إنتاج الهرمون المثبط *inhibin*.

إن إنتاج الستيرويدات يقل عند سن اليأس بصورة كبيرة مما ينتج عنه زيادة في مستوى الهرمون LH عن طريق آلية التغذية الأسترجاعية. أما الهرمون FSH فيرتفع بصورة ملحوظة بسبب هبوط حاد في الهرمون المثبط *inhibin* (الجبوري، 2003).

وقد أكدت دراسة أجريت على ذكور الجرذان أن إعطاء مادة RU486 وهي مادة بروتينية مضادة لتأثير البروجيستيرون له تأثير على FSH و LH، حيث بينت النتائج حدوث إنخفاض في تركيز هرمون LH وإرتفاع تركيز هرمون FSH وقد يعود السبب إلى أن هذه المادة تعمل على تثبيط المنشأ الخارجي *exogenous* والمنشأ الداخلي *endogenous* للعامل المحرر LH بينما تعزز المنشأ الداخلي *endogenous* للعامل المحرر FSH (Sanchez-Criado *et al.*, 1999).

### 1-6-1 مخطط كهربائية القلب ( ECG ) : Electro cardiograph

عندما تمر الموجة الكهربائية خلال القلب تنتشر منه تيارات كهربائية إلى الأنسجة المحيطة به وتنتشر نسبة صغيرة من هذه التيارات إلى سطح الجسم، فأذا وضعت مسار كهربائية مقابل جوانب القلب يصبح بالإمكان تسجيل الجهود الكهربائية التي تولدها هذه التيارات، وهذا هو مخطط كهربائية القلب ECG. (غايتون وهال، 2004).

إن القاعدة الأساسية لل ECG تعتمد على أن التنبيه الكهربائي للخلية العضلية القلبية يسبب زوال استقطاب غشاء الخلية، ينتشر زوال الاستقطاب على طول الليف العضلي ثم إلى الألياف العضلية المجاورة، مما ينتج عنه موجة متقدمة لزوال

الأستقطاب تعبر العضلة القلبية وتشكل تياراً كهربائياً "قابلاً" للقياس بواسطة مسارات توضع على سطح الجسم ، تضخم وتعرض على شكل مخطط قلب كهربائي . ( Hampton , 2003 ) .

يتكون مخطط القلب من موجة P التي تسبب الجهد الكهربائي الذي يتولد عند إزالة استقطاب الاذنين قبل تقلصهما ومعقد QRS الذي يتسبب بالجهود التي تتولد عند زوال استقطاب البطينين ، وموجة T التي تتسبب بالجهود التي تتولد عند عودة الاستقطاب للبطينين .

ويستخدم مصطلح "تسرع القلب" Tachycardia لوصف النبض القلبي عندما يتجاوز ال 100 ضربة في الدقيقة . ومصطلح " بطء القلب " Brachycardia لوصف النبض القلبي عندما يكون أقل من 60 ضربة في الدقيقة . ومصطلح " النظم الجيبي " Sinus Rhythm لوصف النظم الناشئ في العقدة الجيبية الاذينية والمنتشر الى البطينات . أما مصطلح " اللانظمية الجيبية " Sinus Arrhythmia فهو التبدل في النبض القلبي ما بين الشهيق والزفير . ( Katz,1978 ) .

وقد أكدت دراسة على مجموعة من الأرانب حدوث تغيرات في أطوال موجات ECG نتيجة التعرض لل Hypercholesterlemia وحقن مادة Isoproterenol وبيان الدور الوقائي للأرجينين L-arginine .

حيث بينت نتائج هذه الدراسة حدوث زيادة في طول QTc في مجموعة الحيوانات المعرضة لل Hypercholesterlemia الناتجة من تناول غذاء عالي الكوليستيرول ولمدة 16 أسبوع ، بينما في مجموعة الحيوانات التي تناولت غذاء عالي الكوليستيرول مع تجريع الأرجينين فقد لوحظ حدوث زيادة في طول QTc لكن هذه الزيادة كانت أقل من الزيادة الحاصلة في المجموعة التي لم تجرع الارجينين .

ومن جانب آخر فقد سبب حقن مادة isoproterenol تغيرات معنوية لأغلب أطوال موجات ECG فقد كانت الزيادة معنوية في سرعة ضربات القلب وارتفاع CT وأنقلاب موجة T في كل مجاميع التجربة ، ولم يلاحظ أي تغير في موجة QRS بعد حقن هذه المادة ، مع حدوث زيادة في طول QT في كل مجاميع التجربة لكن الزيادة كانت أقل في المجموعة التي جرعت الارجينين بعد الحقن مقارنة مع الزيادة الحاصلة في المجموعة التي لم تجرع (Kumar et al ;2009) .

وفي دراسة أخرى تضمنت حقن مجموعة من الأراناب بمادة Vasopressin التي كانت مسؤولة عن أحداث تغيرات في أطوال موجات ECG وبيان الدور الوقائي لأعطاء مادة Atropinzeid . حيث بينت النتائج حدوث انخفاض معنوي في نسب sinus bradycaria ونسب sinus arrhythmia وحدث انخفاض في نسبة ارتفاع موجة T ونسبة تسطحها في المجموعة التي حقنت بمادة atrophinzed بعد حقنها بمادة Vasopressin مقارنة مع المجموعة التي حقنت بمادة Vasopressin فقط (Hikosaka *et al* ; 1965).

**1-4-1 الكوليستيرول Cholesterol :**

هو مادة دهنية قليلة الذوبان جدا" في الماء عند درجة حرارة 25 م ، تركيزه في بلازما الدم عند الأشخاص صحيحي البدن يتراوح من 150-200 ملغم% وهذه القيمة هي ضعف تركيز كلكوز الدم .

ويعود سبب كون الكوليستيرول عالي الذوبان في البلازما لوجود نوعين من البروتينات الدهنية lipoproteins (HDL,LDL) والتي تقوم بحمله داخل مجرى الدم.

ويصبح الكوليستيرول خطرا" عندما تبلغ نسبته في الدم أكثر من 240% .(الكبيسي، 2002).

يدخل الكوليستيرول في تركيب الأغشية الخلوية وخاصة في الدماغ . ويعطي عند أختزاله أحماض الصفراء مثل cholic acid التي تصنع في الكبد والتي تسهل عملية امتصاص Triglycerides والفيتامينات . وكذلك فإن الكوليستيرول يدخل في تركيب الهرمونات الجنسية وهرمونات قشرة الكظر . ويخلق الكوليستيرول في جميع خلايا الجسم و بشكل كبير في الكبد والأمعاء وقشرة الكظر وأنسجة التكاثر مثل المبايض والخصى .(جميل وآخرون، 1985).

**1-4-2 الكليسيرات الثلاثية (TG) Triglyceride :**

وهي أبسط انواع الدهون وأكثرها وفرة ، وهي عبارة عن ثلاث ذرات كاربون تتصل بها ثلاث مجاميع OH . (عزيز وآخرون ، 1978) . وهو النوع السائد في غذاء الانسان اذ يكون حوالي 95% من الدهون المخزونة في الانسجة الدهنية Adipose tissue ويكون له مصدران الاول خارجي المنشأ Exogenous من الغذاء . ومصدر داخلي المنشأ Endogenous اذ يعد الكبد والانسجة الدهنية من المواقع الرئيسية لتخليقه ، (الوافي ، 2001) . وأظهرت دراسة ان TG هو احد عوامل الخطورة لاحداث الاصابة بامراض القلب الوعائية .(Forrester , 2001).

### 1-4-3 البروتينات الدهنية (L.P) Lipoproteins

وتصنف البروتينات الدهنية استناداً الى خاصية الطرد المركزي وكثافتها الى اربعة انواع :

- 1- دقائق الكيلوسية Chylomicrons
- 2- بروتينات دهنية عالية الكثافة High Density Lipoproteins(HDL)
- 3- بروتينات دهنية واطئة الكثافة Low Density Lipoproteins(LDL)
- 4- بروتينات دهنية واطئة الكثافة جداً Very Low Density LipoprotienS (VLD L)

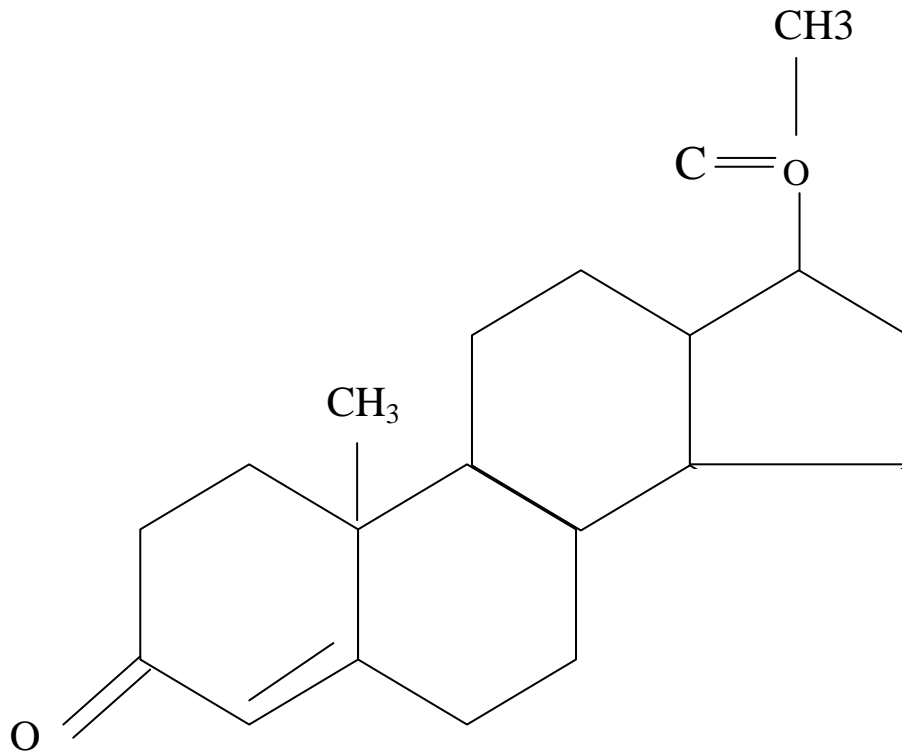
وكل هذه الانواع تحتوي على نسب متباينة من البروتين والكوليستيرول والكليسيرات الثلاثية والشحوم المفسفرة ، وان كل نوع من البروتينات الدهنية له اهمية فسلجية وكيميائية في الجسم . (ال فليج ، 2002 ) .

وأكدت دراسة على مجموعة من ذكور الأرانب النيوزلندية أن التجريع الفموي اليومي للحامض الأميني الميثيونين وبتراكيز عالية ولمدة 4 أسابيع أدى وبشكل ملحوظ زيادة في معدلات الكوليستيرول الكلي (Total cholesterol (TC) والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة LDL-c والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة جداً" (VLDL -c). وأظهرت النتائج أن التجريع أدى الى حدوث نقص في معدلات HDL-c. (البازي، 2009).

وفي دراسة أجريت على مجموعة من الجرذان أستمرت في تناول غذاء يحتوي نسبة عالية من الميثيونين ولمدة 4 أسابيع، حيث أظهرت النتائج حدوث زيادة في مستويات الكوليستيرول في المصل مع حدوث نقصان في معدلات HDL-c وقد يعود سبب نقصان معدلات HDL-c هو الزيادة الحاصلة في معدلات Hcy الناتجة من فرط الميثيونين في الغذاء حيث أدت هذه الزيادة الى حدوث خلل في أحد العوامل الضرورية لإنتاج HDL -c. (Velezed et al . 2008) .







الشكل (6) يبين التركيب الكيميائي للبروجيسترون (العلوي ، 1989)

الفصل الثاني  
المواد وطرائق  
العمل

**2- المواد وطرائق العمل Materials & Methods****1-2 حيوانات التجربة**

إستعمل في هذه الدراسة 18 من اناث الأرانب 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 25 م ، واعتمدت الأضاءة الطبيعية طول مدة الدراسة الممتدة من بداية شهر كانون الأول وحتى بداية شهر كانون الثاني من العام 2010 وبواقع 10 ساعات ضوء و14 ساعة ظلام .

وقد تركت الحيوانات 10 أيام لكي تتأقلم مع الظروف المشار إليها أعلاه قبل إجراء التجربة .

**2-2 تصميم التجربة :**

صممت التجربة لدراسة تأثير فرط الميثيونين على بعض المعايير الفسلجية ودراسة الدور الوقائي لحامض الفوليك . حيث قسمت (18) من إناث الأرانب البالغة الى ثلاثة مجاميع ،ضمت المجموعة الواحدة (6) حيوانات ، المجموعة الأولى (G1) جرعت الماء فمويماً ولمدة شهر واحد وأستخدمت كمجموعة سيطرة ، أما حيوانات المجموعة الثانية (G2) فقد جرعت يومياً 100 ملغم /كغم ميثيونين ولمدة شهر واحد حسب (Seshadri&Robinson,2000) ، في حين جرعت أرانب المجموعة الثالثة (G3) يومياً 100 ملغم /كغم ميثيونين و0.07 ملغم/كغم حامض الفوليك ولمدة شهر واحد حسب (Woo,2007) .وقد تم التجريع في الساعة التاسعة من صباح كل يوم .

