

جامعة دمشق
كلية الطب البشري
مستشفى الأطفال

دور اضطراب استقلاب الميثيونين في الخثرات الوعائية عند الأطفال
The role of Methionin Metabolism disorders in thrombosis in children

بحث علمي أعد لنيل شهادة الدراسات العليا (الماجستير) في طب الأطفال

إعداد الدكتورة : مجد غازي المغربي

بإشراف الأستاذة المساعدة الدكتورة
ديانا الأسمر

برئاسة الأستاذ الدكتور
سمير سرور

بسم الله الرحمن الرحيم

كلمة شكر

بداية نشكر الله عزّ و جل على نعمة الصحة والعافية و نسأله الأمن و السلام لبلدنا.

و أتقدم بالشكر للدكتورة ديانا الأسمر التي تفضلت بالإشراف على هذا البحث و كانت خير مرشد و دليل كما عهدناها دائما .

و أشكر الأساتذة في اللجنة الذين تفضلوا بمناقشة البحث لإغنائه بالملاحظات القيمة.

و أخيرا" أشكر جميع العاملين في الهيئة العامة لمستشفى الأطفال الجامعي بدمشق على جهودهم المبذولة .

القسم النظري

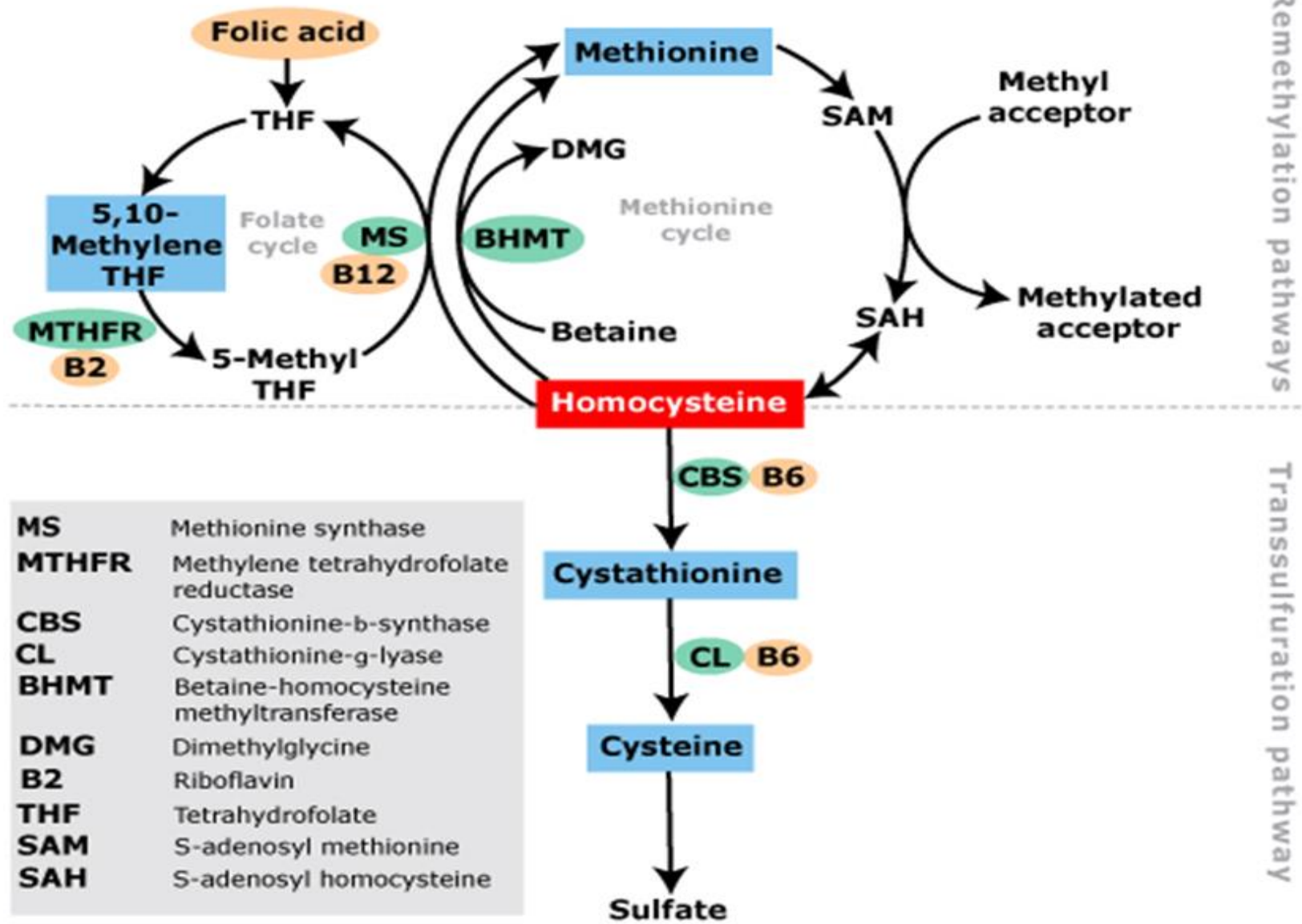
مقدمة

- الميثيونين هو حمض أميني أساسي و يؤدي السبيل الطبيعي لتقويضه إلى إنتاج S - أدينوزيل الميثيونين و السيستين (حمض أميني غير أساسي) .
- أما الهوموسيستين فهو حمض أميني يحتوي على الكبريت ينتج عن استقلاب الميثيونين ' .
- يتم استقلاب الميثيونين في حلقتين استقلابيتين مستقلتين - شكل رقم (١) :

١- حلقة إعادة الميثيل : Remethylation Cycle وفيها يتحول الهوموسيستين من جديد إلى ميثيونين ، وذلك عبر احد أنزيمين :

- الأول: أنزيم صانع الميثيونين methionine synthase (MS) الذي يتطلب فيتامين B12 و حمض الفوليك B9 كعوامل تميمة Cofactors كما يتطلب وجود MTHF (Methyl Tetra Hydro Folate)
- الذي يحتاج اصطناعه إلى الأنزيم Methyl Tetra Hydro Folate Reductase (MTHFR)
- الثاني : أنزيم بيتائين هوموسيستين ميثيل ترانسفيراز Betaine-homocysteine meythyltransferase (BHMT)

2- حلقة نقل الكبريت Transe - Sulferation Cycle يتحول عبرها الهوموسيستين إلى سيستين Cysteine وغلوتاتيون و ذلك بوجود فيتامين B6 (بيريدوكسين) كعامل تميم ووجود أنزيم Cystathionine B- Synthase (CbS)



شكل رقم (١) يوضح حلقتي استقلاب الهوموسيستين

□ و يتراوح المستوى الطبيعي للهوموسيستين في المصل بين ٥ إلى ١٥ ميكرومول / لتر ، ويكون حوالي ٧٠-٨٠% منه مرتبط بالبروتين.

□ و لوحظ وجود ارتفاع في الهوموسيستين لدى بعض السكان و صنف إلى :

- ▶ ١- ارتفاع خفيف : القيم المصلية بين ١٥ - ٣٠ ميكرومول / لتر .
- ▶ ٢- ارتفاع متوسط : القيم المصلية بين ٣٠ - ١٠٠ ميكرومول / لتر .
- ▶ ٣- ارتفاع شديد : القيم المصلية أكبر من ١٠٠ ميكرومول / لتر .

أسباب فرط هوموسيستين الدم :

١- الشذوذات الأنزيمية في طريق الاستقلاب :

❖ عوز أنزيم Cystathionin B-Synthase وهو السبب الأكثر شيوعا لسلة الهوموسيستين الكلاسيكية :

بسبب عدة طفرات ويورث المرض كصفة جسدية متنحية ^٤.

ويسبب عوز CbS ارتفاع في الهوموسيستين في الدم وارتفاع في الميثيونين بينما نلاحظ انخفاض السيستين ^٥، الشكل ٢

❖ عيوب تشكيل الكوبالامين Defects in Methylcobalamin Formation:

