



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية التربية

قسم علوم الحياة

تأثير فرط الحديد على بعض المعايير الكيموحيوية في ذكور الجرذان البيض

Effect of iron overload on some Biochemical Parameters in
Male White Rats

بحث تخرج مقدم من قبل الطالب

منتظر حميد حسن

القسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة القادسية كجزء من متطلبات نيل شهادة

البيكالوريوس في علوم الحياة

تأثير فرط الحديد على

أ.م.د. (البيكالوريوس في علوم الحياة)

الإهداء

إلى النهرين العظيمين اللذين فاضا عليهما سمياً وحناناً

والذي الحبيب..... والذني المحنونة

إلى استاذتي الدكتوراة اسيل نجاح

إلى كل طالب وطالبة في كلية التربية

اهدي لهم عمرة عملي وجهدي.

شكر وتقدير

الحمد لله الذي ذكره شرف للذاكرين وشكره فوز للشاكرين وحمده عز للحامدين
وطاعته نجاة للطائعين والصلاة والسلام على سيد المرسلين ((محمد وآل بيته
الطيبين الطاهرين)) وبعد عن رسول الله ((صلى الله عليه واله وسلم)) إنه قال
((من لم يشكر الناس لم يشكر الله))

فبعد الانتهاء من هذا البحث يطيب لي في مقام الشكر ان اسجل بامتنان
شكري وتقديري الى استاذتي الفاضلة
الدكتورة

((اسيل نجاح)).

كما أتقدم بشكري وامتناني الى عائلتي واصدقائي لمساندتهم لي

والبحر

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لتقييم الآثار الجانبية لفرط الحديد على صورة الدهون ، وأستخدم لهذا الغرض 10 من ذكور الجرذان البيض قسمت إلى مجموعتين متساويتين ، أعتبرت الأولى مجموعة سيطرة أما المجموعة الثانية فقد عوملت بمادة دكستران الحديد بتركيز 0.42 ملغم / مل بواقع 0.5 مل للحيوان كل اربعة أيام ولمدة 30 يوم . في نهاية التجربة أظهرت نتائج الأختبارات الكيموحيوية وجود فروق معنوية في مجموعة المعاملة حيث أظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى HDL وارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى كل من TC ، TG ، LDL ، VLDL مقارنة بمجموعة السيطرة مما يشير إلى أن فرط الحديد يمكن أن يسبب تراكم للدهون في مصل الدم .

الفصل الأول

المقدمة Introduction

الحديد Iron

يعد الحديد من العناصر الغذائية الأساسية المهمة لكل الكائنات الحية حيث انه احد المكونات الرئيسية للعديد من البروتينات وله دور مهم في العديد من الفعاليات الكيموحيوية إذ يقوم بوظيفة المرافق الإنزيمي لنقل الأوكسجين في بروتين الهيموكلوبين والمايوكلوبين وكذلك في إنزيمات السلسلة التنفسية وفي بناء الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA (Franchini *et al.* , 2008) وكذلك فان الحديد ضروري للمايكلوبين في العضلات Myoglobin وفي السايكرومات Cytochromes والإنزيمات الأخرى وتشمل الأنزيمات المضادة للأكسدة Lieu (Keya, 2006 ; et al., 2001) والحديد ضروري كمفتاح للعمليات البايولوجية والتي تشمل إنتاج خلايا الدم الحمراء و صناعة DNA والتنفس الخلوي (Aisen *et al.* , 2001 ; Andrews , 2008) . إن الكمية الطبيعية في جسم الإنسان البالغ تكون من 35 إلى 45 ملي غرام من الحديد لكل كيلو غرام من وزن الجسم و أن أغلبية الحديد مرتبط مع الهيموغلوبين في خلايا الدم الحمراء والخلايا البلعمية Macrophages في النظام الشبكي Reticuloendothelial system يزود الحديد إلى نواقل البلازما ليتم تسليمها إلى نخاع العظم تقريباً 24 ملي غرام لكل يوم ، لصناعة الهيموغلوبين في سلائف خلايا الدم الحمر (Wood & Ronnenberg , 2006 ; Andrews , 1999) وان حوالي 20 % من النساء و 50 % من الحوامل و 3 % من الرجال لايملكون مخازن من الحديد كافية إلى جانب الاختلافات ما بين الكمية من الحديد المتوفرة من الامتصاص و زيادة الطلب من الحديد، أن اغلب النساء في عمر الإنجاب تتعرض إلى نقص الحديد وتعرض للانيميا Anemia وان النساء الحوامل تتطلب كثيراً من الحديد بسبب زيادة مطالب النمو وتطور الجنين (Beard , 2000) ، والحديد الممتص من قبل الإنسان الطبيعي البالغ 1-2 فقط الحديد الموجود في مكونات الغذاء اليومية والبالغة 15 – 10 ملغم ، وتلبي هذه الكمية الممتصة تشترك في عملية تكوين الهيم Heme، أما الثلث المتبقي فهو عبارة عن الحديد غير عضوي ، إن كلاً من الحديد العضوي وغير العضوي يمتص في البطانة الطلائية لخلايا (الاثني عشر) ويخزن حوالي 30-20 % من الحديد في الخلايا الكبدية البلعمية الطلائية الشبكية وبمعدل اكبر ضمن الفرتين ونواتج تحلله التي تعرف بالهيموسدرين Hemosidrin (Kohgo *et al.* , 2008 ; Andrews , 2000) أما الحديد المتبقي فيخزن مبدئياً في المايكلوبين والسايكرومات والإنزيمات الحاوية على الحديد (Papanikoaon & Pantopoulos , 2005) .