## 4-2 طرائق العمل :

## 1-4-2 جمع عينات الدم :

تم سحب 5 مل من الدم بواسطة أنابيب خاصة خالية من المواد المانعة للتخثر وذلك من القلب مباشرة عن طريق التحكم بالحيوان مستلقي على ظهره دون حركة ، وقد أستعملت حقنة نبيذة معقمة وأبرة متوسطة الحجم ، وتم سحب الدم من الحيوانات في الأيام 10 - 20 - 30 (العاشرة صباحاً) وبعد تجويعها طول فترة الليل. و تم الحصول على المصل بأستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة لقياس بعض المعايير الكيموحيوية TC, TAG, HDL, LDL VLDL ، وبعض المعايير الفسلجية Esterogen, Progesterone LH,FSH وقد تم حفظ الأمصال في ثلاجة Refrigerator في درجة حرارة -4C لحين إتمام القياسات .

## 2-4-7 قياس تركيز هرمون الأستروجين Esterogen بيكوغرام/ديسي لتر في مصل الدم :

يتم قياس تركيز الهرمون في مصل الدم المأخوذ من حيوانات المجموعة الثانية (G2) وحيوانات المجموعة الثالثة (G3) فضلاً عن مجموعة السيطرة (G1) وذلك باتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة المتكونة من المواد الآتية :

أ. أشرطة (STR) Strips الخاصة بهرمون Esteroidal : وهي اشرطة جاهزة للاستعمال تتكون من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز Esteroidal لغرض تمييزها.

ب. solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (tip) المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز Esteroidal لغرض تمييزها.

ج. Esteriodl control (C1): تم تحضيره باضافة 3 مل<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق.

د. Esteriodl calibrator (S1): تم تحضيره باضافة 2 ملم<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق.

هـ. Esteriodl dilutant (R1) : وهو جاهز للاستعمال.

و. بطاقة Mle : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز هرمون الأستيرايدول .

أعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون الأستيرايدول على طريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection

وتعمل مستلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلاً عن عملها بوصفها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة. أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة مختومة sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً.

أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل أوتوماتيكي عن طريق جهاز Minvidas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من وإلى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة.

تم نقل العينة إلى داخل الحفرة الحاوية على anti-Esteriodl -antibodes المعلمة alkaline phosphates الرابطة . ويتحرك خليط (العينة/الرابطة) بشكل دوري من وإلى SPRs؛ وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة SPR وكذلك بالرابطة مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich.

خلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس - 4-methly umbliliferyl phosphate بشكل دوري من وإلى SPRs . ويقوم الانزيم بعد ذلك بتحلل المادة الأساس إلى الناتج المشع وهو 4-methly - umbliliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي ( 450 نانومتر) ، وتعتمد شدة الإشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة .

وفي نهاية المعايرة حسبت النتيجة بشكل أوتوماتيكي عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز ايضاً .

## طريقة العمل :

تتضمن طريقة العمل الخطوات الآتية :

1. وضعت بطاقة M/e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minividas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل أوتوماتيكي اذ بدونها لا يتمكن الجهاز من اظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .
2. تم استخدام شريط SPR & STR واحد لكل عينة من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control وتوضع في المكان المخصص لها في الجهاز .
3. تم سحب 100 ML من عينة مصل الدم وتوضع في الحفرة (1) الخاصة بها على شريط (STR) Strip ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .
4. تم اتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ manual الخاص بالجهاز؛ ليقوم الجهاز بالبداية بعملية المعايرة بشكل أوتوماتيكي والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .
5. بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت SPR و STR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة تستعمل لمرة واحدة فقط .

## 8-4-2 قياس تركيز هرمون البروجيسترون Progesterone مايكروغرام/ديسي لتر في مصل الدم :

تم قياس تركيز هرمون progesterone باتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بهرمون البروجيسترون والمكونة من المواد الآتية:

أ- أشرطة Strips الخاصة بهرمون Progesterone: وهي جاهزة للاستعمال ومثلما هو الحال في اشرطة هرمون الاستيرايډول ؛ فهي تتكون من عشر حفر.

ب- Solid Phosereceptacles (SPR<sub>2</sub>) : وهي جاهزة للاستعمال مشابهة تماماً الى SPR<sub>2</sub> الخاصة بهرمون الأستيرايدول إلا أنها معلمة بهرمون البروجيستيرون .

ج- Progesterone Control (C<sub>1</sub>) : تم تحضيره باضافة 3 ملم<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق.

د- Progesterone Calibrator (S<sub>1</sub>) : تم تحضيره باضافة 2 ملم<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق.

هـ- Progesterone dilutant (R<sub>1</sub>) : وهو جاهز للاستعمال.

و- بطاقة MLe : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم نتيجة الاختبار الخاص بتركيز هرمون البروجيستيرون .

أعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون البروجيستيرون أيضاً على Combines enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection إذ يحدث تنافس بين المستضد الموجود في العينة و المستضد المعلم بـ anti-Progesterone- antibodies المغطية للـ SPR<sub>1</sub> وفي النهاية يتكون ناتج مشع تم قياس كمية هذا الاشعاع عن طريق الجهاز بشكل اوتوماتيكي. أما بالنسبة لطريقة العمل فقد تم اتباع الطريقة ذاتها المستخدمة في اثناء قياس هرمون الاستيروجين.



## 2-4-9 قياس تركيز هرمون محفز الجريبات FSH مايكروغرام/ديسي لتر في مصل الدم :

يتم قياس تركيز الهرمون وذلك باتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بهرمون FSH المتكونة من المواد الآتية :

أ. أشرطة (STR) Strips الخاصة بهرمون FSH : وهي اشرطة جاهزة للاستعمال تتكون من 10 حفر wells مغطاة بصفيحة رقيقة ومعلمة برمز FSH ؛ لغرض تمييزها.

ب. solid phase receptacles (SPRs) : وهي جاهزة للاستعمال تشبه تماماً (tip) المستعمل في الماصة الدقيقة الا انها معلمة في نهايتها العريضة بالرمز FSH لغرض تمييزها.

ج. FSH control (C1) : تم تحضيره باضافة 3 مل<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق.

د. FSH calibrator (S1) : تم تحضيره باضافة 2 مل<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق.

هـ. FSH dilutant (R1) : وهو جاهز للاستعمال.

و. بطاقة Mle : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسية لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم الاختبار الخاص بتركيز الهرمون المحفز للجريبات.

أعتمد مبدأ قياس تركيز الهرمون المحفز للجريبات على طريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection

وتعمل مستلمات الطور الصلب (SPRs) عمل الطور الصلب فضلاً عن عملها بوصفها أداة ماصة في الوقت نفسه لأجل المعايرة. أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي محاليل جاهزة ومحضرة على أشرطة مختومة sealed reagents strips مثلما هو موضح سابقاً. أنجزت خطوات المعايرة أو القياس جميعاً بشكل أوتوماتيكي عن طريق جهاز Minidas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من وإلى SPRs والمحاليل الموجودة مرات عدة. تم نقل العينة إلى داخل الحفرة الحاوية على anti-FSH-antibodies المعطمة alkaline phosphates الرابط. ويتحرك خليط (العينة/الرابط) بشكل دوري من وإلى SPRs؛ وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة SPR وكذلك بالرابط مكوناً بعد ذلك الشطيرة Sandwich.

خلال الخطوات النهائية من المعايرة تتحرك المادة الأساس 4-methyl umbiliferone phosphate بشكل دوري من وإلى SPRs ، ويقوم الانزيم بعد ذلك بتحلل المادة الأساس إلى الناتج المشع وهو 4-methyl umbiliferone الذي يتم قياس كمية الإشعاع فيه على طول موجي ( 450 نانومتر) ، وتعتمد شدة الإشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة. وفي نهاية المعايرة حسب النتيجة بشكل أوتوماتيكي عن طريق الجهاز اعتماداً على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريق الجهاز أيضاً .

### طريقة العمل :

تتضمن طريقة العمل الخطوات الآتية :

1. وضعت بطاقة M/e الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Minidas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل أوتوماتيكي إذ بدونها لا يتمكن الجهاز من اظهار النتيجة ومن ثم طباعتها .

2. تم استخدام شريط SPR & STR واحد لكل عينة من مصل الدم القياسي والسيطرة Standard & Control وتوضع في المكان المخصص لها في الجهاز .
3. تم سحب 100 ML من عينة مصل الدم وتوضع في الحفرة (1) الخاصة بها على شريط Strip (STR) ويتم ذلك لمصل الدم القياسي والسيطرة .
4. تم اتباع الخطوات الخاصة بالجهاز والموجودة في الـ manual الخاص بالجهاز؛ ليقوم الجهاز بالبدء بعملية المعايرة بشكل أوتوماتيكي والتي تستغرق مدة 45 دقيقة .
5. بعد ان تمت المعايرة وطباعة النتائج استخرجت STR و SPR من الجهاز ووضعت في حاوية خاصة تستعمل لمرة واحدة فقط .

## 2-4-10 قياس تركيز الهرمون اللوتيني LH مايكروغرام /ديسي لتر في مصل الدم :

تم قياس تركيز الهرمون اللوتيني باتباع الخطوات المرافقة مع عدة الفحص الخاصة بالهرمون اللوتيني المتكونة من المواد الآتية:

أ.أشرطة Strips الخاصة بالهرمون اللوتيني LH: وهي جاهزة للاستعمال ومثلما هو الحال في أشرطة الهرمون المحفز للجريبات FSH، فهي تتكون من عشر حفر .

ب- Solid Phosereceptacles (SPR<sub>2</sub>) : وهي جاهزة للاستعمال مشابهة تماماً الى SPR<sub>2</sub> الخاصة بهرمون المحفز للجريبات الا انها معلمة بالهرمون اللوتيني.

ج- LH Control (C<sub>1</sub>) : تم تحضيره باضافة 3 ملم<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق.

د- LH Calibrator (S<sub>1</sub>) : تم تحضيره باضافة 2 ملم<sup>3</sup> من الماء المقطر ويترك لمدة 5-10 دقائق.

هـ- LH dilutant (R<sub>1</sub>) : وهو جاهز للاستعمال.

و- بطاقة MLe : وهي بطاقة جاهزة تحتوي على المعلومات المشفرة الرئيسة لبيانات المعايرة المستخدمة في تقويم نتيجة الاختبار الخاص بتركيز الهرمون اللوتيني.

أعتمد مبدأ قياس تركيز هرمون LH أيضا على Combines enzyme immunoassay sandwich method with a final Fluorescent detection إذ يحدث تنافس بين المستضد الموجود في العينة و المستضد المعلم بـ anti-LH antibodies المغطية لل-SPR<sub>1</sub> وفي النهاية يتكون ناتج مشع تم قياس كمية هذا الاشعاع عن طريق الجهاز بشكل اوتوماتيكي. أما بالنسبة لطريقة العمل فقد تم اتباع الطريقة ذاتها المستخدمة في اثناء قياس الهرمون المحفز للجريبات.

2-3 الأجهزة والمواد :

2-3-1 الأجهزة :

جدول رقم (1) يبين الأجهزة المستخدمة والشركة المصنعة والمنشأ .

ت	أسم الجهاز	الشركة المصنعة والمنشأ
1	جهاز الطرد المركزي	Griffianal George , UK
2	حمام مائي	Tafes-Hannover ,Germany
3	ميزان حساس	Mettle ,Germany
4	هزاز مغناطيسي	Callenhamp,U.S.A
5	مجمدة	Thalhemet,Germany
6	جهاز تخطيط القلب الكهربائي	Marquette cardio Serv, German
7	سماعة طبية ذات اتجاهين	Mettle ,Germany
8	Minividas	Bio Merieux France
9	جهاز المطياف الضوئي	Apple303,Japan
10	عداد النبض المحوّر	صنع محلي.
11	المايكروتوم الدوار	Unico,TM,U.S.A
12	الصفحة الساخنة	Mettle ,Germany
13	كاميرا ديجيتال	Mettle ,Germany
14	جهاز حاسوب	Mettle ,Germany

2-3-2 الأدوات:

جدول رقم (2) يبين الأدوات الزجاجية والبلاستيكية المستخدمة والشركة المصنعة والمنشأ.

الشركة المصنعة والمنشأ	الأدوات	ت
Volac, England	زجاجيات مختلفة	1
Ayset, Turkye	محقنة نبيذة 5 ملم	2
Goldstare, Jordan	أنابيب زجاجية	3
Nuclon, Denmark	أدوات بلاستيكية مختلفة	4
U.K	أسطوانة مدرجة (1-100)	5
Organon	ماصات دقيقة	6
Pakistan S.I.E	سيت تشريح	7

2-3-3 المواد الكيميائية :

جدول رقم (3) يبين المواد الكيميائية المستخدمة والشركة المصنعة والمنشأ.