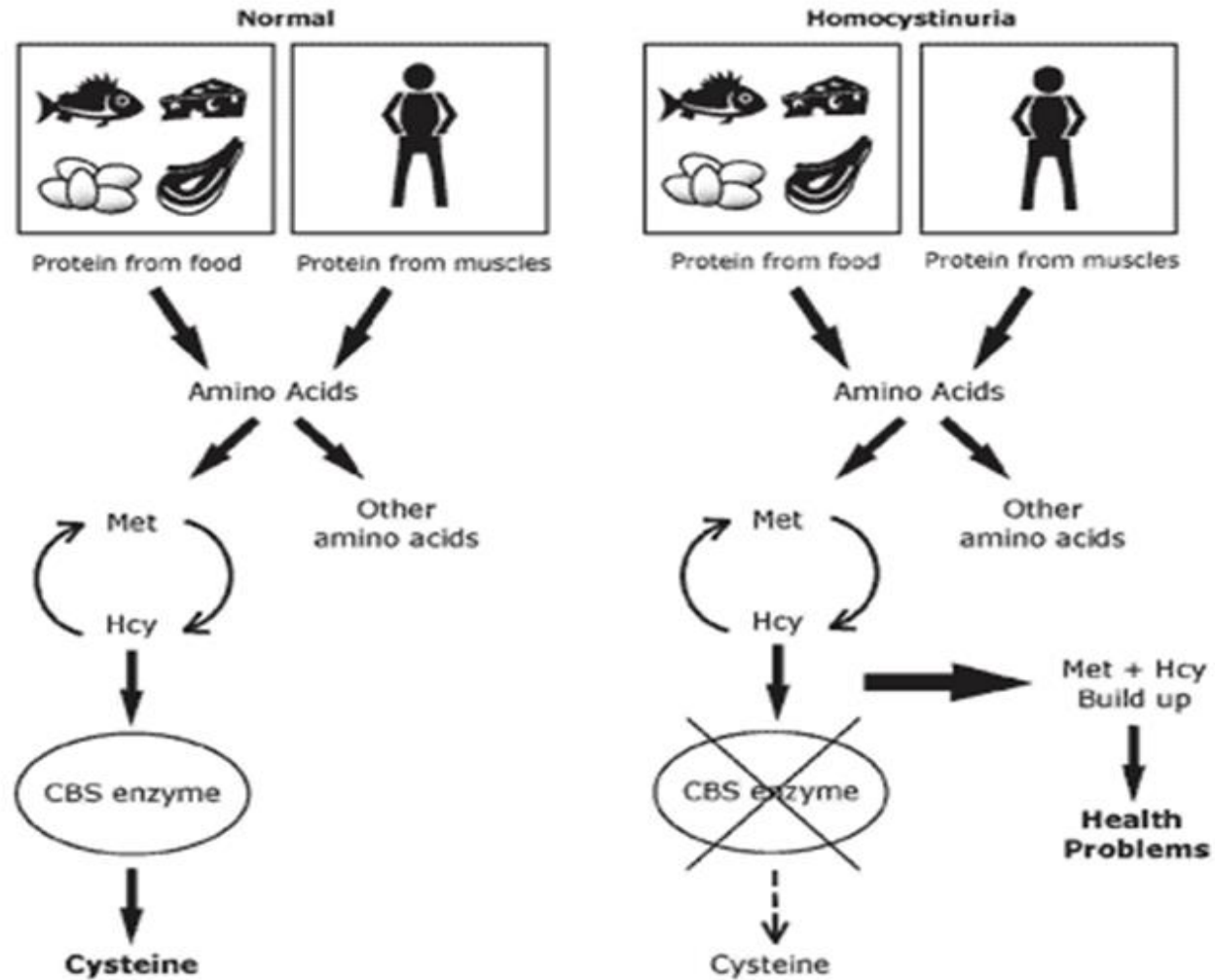
الميثيل كوبالامين هو مساعد أنزيم Cystathionine B Synthase الذي يساعد في إعادة تمثيل الهوموسيستين إلى ميثيونين. يكون الميثيونين منخفضا "أو طبيعيا" إلى منخفض في عيوب الكوبالامين كما ينخفض s-adenosyl methionine

❖ عوز أنزيم MTHFR:

و ينجم عوز هذا الأنزيم عن المتغيرات Polymorphism التي تصيب مورثته التي ترمزه ينتقل المرض كصفة جسدية متنحية ^٤.
يترافق عوز الانزيم MTHFR مع ارتفاع هوموسيستين الدم ، مع ميثيونين طبيعي أو طبيعي إلى منخفض في الدم.
أشيع هذه المتغيرات ٦٧٧ C>T وعندما تكون متماثلة اللواقح فإنها تترافق مع ارتفاع نسبة الخثرات الوعائية خاصة بحال نقص الفولات ^٦.

❖ عوز S-Adenosyl hydrolase وعوز Glycine N-methyl transferase و هذه نادرة ^٦.

HOMOCYSTINURIA



شكل رقم (٢) يوضح خلل استقلاب الهوموسيستين إلى سيستين بسبب عوز انزيم CBS عند مرضى بيلة الهوموسيستين

أسباب فرط هوموسيستين الدم

٢- العوز الغذائي :

عوز الفولات - عوز فيتامين B12 - عوز B6

ويتسبب عوز فيتامين B12 بتظاهرات أخرى مثل الاضطرابات العصبية وفقر الدم كبير الكريات وبيلة حمض الميتيل مالونيك.

٣- أسباب متنوعة :

القصور الكلوي - القصور الكبدي - قصور الدرق - الخباثات (في المبيض - الثدي - البنكرياس و غيرها) - الأدوية التي تتداخل مع الاستقلاب أو تسبب تراجع في وظيفة الكلية أو تنقص من اصطناع الفيتامينات أو امتصاصها مثل : تيوفيللين - ايزونيازيد - تريميميتوبريم - ميتوتريكسات .

الاعراض السريرية

□ بيئة الهوموسيستين الكلاسيكية :

- ▶ فشل النمو
- ▶ تأخر تطور روعي حركي
- ▶ اختلاجات
- ▶ اضطرابات عينية
- ▶ تشوهات هيكلية (مارفان)
- ▶ اضطرابات وعائية خثارية

الاعراض السريرية

□ **بيلة الهوموسيستين الناتجة عن عيوب تشكل الميثيل كوبالانين :**

يتظاهر بضعف الرضاعة و نقص المقوية و الوسن ،
ولاحقا" يتوضح تأخر التطور الروحي و الحركي .
من الموجودات المخبرية الهامة فقر الدم ضخمة الأرومات
و نقص ميثيونين الدم مما يفرق هذا المرض عن بيلة الهوموسيستين الكلاسيكية .

الاعراض السريرية

□ بيلة الهوموسستين الناتجة عن عوز MTHFR

تختلف الأعراض السريرية حسب شدة العيب الأنزيمي ، ففي حال الغياب التام لفعالية الأنزيم تحدث نوب توقف التنفس عند الولادة ، مع اختلاجات عضلية رمعية قد تؤدي بسرعة للسبات و الموت. أما العوز الجزئي فيسبب التخلف العقلي و الاختلاجات و صغر الرأس.

وقد تم تسجيل المرض الوعائي الباكر كتظاهرة وحيدة لعوز هذا الأنزيم عند بعض المرضى وأحيانا " دون وجود ارتفاع في الهوموسيسستين ، وهذا ما شجع على إجراء دراسات حول دور حمض الفوليك في وظيفة البطانة الوعائية.

الآلية المرضية لحدوث الاعتلال الوعائي و الخثرات الوعائية في حالات ارتفاع الهوموسيستين:

الاعتلال الوعائي :

- ١- يسبب ارتفاع الهوموسيستين تحريض وحيدات النوى على اطلاق بروتين ١ و IL8 مما يسبب استقدام وتجمع الكريات البيض .
- ٢- يتحول الهوموسيستين لمستقلب يدعى تيولاكتون Thiolacton يتحد مع كوليسترول LDL ثم يقبض بواسطة البالعات في الجدار الشرياني مما ينتج خلايا رغوية تطلق لاحقا الشحوم في اللويحة العصيدية^٩.
- ٣- يزيد تكاثر خلايا العضلات الملس في الجدار الوعائي من خلال نقص الأدينوزين الذي ينظم عملية التكاثر والموت الخلوي في الاوعية^{١٠}.
- ٤- تسبب الجذور الحرة الناتجة عن أكسدة الهوموسيستين المرجع أذية مباشرة لخلايا البطانة الوعائية^{١١}.

الآلية المرضية لحدوث الاعتلال الوعائي و الخثرات الوعائية في حالات ارتفاع الهوموسيستين:

أما عن دوره في الخثار الوعائي :

- ❖ - ينقص الهوموسيستين من فعالية أنزيم dimethylarginine dimethylaminohydrolase
اللازم لتحطيم asymmetric dimethylarginine وهو مركب يثبط أنزيم synthase Nitric Oxide مما
يعيق إنتاج Nitric Oxide في خلايا البطانة الوعائية ويحدث خلل في التوسع الوعائي^{١٢}.
- ❖ - يسبب إضعاف () Attenuation لمواقع ارتباط البلاسمينوجين النسيجي .
- ❖ - يفعل العامل VII والعامل V .
- ❖ - يثبط بروتين C.
- ❖ - يزيد لزوجة الدم .
- ❖ - ينقص الآليات المقاومة للخثار حيث يغير وظيفة الثرومبوموديولين .
- ❖ - يسبب تجمع و تراكم الصفائح^{١٣}.

الحوادث الوعائية المرافقة

- ▶ الاحتشاء القلبي .
- ▶ أمراض القلب الاكليلية بأعمار باكرة .
- ▶ تضيق الشريان السباتي .
- ▶ النشبات الدماغية .
- ▶ الصمة الرئوية .
- ▶ خثار الوريد العميق .