توزيع الحديد في الجسم Distribution Of Iron in The Body

يحتوي جسم الإنسان حوالي 3-5 غم من الحديد اي حوالي 45-55 ملغم /كغم من وزن الجسم في الرجال والنساء على التوالي (Papanikolaou and Pantopoulos , 2005) إذ يمتص 1-2 % فقط من الحديد الموجود في مكونات الغذاء اليومية وبالغة 10-15 ملغم ، وأن ثلثي هذه الكمية الممتصة تشترك في عملية تكوين الهيم ، أما الثلث المتبقي فهو عبارة عن حديد غير عضوي ، إن كلا من الحديد العضوي وغير العضوي يمتص في البطانة الطلائية لخلايا الاثنى عشر ويخزن تقريبا 20-30 % من الحديد في الخلايا الكبدية والخلايا البلعمية الطلائية الشبكية وبمعدل اكبر ضمن الفرتين Ferritin ونواتج تحلله التي تعرف بالهيموسدرين Hemosidrin (Andrews , 2000 ; Kohgo et al , 2008)، أما حديد الجسم المتبقي فيخزن مبدئيا في المايوكلوبين والسايوتوكرومات والأنزيمات الحاوية على حديد (Papanikolaou and Pantopoulos , 2005) .

إن معظم الحديد الذي يحتاجه الجسم في عملية الأيض يكون ناتج من اعادة دورة الحديد المتحرر من تحطم كرية الدم الحمراء ، في حين يمثل الحديد الممتص 10 % فقط من احتياجات الجسم للحديد وبعد ذلك ينتقل الحديد إلى جهاز الدوران ويرتبط إلى بروتين الترانسفيرين Transferrin الذي ينقله إلى موقع خزنه إذ ينقله إلى طلائع كريات الدم الحمراء في نخاع العظم ليتم استخدامه في بناء الهيموكلوبين (Richardson , 2002; Kohgo et al , 2008) وإن أقصى خسارة يومية للحديد تكون في حالات النزف والتبول الدموي والتي تبلغ حوالي 4 ملغم يوميا، فمن الجدير بالذكر أن اللبائن لا تمر بأي مسار حيوي لإخراج أو طرح الحديد لذلك فإن توازن حديد الجسم يكون منظم عند مستوى امتصاص الحديد أما إذا حدث خلل في هذا التنظيم فهذا يؤدي إلى فرط أو نقص الحديد (Andrews , 2000 ; Mckie et al , 2001) .

فرط الحديد Iron overload

على الرغم من أهمية الحديد إلا إن زيادته تكون سامة للجسم وهذا بسبب التأثيرات الضارة لجذور الاوكسجين الفعالة ROS مثل جذر الهيدروكسيل (OH-) الذي ينتج من تفاعلات الفنتون Fenton Reaction ، إذ يمتلك جذر الهيدروكسيل الفعال القدرة للحث على موت الخلايا من خلال بدء سلسلة من التفاعلات الكيميائية التي تشترك فيها العديد من الجزيئات الحيوية المهمة مما يؤدي إلى أكسدة الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA وتحطم المايتوكوندريا واكسدة الدهون Lipid peroxidation (Bergeron *et al* , 2003 ; Barham *et al* , 2004) .