الشركة المصنعة والمنشأ	المادة الكيميائية	ت
China	الميثيونين	1
MEHECO, China	حامض الفوليك	2
B.D.H	كلور فورم	3
B.D.H company , UK	فورمالين 35%	4
Atlas, Amarecan	عدة فحص خاصة بقياس TC, TAG, HDL	5
Sigma company , U.K	الزايلين	6
BDH company, U.K	كحول الايثانول	7
Sigma company, U.K	الشمع	8
Merk company , U.K	صبغة الأيوسين والهيماتوكسلين	9
Biomerieux, ,Germany	عدة فحص خاصة بالهرمونات Esterogen, Progesteron, FSH, LH	10

2-4-2 قياس تركيز الكوليستيرول ملغم/ديسي لتر في مصل الدم

تم تقدير الكوليستيرول الكلي في المصل بأستخدام عدة قياس الكوليستيرول cholesterol kit وبحسب ماذكره ألابن وجماعته (Allain et al .,1974)حيث تحتوي عدة القياس على المحاليل التالية :

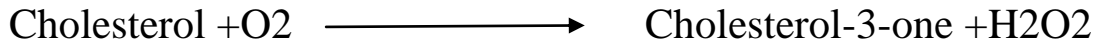
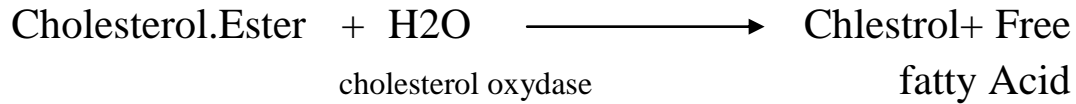
أ. الكاشف السائل للكوليستيرول

ب. المحلول القياسي للكوليستيرول وتركيزه 200 ملغم / ديسي لتر.

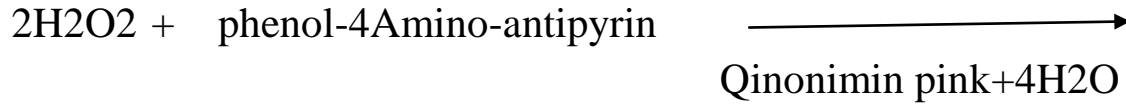
مبادئ التفاعل Principles Reaction :

تم تقدير الكوليستيرول أنزيميا" حسب التفاعلات الآتية :

cholestrolestras



Peroxydase



وتتناسب شدة اللون الوردي المحمر للمعقد الناتج من التفاعل مع تركيز الكوليستيرول الموجود في العينة .

خطوات العمل :

جدول (1-2) يمثل طريقة قياس تركيز TC

الأنابيب			المحاليل
انبوب الفحص	الأنبوب القياسي	كاشف بلانك	
1.0 ملي لتر	1.0 ملي لتر	1.0 ملي لتر	Reagent A
—	—	10 مايكرو لتر	ماء مقطر
—	10 مايكرو لتر	—	المحلول القياسي
10 مايكرو لتر	—	—	المصل

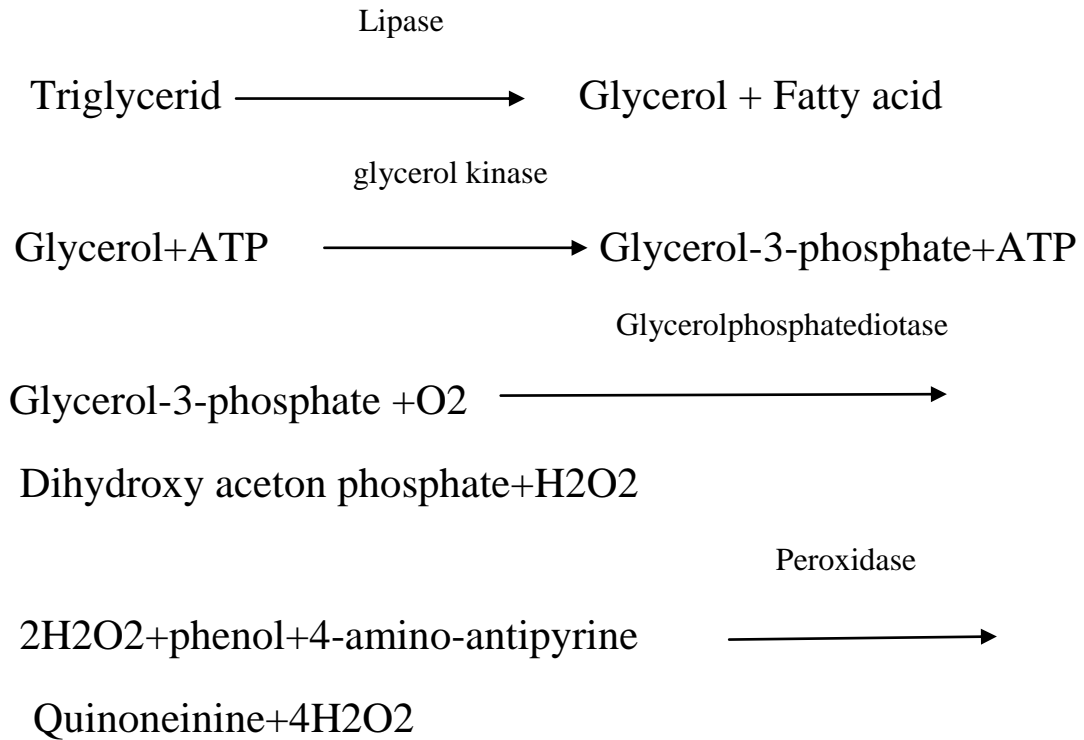
تم مزج محتويات الأنابيب جيدا "وحضنت في الحمام المائي في أنابيب محكمة الغلق في درجة 37 م لمدة 5 دقائق أوفي درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق . وتم قياس الكثافة الضوئية لكل عينة بأستخدام الخلية الزجاجية الخاصة بجهاز المطياف الضوئي حيث تم تصفير الجهاز وبعدها وضع محلول كاشف بلانك في الكيوفيت على الجهاز في طول موجي مقداره 510 نانوميتر . وبعد ذلك تم قراءة الكثافة الضوئية للمحلول القياسي Standard والعينات وتم استخراج قيمة تركيز الكوليستيرول الكلية حسب المعادلة الآتية :

$$\text{Totals.Cholesterol Mg/dl} = \frac{\text{A sample}}{\text{A standard}} \times \text{C.STD}$$

وتشير C.STD الى تركيز المحلول القياسي المذكور في عدة الفحص = 200 ملغم /ديسي لتر.

### 2-4-3 قياس تركيز الدهن الثلاثي Triacylglycerol (TAG) ملغم/ديسي لتر

تم تقدير تركيز TAG أنزيميا" وحسب المعادلات الآتية: (Assm ann,1992)





وتم خلط محتويات الأنابيب وحضنت لمدة 10 دقائق في درجة 37 م ثم قراءة الكثافة الضوئية لكل عينة في طول موجي 500 نانوميتر. وتتناسب شدة اللون الناتج مع تركيز TAG في العينة. وتم استخراج قيمة تركيز TAG حسب المعادلة الآتية :

$$\text{S.Triglyceride Mg/dl} = \frac{\text{A sample} \times \text{C.STD}}{\text{A standard}}$$

وتشير C.STD الى تركيز المحلول القياسي المذكور في عدة الفحص = 200 ملغم / ديسي لتر .

#### 4-4-2 قياس تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة High density lipoprotein( HDL) :

وتم قياس HDL في المصل وحسب طريقة (Demacherp,1980) :

1- الكاشف المرسب precipitating reagent ويتكون من الدارئ بتركيز 50 مايكروغرام والكاشف polianionic بتركيز 20 % اضافة الى مثبتات ومنشطات .

2- المحلول القياسي للكوليستيرول بتركيز 50 ملغم /ديسي لتر .  
تم ترسيب كل من الكايلومايكرون chylomicrone والشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL والشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا " VLDL الموجودة في المصل بأضافة كاشف ( palianionic,6000 ) وبعد اجراء عملية الطرد المركزي للخليط تم تحديد المحتويات الحاوية على الدهون العالية الكثافة HDL من الكوليستيرول بالطرق الأنزيمية اللونية .

خطوات العمل:

تم اجراء طريقة العمل على مرحلتين ،أجريت المرحلة الاولى كما يأتي :

جدول (2-2) يمثل المرحلة الاولى لقياس HDL

المحاليل	أنابيب الفحص
المصل	0.5 مللي لتر
المرسب HDL kit A	0.5 مللي لتر

تم مزج محتويات الانابيب دائريا"وبصورة جيدة وحضنت في الحمام المائي في درجة 37 م° ولمدة 5 دقائق .ثم أخضعت المحتويات للترد المركزي بمعدل 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة . وتم أكمل العمل في المرحلة الثانية وكما يلي :

جدول (3-2) يمثل المرحلة الثانية لقياس HDL

المحاليل	الأنابيب		
	أنبوب الفحص	الأنبوب القياسي	أنبوب كاشف بلانك
الماء المقطر	_____	_____	50 مايكرو لتر
الجزء الطافي supernatent	50 مايكرو لتر	_____	_____
المحلول القياسي	_____	50 مايكرو لتر	_____
كاشف A cholesterol kit	2.0 مللي لتر	2.0 مللي لتر	2.0 مللي لتر

تم مزج محتويات الأنابيب جيدا"وحفظت في درجة حرارة 37 م° ولمدة 10-15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة . وتم معايرة جهاز المطياف الضوئي بالماء المقطر ثم بكاشف بلانك في طول موجي 500 نانوميتر ، وبعدها تم

قراءة الكثافة الضوئية للعينة وللحلول القياسي وأستخرجت قيمة تركيز S.HDL حسب المعادلة الآتية :

$$\text{S.HDL-Cocentration} = \frac{\text{A sample}}{\text{A standard}} \times \text{C.STD} \times 2$$

وتشير C.STD الى تركيز المحلول القياسي في عدة الفحص وهي 50 ملغم / ديسي لتر.

**5-4-2 قياس تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة Low density lipoprotine(LDL)**

يمكن قياس تركيز LDL حسب المعادلة الآتية (Gotto ,1992)

$$\text{LDL} = \text{TC} - (\text{HDL} + \text{TG} / 5)$$

**6-4-2 قياس تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا " Very low density lipoprotein (VLDL)**

يمكن حساب تركيز VLDL من خلال تقسيم قيمة TAG على 5 (Friedwald *et al .*, 1972 )

$$\text{VLDL} = \text{TG} / 5$$

**11-4-2 حساب معدل النبض ضربة/دقيقة:**

أعتمد عداد النبض المحور من قبل (الزبيدي، 2000) وهو جهاز مكون من سماعة طبية ودائرة إلكترونية ومضخم صوت . حيث يتم وضع السماعة الطبية الملحقة بالجهاز على المنطقة الصدرية للحيوان وبذلك تعمل الدائرة الألكترونية على تحويل الموجات الصوتية (نبضات القلب) الى وحدات رقمية تظهر على شاشة الجهاز ويتم ضبط العداد على نقطة الصفر بواسطة زر التحكم بالتصفير ، وتم تثبيت الحيوان على سطح منضدة وربط السماعة الطبية الى الجهة الصدرية ولتلافي عوامل الخوف والفرع يترك الحيوان بمفرده في مكان هادئ و خافت الأضاءة وبعيد عن الأصوات لمدة (5-10) دقيقة ، وبعد ذلك يتم حساب معدل النبض .

**12-4-2 حساب سرعة التنفس مرة/دقيقة:**

لحساب سرعة تنفس كل حيوان تم عزل الحيوان عن بقية المجموعة وترك لمدة تتراوح (5-10) دقيقة في مكان هادئ خافت الأضاءة وبعيدا" عن الأصوات ، وبعد التأكد من هدوء واطمئنان الحيوان تم حساب سرعة التنفس بواسطة السماعة الطبية حيث تم حساب عدد المرات التي سمع خلالها صوت التنفس خلال (2) دقيقة وتقسيم مجموع عدد المرات على 2 للأستخراج عدد مرات التنفس خلال دقيقة واحدة .

**13-4-2 تسجيل مخطط القلب الكهربائي ECG ملي ثانية:**

تم تسجيل المخطط الكهربائي للقلب بأستخدام جهاز ECG وبواقع مرة واحدة لكل حيوان كل 10 أيام أثناء مدة المعاملة، وقد تم إزالة الشعر من أطراف الحيوان الذي ممكن أن يؤثر على القراءة وتم تثبيت الحيوان الى سطح منضدة وتثبيت أقطاب الجهاز الى أطراف الحيوان ، وإستخدمت ألواح أقطاب المسارات المستخدمة في الانسان بعد تحويلها بحيث أصبحت ملائمة للأستخدام الخارجي في الأرانب وقد حجب الحيوان عن الأنظار وترك لمدة (5-10) دقيقة وبعد التأكد من هدوء الحيوان تم القياس على Lead II وبسرعة 1/2 ثانية .

**1-5-2 Histological preparation : التحضيرات النسيجية :**

أتبعت الطريقة الموصوفة في (Luna,1968) في تحضير المقاطع النسيجية .  
أجريت عملية الأنكاز Dehydration والترويق Clearing وصب العينات في  
قوالب شمعية .

**2-5-2 Histological sectioning : التقطيع النسيجي :**

قطعت العينات المحفوظة في قوالب شمعية الى مقاطع بسمك 5-  
6مايكرومتر بواسطة جهاز المايكروتوم الدوار Rotary Microtome نوع  
American Optical . وتم تحميلها على سلايدات ممسوحة بطبقة رقيقة من أح  
ماير مضافاً لها قطرات من الماء المقطر ووضعت على صفيحة ساخنة Hot  
plate بدرجة حرارة (37-40) م لحين الجفاف ، وتم صبغ الشرائح النسيجية على  
وفق الطريقة الموصوفة في (Luna,1968) . وحملت بمادة كندا بلسم Canada  
blasm المذاب بالزايلين وتركت على الصفيحة الساخنة لتجف .