الآلية المرضية لعوز الفوليك في الخثار الوعائي:

▶ يلعب حمض الفوليك دوراً هاماً في حماية البطانة الوعائية من خلال عدة آليات ، شكل رقم (٣)

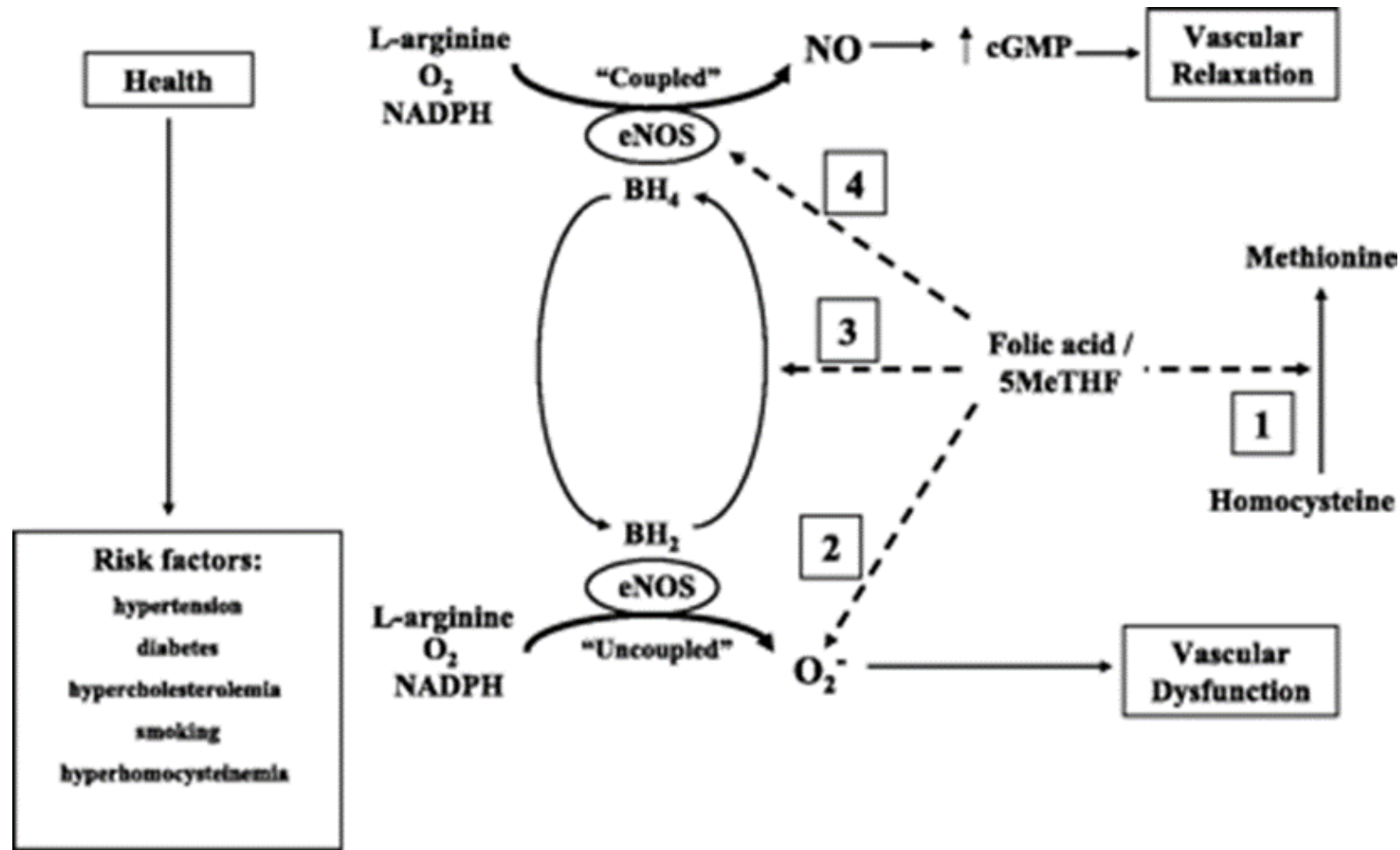
▶ بالجرعة العادية ٤٠٠ ميكروغرام باليوم:

▶ يخفض 5-MeTHF الهوموسيستين في الدم عبر تشجيع إعادة التمثيل .

▶ بالجرعة العالية (٢٠-٥٠ ملغ باليوم)^{١٤}:

▶ يخفض مستقلب 5-MeTHF الشكل البيولوجي الفعال لحمض الفوليك في الدم (من إنتاج الجذور الحرة المؤكسدة التي تخرب بطانة الأوعية)^{١٥}.

▶ يحفز 5-MeTHF أنزيم nitric oxide synthase عن طريق دوره في توليد tetrahydrobiopterin (BH4) من BH2.^{١٦}



شكل رقم (٣) : شكل ترسيمي يوضح تأثير فوليك أسيد على البطانة الوعائية .

التشخيص

أولاً : إن ارتفاع الهوموسيستين في سوائل الجسم : هي الموجودات المخبرية المشخصة .

١- في البول :

يجرى اختبار يدعى الكشف اللوني عن الهوموسيستين في البول ، حيث يتحول لون البول إلى الأحمر الغامق بعد إضافة محلول سيانيد الصوديوم ٥% ثم محلول نيتروبروسيد الصوديوم ٥%.

٢- في الدم:

يتم إجراء عيار الهوموسيستين الإجمالي بالدم ، وهذا يتطلب صيام ٨ ساعات على الأقل قبل الاختبار . ومن الهام إجراء رحلان حموض أمينية في الدم ، مما يساعد في تقييم الميثيونين و السيسيتين

ثانياً :المعايرة الأنزيمية :

بالإمكان تأكيد تشخيص بيلة الهوموسيستين الكلاسيكية بمقايضة فعالية الأنزيم CbS في عينات خزعة الكبد أو في الأرومات الليفية المزروعة . ويمكن إجراء التشخيص قبل الولادة عن طريق مقايضة فعالية الأنزيم CbS في الخلايا الأمينوسية المزروعة أو في خزعة الزغابات الكوريونية .

وتقدر الفعالية الطبيعية لأنزيم CbS بين ٣,٧ - ٦٠ وحدة / ملغ بروتين بينما تبلغ في المصابين ببيلة الهوموسيستين ٠ - ١,٨ وحدة / ملغ بروتين .

ثالثاً الدراسة الوراثية الجزيئية :

حيث يتم الكشف عن الطفرة في مورثة أنزيم CbS

المعالجة

هدف المعالجة : ضبط مستوى الهوموسيستين في الدم مهما كان سبب ارتفاعه لمنع المشاكل و الاختلاطات المرافقة.

تدبير بيلة الهوموسيستين الكلاسيكية

▶ فيتامين B6 (١٠٠-٥٠٠ ملغ) يومياً

▶ **حماية منخفضة الميتونين مع تعويض السيستين :**

تقدر الكمية المسموح بها من الميثيونين يوميا" بمايلي ^{١٨}:

❖ مرحلة الرضاعة ٢٠-٢٥ ملغ/ كغ من وزن الجسم .

❖ ١٠-١٥ ملغ /كغ في الأعمار الأكبر .

❖ ٨-١٠ ملغ / كغ من وزن الجسم عند البالغ .

وتعدل هذه الكميات بحيث نحافظ على المستوى المصلي للميثيونين ما دون ٤٠ ميكرومول / لتر.

❖ ويعطى السيستين يوميا" بمعل ١٠٠-٣٠٠ ملغ / كغ من وزن الجسم ، بحيث نحافظ على مستوياته الدموية بحدود ٦٧ ميكرومول / لتر .

▶ **البيتائين Betain وفيتامين B9 وB12: لتحفيز إعادة تمثيل الهوموسيستين**

تدبير بيلة الهوموسيستين الناجمة عن عوز MTHFR

- ▶ إعطاء الفولات (بجرعة لا تقل عن ٤٠٠ مكغ يومياً)
- ▶ البيتاين
- ▶ B12
- ▶ قد يحتاج الى إعطاء الميتونين

تدبير بيلة الهوموسيستين الناجمة عن عيوب الكوبولامين

▶ B12 عضلياً

▶ B9

▶ البيتاين

► أثبتت الدراسات أن الالتزام بالمعالجة و ضبط عيار الهوموسيستين في الدم يعطي فرصة الأطفال لتحقيق نمو طبيعي و درجة جيدة من الذكاء ، و يحميهم من التخلف العقلي

► أما عن دور إنقاص مستوى الهوموسيستين في إنقاص خطر الخثرات الوعائية فما زال غير واضحاً^{٢٤}.

الوقاية من الخثار

عن طريق إعطاء الاسبيرين أو الوارفارين (مع ضبط INR)

المسح عند الولادة :

- ▶ أصبح تحري بيلة الهوموسيستين الكلاسيكية عند الولادة إجراء "روتينيا" في العديد من البلدان ولكن لا يوجد في سوريا حتى اليوم برنامج يعنى بنخل الوليد إلا عند الشك الإفرادي
- ▶ يتم الاختبار بأخذ نقطة دم من الطفل وتوضع على الشريحة الخاصة بفحص المقياس الطيفي الكتلي الترادفي Tandem Mass Spectrometry، مما يسمح بتحديد مستوى الميثيونين في الدم ، يفرض ارتفاعه إجراء رحلان حموض أمينية في الدم ، فإذا وجد ارتفاع في الهوموسيستين أيضا" فنحن أمام حالة عوز أنزيم CbS
- ▶ أما ارتفاع الميثيونين وحده فيتماشى مع عوز الأنزيم الكبدي ميثيونين أدينوزيل ترانسفيراز^{٣٦} methionine adenosyltransferase

أهم أسباب الخثرات الوعائية غير المرتبطة بارتفاع الهوموسيستين :