إن زيادة أيونات الحديد الحرة لها القدرة على التفاعل مع الدهون غير المشبعة مكونة جذر البيروكسيل Peroxyl والكوكسيل alkoxy (Lieu *et al* , 2001) وإن مثل هذه التفاعلات المؤكسدة تؤدي الى ضعف في الوظائف الخلوية وتحطم الخلايا والأنسجة والأعضاء ومثل هذه التغيرات تكون واضحة في أمراض فرط الحديد مثل الثلاسيميا – β Thalassemia ومتلازمة فرديريك Feriedreich ataxis (Schrier *et al* , 2003) لذلك فإن محتوى حديد الجسم يكون منظم بإحكام عن طريق بروتينات متخصصة التي تقوم بنقل و تخزين الحديد بشكل ذائب وغير سام وبذلك تمنع الآثار الجانبية الضارة لتفاعلات Haber – Weiss reaction (Lieu , 1997 ; Richardson and Ponka , 2001) ، وقد ينتج فرط الحديد من زيادة امتصاص الحديد الغذائي او من خلال اخذ الحديد بشكل علاج او عمليات نقل الدم أو من جميع هذه العوامل ، وبصورة عامة فإن زيادة جرعات الحديد العلاجية لاتؤدي الى فرط في الحديد ما لم يمتص الحديد بكميات كبيرة أو يرافقه عيب وراثي مرتبط مع زيادة امتصاص الحديد (Pippard , 1994 ; Hentze *et al* , 2004) .

يسبب فرط الحديد المزمن التليف الكبدي Liver fibrosis بسبب زيادة بناء الكلايوجين (Ramm *et al* , 1997) فقد أشار Britton وجماعته (2004) إلى إن زيادة التعبير الجيني للكولاجين والتي تتطور الى التليف الكبدي تكون بسبب الحديد الفائض بالإضافة إلى أنها تسبب ضعف في الجهاز المناعي فقد وجد ان الحديد غير المرتبط بالترانسفيرين والفرتين يثبط تمايز الخلايا للمفاوية (Djeha and Brock , 1992; Bergeron *et al* , 1992; Geisser , 2007) وقد سجلت اختلافات واسعة في سمية الحديد بين مختلف أملاح الحديد في النماذج الحيوانية حيث وجد ان الجرعة الفموية القاتلة LD50 في الفئران حوالي 300-800 ملغم / كغم بينما تصل إلى 200 - 800 ملغم / كغم في الجرذان (Fishbane , 2007) بينما بلغت الجرعة القاتلة في الإنسان بحدود 200-250 ملغم / كغم (Morris *et al* , 1987) .

هدف الدراسة

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم تأثير فرط الحديد على المعايير الكيموحيوية (TC ، TAG ، HDL-C ، LDL-C ، VLDL-C) في ذكور الجرذان المختبرية .

الفصل الثاني

مواد وطرائق العمل Materials and Methods

أجريت هذه الدراسة في البيت الحيواني التابع إلى قسم علوم الحياة – كلية التربية / جامعة القادسية ، وأستعملت في هذه الدراسة ذكور الجرذان البيض *Rattus norvegicus* .

وضعت حيوانات التجربة في أقفاص بلاستيكية خاصة ، ذات أغطية معدنية مشبكة ومفروشة بنشارة الخشب وتمت العناية بنظافة الأقفاص وتعقيمها بالمطهرات ، فضلاً عن تنظيف قناني الإرواء وغرفة الإيواء. خضعت حيوانات التجربة إلى ظروف مختبرية مناسبة بدرجة حرارة 20 – 25 درجة مئوية وقد زودت الحيوانات خلال مدة التجربة وبصورة حرة *ad libitum* بالماء و العليقة .

دكستران الحديد

أستعمل في هذه الدراسة مادة دكستران الحديد بتركز 0.42 ملغم/ مل وتم تجريع الحيوانات بواقع 0.5 مل لكل حيوان عن طريق الفم باستخدام أنبوب التجريع .

تصميم التجربة

أستخدم في هذه الدراسة (10) ذكور بالغة بعمر 10 أسابيع و بمعدل وزن 150غم ، حيث قسمت عشوائياً إلى مجموعتين (5 حيوانات للمجموعة) هما :

مجموعة السيطرة Control group C: أعطيت الحيوانات في هذه المجموعة ماء الشرب العادي لمدة 30 يوم .