**3-5-2 Microphotography: التصوير المجهرى :**

تم تصوير المقاطع النسيجية بأستخدام كاميرا رقمية Digital Camera  
Eyepiece (DCE-PW1) عالية الدقة موصولة الى جهاز حاسوب .

**1-6-2 التحليل الإحصائي Statistical Analysis :**

تم تحليل النتائج على وفق نموذج التصميم العشوائى الكامل Compleat  
randomized design (CRD) بأستخدام إختبار F للأستدلال على المعنوية ،  
وإستخدام إختبار أقل فرق معنوي (L.S.D) Least Significant difference  
لأظهار معنوية النتائج ، وتم إستخراج المتوسط الحسابي (M) Mean والخطأ  
القياسي (S.E) Standaard Error . علماً إن التحليل الإحصائي تم بأستخدام  
البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS .

# الفصل الثالث

## النتائج

## 1-3 تأثير فرط الميثيونين على بعض المعايير الكيموحيوية والفسلجية:

## 1-1-3 التغيرات في معدلات الكوليستيرول الكلي TC ملغم / ديسي لتر

يشير الجدول (1-3) الى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى تركيز TC في المجموعة المعاملة بالميثيونين (100 ملغم/ كغم و.ج) G2 ، بالمقارنة مع المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك (0.07 ملغم / كغم و.ج) G3 ، ومجموعة السيطرة G1 . ووجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) عند مقارنة المجموعة G3 مع المجموعة G2 وبأستمرار فترة التجربة . وقد لوحظ وجود تأثير معنوي ( $P < 0.05$ ) للفترة الزمنية وبمستويات مختلفة خلال فترة التجربة . رسم بياني (1-3)

جدول ( 1-3 ) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الكوليستيرول الكلي TC ملغم / ديسي لتر في إناث الأرانب

المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	مجموعة السيطرة G1	المجموعة الفترة الزمنية
197.33±.615 Ca	209.33±1.706 Ba	130.0±.365 Aa	بعد عشرة أيام
191.67±.615 Cb	213.0±1.291 Ba	130.5±.342 Aa	بعد عشرين يوم
185.33±1.116 Cc	230.83±.553 Bb	130.0±.365 Aa	بعد ثلاثين يوم
191.44± 1.269 C	217.72± 2.380 B	130.17±.202 A	المجموع الكلي

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  $P < 0.05$

### 3-1-3 التغيرات في مستوى تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL ملغم /ديسي لتر :

يلاحظ من الجدول (3-3) وجود إنخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى تركيز HDL في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G1 و G3 ، وإرتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى تركيز HDL في المجموعة G3 مقارنة مع المجموعة G2 . وكان للفترة الزمنية تأثيراً "معنوياً" ( $P < 0.05$ ) على مستويات تركيز HDL وبأستمرار فترة التجربة. رسم بياني (3-3)

جدول ( 3-3 ) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL ملغم / ديسي لتر في إناث الأرانب

المجموعة المجموع الزمنية	مجموعة السيطرة G1	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3
بعد عشرة أيام	30.17±.307 Aa	18.5±.224 Ba	20.83±.307 Ca
بعد عشرين يوم	30.33±.615 Aa	14.83±.307 Bb	23.5±.428 Cb
بعد ثلاثين يوم	30.50 ±.224 Aa	12.17±.833 Bc	24.67±.211 Cc
المجموع الكلي	30.33±.229 A	15.17±.692 B	23.0±.428 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  $P < 0.05$



### 3-1-4 التغيرات في مستوى تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL ملغم /ديسي لتر:

أظهر الجدول (3-4) وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى تركيز LDL في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G1 و G3، ووجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في المجموعة G3 بالمقارنة مع المجموعة G2، وأظهرت الفترة الزمنية تأثيراً معنوياً ( $P < 0.05$ ) على تركيز HDL وباستمرار فترة التجربة برسم بياني (3-4).

جدول ( 3-4 ) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة LDL ملغم / ديسي لتر في إناث الأرناب

المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	مجموعة السيطرة G1	المجموعة الفترة الزمنية
140.450±.6238 Ca	153.267±1.8816 Ba	73.9±.1983 Aa	بعد عشرة أيام
135.933±.8257 Cb	160.4±1.4778 Bb	74.767±.488 3 Aa	بعد عشرين يوم
126.567±1.2137 Cc	178.867±.5743 Bc	73.65±.4897 Aa	بعد ثلاثين يوم
134.317±1.4886 C	164.178±2.7273 B	74.106±.253 4 A	المجموع الكلي

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  $P < 0.05$

### 3-1-5 التغيرات في مستوى تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا"VLDL ملغم/ديسي لتر:

يبين الجدول (3-5) وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى تركيز VLDL في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G1 و G3، ووجود إنخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في المجموعة G3 مقارنة مع G2. ولوحظ إن للفترة الزمنية تأثيراً معنوياً" ( $P < 0.05$ ) على مستوى تركيز VLDL خلال فترة التجربة. رسم بياني (3-5).

جدول (3-5) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز الشحوم البروتينية واطئة الكثافة جدا"VLDL ملغم /ديسي لتر في إناث الأرانب

المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	مجموعة السيطرة G1	المجموعة الفترة الزمنية
36.050±.0957 Ca	37.567±.0615 Ba	26.033±.1667 Aa	بعد عشرة أيام
32.1±.0447 Cb	38.2±.1155 Bb	26.167±.0615 Aa	بعد عشرين يوم
34.1±.0447 Cc	39.80±.073 Bc	25.983±.1108 Aa	بعد ثلاثين يوم
34.083±.3928 C	38.522±.2327 B	26.061±.0682 A	المجموع الكلي

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  $P < 0.05$

### 2-1-3 التغيرات في مستوى تركيز ثلاثي أسيل الكليسيرول TAG ملغم/ديسي لتر:

يلاحظ من الجدول (2-3) وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى تركيز TAG في المجموعة G2 بالمقارنة مع G3 و G1، ووجود انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) عند مقارنة المجموعة G3 مع المجموعة G2، وباستمرار فترة التجربة. وكان للفترة الزمنية تأثيرات معنوية ( $P < 0.05$ ) على تركيز TAG وبمستويات مختلفة في المجموعة G2 و G3. رسم بياني (2-3)

جدول (2-3) يبين تأثير التجريب اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز ثلاثي أسيل الكليسيرول TAG ملغم /ديسي لتر في إناث الأرانب

المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	مجموعة السيطرة G1	المجموعة الفترة الزمنية
180.0±.258 Ca	187.83±.307 Ba	129.67±.422 Aa	بعد عشرة أيام
160.5±.224 Cb	191.0±.517 Bb	130.83±.307 Aa	بعد عشرين يوم
170.5±.224 Cc	199.0±.365 Bc	129.67±.333 Aa	بعد ثلاثين يوم
170.33±1.935 C	192.61±1.164 B	130.06±.236 A	المجموع الكلي

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  $P < 0.05$

## 3-1-6 التغيرات في مستوى تركيز هرمون الأستروجين بيكوغرام/ديسي لتر:

يشير الجدول (3-6) الى وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى تركيز هرمون الأستروجين في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G1 و G3، ووجود انخفاض 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 الاخيرة. رسم بياني (3-6)

جدول (3-6) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز هرمون الأستروجين بيكوغرام /ديسي لتر في إناث الأرانب

المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	مجموعة السيطرة G1	المجموعة الفترة الزمنية
.1878±.0045 Aa	.2451±.0113 Ba	.1797±.0046 Aa	بعد عشرة أيام
.1957±.0031 Aa	.2467±.0091 Ba	.1789±.0043 Aa	بعد عشرين يوم
.2080±.0037 Cb	.2523±.0099 Ba	.1806±.0037 Aa	بعد ثلاثين يوم
.1972±.0029 C	.2480±.0055 B	.1797±.0022 A	المجموع الكلي

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  $P < 0.05$ "

## 3-1-7 التغيرات في مستوي تركيز هرمون البروجيستيرون مايكروغرام/ديسي لتر:

يوضح الجدول (7-3) وجود إنخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى تركيز هرمون البروجيستيرون في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G3 و G1، ووجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في تركيز الهرمون في المجموعة G3 بالمقارنة مع المجموعة G2 ويلاحظ هذا التأثير خلال العشرة أيام الأولى والثالثة من التجربة. ولم يكن للفترة الزمنية تأثير معنوي على تراكيز هرمون البروجيستيرون باستمرار فترة التجربة. رسم بياني (7-3)

جدول (7-3) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز هرمون البروجيستيرون مايكروغرام/ديسي لتر في إناث الأرانب

المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	مجموعة السيطرة G1	المجموعة الفترة الزمنية
1.621±.1785 Aa	1.180±.1158 Ba	2.025±.2173 Aa	بعد عشرة أيام
2.066±.2902 Aa	1.396±.2210 Aa	2.066±.2362 Aa	بعد عشرين يوم
1.986±.3175 Aa	1.358±.1464 Ba	2.491±.2762 Aa	بعد ثلاثين يوم
1.891±.1532 A	1.311±.0981 B	2.194±.1421 A	المجموع الكلي

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  $P < 0.05$

### 3-1-8 التغيرات في مستوى تركيز الهرمون محفز الجريبات FSH مايكروغرام/ديسي لتر:

يشير الجدول (3-8) الى وجود إنخفاض (معنوي  $P < 0.05$ ) في مستوى تركيز FSH في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G3 و G1، ووجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في تركيز FSH في المجموعة G3 بالمقارنة مع المجموعة G2، ويلاحظ هذا التأثير خلال العشرة أيام الاولى من التجربة. ولم يكن للفترة الزمنية تأثيراً "معنوياً" على تركيز FSH باستمرار فترة التجربة. رسم بياني (3-8)

جدول (3-8) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز هرمون المحفز الجريبات FSH مايكروغرام/ديسي لتر في إناث الأرانب

المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	مجموعة السيطرة G1	المجموعة الفترة الزمنية
.0583±.0054 Ca	.0366±.0033 Ba	.0783±.0094 Aa	بعد عشرة أيام
.0466±.0033 Aa	.0316±.0040 Aa	.0552±.0155 Aa	بعد عشرين يوم
.0516±.0060 Aa	.040±.0068 Aa	.055±.0125 Aa	بعد ثلاثين يوم
.5222±.0029 A	.0361±.0028 B	.0628±.0074 A	المجموع الكلي

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  $P < 0.05$

## 3-1-9 التغيرات في مستوى تركيز الهرمون اللوتيني LH ملغم / ديسي لتر:

يبين الجدول (9-3) وجود إنخفاض (معنوي  $P < 0.05$ ) في مستوى تركيز LH في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G3 و G1، ووجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في تركيز LH في المجموعة G3 بالمقارنة مع المجموعة G2، ويلاحظ هذا التأثير خلال العشرة أيام الأولى من التجربة. ولم يكن للفترة الزمنية تأثيراً "معنوياً" على تركيز هذا الهرمون باستمرار فترة التجربة. رسم بياني (9-3)

جدول (9-3) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على مستوى تركيز هرمون اللوتيني LH مايكروغرام / ديسي لتر في إناث الأرانب

المجموعة الفترة الزمنية	مجموعة السيطرة G1	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3
بعد عشرة أيام	.0755±.0174 Aa	.0305±.0057 Ba	.0561±.0077 Ca
بعد عشرين يوم	.0598±.01236 Aa	.0350±.0099 Aa	.0495±.0096 Aa
بعد ثلاثين يوم	.0533±.0080 Aa	.03683±.0049 Aa	.0500±.0025 Aa
المجموع الكلي	.0628±.0075 A	.0341±.0039 B	.0518±.0040 A

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  $P < 0.05$

## 3-1-10 التغيرات في معدلات سرعة التنفس مرة/ دقيقة:

أظهر الجول (10-3) وجود ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في معدلات سرعة التنفس في المجموعة G2 بالمقارنة مع المجموعة G1 و G3، ووجود إنخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في المجموعة G3 بالمقارنة مع G2 وباستمرار فترة التجربة. ومن جانب آخر فقد أظهرت الفترة الزمنية تأثيراً "معنوياً" ( $P < 0.05$ ) على معدلات سرعة التنفس وبمستويات مختلفة في المجموعة G2 و G3. رسم بياني (10-3)

جدول ( 10-3 ) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على معدلات التنفس مرة/دقيقة في إناث الأرانب

المجموعة الفترة الزمنية	مجموعة السيطرة G1	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3
بعد عشرة أيام	55.17±2.509 Aa	84.5±.957 Ba	89.67±.955 Ca
بعد عشرين يوم	53.5±1.478 Aa	105.67 ±3037 Bb	81.17±1.046 Cb
بعد ثلاثين يوم	54.5±1.5 Aa	109.0±3.120 Bc	55.67±1.202 Ac
المجموع الكلي	54.39±1.039 A	99.72±3.014 B	75.5±3.552 A

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  $P < 0.05$



## 3-1-11 التغيرات في معدلات النبض ضربة / دقيقة:

يشير الجدول (11-3) الى وجود 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. رسم بياني (11-3)

جدول ( 11-3 ) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على معدلات النبض ضربة/دقيقة في إناث الأرانب

المجموعة الفترة الزمنية	مجموعة السيطرة G1	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3
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  $P < 0.05$

## 3-1-12 التغيرات في طول الموجة QRS ملي ثانية:

يبين الجدول (12-3) 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 الأولى 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. رسم بياني (12-3)

جدول ( 12-3 ) يبين تأثير التجريع اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على طول الموجة QRS ملي ثانية في إناث الأرانب

المجموعة الفترة الزمنية	مجموعة السيطرة G1	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3
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  $P < 0.05$ "

## 3-1-13 التغيرات في طول الموجة QT ملي ثانية:

أظهر الجدول (13-3) 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 الأولى 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. رسم بياني (13-3)

جدول (13-3) يبين تأثير التجريب اليومي للميثيونين وحامض الفوليك على طول الموجة QT ملي ثانية في إناث الأرانب

المجموعة الفترة الزمنية	مجموعة السيطرة G1	المجموعة المعاملة بالميثيونين G2	المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك G3
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  $P < 0.05$ "

**2-3 التغيرات النسيجية Histological changes :**

أظهرت نتائج الدراسة المرضية للمقاطع النسيجية لحيوانات مجموعة السيطرة ، عند أخذ مقطع مستعرض في الكبد ملاحظة الوريد المركزي central vein مع الخلايا الكبدية hepatic cells والجيبانيات sinusoids بمظهر طبيعي حيث كانت الخلايا الكبدية متراسة وذات أنوية مركزية الموقع والجيبانيات بأحجام طبيعية (صورة 1) .