► مع تطور الدراسات والوسائل التشخيصية ، تم التأكيد على أن الخثار الوعائي عند الاطفال هو من الأمراض متعددة العوامل المؤهبة ، فوجود عامل مؤهب صريح مثل آفات القلب الولادية فقر الدم المنجلي او التجفاف لا يمنع من إجراء استقصاء شامل لبقية العوامل المؤهبة للخثار^{٢٩}

أهم أسباب الخثرات الوعائية غير المرتبطة بارتفاع الهوموسيستين :

- ▶ **الامراض القلبية :** بعض أفات القلب الولادية المزقة (رباعي فالوت) والمكتسبة (الحمى الرئوية و التهاب الشغاف)
- ▶ **الاضطرابات الدموية و الاعتلالات التخثرية :** مثل طفرة عامل لايدن (الاضطراب الاشيع)، طفرة البروترومبين G20210A ،زيادة نسبة بعض عوامل التخثر ، عوز مضادات التخثر (انتي ترومبين و بروتين C و S) واضطرابات حل الفيبرين
- ▶ **الامراض الدموية الأخرى** مثل الابيضاضات وفرط الصفيحات
- ▶ **التهابات الاوعية**
- ▶ **الرضوض**
- ▶ **الأسباب الاستقلابية** مثل فرط الشحوم و فرط حمض اللبن
- ▶ **التشوهات الوعائية**

القسم العملي

أهداف البحث

- ▶ رصد شيوع حالات الخثار الوعائي بين الاطفال المراجعين والمقبولين في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق (خارج مرحلة الوليد : أكبر من ٢٨ يوما") .
- ▶ التأكيد على واقع كون الخثرات الوعائية عند الأطفال من الأمراض متعددة العوامل المؤهبة .
- ▶ رصد اضطرابات استقلاب الميثيونين (و فرط هوموسيستين الدم) من حيث تواترها في الخثرات الوعائية ، أسس تشخيصها ، طرق المعالجة المتوفرة والمطبقة ، ودرجة الاستجابة والعقابيل .

► تصميم الدراسة :

دراسة مستعرضة راجعة وصفية تحليلية لجمهرة

Cross sectional Retrospective Analytic Descriptive Study

► مكان وزمان الدراسة :

مستشفى الأطفال الجامعيّ بدمشق في الفترة الزّمنيّة الممتدّة بين ١/١/٢٠٠٦ وحتى ٣١/١٢/٢٠١٠.

مجموعة الدراسة (العينة) :

الأطفال المقبولون في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق ، و الذين تتراوح أعمارهم بين ٢٩ يوماً و ١٣ عاماً (أي تم استثناء قسم الخديج والوليد من الدراسة) و الشخص لديهم خثرات وعائية دماغية (شريانية أو ريدية) .

معايير الإدخال في الدراسة و الاستبعاد :

- ١- أن يكون الطفل قد قبل في أقسام المستشفى المختصة بالدراسة والمعالجة ، ولم يقتصر قبوله على قسم الإسعاف أو الإقامة المؤقتة .
- ٢- وجود إثبات شعاعي على الإصابة الخثرية .
- ٣- وجود دراسة خثرية مجرة ونتائجها موثقة في ملف الطفل .

طرائق الدراسة :

-دراسة ملفّات الأطفال المشخص لديهم خثرات وعائية (خثار، احتشاء، إقفار وعائي) في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق خلال الفترة المذكورة .

-استخراج المعلومات السريرية (القصة السريرية ،السوابق المرضية الشخصية والعائلية ، موجودات الفحص السريري وتطورات ، ونتائج فحص قعر العين والاورساط الكاسرة) وفق استمارة بحث.

-تدوين التحاليل المخبرية و الاستقصاءات المجراة ، والتي تضمنت (تعداد الدم الكامل، زمن البروثرومبين و البروثرومبين، الدراسة الخثرية و شملت طفرة لايدن (عامل التخثر الخامس)، طفرة البروثرومبين، البروتين C، البروتين S، أنثي ترومبين III، أضداد الفوسفوليبيد، الفيبrynوجين، عيار هوموسيستين الدم، رحلان الأحماض الأمينية، فعالية العامل الثامن، طفرة الـ MTHFR، عيار الشحوم الثلاثية والكوليسترول) .

-تم اعتبار القيم الطبيعية لهوموسيستين الدم تتراوح بين ١٥-٥ ميكرومول / لتر ، و تصنيف ارتفاعه إلى :

- خفيف : بين ١٥ - ٣٠ ميكرومول/لتر .
- متوسط : بين ٣٠ - ١٠٠ ميكرومول/لتر .
- شديد : أكبر أو يساوي ١٠٠ ميكرومول/لتر

- متابعة نتائج المعالجة ونسبة الاستجابة للفيتامين B9, B6, B12، مع حمية ناقصة البروتين في الحالات التي شخص لها بيلة الهوموسستين الكلاسيكية.

النتائج

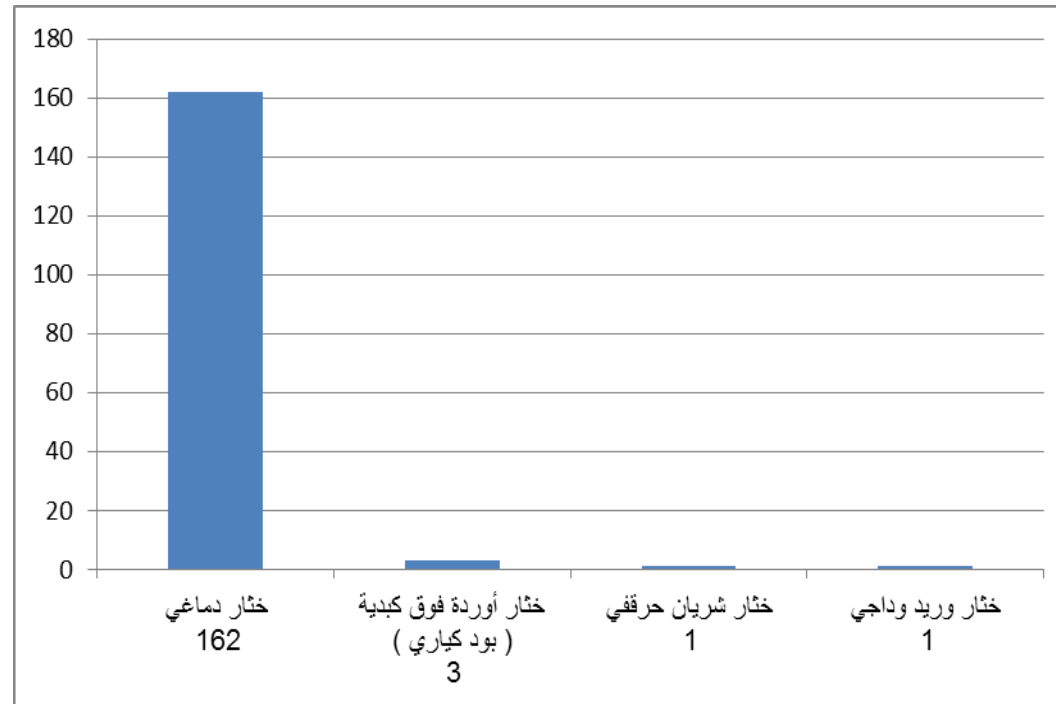
- ▶ من أصل ١٤٨٩٥٥ حالة قبلت في مستشفى الأطفال (خارج قسم الحواضن) خلال فترة الدراسة كان عدد حالات الخثار الوعائي ١٦٧ حالة ، مما يشكل نسبة ١١,٢١ من كل ١٠٠٠٠ قبول .
- ▶ و شكل الذكور وعددهم ٧٥ طفلاً (٤٤,٩١ %) من حالات الخثار ، وشكل الإناث وعددهن ٩٢ طفلة (٥٥,٠٨ %) من الحالات ، فنسبة الذكور إلى الإناث ٠,٨١ .
- ▶ و بلغ العمر الوسطي للحالات ٣,٩٧ سنة مع انحراف معياري ٢,١٢ ، و كان ٤١,٩١ % من الاطفال بعمر سنتين فما دون ، جدول رقم (١) .
- ▶ تم استبعاد ثمانية ملفات لعدم استكمال الدراسة الخثرية فيها بشكل واضح .

العمر بالسنة	التكرار	النسبة المئوية
شهر- ٢ سنة	٧٠	% ٤١.٩١
٢ سنة - ٤ سنة	٢٤	% ١٤.٣٧
٤ سنة - ٦ سنة	٣٠	% ١٧.٩٦
٦ سنة - ٨ سنة	٢٣	% ١٢.٧٧
٨ سنة - ١٠ سنة	٩	% ٥.٢٨
١٠ سنة - ١٢ سنة	١١	% ٦.٥٨
المجموع	١٦٧	% ١٠٠

جدول رقم (١) التوزيع العمري لأطفال الخثار الوعائي

اشيع الإصابات الخثرية عند مرضى الدراسة

وجد أن الخثار الوعائي الدماغي هو الخثار الأكثر توارداً عند الأطفال في الدراسة ، إذ بلغت نسبته المئوية ٩٧% ، أما الخثرات غير الدماغية فهي فقط خمس حالات ، كما يظهر الشكل رقم (١) .



الشكل رقم (١) يبين توزيع حالات الخثار الوعائي تشريحياً

توزع مرضى الخثار الدماغى حسب وجود عامل صريح مؤهب للخثار

توزعت حالات الخثار الدماغى ال ١٥٩ المشمولة فى دراستنا حسب وجود عامل مؤهب للخثار الوعائى على مجموعتين ، يوضحها جدول رقم (٢) :

□ **المجموعة الأولى :** Aمجموعة الأطفال الذين وجد لدى كل منهم عامل خطر صريح مؤهب للخثار الوعائى تم التعرف عليه من خلال القصة المرضية أو الفحص السريرى ، و تم تأكيده أحيانا ببعض الاستقصاءات و الفحوص المخبرية المناسبة (مثل البزل القطنى و ايكو القلب) .
وبلغت ٩٩ طفلا أى ٦٢,٢٦ % من حالات الإصابة الدماغية .

□ **المجموعة الثانية :** Bمجموعة الأطفال الذين لم يكن لدى كل منهم عامل خطر صريح مؤهب للخثار الوعائى عند القبول فى المشفى .
وبلغ عدد الأطفال فيها ٦٠ حالة أى ٣٧,٧٣ % من حالات الإصابة الوعائية الدماغية .

النسبة المئوية	عدد الحالات	المجموعة
٢٣,٨٩ %	٣٨	المجموعة A
٦,٢٨ %	١٠	
١١,٣٢ %	١٨	
٧,٥ %	١٢	
٣,٧٧ %	٦	
٤,٤٠ %	٧	
٥,٠٣ %	٨	
٦٢,٢٦ %	٩٩	
٣٧,٧٣ %	٦٠	المجموعة B
١٠٠,٠٠ %	١٥٩	المجموع

جدول رقم (٣) توزع حالات الخثار الوعائي حسب العوامل المؤهبة

توزيع مرضى الدراسة حسب عدد العوامل المؤهبة

في ٤٤,٦٥ % من حالات الخثار الدماغى توفر عدة عوامل مؤهبة للخثار (٣ فما فوق) ،

أما في ٢٢,٠١ % وجد عامل واحد فقط

وبمقارنة تكرار مؤهبات الخثار باستخدام اختبار (Chi-Square) حصلنا على الجدول رقم (٣) ، نلاحظ فيه أن قيمة (P-value = 0.000) أصغر من قيمة الدلالة الإحصائية وهذا يدل على وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرار العوامل المؤهبة للخثار الوعائى الدماغى .

عدد العوامل المؤهبة	عدد الحالات	النسبة المئوية	Chi-square	df	P-Value
0	7	4.40%	53.101	3	0.000
1	35	22.01%			
2	46	28.93%			
3	71	44.65%			
المجموع	159	100.00%			

جدول رقم (٣) يبين عدد العوامل المؤهبة للخثار الوعائى الدماغى ونتائج اختبار Chi-square وقيمة معنويته

توزع نسب الاضطرابات التخثرية بين مرضى الدراسة

- وحسب الدراسة الخثرية فإن أشيع الاضطرابات الوراثية المشخصة المؤهلة للخثار هي طفرة عامل التخثر الخامس (المعروفة بطفرة لايدن Leiden Factor G1961A) التي أجريت في ١٢٤ حالة من أطفال الخثار الدماغي فكانت إيجابية" في ٢٤ منها (١٧,٩١ %) ، ووجدت متخالفة اللواقح في ٢٠ حالة و متماثلة اللواقح في ٤ حالات .
- ويوضح الجدول التالي النسب المئوية لتوارد بعض الاضطرابات التخثرية عند أطفال دراستنا :

الاضطراب التخثري	النسبة المئوية من الحالات المجرى فيها
طفرة البروثرومبين	١٦%
عوز انتي ثرومبين III	٧,٢٩%
عوز بروتين C	٦,٤٥%
عوز بروتين S	٥,٢%
ارتفاع العامل الثامن	٠%

جدول رقم (٤) يبين النسب المئوية لاضطرابات التخثر الدموية

ارتفاع الهوموسيستين لدى مرضى الدراسة

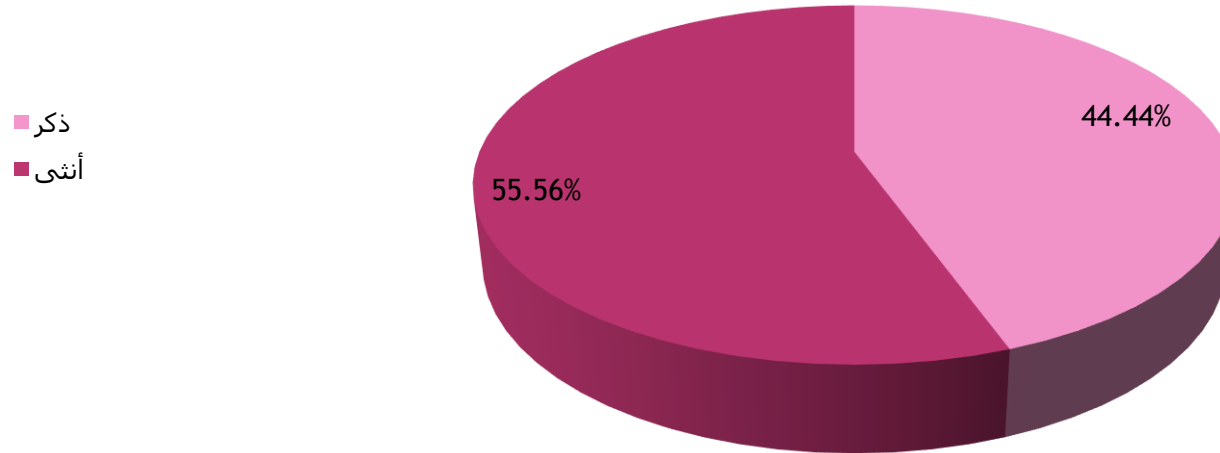
أجري عيار هوموسيستين الدم الإجمالي في ٩١ حالة - حتى وإن لم تتوفر قصة عائلية إيجابية أو موجودات سريرية هيكلية أو عينية تشير للمرض - و قد وجد مرتفعاً في ١٨ حالة (أي بنسبة ١٩,٧٨ % من الحالات التي أجري فيها التحليل)

توزعت في الفئات العمرية حسب الجدول رقم (٥) ، فكما نلاحظ إن ٥٠% من الأطفال كانوا بعمر أكبر من ٧ سنوات عند التشخيص ، و بلغ العمر الوسطي ٥,٨٣ سنة مع انحراف معياري ٤,٢٨ .

العمر بالسنة	العدد	النسبة المئوية
من شهر إلى ٢ سنة	5	27.78%
من ٢ سنة إلى ٧ سنة	4	22.22%
من ٧ سنة إلى ١٣ سنة	9	50.00%
المجموع	18	100.00%

جدول رقم (٥) يبين العدد والنسبة المئوية لتوزع الأطفال المصابين بفرط هوموسيستين وفقاً للعمر بالسنوات

أما بالنسبة للجنس فبلغ عدد الذكور ٨ (٤٤,٤٤ %) والإناث ١٠ (٥٥,٥٦ %) ، فتكون النسبة الذكور/ الإناث : ٠,٨ ، وهذا ما يوضحه الشكل رقم (٢) :



الشكل رقم (٢) يبين التوزيع النسبي لأفراد دراسة ارتفاع الهوموسيستين حسب الجنس

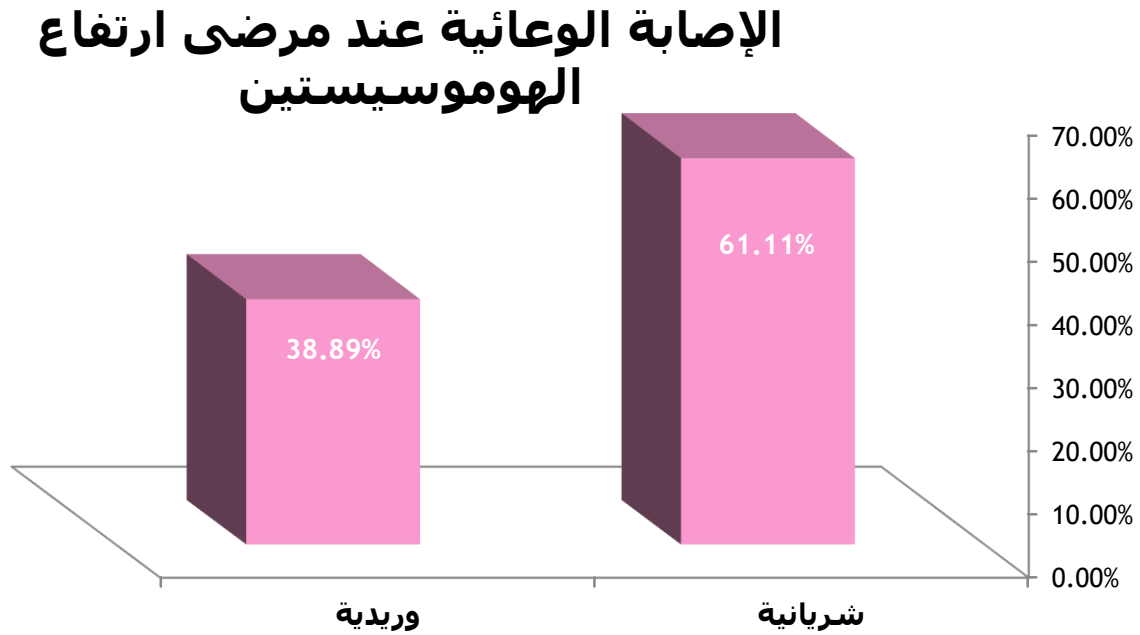
► وجد قرابة من الدرجة الرابعة عند ٤٤,٤٤% من اطفال ارتفاع الهوموسيستين

► و بمراجعة القصة المرضية تبين أن ثلاثة أطفال (١٦,٦٦%) شخص لديهم سابقا " خلع بلورة ، و أربعة (٢٢,٢٢%) لديهم تأخر تطور روعي حركي قبل مراجعة المشفى ، و هذه الحالات شخصت لاحقا " حسب الاستقصاءات كبيلة هوموسيستين كلاسيكية

► و عند ١١ طفلا " (١١,١١%) كانت الإصابة الوعائية هي مفتاح التشخيص للهوموسيستينيميا .