أظهرت نتائج دراسة المقاطع النسيجية للحيوانات المعاملة بالميثيونين لمدة (30) يوم، حدوث ترسب شديد لقطيرات الدهن داخل الخلايا الكبدية مما أدى الى زيادة في حجمها وبالتالي أختفاء الجيبانيات . كذلك تمزق في بعض الخلايا الكبدية وإختفاء النواة في معظم الخلايا أو إتخاذها موقع جانبي في البعض الأخر و ارتشاح الخلايا الألتهايبية،بالأضافة لذلك ترسب الدهن داخل الوريد المركزي مما أدى الى أنسداده . ( صور3،2) .

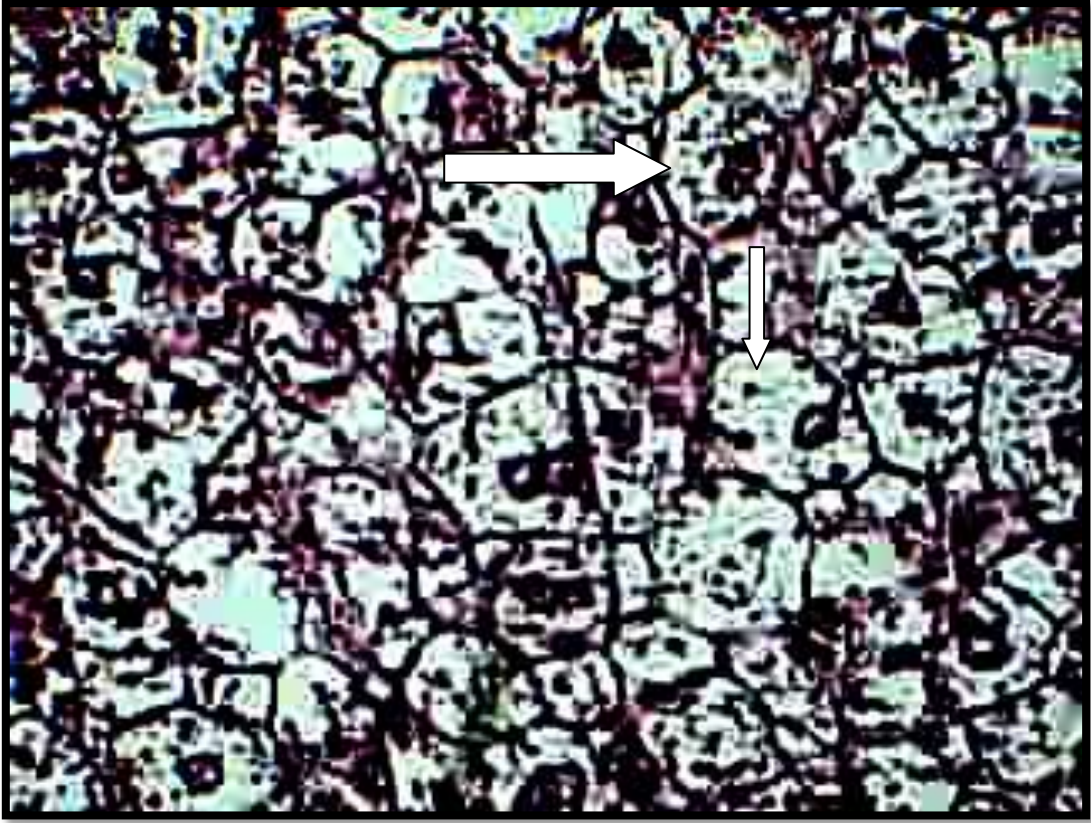
وأظهرت دراسة المقاطع النسيجية للحيوانات المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك لمدة (30) يوم ، وجود ترسب قليل لقطيرات الدهن في سايتوبلازم الخلايا الكبدية ، وكانت أغلب الخلايا الكبدية ذات أنوية مركزية الموقع . ( صورة 4) .

وأظهرت نتائج الدراسة المرضية للمقاطع النسيجية عند أخذ مقطع مستعرض في القلب للحيوانات في مجموعة السيطرة ، ملاحظة طبقات القلب الخارجية والوسطى والداخلية وبمظهر طبيعي ، والخلايا العضلية القلبية واضحة وذات مظهر طبيعي .

بينما أظهرت نتائج الدراسة المرضية للحيوانات المعاملة بالميثيونين لمدة (30) يوم ترسب كميات كبيرة من الدهن داخل خلايا العضلات القلبية مع وجود الخلايا الالتهابية . (صور6-7) .

وأظهرت دراسة المقاطع النسيجية للحيوانات المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك لمدة (30) يوم ، ترسب كميات قليلة من الدهون داخل خلايا العضلية القلبية . (صورة 8) .



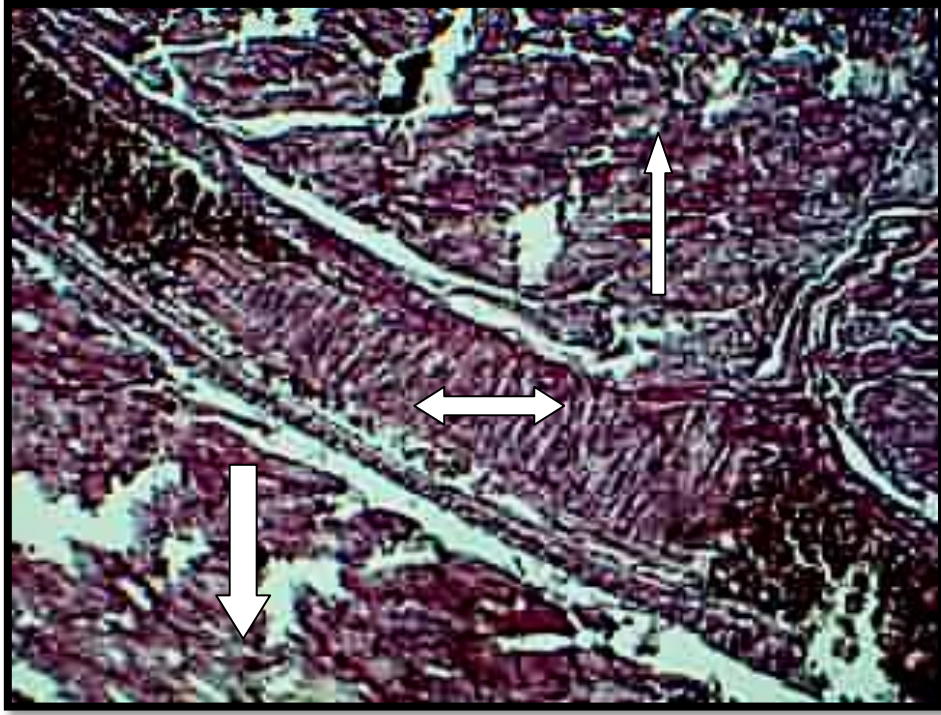


صورة رقم (2) مقطع مستعرض في الكبد في المجموعة المعاملة بالميثيونين لمدة 30 يوم . حيث يلاحظ ترسب شديد لقطيرات الدهن داخل الخلايا الكبدية مما أدى الى زيادة حجمها ← وأختفاء الجيبانبات الكبدية . وتتخذ النواة موقع جانبي في بعض الخلايا. ← . (H .&.E.-40x) .



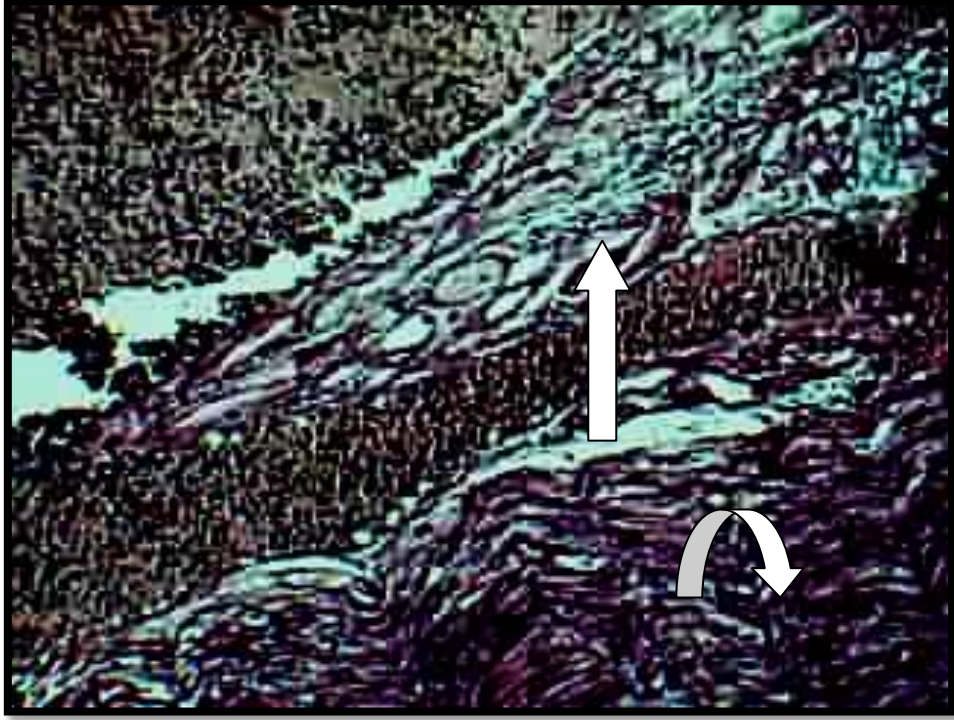


صورة رقم (3) مقطع مستعرض في الكبد في المجموعة المعاملة بالميثيونين لمدة 30 يوم ، حيث يلاحظ حدوث تنخر necrosis في الخلايا الكبدية وأختفاء النواة في بعض الخلايا مع ارتشاح الخلايا الألتهاابية ← بالإضافة الى ترسب الدهن داخل الوريد المركزي مما أدى الى انسداده ← (H.&E.-40x) .

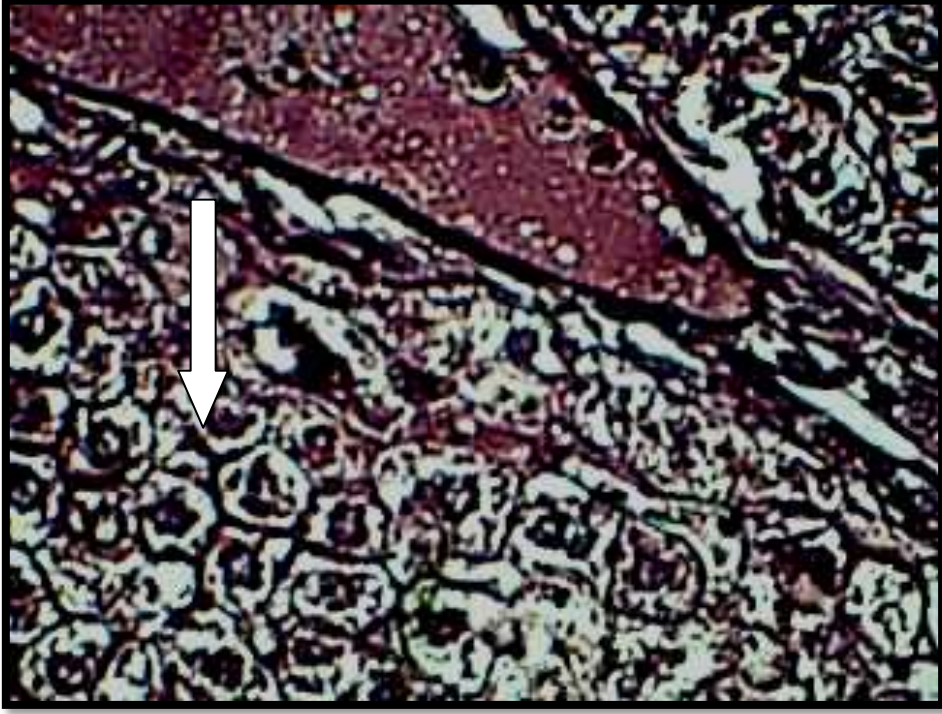


صورة رقم (5) مقطع مستعرض في القلب في مجموعة السيطرة ، يبين طبقات القلب الخارجية  $\uparrow$  والوسطى  $\longleftrightarrow$  والداخلية  $\downarrow$  . (H.&E.40X)

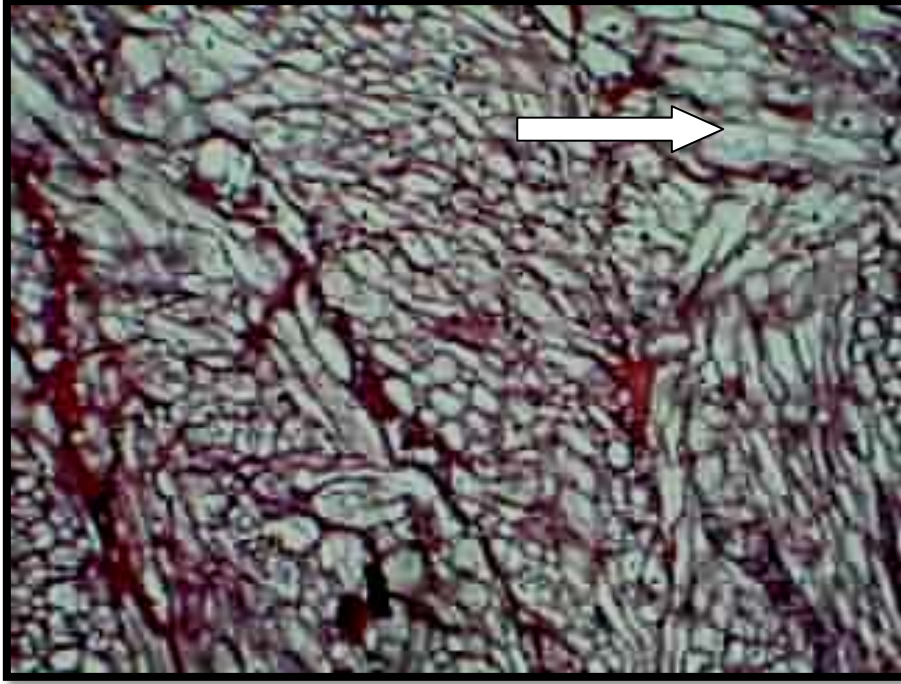




صورة رقم (6) مقطع مستعرض في القلب في المجموعة المعاملة  
 بالميثيونين لمدة 30 يوم، يلاحظ ترسب شديد لقطيرات الدهن في خلايا العضلات  
 القلبية مع وجود عدد كبير من الخلايا الالتهابية (H.&E.40X). ↑ ↷

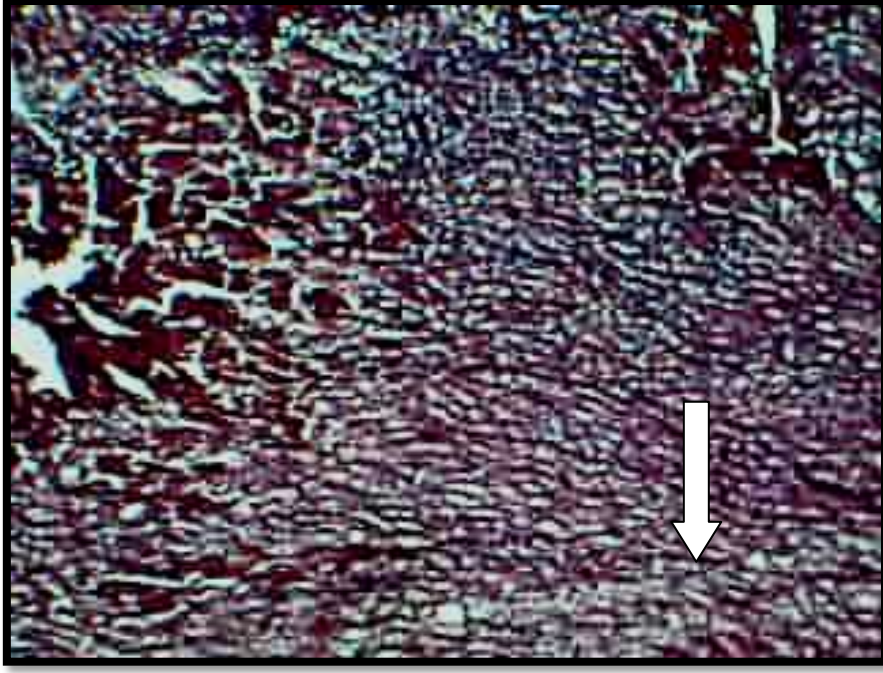


صورة رقم (4) مقطع مستعرض في الكبد في المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك لمدة 30 يوم ، يلاحظ ترسب قليل لقطيرات الدهن داخل سايتوبلازم الخلايا الكبدية وتتخذ النواة موقع مركزي في أغلب الخلايا الكبدية . (H.&E.-40)

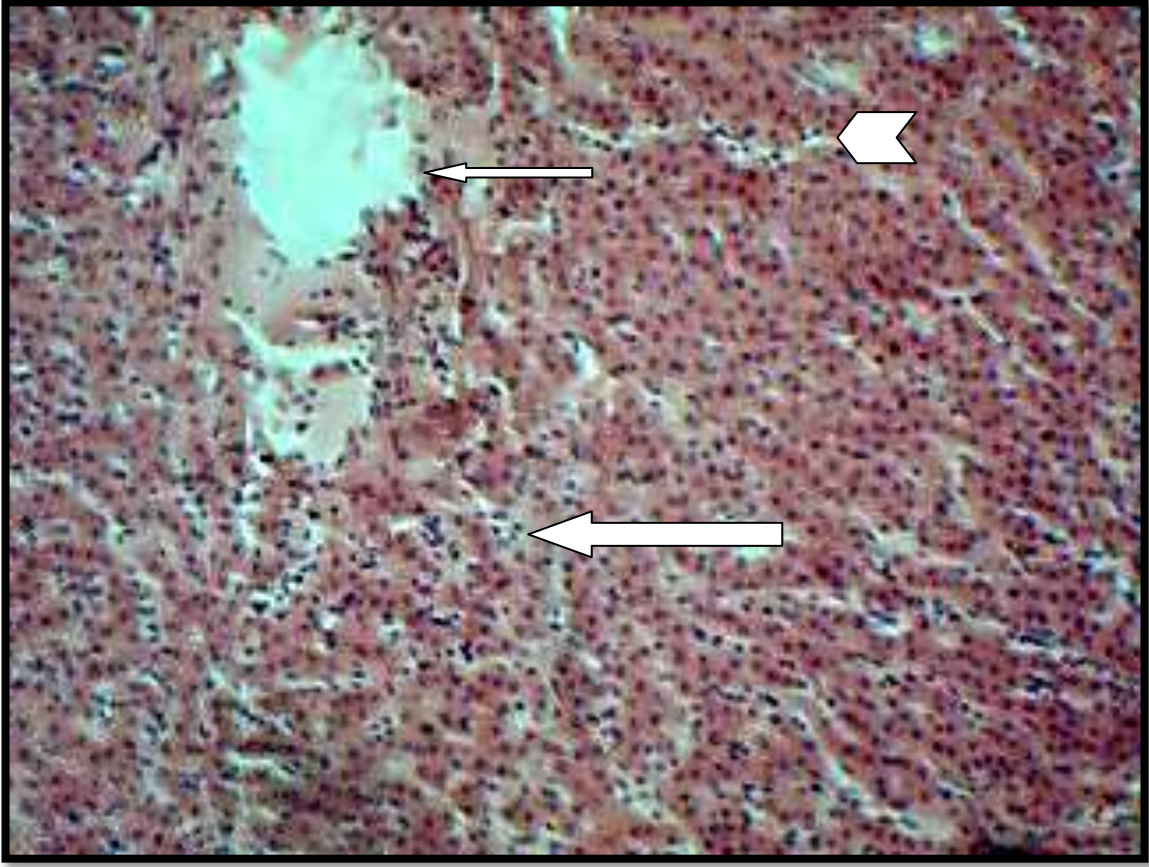


صورة رقم (7) مقطع مستعرض في القلب في المجموعة المعاملة بالميثيونين لمدة 30 يوم ، يلاحظ ترسب كميات كبيرة من الدهن داخل خلايا العضلات القلبية .  
(H&E , 40X)





صورة رقم (8) مقطع مستعرض في القلب في المجموعة المعاملة بالميثيونين وحامض الفوليك لمدة 30 يوم ، حيث يلاحظ ترسب كميات قليلة من الدهون داخل خلايا العضلات القلبية . (H.&E.40X)



صورة رقم (1) تبين مقطع مستعرض في نسيج الكبد في مجموعة السيطرة ، حيث  
 يلاحظ الوريد المركزي Central Vein ← مع الخلايا الكبدية Hepatic  
 Cells ← والجيبانيات الكبدية Hepatic Sinusoids → والنواة  
 Nuclei مركزية الموقع . (H.&E.-10X)

آل فليح،خولة. (2000).مدخل الى الكيمياء الحيوية.دارالكتب للطباعة والنشر،جامعة الموصل.

الأسدي ، مواهب بشير جاسم .(2008) . العلاقة بين تدهور وظائف القلب وبعض التبدلات الكيموحيوية لمرضى الجهاز الدموي في كربلاء . رسالة ماجستير. كلية التربية ، جامعة كربلاء :6 .

البازي ، وفاق جبوري محمد . (2009) . الدور الوقائي والمانع لزيت الزيتون على التلف الحاصل في القلب والكبد المستحدث بفطر الميثيونين في ذكور الأرانب . أطروحة دكتوراه . كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد : 105 .

الجبوري ، وفاء عيسى . (2003) . أنقطاع الطمث الثانوي وعلاقته بالحالة الفسيولوجية والهرمونية لدى النساء . رسالة ماجستير . كلية التربية جامعة تكريت : 28-30 .

الجميل ، رنا رياض .(2002) .دراسة أعراض متلازمة تكيس المبايض لدى نساء العراق .رسالة ماجستير .كلية العلوم .جامعة البصرة :30-31 .

الحكاك ، زيد مكي محمد حسن .(2002) . تأثير الملوثات الصناعية ودرجات الحرارة الموسمية في بعض معايير الدم الفسلجية والكيموحيوية وكفاءة الرنتين للأفراد العاملين في معمل سمنت الكوفة . رسالة ماجستير .كلية العلوم . جامعة الكوفة :109 .

الزبيدي،نصيرمرزة حمزة .(2006) .دراسة مقارنة للعلاقة بين معدل النبض ووزن الجسم والعظام والعضلات في بعض الفقرات .رسالة ماجستير.كلية التربية،جامعة كربلاء.31 .

الطائي ، بان محمد حسين .(2006) . دراسة فعالية متشابهات أنزيم الكرياتين كايينز وبعض مضادات الأكسدة في المصل وكريات الدم البيض في الأرانب المستحدث فيها مرض السكري . رسالة ماجستير.كلية العلوم .جامعة بابل :95-104.

العلوجي ، صباح ناصر (2005) . هرمونات الغدد الصم والغدد التناسلية ، دار الفكر للطباعة والنشر ، عمان ، الاردن .

العلوجي ، صباح ناصر (1989) . هرمونات الغدد الصم والغدد التناسلية ، دار الفكر للطباعة والنشر ، عمان ، الأردن .

الكبيسي ، خالد . (2002) . الكيمياء الحيوية . الطبعة الأولى . دار الأوائل للنشر والتوزيع ، الأردن : 42 .

الوافي ، حيدر عبد الكريم محمد (2001) . دراسة تأثير مسحوق نبات الثوم الجاف في مستويات الدهون والبروتينات الدهنية في بلازما الدم عند الاشخاص الاصحاء والمصابين بفرط الدهون .رسالة ماجستير . جامعة البصرة . كلية العلوم .

جميل ،قصي عبد القادر ؛ عبد ، بيداء حازم وسليم ، خولة يونس .(1985) . مقدمة في الكيمياء الحياتية للبيدات . (مترجم) ، مطابع الموصل .

عجام ، إسماعيل ؛ السعدي ، حسين والحكيم ، مرتضى .(1981) . فسلجة التناسل والتلقيح الأصطناعي . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل .

عزیز ،جبرائیل برصوم ؛ العزاوی ، طلال فتحي ؛اليونس ، يحيى ذنون (1978) :  
علم الخلية (الطبعة الاولى ) . بغداد .

غايتون وهال .(2004) .المرجع في الفيزيولوجيا الطبية . دار المنجد . قسم النشر  
الطبي : 235 .

محي الدين ، خير الدين ويوسف ، وليد حميد وتوحلة ، سعد حسين (1990).  
فسلجة الغدد الصم والتكاثر في الثدييات والطيور . دار الحكمة  
للطباعة والنشر . جامعة الموصل .