توزع مرضى ارتفاع الهوموسيستين حسب الإصابة الوعائية

كانت الإصابة الوعائية الدماغية شريانية في ١١ حالة من أصل ١٨ حالة ارتفاع هوموسيستين الدم أي بنسبة ٦١,١١ % ، وغالبا" توضع الإصابة في منطقة توزع الشريان المخي المتوسط .
أما الحالات السبعة الباقية فكانت الإصابة وريدية أي بنسبة ٣٨,٨٨ % ، شكل رقم (٣) .



الشكل رقم (٣) يبين التوزع النسبي لأفراد دراسة ارتفاع الهوموسيستين حسب الإصابة الوعائية

درجة ارتفاع الهوموسيستين في مرضى الدراسة

كان ارتفاع الهوموسيستين شديداً عند جميع مرضى بيلة الهوموسيستين الكلاسيكية السبعة مع أربع حالات أخرى أي بنسبة ٦٧,١١ % من إجمالي حالات فرط الهوموسيستين ، و متوسطاً عند ٢٧,٧٧ % منها و خفيفاً عند ١١,١١ % ، وبلغ وسطي عياره المصلي ٧١,٦٦ ميكرومول / لتر مع انحراف معياري ٣٦,٣٥ ، جدول رقم (٦) .

حالات الهوموسيستين المرتفع	العدد	النسبة المئوية
ارتفاع خفيف	2	11.11%
ارتفاع متوسط	5	27.78%
ارتفاع شديد	11	61.11%
المجموع	18	100.00%

جدول رقم (٦) يبين العدد والنسبة المئوية لحالات الهوموسيستين المرتفع

وبإجراء حساب لقيمة كاي سكوير مع عدد درجات الحرية لتقييم ارتباط شدة ارتفاع الهوموسيستين مع خطر الخثار ، نجد أن أن القيمة المحسوبة ل $P\text{-value} = 0.03$ و هي أصغر من مستوى الدلالة الإحصائية (0.05) وبالتالي كلما ازداد عيار هوموسيستين الدم كلما زاد خطر الإصابة الوعائية وقد أظهرته الدراسات العالمية ، جدول رقم (V) .

ارتفاع هوموسيستين	عدد الحالات	النسبة المئوية	Chi-square	df	P-Value
ارتفاع خفيف	2	11.11%	7	2	0.030
ارتفاع متوسط	5	27.78%			
ارتفاع شديد	11	61.11%			
المجموع	18	100.00%			

جدول رقم (V) يبين العدد والنسبة المئوية لارتفاع الهوموسيستين في الدراسة ونتائج اختبار Chi-square وقيمة معنويته

► بعد إجراء التقييم السريري والمخبري اللازم لأطفال ارتفاع الهوموسيستين ، وجد أنه الاضطراب الوحيد مؤهب للخطر في ٥٥,٥٥ % من الحالات ،

► و اشترك مع عوامل أخرى في ٤٤,٤٤ % من الحالات ، اثنان منها فقط هما من حالات بيلة الهوموسيستين الكلاسيكية ، توزعت الاضطرابات المشاركة كما يلي:

- طفرة عامل لايدن ايجابية في ٤ حالات (٢٢,٢٢%) ، متماثلة اللواقح في حالة واحدة ومتخالفة اللواقح في ثلاثة .
- عوز بروتين C في ٣ حالات أخرى (اثنان) .
- حالة واحدة وجد لديها إضافة لارتفاع الهوموسيستين ، عوز بروتين C وعوز بروتين S مع طفرة البروثرومبين الإيجابية . ولم يكن لدى أي من هؤلاء الأطفال أحد العوامل الواضحة المؤهبة للخطر التي ذكرت في الجدول رقم (٢) .

انتشار طفرة MTHFR بين مرضى الخثار الدماغي

أجريت طفرة MTHFR في ١٠٨ حالة من حالات الخثار الدماغي ، وكانت إيجابية متماثلة اللواقح في ١٧,٥٩% منها ، وإيجابية متخالفة اللواقح في ٣٩,٨% منها ، جدول رقم (٨) .

النسبة المئوية	عدد حالات الخثار الدماغي	
١٧,٥٩%	١٩	طفرة MTHFR متماثلة اللواقح
٣٩,٨٠%	٤٣	طفرة MTHFR متخالفة اللواقح
٥٧,٤٠%	٦٢	المجموع
٤٢,٥٩%	٤٦	طفرة MTHFR سلبية
١٠٠%	١٠٨	المجموع الكلي

جدول رقم (٨) النسبة المئوية لإيجابية طفرة MTHFR عند أطفال الخثار الدماغي

انتشار طفرة MTHFR بين مرضى ارتفاع الهوموسيستين

▶ ترافقت طفرة MTHFR الإيجابية مع ارتفاع الهوموسيستين في ١٠ حالات فقط وفق الجدول رقم (٩):

النسبة المئوية	طفرة MTHFR إيجابية	
١١,٦٢%	١٠	ارتفاع هوموسيستين الدم
٨٨,٣٧%	٧٦	هوموسيستين الدم طبيعي
١٠٠%	٨٦	المجموع

جدول رقم (٩) انتشار ترافق طفرة MTHFR مع الهوموسيستينيميا عند أطفال الخثار الدماغي

نسبة انتشار عوز B9 و B12 عند مرضى الدراسة

▶ أجري عيار فيتامينات B9,B12 في المصل لدى ١٤٣ حالة خثار دماغي ، فوجد نقص في فيتامين B12 لدى أربعين طفلاً (٢٧,٩٧ %) ، ووجد نقص في فيتامين B9 لدى ٢١ طفلاً (١٤,٦٨ %). ترافق نقص فيتامين B12 مع ارتفاع الهوموسيستين لدى ٨ أطفال (٢٠ %) ، وترافق عوز B9 مع فرط هوموسيستين الدم لدى ٧ أطفال ، جدول رقم (١٠)

النسبة المئوية	نقص فيتامين B9	النسبة المئوية	نقص فيتامين B12	
٣٣,٣٣ %	٧	٢٠ %	٨	ارتفاع هوموسيستين الدم
٦٦,٦٦ %	١٤	٨٠ %	٣٢	هوموسيستين الدم طبيعي
١٠٠ %	٢١	١٠٠ %	٤٠	المجموع

جدول رقم (١٠) ترافق عوز فيتامين B12 و فيتامين B9 مع الهوموسيستينيميا عند أطفال الخثار الدماغي

نسبة انتشار عوز B9 و B12 عند مرضى فرط الهوموسيستين

وتمت دراسة تأثير عوز B12 في ارتفاع الهوموسيستين من خلال الجدول رقم (١١) حيث نجد أن (P-value = 0.010) أصغر من مستوى الدلالة الإحصائية (٠.٠٥) أي هناك ارتباط بين ارتفاع الهوموسيستين والعوز في فيتامين B12 إذ يحدث ازدياد في عيار هوموسيستين الدم مع النقص في الفيتامين B12.

P-Value	Df	Chi-square	المجموع	عوز B12				
				طبيعي	نقص			
0.01	2	9.164	2	2	0	التكرار	خفيف	حالات ارتفاع الهوموسي ستين
			11.11%	11.11%	0.00%	النسبة المئوية		
			5	5	0	التكرار	متوسط	
			27.78%	27.78%	0.00%	النسبة المئوية		
			11	3	8	التكرار	شديد	
			61.11%	16.67%	44.44%	النسبة المئوية		
			18	10	8	التكرار	المجموع	
			100.00%	55.56%	44.44%	النسبة المئوية		

جدول رقم (١١) يبين العدد والنسبة المئوية لارتفاع الهوموسيستين في الدراسة وفقاً لنتائج عيار فيتامين B12 ونتائج اختبار Chi-square وقيمة معنويته

المعالجة و الاستجابة والعقاييل

▶ بعد تشخيص بيلة الهوموسيستين وضع الأطفال على فيتامينات B بجرعات عالية .

▶ فيتامين 500 B6 ملغ / اليوم (٢٥٠- ١٠٠٠ ملغ/اليوم)

▶ فيتامين 5-10 B9 ملغ / اليوم

▶ فيتامين 1000 B12 مكغ/ اليوم

▶ بالإضافة إلى حماية منخفضة البروتين ، وعند التخرج تم إعطاء موعد في العيادة الاستقلابية و العصبية للتقييم .