- Allain . C.C.; Poon.L.S.Chan,Chan ,C.S.G.; Richmond , Wand Fup , C.(1974).The Merk Manual of diagnostic and therapy .Merk and CO .,Clin .Chem .13:56-59.
- Ambroszkiewicz, J.; Klemarczyk, W.; Chelchowska, M.; Gajeewska, J, and Laskowska, T. (2006). Serum Homocysteine, folate, vitamin B12 and total antioxidant status in vegetarian children. *Advances in Medical Sciences.*, 51(6): 51-56.
- Applebaum, J.; Shimon, H.; Sela, B.; Belmark, R and Levine, J. (2004). Homocysteine levels in newly Schizophrenic patients, *J. Psychiatr, Res.*, 38: 413- 416.Pub Med Abstract.
- Assadian , A . Rotter ,R . Assadian , O.; Senekowitsch , C. Hagmilln , G. and Hudi , W . (2007) . homocystein and earlyre –stenosis after carotid aversion endoterectomy . *Eur . J. Vast . endovasc . Surg .*, 33: 144-148 .
- Assmann G ., Schute H . (1992) . Relation of high density lipoprotein cholesterol and Triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary disease. CTie procam experience . *Am .J, cardiol .*, 70:733-737 .
- Baccarelli , A .; Zanolotti , Martinelli ,L . Grillio , P .; Hou , L .; Guido , G.; Mannucci , P.; Pier Alberto , A and Schwartz , J (2007) . Air pollution , smoking , and plasma homocysteine . *Environ Health perspect .*,115:176-181. .
- Badimon, J.;Zaman,A. and Helft , G .(2004) .Acute Coronary Syndromes .Pathophysiology and preventive priorities thromb.Haemostas . J., 82:997-1008.

- Baleiy , M; Robinson , G ; Pinner , L; Chhieng , N ; Jhala , A; Landar , K ; Kharbanda , S ; Ballinger , Sand Darty U (2006) . S-adenosyl methioniene prevents chronic alcohol – induced mitochondrial dysfunction live *Physiol .*, 291 (5) : 857-858.
- Barrett-Connor E.,Bush T.L.(1991). Esterogen and coronary heart disease in women .*Clin cardiol* 265:1881:1865.
- Berre, M. S.; Rapp ,M.; Silverman, J.M.;Schmeidler,J.;Grossma, H.T.;Fallon ,J.T.; Purohit, D.P.; Perl, D.P.;Siddiqui,A.; Lesser ,G;Rosendorff,C. and Har outunian,V. (2006) .Coronary artery disease is associated with Alzheimer disease neuropath- hology in APOE4 carriers.*J .Neurol.* , 66:1399-1404.
- Bischof and Islami D.(2002). Sexual hormones .8<sup>TH</sup> phostyraduate course fortraining reproductive medicine and reproductive biology. .Department of obstetvics and gynecology Geneva University Hospital.P:1-4.
- Block, J.H. and Beal, J.M.(2004). Willson and Gisvolds Textbook of Pharmaceutical Chemistry .11<sup>th</sup> ed . Lippincott Williams and Willkins : 657-660.
- 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.

- Bray JJ, Cragg PA , Mackninght AC, Mills RG .(1999).  
Lecture notes on human physiology .4<sup>TH</sup> ed .london :  
Blackwell Scientific publication :276. .
- Buemie, M. Marino, D.; Dipasauale, G.; Flaccari, F. Rvello, A. and  
Frisina, N. (2001). Effects of Homocysteine on proliferation,  
necrosis and apoptosis of vascular smooth muscle cells in  
culture and influence of folic acid. Thro. Res., 104:207-213.
- Bunchasak, C.; Sooksridang, T. and Chaiyapit, R. (2006). Effect of  
adding methionine hydroxy analogue as methionine source  
at the commercial requirement recommendation on  
production performance and evidence of ascites syndrome of  
male broiler chicks fed corn-soybean based. Int. J. Poult.Sci.  
, 5 (8): 744-752.
- Busse, R.and Fleming , I. (1995) . Regulation and functional  
consequence of endothelial nitric oxide formation . Ann  
Med ., 27:331-340.
- Castro, R. ; Rivero, I ; Martins , C. ; Struys , E. ; Jansen E. ; Clode, N. ;  
Gracal, L and Blamom , H. ( 2006) . Intracellular S-  
adenosyl Hbomocystaeine increased levels are associated  
with DNA HUVEC. J. Mol. Med. ., 12(6):133-138.
- Castro, R.; Rivero, I. and Struy, E. (2003). Increase Homocysteine and S-  
adenosyl homocysteine concentration and DNA  
hypomethylation in vascular disease Clin. Chem., 49:1292-  
1296.

- Chwatko, G.;Boers, G.; Strauss, K.;Shih, D.and Jakubowski, H.(2007). Mutations in methylenetetrahydrofolate reductase or cystathionine (beta-synthase gene, or a high –methionine diet, increase Homocysteine thiolactone levels in humans and mice. *FASEB.J.*, 21:1707-1713.
- Collinges , B.; Raitakari, O.T.; Hutri-Kahonen, N Juonala, M., Mansikkaniemi, KCollings, A Marniemi, J .and Viikari, J.S (2008). The influence of smoking and homocysteine on subclinical atherosclerosis is modified by the connexin37 C1019T polymorphism - The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 46(8):1102-8.
- Damjanovae,I. (1996). Pathology for the helth related profession.philadelphia :95.
- Delvin, A,;Singlh, R.;Wads,E.;Innes,S.;Bottiglieri, T. and Lentz,S.(2007). Hyperhomocysteinemia .*J. Bio .Chem.* , 282(5):37082-37088.
- Delvin, A. and Lentz, S. (2006). A missing link between Homocysteine and lipid metabolism. *.Circ Res.*, 98:431-433.
- Denke, M. (2005). Weighing in before the fight: Low density lipoprotein cholesterol and non –high – density lipoprotein cholesterolversus apolipoprotein B as the best predictor for coranory heart disease and the best measure of therapy . *Atheroscler. Thro. Vas. Biol.*, 112:3368-3377.

- Desmet, C, Warzee, B. ; Gosset, P. ; Melatto , D. Rongvasus, A. Gillet, L. ; Fievez, L. ; Seumais , G. ; Staels, B. ; Lekeux , P and Burea, F. (2005). Pro- inflammatory properties for thiazolidiones, *Bio. Chem.Pharmacol.*, 69: 255-265.
- Dimitrovak.,DeGroot K.,Myers A.,et al.(2001).Estradiol prevents homocystein-induced injury of endothelial cells in vitro.*FASEBJ*15(5):1128-1887.
- Donnelly , K., Mielke , O.; Schwarzenbers , S.; Jessum , J.; Boldt , M . and Parks ,E . (2005) . Source of fatty acid stored in liver secreted via lipoprotein in patients with non alcoholic fatty liver disease . *J.Clin . Invest .* , 115 : 1343-1351 .
- Ekaidem, M.S.: Akopanabiatu, M, I.: Uboh and Eka, O.U. (2007). Effect of folic acid and B12 administration on phentain induced toxicity in rats. *Indian .J of Clin. Bioch. ,* 22(2):36-40.
- Felcher , R., F.(1987). *Lecture Notes on Endocrinology , 4<sup>th</sup> .* Edition Black well scientific company .
- Fernandez-Robredo,P.;Moy,D.;Rodriguez,J. and Garcia-Layana, A. (2005) .Vitamin C and E reduce retinal oxidative stress and nitric oxide metabolites and prevent ultrastructural alterations in povcine hypercholesterolemia. *Investigative Ophthalmology and Visual Science.*, 436:114-1146.
- Finkleston, T. and Holbrok, N. (2000). Oxidants, Oxidative stress and the biology of aging .*Nutrition .* , 408(68):239-247.

- Forrester , J.S. (2001). T.G.Risk factor or fellow traveler . Curr-opin-Cardiol . 16(4): 261-4 .
- Friedewald,W.;Levy , Y and Fredrickson (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. Clin. Chem., 18:499-502.
- Fufagawa, N.K. (2008).Sparing of methionine requirements: evaluation of human data takes sulfur amino acids beyond protein. J. Nutr., 136:1676S- 1681S.
- Ganong WF .(2003). Reviw of medical physiology . New York : Mc Graw – Hill Companies . 310-311.
- Glodsworthy , G . J ., Robinoson , and W . Mordue . (1981) . Endocrinology . New York , John Wileyand Sons , Inc. concise comparative approach .
- 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.
- Gould,B.(1997).Pathophysiology For Health-Related Professions .Phildelphia.Saunders:40.

Gotto, A .M. (1992) . Lipid and lipoprotein disorders . Manual of lipid disorders . Pownall HJ (eds) . Baltimore , Williams and Wilkins CO ., pp . 95- 124.

Gupta, S.; Wang, L.; Hua, X.;Krijt.; Koich, V. and Kruger, W.(2008). Cystathionine  $\beta$  -synthase p.s 466l mutation causes Hyperhomocysteinemia in mice .Human Mutation., 29(8):1048-1054.

Gursu, M.; Onderci, M.;Culcu, F.and Sahin , K.(2004). Effect of vitamin Cand folic acid supplementation on serum paraxanase activity and metabolites induced by heat stress in vivo .Nutr. Research., (24):157-164.

Gzeizel AE.(1996).Reduction of urinary tract and cardiovascular defect by pericon ceptional multivitammin supplementation.Am J Med Genet;62:179-83.

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.

Hall J G , Solehdin F . (1998) . Folat and Various ramification , Adu pediar ; 45 : 1-3

Halsted , C.H.; Wong , D.H ;Peerson , J.M.; Warden,C.H. ;Refsum , H.; Smith , A.D.;Nygard , O.K.;Ueland , P.M.;Vollset , S. E. and Tell , G.S (2007) . Relations of glutamate carboxy peptidase II (GCPII) Polymorphisms to folate and homocysteine

concentrations and to scores of cognition, anxiety, and depression in a homogeneous Norwegian population: the Hordaland Homocysteine study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 86:514-521.

Hamelet, J. ; Demuth, K .; Paul J.; Delabar, J. and Janel, N. (2007). Hyperhomocysteinemia due to cystathionine beta synthase deficiency induces dysregulation of genes involved in hepatic lipid homeostasis in mice. *J Hepatol.*, 46:151-159.

Hampton, J.R. (2003). *The ECG made easy* . 6<sup>th</sup> ed . Churchill Livingstone. Edinburgh. London. New York. Oxford.

Hashimoto, T.; Sinohara, Y. and Hasegawa, H. (2007). Homocysteine metabolism. *J .Pharmaceutical .Society of Japan.*, 127(10):1579-92.

Herrmann, W.; Schorr, H.; Obeid, R.; Makowski, J.; Fowler, B. and Geisel, J. (2004). Vitamin B12 status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations, and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *Am. J. Clin. Nutr.*, 78(1):131-136.

Hikosaka Hiroshi , Fujwara Motohaltus . (1965). Effects of 10-Methoxydeserpidin on the ECG changes Induced by vasopressin in a Rabbit. *Jap.J.pharmacol.* 15,30-40.

Hillenbrand ,R. ; Hillenbrand ,A. ; Liewald ,F. and Zimmermann ,J. (2008). Hyperhomocysteinemia and carotid stenosis. *Cardiovascular Disorders.*, 8:1.



Huliberg, B.; Berglund, M.; Anderson, A. and Frank, A. (2005). Elevated plasma Homocysteine in alcoholic in plasma Homocysteine with parallel increase in plasma S- Adenosyl. Alcoholic. Clin. Exp. Res., 17:786-689.

James A . Wilson ; (1972) . prinesples of Animeal physiology . Ohio University , Macmillam puplishing Co . Incor ., New – York. pp.701- 710 .

Jamison,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):1163-1170.

Katz, A. M.(1978). Physiology of the heart. New York . 15:264-292.

Kerkeni, M.; Addad, F. and Xhauffert, M. (2006). Hyperhomocysteinemia, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and risk of coronary artery disease. Ann. Clin. Bio., 43:200-6

Kumar Pradeep , Goyal Manish , Agawal J L . (2009). Effect of L- Arginin on Electrocardiographic Change Induced by Hypercholesterolemia And Isoproterenol I Rabbits . Indian Pacing and Electrophysiology Journal (ISSN0972-6292) ,9(1): 45-52 .

Lamoers , Y. ; Priz-Langenohi , R. ; Moser, R. and Pitrizki, R. (2004).  
Supplementation with (65) 5- methy tetrahydrofolate and  
folic acid eqally reduce plasma total Homocysteine  
concentration in healthy women. Am. J. Clin. Nutr. ,  
79:473-478.

Lanlua.P,Wimalawansa.S,Supowit.S,D,andYallampalli.C,(1999).  
Regulation of calciton Gene-Related peptide Expression in  
Dorsal Root Ganglia of Rats by Femal Sex Steroid  
Hormones. Hum Reprod.11: 895- 899.

Leocchini, G. ; Pascale, R and Signorello, M.(2003). Effects of  
Homocysteine on L-arginine transport and nitric oxide in  
humane platelet count. Eur. J. Clin. Invest., 33:713-719.

Leung , P.C. K ., et al . (eds) . (1987) . Endocrinology and  
physiology of Reproduction New York ,plenum publishing  
Corp .

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.

Luna, L.G. (1968). Manual of Histological Staining Methods of the  
Armed Forces institutes of Pathology . 3<sup>rd</sup>ed .Mc Grow-Hill  
Book Company. New York.

- Maj , Stampfer MJ , Giovannuccif , Atigas C , Hunter DJ , Fuchs C,et al,(1997). Methylenetetrahydro folat reductase-polymorphism,dietary interactions,and risk of colorectal cancer. .Res;57:1098-102.
- Mario, M.; Colell, A.; Morales, A.; Ponedá, C.; Vorela, I.; Carcia, C. and Ferandeze, C. (2006). Acidic sphingomyelinase down regulates the liver specific methionine adenosyltransferase IA, contributing to tumor necrosis factor- induced lethal hepatitis.J.Clin.Invest.,113(6):895-904.
- Mato, J.M.; Martinez – Chantar, M. and Lu,S.C. (2008). Methionine metabolism and liver disease. Annu .Rev. Nutr. , 28:273-293.
- Mato, J. M.; Corrales, F, J.; Lu, S. and Avila, M.A. (2002). S-Adenosylmethionine synthesis: molecular mechanisms and clinical implications. Pharmacol Thera., 73:265-280.
- Mc Cully, KS .(1996) . Homocystiene and vascular disease . Nat Med ; 2 : 386 – 9 .
- Melynk, A. ; Pogribna, M. ; poynbny, I. ; Hine, R. and James, S. (2005).Increases in plasma Homocysteine with parallel increase in plasma S-Adenosyl Homocysteine lymphocytes DNAJ. Biol .Chem. ., 275:29318-29323.
- Muell,G.C.,Vonderhaar,B.,Kim,U.H.,and Le Mahieu,M.(1972). Esterogene action : An inroad to cell biology.Recent prog.Horm.Res.28:1-44.

Mycek M. J ; Harrey , R A ; Champe, P.C . and Fisher , B .  
D.(2000).Lippincott's illustrated reviews pharmacology . 2<sup>nd</sup>  
ed .,Lippincott Williams an wilkins.p.263-267.

Neil, J and Stone, M. (2006). Management of Lipid in Clinical Practice. 6  
Ed., University School Chicago.

Norri, M.; Jacopues P. and Rosenberg, H. (2001). Hyperhomocysteinemia  
associated with poor recall in the third national health and  
nutrition examination. Survey. Am. J. Clin. Nut. ,73:927-  
933.

Olivero, M; Ruggero, T; Saviozzi , S ;Rosola , A; Coltella , N; crispi, S;  
Cunt , F; Calogero, Rand Renzo, F. (2006).Genes regulated  
by hepatocytes growth factor as targets to sensitive ovarian  
cancer cells to ciplatin . Mol. Thero., 5(5):1126-1135.

Pamela, C.; Richard, A.D; Enise, R. (2005). Lippincott's Illustrated  
Reviews: Biochemistry. Philadephia.

Paulsen,J E.(2001).Growth stimulation of intestinal tumours in  
APC (Min/+) mice by dietary L- methionine supplementio  
,AnticancerRes.21(5):381-4.

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.

Pezzins, A. ;Delkotto, E. ; Padovare, A.( 2007).Homocysteine and cerebral ischemia: pathogenic and therapeutically implications . Cur. Med. Chem., 14:249-263.

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.

Pischon , T. ; Girman, C. Saks, Fand Rifai, N and Rimm, E. ( 2005) .Non-high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the prediction of coronary heart disease in men . Circulation., 112:3375-3383.

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.

Pote M. S.; Gadhi , N.M. and Mishra, K. P. ( 2006). Antiatherogenic and radio protective role of folic acid in whole body  $\gamma$ -irradiated mice. Molecular and Cellular Biochemistry., 292(10): 19-25.

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.

Remer T .(2000). Influence of dieton acid – base balance .  
Semin Dial . Jul – Aug ; 13 (4) : 221-6 .

Robert , K.; Nehme..., J.; Bourdon, E.; Pivert, G.; friguets , B.; Delcayre, C.; Delabar, J.m. and Janel, n (2005). Cystathionine beta synthase deficiency promotes oxidative stress, fibrosis and steatosis in mice liver. Gastroenterology., 128:1405-15.

Robinson, G.; Narasimhan, S.; Weatherall, M. and Beasley, R. (2005).Raised plasma Homocysteine levels in alcoholism: increasing the risk of heart disease and dementia? N Z Med J., 118:1190.

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.

Sahi , A; Pan ,X ; Paul, R; Malladi ,P ; Kahli, R and Whittington, F.(2006). Roles of phosphatidylinositol 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.

Sanchez-Criado JE,Bellido.C,Tebar.M,Ruiz.A,andGonzalez.D.(1999).  
The antiprogesterin RU486 dissociates LH and secretion in male

---

rats:evidence for direct action at the pituitary level. Journal of Endocrinology.197-203.

Scarpa, S. ; Fuso, A. ; Anselm, F. and Cavallar, O.(2006). Presenilin 1 gene silencing by S- adenosylmethionine treatment for Alzheimer disease. FEBS. Lett., 145-148.

Schwab , U.Torronen , A.; Meririnne , E., Saarinen , M.; Alfthan , G. Aro , and Usitupa , M . (2006) . Orally administrate betains has an acute and dose dependent effect on serum betaine and plasma homocysteine concentration in healthyhuman. J.Nutr.,136-:34-38. .

Scott, J.(2004). Homocysteine and cardiovascular risk. Am. J. Clin. Nutr., 72:333-334.

Segal, S. J . (1974). The physiology of human reproduction . Sci.Am.231:52-62.Explain how understanding the hormonal control of reproduction makes possible the development of modern contraceptive methods.

Seshadri,.N.and Robinson.(2000).Homocysteine ,B vitamin and coronary artery disease .Med .Clin. North.Am., 84(1):215-237.

Shaw G M , O, Malley C D , Wasserman C R , Tolarova MM ,Lammer E J.(1995). Maternal periconceptional uses of multivitamins and reduced risk for craniofacial defects . AmJ Med Genel;59:536-45.

- 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.
- Smith, A. and Hagen, T. (2003). Vascular endothelial dysfunction in aging loss of AKI- dependent endothelial nitic oxide synthase phospd part restoration by (R), alphalipoc acid. Bio. Chem. Soc. Trans. 31(51): 1447-1450.
- Stabler , S.P.; Allen ,R.H. ; Dolce , E.T. and Johnson, M.A. (2006).Elevated serum S-adenosylhomocysteine in cabalami -deficient elderly and response totreatment.Am.J.Clin.Nutr., 84:1422-1429.
- Stipanuk , M .H. (2004) . Role of the liver in regulation of body cysteine and turine level . Neur . Chem . Res . Jan ., 29 (1):105-110. .
- Suematsu, N. ;Ojaimi ,C.; Kinugawa ,S.; Wang,Z. ;Xu, X.; Koller ,A.; Recchia,F.A,andHintz , T.H. (2007). Hyperhomocysteinemia alters cardiac substrate metabolism by impairing nitric oxide Bioavailability through oxidative stress. Circulation., 115:255-262
- Sundstrom , J , and Vasan , R . (2004) . Homocysteine and heart failure . Clin . Chem . Lab Med ., 43:-53 .
- 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.

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.

Tanriverdi , H. ;Eurengul , H.; Enli , Y. ;Kuru ,O. ; Seleci , D. ; Tanriverdi , S. ; Tuzun , N.; Kaftan , H. A. and Karabulut , N. (2007) .Effect of Homocysteine-induced oxidative stress on endothelial function in coronary slow-flow . Cardiology ., 107:313-320

Tolarova M , Harris J . (1995). Reduced recurrence of orofacial clefts after periconceptinal supplementation with high dose folic acid and multivitamins.teratology;51:71-8.

Touny, R.and Schiffrin, E. (2008). Reactive oxygen species and hypertension antioxidants and redox signaling . Eng. J . Med., 10(6):1041-1044.

Velez – Carrasco Wanda , Merkel Martin , Twiss Co , Smith JD.(2008).Dietary methionine effects on plasma homocystein and HDL metabolim in mice: JNut Biochem.June;19(6):362-370 .

Verhoef, P.;Pasman ,W.;Van Vliet, T.; Urget,R.and Katan,M.(2007). Contribution of Cafeine to the Homocysteine –rasing effect

---

of coffee : a randomized cotrolled trial in humans  
.Am.J.Clin.Nutr.,76(6):1244-1248.

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.

Villadsen , M. Bunge . M. Carsten, M. Stenkjaer , L. and Langdahi . B. (2005). Methytetrahydrofolate (MTHFR) C677T polymorphism is associated with osteoporotic vertebral fractures, but predictor of BMD. Osteoporosis . Int., 16:411-416.

Wald, D.; Law , M. and Morris ,j (2002) . Homocysteine and cardiovascular disease evidence on causality form ameta-analysis . B1 . Med .J ., 325: 1202 – 1208 .

Werstuck, G.; Lentz , S.;Dayal, H.; Hossain,G.; Sood . L.; shi,Y.; Zhou,J.; Krisans , S.; Maliow, M. and Austin , R.(2001). Homocysteine –induced endoplasmic stress causes reticulum causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. J. Clin. Invest. ., 107:1263-1273.

White,A. ; Hang, X. and Jabling, M. (2001). Homocysteine pontentiates copper and amyloid, beta peptide – mediated toxicity in primary neural cultures , possible risk factors in the

Alzheimer – type neural generative pathways . J. Neuro. Chem., 78: 1509-1520.

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.

Williams, K.T. and Schalinske, K.L. (2007). New insights in to regulation of methyl group and Homocysteine metabolism. J. Nutr., 137:311-314.

Wijekoon , E.P. ; Hall , B. ; Ratnam , S. ; Brosnan , M. E. ; Zeisel , S.H. and Brosnan , J.T. (2007). Homocysteine metabolism in ZDF (Type 2) diabetic rats . Diabetes., 54:3245-3251.

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.

Woo, C.; Parathapasinghe, G.; Siow, Y. and O, K. (2006). Hyperhomocysteinemia induced liver damage in rat protective effect of folic acid supplementation . Biochem Biophys Acta., 1762:656-665.

Woo, C.; Siowmy, L.; Pierce, G.; Choy, P.; Minuk, G. and Mymin, D. (2005). Hyperhomocysteinemia induces hepatic cholesterol biosynthesis and lipid accumulation via activation of

transcription factors. Am. J. physiol. Endo. .Meta. ,  
288:1002-1010.

Xie,M.;Hou,S. Huang,Wand Fan, H.(2007). Effect of excess methionine  
and methionine hydroxyl analogue on growth performance  
and plasma homocysteine of growing pekin Duks. Poult.  
Sci., 86(9):1995-1999.



## SUMMARY

This study was carried out in the department of Biology from Desember to Januari .Eighteen adult female New Zealand rabbits 8-9 months old were divided into three equal groups (6/group).The first group was intubated with tap water and served as control group(G1).Rabbits in the second group were intubated orally with 100mg/kg B.W of methionine (G2)for one month,While animals of third group were intubated with methionine and 0.07mg/kg B.W of folic acid(G3)for one month ,fasting blood samples were collected each 10 days for measuring biochemical parameters :Total cholesterol(TC),Triacylglycerol(TAG),High density lipoprotein(HDL),Low density lipoprotein(LDL),Very low density lipoprotein(VLDL),and measuring physiological parameters:Estrogen hormone,Progesterone hormone,Follicle Stimulating hormone(FSH),Luteinizing hormone(LH),Respiratory rate,Heart rate,and long of QRS,QTwaves.

The results revealed that intubation of female rabbits with 100mg/kg B.W of methionine daily for one month caused a significant increase( $P < 0.05$ )in TC, TAG, LDL, VLDL concentration, and a significant decrease( $P < 0.05$ )in HDL concentration compared with the control group and folic acid treated group.a significant effect ( $P < 0.05$ )in G2,G3within the time .

- A significant increase( $P < 0.05$ )in Estrogen hormone concentration and a significant decrease( $P < 0.05$ )in Progesterone, FSH and LH hormones concentration in G2 compared with G3 and G1. No significant effects in these parameters were noticed during the experiment period

- A significant increase( $P < 0.05$ )in Respiratory rate levels and a significant decrease( $P < 0.05$ )in heart rate in G2 compared with

G1 and G3. The time caused a significant effect ( $P < 0.05$ ) in respiratory rate and Heart rate levels in G2, G3.

- A significant increase ( $P < 0.05$ ) in QRS and QT intervals in G2 compared with G1 and G3, no significant effects were noticed in QRS and QT intervals in G2, G3 within the time.

Histological sections revealed that methionine load caused severe deposits of fat droplets in liver cells causing hepatic cells atrophy and sinusoids disappeared, and infiltration of inflammatory cells and deposits of fats in myocardial cells.

The study showed a decrease in the deposits of fats in liver cells and myocardium cells in groups that were treated with methionine and folic acid.



**PRODUCTIVE ROLE OF FOLIC ACID ON  
HISTOLOGICAL & PHYSIOLOGICAL EFFECTS  
RESULTED FROM METHIONINE OVER LOAD  
IN LOCAL RABBITS**

**A thesis submitted to the council college of Education of  
Kerbala University as a partial fulfillment of the  
requirements for the degree of master in Science Biology –  
zoology**

**BY**

**RUKYIA KHARIM MOHAMMED AL-KINANI**

**Supervised by**

**Prof.Dr.Saad H.Abd-Altaif**

**Assist prof. Dr.Wefak**

**Gaborry Al-Bazii**

**2010 A.D**

**1431 A.H**