▶ و أعطيت حالات نقص فيتامينات B جرعات علاجية مناسبة مع توصيات غذائية .

□ راجع ١٣ طفلا" العيادة الاستقلابية وتم إعادة عيار هوموسيستين الدم لديهم ، و لم يلاحظ انخفاض هام في الهوموسيستين لديهم .

□ اختلفت شدة الإصابة الوعائية الدماغية بين أطفال ارتفاع الهوموسيستين ، لكنها أدت للوفاة عند طفلة واحدة فقط حيث كان الاحتشاء الدماغى لديها واسعا" ، و تكررت الإصابة الخثرية لدى طفلين من الأول أصيب بخثار شريان عضدي أثناء وجوده في المشفى ، والثاني عاد بعد سنة من تخريجه من المشفى بقصة احتشاء دماغى جديد .

□ ومن الجدير بالذكر أن الطفل الأول كان قد بدأ المعالجة بالفيتامينات عند وجوده بالمشفى ، أما الثاني فلم يلتزم بالمعالجة .

□ عانى الأطفال من درجات مختلفة من الخلل العصبى ، وصلت إلى شديد (يعتمد على غيره لإنجاز جميع نشاطاته) لدى طفلين و معتدل (صعوبات حركية يحتاج لتجهيزات مساعدة) لدى ٦ أطفال و خفيف (خزل شقي لا يحتاج تجهيزات مساعدة أو صفوف خاصة) لدى ٥ أطفال بينما لم تبقى عقاييل لدى ٤ أطفال .

المناقشة

- ▶ تتوجه أغلب الدراسات العالمية إلى أن نسبة الإصابات الخثارية عند الأطفال تزداد سنوياً، و في دراسة أجراها Sandoval وزملاؤه في امريكا نشرت عام ٢٠٠٨ لاحظ زيادة بنسبة الخثار الوريدي عند الاطفال تحت ١٨ سنة من ٠,٣ إلى ٢٨,٨ من كل ١٠٠٠٠ قبول مشفوي في السنة بين عامي ١٩٩٢ و ٢٠٠٥.^{٣٠}
- ▶ وفي دراسة Raffini وزملاؤه الأمريكية التي نشرت عام ٢٠٠٩ لوحظ زيادة بنسبة الخثار الوريدي عند الاطفال تحت ١٨ سنة من ٣٤ إلى ٨٥ حالة من كل ١٠٠٠٠ قبول مشفوي في السنة بين عامي ٢٠٠١ و ٢٠٠٧.^{٣١}
- ▶ كانت النسبة الأكبر من الخثرات الوعائية هي الخثرات الدماغية فقد بلغت ٩٧% من حجم عينة الدراسة ، ووصلت إلى نسبة ١٠,٨٧ من كل عشرة آلاف قبول خلال فترة الدراسة.
- ▶ هذا وتعد السكتات الدماغية سببا "هاما" للمراضة والوفيات عند الاطفال ، وتتراوح النسبة العامة لحدوثها عند الاطفال بين ١,٥ - ٢,٨ من كل ١٠٠٠٠٠ طفل سنوياً .

المناقشة

► وجد أن نسبة حالات الخثار الدماغي مجهولة السبب ، أو التي لم تحمل منذ القبول عامل مؤهب صريح للخثار كانت عالية في دراستنا ، وتقترب من نتائج دراسة غير منشورة أجراها د.نجم في مشفى الأطفال الجامعي بدمشق عام ٢٠٠٤ تناول فيها حالات الاحتشاء الدماغي التي راجعت المشفى خلال ذاك العام ، ووجد أنه فقط ٦٦,٦٦ % من حالات الدراسة حمل سببا "واضحا" للخثار ، وهذا أمر وجدناه في دراسة الباحث Mancini J عام ١٩٩٧ بلغت النسبة المئوية لحالات الخثرات الدماغية التي بقيت مجهولة العامل المسبب رغم الاستقصاءات تتراوح بين ٢٠-٥٠ % ٢٠.

المناقشة

- ▶ وقد وجدنا أن القسم الأعظم من الحالات فيه أكثر من عامل واحد مؤهب ، وأن ما يقارب نصف الحالات لديه ٣ عوامل فما فوق ، يمكن أن نطلق عليها مصطلح الأمراض غير الصافية ، مما يستدعي التوسع بالاستقصاءات عند مريض الخثار مع الانتباه إلى موجودات الفحص السريري والقصة السابقة فوجود خلع بلورة العين عند طفل لديه خثار وعائي ملزم لاستقصاء ارتفاع الهوموسيستين بالدم دون تأخير^{٢٩} .
- ▶ وفي دراسة د. نجم وجد أن ٦٩,٤٦ % من العدد الكلي لحالات الدراسة ، لديها أكثر من عاملين مؤهبين للخثار الوعائي بعد التوسع بالاستقصاءات المخبرية

المناقشة

► أظهرت دراستنا أن أشيع اضطراب مؤهب للتخثر هو طفرة عامل لايدن ، كما في دراسة Christine Heller وزملاؤه في جامعة فرانكفورت بألمانيا عام ٢٠٠٢ حيث بلغت نسبة طفرة عامل لايدن ١٤,٨ %^{٣٢}.

► وفي دراسة Ehrenforth S وزملاؤه عام ١٩٩٩ بلغت نسبة إيجابية طفرة لايدن ٢٧,٧١ % وكان أشيع اضطراب مورثي خثاري يشخص بين الحالات ^{٣٣}.

المناقشة

- ▶ إن نسبة ارتفاع هوموسيستين الدم كانت عالية في دراستنا (١٩,٧٨ %) ، وهذا أمر معروف عالميا" كمل في دراسة أجراها Huici و زملاؤه في اسبانيا عام ٢٠١٤ التي وجد فيها هوموسيستين الدم مرتفعا بنسبة ١٨,٧٥ % من الحالات التي أجري فيها عياره المصلي^{٣٤}
- ▶ وفي دراسة أجراها - Jasna Leniček Krleža في كرواتيا عام ٢٠١٣ بلغت نسبة ارتفاع الهوموسيستين ١٤,٨٩ % من مجموع العينة^{٣٥}
- ▶ و قد وجدنا علاقة ذات قيمة إحصائية بين مستوى هوموسيستين الدم و خطر الإصابة الوعائية وهذا ما ظهر في عدة دراسات عالمية .
- ▶ وفي الدراسة الاسبانية عام ٢٠٠١ كان ٥٠% من أطفال ارتفاع الهوموسيستين هم بعمر فوق سبع سنوات^{٣٦}
- ▶ و بذلك نستطيع أن نضع ارتفاع الهوموسيستين كعامل مؤهب للختار الوعائي في سن المدرسة لدى الاطفال ، مع وجود أرجحية طفيفة للإناث على الذكور ، و تكررت هذه الأرجحية في دراسة يابانية عام ٢٠٠٤^{٣٧}

المناقشة

وجدت أعراض توجه نحو بيلة الهوموسيستين الكلاسيكية لدى ٢٨,٨٩% من حالات ارتفاع الهوموسيستين بينما في دراسة غير منشورة أجراها د. صاتو في مشفى الأطفال الجامعي بدمشق عام ٢٠١٢ راجع فيها حالات الهوموسيستينيوريا خلال فترة ١٢ سنة من ٢٠٠٠ حتى ٢٠١١ وجد أن الداعي الرئيسي للاستشفاء عند هؤلاء المرضى كان الإصابة الوعائية في (٧٠,٨٣%) من الحالات .

وجدنا زيادة نسبة الإصابة الوعائية الدماغية الشريانية بالمقارنة مع دراسة أجراها Bilijana وزملاؤه عام ٢٠١١ في صربيا حيث كانت الإصابة شريانية في ٢٧,٦٩% من الحالات و وريدية ٧٢,٣% منها^{٣٨}

وفي دراسة أجراها Fredrico وزملاؤه عام ٢٠٠٣ في فرنسا بلغت نسبة الإصابة الشريانية ٢٦% والإصابة الوريدية ٧١% ، وكانت مشتركة في ٣%.

أما في دراسة Simorre B وزملاؤه عام ٢٠٠٢ في فرنسا كانت الإصابة الوريدية هي الأبر بالحدوث والأكثر تواردا" إذ بلغت نسبتها ٦٤%.^{٣٩}

المناقشة

▶ من الهام أن نؤكد أنه حسب الدراسة الخثارية كان ارتفاع الهوموسيستين هو الاضطراب الوحيد المؤهب للخثار عند ٥٥,٥٥% من حالات ارتفاع الهوموسيستين ، واشترك مع اضطرابات أخرى في ٤٤,٤٤% من الحالات .

▶ في دراسة أجراها Karaca عام ٢٠١٣ في تركيا تضمنت ستة أطفال مصابين ببيلة الهوموسيستين الكلاسيكية ، تم استقصاء طفرة عامل لايدن وطفرة البروثرومبين ، فوجد توزعها متشابهًا بين الحالات و لم تكن نسبة إيجابيتها أعلى لدى الحالات التي عانت من خثار وعائي ، مما يؤكد أن ارتفاع الهوموسيستين وحده كافٍ لتحريض الخثار الوعائي^{٤٠}.

المناقشة

- ▶ نلاحظ أن نسبة الطفرة MTHFR متماثلة اللواقح مرتفعة في دراستنا (٥٨,١٠ %) .
- ▶ وفي دراسة أمريكية أجريت عام ٢٠١٣ وجد أن نسبة طفرة (677TT) MTHFR متماثلة اللواقح بلغت ١٣ % أما طفرة MTHFR متخالفة اللواقح (CT ٦٧٧) فبلغت نسبتها ٢٣ %^{٤١}.
- ▶ وترافقت الطفرة الإيجابية مع ارتفاع الهوموسيستين فقط في ١١,٦٢ % من حالاتها ، وهذا ما يدعم اتهام العديد من الدراسات والأبحاث لهذه الطفرة في الخثرات الوعائية المرضية .

المناقشة

► لوحظ عوز فيتاميني B9 ,B12 لدى نسبة هامة من أطفال الدراسة ، واقتربت نتائجنا من دراسة اسبانية وجد فيها نقص فيتامين B12 لدى (٢٥,٧٦ %) من الحالات ، وترافق هذا النقص مع ارتفاع الهوموسيستين في (٤٨,٨٠ %) ^{٤٢}.

التوصيات

▶ الاحتشاءات الوعائية وخاصة الدماغية من الأمراض ذات المراضة و الوفيات المرتفعة عند الهامة عند الأطفال و لابد من استقصاء العوامل المؤهبة و منها العوامل الوراثية في كل حالة خثار خاصة طفرة العامل لايدن، عوز فيتامين B12 و B9 و ارتفاع الهوموسستين و طفرات الـ MTHFR.

▶ نشر النصح بالابتعاد عن زواج الأقارب الذي يسبب زيادة تواتر الأمراض الوراثية و منها الآفات الوراثية المسببة لارتفاع الهوموسستين و ذات الخطورة العالية في حدوث الخثرات الوعائية .

▶ لفت نظر الجهات الصحية المعنية إلى وجوب التوسع في برامج التثقيف الغذائي ، و ضرورة تأمين الأغذية الخاصة ومستلزمات الحماية الغذائية لمرضى فرط الهوموسستين.

▶ ضرورة تطبيق اختبار مسح الولدان من أجل أمراض فرط هوموسيستين الدم والعديد من الأمراض الاستقلابية و الوراثية عموماً" .

المراجع

1. Kliegman RM, Stanton BF, St. Geme J, Schor N, Behrman RE, eds.,(2011). Nelson Textbook of Pediatrics , 19th Ed.
2. Champe, PC and Harvey, RA.,(2007).Biochemistry Lippincott's Illustrated Reviews, 4th Ed.
3. Kang SS, Wong PW, Malinow MR.,(1992) Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. Annu Rev Nutr ; 12:279.
4. Homocystinuria, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM).
5. Mudd SH,CeroneR, SchiaffinoMC,et al. (2001). GlycineN-methyltransferase deficiency: a novel error causing persistent isolated hypermethioninaemia.J InheritMetab Dis.24:448-464.
6. James Leonard,(1978). Physician's Guide to the Treatment and Follow-Up of Metabolic Diseases . N Engl J Med. August 17; 299:317-323 . doi:10.1056/NEJM197808172990701
7. Shulman D., (1977). Homocystinuria in two south African negro siblings. S Afr Med J. 52 (3):127.
8. Summers KM, West JA, Peterson MM.,(2006). Challenges in the diagnosis of Marfan syndrome. Med J Aust. Jun 19;184(12):627-31.
9. McCully KS.,(1996). Homocysteine and vascular disease. Nat Med . 2:386.
10. Rixsen NP, Rongen GA, Blom HJ, Russel FG, Boers GH, and Smits P.,(2003). Potential role for adenosine in the pathogenesis of the vascular complications of hyperhomocysteinemia. Cardiovasc Res. 59: 271-276.
11. Starkebaum G, Harlan JM.,(1986). Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. J Clin Invest .77:1370.
12. Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL, et al,(1999). Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. Circulation . 100:1161.
13. McCully KS, Carvalho AC.,(1978). Homocysteine thiolactone, N-homocysteine thiolactonyl retinamide, and platelet aggregation. Res Commun Chem Pathol Pharmacol .56:349.
14. Title LM, Cummings PM, Giddens K, Genest JJ Jr, and Nassar BA,(2000). Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. J Am Coll Cardiol.36: 758-765.
15. - Doshi SN, McDowell IF, Moat SJ, Lang D, Newcombe RG,(2001). Folate improves endothelial function in coronary artery disease: an effect mediated by reduction of intracellular superoxide? Arterioscler Thromb Vasc Biol. 21: 1196-1202

16. - Stroes E, Kastelein J, Cosentino F, Erkelens W ,(1997). Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in hypercholesterolemia. J Clin Invest 99: 41-46.
17. Y. Shoji.(1998) .Acute life-threatening event with rhabdomyolysis after starting on high-dose pyridoxine therapy in an infant with homocystinuria.J Inherit Metab Dis. Jun ;21(4):439-40.
18. Perry TL, Dunn HG, Hansen S, MacDougall L, (1996).Early diagnosis and treatment of homocystinuria.Pediatrics .37: 502-5.
19. Schiff M, Blom HJ,(2012). Treatment of inherited homocystinurias. Dec ;43(6):295-304.
20. Mancini J, Girard N, Chabrol B,(1997). Ischemic cerebrovascular disease in children: Retrospective study of 35 patients. J Child Neurol 12:193-9.
21. Moat SJ, Lang D, McDowell IF, Clarke ZL, (2004). Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease. J Nutr Biochem 15: 64-79.
22. Colman, R.W.,(2003). Hemostasis and thrombosis : basic principles and clinical practice. 4th Ed.
23. Yap S.(2003). Classical homocystinuria: vascular risk and its prevention. J Inherit Metab Dis 26:259-65.
24. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, (2006). Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. N. Engl. J. Med .354:1567-77.
25. Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, (2004).Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. JAMA. 291(5):565.
26. Mudd, S.H., Levy, H.L., and Kraus, J.P., (2001). Disorders of Trans-sulferation. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. 8th Ed.,edited by Scriver, Beaudet, et al. McGraw-Hill. Chapter 88, pg. 2007-2046.
27. Abram HS., (1988). Vascular Disease.Child and Adolscent Neurology, edited by St.Louis.
28. Carolin Hoppe,MD,Alison Matsunaga,MD, (2002) .Pediatric thrombosis.Pediatric Clinics of North America 49: 1257-1283 .
29. DeVeber G. ,(2003). Risk factors for childhood stroke: little folks have different strokes!Ann Neurol.53:149-150.
30. Sandoval JA, Sheehan MP, Shafique S,(2008) Incidence, risk factors, and treatment patterns for deep venous thrombosis in hospitalized children: an increasing population at risk. J Vasc Surg 47(4):837-843.

31. Raffini L, Huang YS, Witmer C, (2009) Dramatic increase in venous thromboembolism in children's hospitals in the United States from 2001 to 2007. *Pediatrics* 124(4):1001-1008.
32. Heller C, Heinecke A, Junker R, Sträter R,(2003). Childhood Stroke Study Group. *Circulation*. Sep 16;108(11):1362-7. Epub 2003 Aug 25
33. Ehrenforth S, Junker R, Koch HG, et al. (1999). Multicentre evaluation of combined prothrombotic defects associated with thrombophilia in childhood. Childhood Thrombophilia Study Group. *Eur J Pediatr* 158:S97-104.
34. Huici-Sánchez M, Escuredo-Argullós L, Trenchs-Sáinz de la Maza V, Luaces-Cubells C.,(2014). Stroke in children. Experience in an emergency service.*Rev Neurol.* 1;59(3):106-10.
35. Jasna Leniček Krleža, Vlasta Đuranović, (2013). Multiple presence of prothrombotic risk factors in Croatian children with arterial ischemic stroke and transient ischemic attack. *Croat Med J*.54(4): 346-354.
36. Joachim ,Goldenberg NA,Bernard TJ.,(2013). The methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism (MTHFR c.677C>T) and elevated plasma homocysteine levels in a U.S. pediatric population with incident thromboembolism.*Thromb Res.* 132(2):170-4.
37. Satoh S, Shirane R, Yoshimoto T .,(2004).Clinical survey of ischemic cerebrovascular disease in children in a district of Japan. *Stroke*;22(5):586-9.
38. Biljana A. Vučković, Velibor S. Čabarkapa . Clinical significance of determining plasma homocysteine: case-control study on arterial and venous thrombotic patients.
39. Simorre B, Quéré I, Berrut G,(2002). Vascular complications of homocystinuria: a retrospective multicenter study.*Rev Med Interne*.23(3):267-72. French.
40. Karaca M, Hismi B, Ozgul RK, Karaca S, Yilmaz DY, Coskun T, Sivri HS, (2014). High prevalence of cerebral venous sinus thrombosis (CVST) as presentation of cystathionine beta-synthase deficiency in childhood: molecular and clinical findings of Turkish probands. 25;534(2):197-203. doi: 10.1016/j.gene.2013.10.060. Epub 2013 Nov 6.PMID:24211323
41. Remacha AF.,(2011).Vitamin B12 deficiency, hyperhomocysteinemia and thrombosis: a case and control study. *Int J Hematol.* 93(4):458-64.
42. [www.newbornscreening .info](http://www.newbornscreening.info)

شكراً لإصغائكم