مجموعة المعاملة الأولى T1 : جرعت الحيوانات في هذه المجموعة فمويماً بمادة دكستران الحديد بتركيز 0.42 ملغم / مل بواقع 0.5 مل للحيوان كل اربعة أيام ولمدة 30 يوم

جمع العينات Samples collection

بعد انتهاء مدة التجربة تم تخدير الحيوانات باستخدام الكلوروفورم Chloroform وسُحب الدم من القلب مباشرةً Heart Puncture بأستعمال محقنة طبية معقمة سعة 5 مل ، حيث وضع الدم في أنابيب اختبار نظيفة خالية من المادة المانعة للتخثر وتركت لمدة 15-20 دقيقة في درجة حرارة المختبر ثم وضعت العينات داخل جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة لغرض فصل المصل ، عزل المصل بوساطة ماصة دقيقة ووضع في أنابيب بلاستيكية جديدة لغرض إجراء الاختبارات الكيموحيوية وتم حفظ المصل بدرجة حرارة -20 درجة مئوية لحين الاستعمال .

التحليل الأحصائي

حللت النتائج أحصائياً وقورنت النتائج بأستخدام اختبار T عند مستوى احتمال 0.05

النتائج والمناقشة

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في مستويات كل من الكوليسترول الكلي TC والبروتين الدهني واطئ الكثافة LDL-C و البروتين الدهني واطئ الكثافة جداً VLDL-C مع حصول انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في مستوى البروتين الدهني عالي الكثافة HDL-C وكما هو موضح في الجدول (1)

جدول (1) يوضح صورة الدهون في ذكور الجرذان البيض الممرضة لفرط الحديد لدة (30) يوم مقارنة بمجموعة السيطرة

المجاميع	TC mg/dl	TG mg/dl	HDL mg/dl	LDL mg/dl	VLDL mg/dl
مجموعة السيطرة C	178 ± 2.3	127 ± 3.1	40 ± 0.6	45 ± 2.2	23 ± 0.7
مجموعة المعاملة الاولى T1	200 ± 1.06 *	137 ± 0.8 *	35 ± 0.7 *	135 ± 2.00 *	30 ± 0.70 *

الارقام تشير الى المعدل + الخطأ القياسي

علامة * تشير الى وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) بين المجموعتين لكل معيار.

ان الزيادة المفرطة للحديد في خلايا الكبد قد تؤدي الى حدوث خلل في عملية توازن الدهون Lipid homeostasis مما يؤدي الى التأثير على فعالية انزيم Hydroxyle 3- methylglutary- Co enzyme A (HMG-Co A) reductase الذي يؤدي الى حدوث اضطرابات لاسترات الكوليستيرول Cholesterol esters وهبوط فعالية انزيم Lipoprotein lipase وبالتالي زيادة نسبة الاحماض الدهنية الحرة Free fatty acids في الدم (Choi *et al* , 2010 ; Mateo-Gallepo , 2001) ، كما ان زيادة نسبة الحديد في الكبد قد تؤدي الى زيادة نسبة الساييتوكاينينات الكبدية مثل tumor necrosis factors (TNF- α) و interleukin (IL-1 β) التي تعمل على زيادة مستويات Cholesterogenic enzyme مثل HMG-Co A reductase وانخفاض تركيز انزيم α -hydroxylase Cholesterol 7 المسؤول عن عملية تقويض الكوليستيرول في الكبد (Kojima *et al* , 2004) ، بالإضافة الى ما ذكره (Dabbagh *et al* , 1997) حول تحسس مستقبلات LDL- receptors المتواجدة في جدران الاوعية الدموية لتجمع البروتينات الدهنية في البلازما مما يؤدي الى ارتفاع نسبة LDL-C في المصل ، ان تجمع LDL في المصل يكون له القابلية على اكسدة جزيئات LDL الى ox-LDL وهذا بدوره ينتج العديد من الاوكسي ستيروول Oxysterol التي لها القابلية على تثبيط فعالية مستقبلات LDL وتحفيز فعالية انزيم Cholesterol acyl transferase مؤديا الى زيادة تكوين استرات الكوليستيرول (Turbiono- Ribeiro *et al*, 2003) .

ان مستويات HDL-C في المصل ترتبط بعلاقة عكسية مع مستويات LDL-C إذ أن لل LDL دور في النقل العكسي للكوليستيرول اذ ينقله من الأنسجة المحيطية إلى الكبد لذلك فان زيادة LDL-C تسبب نقصان HDL-C (Pischon *et al* , 2005 ; Denke , 2005) .

References المصادر

- Aisen , P. ; Enns , C. & Wessling –Resnick , M. **(2001)** Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism . Int.J. Biochem cell Biol . ; 33:940 -959
- Andrews , NC. **(1999)** Disorders of iron metabolism.N.Engl. J. Med.;341:1986-1995.
- Andrews, NC. **(2000)** Inherited iron overload disorders .Curr.opin . pediatr.;12:596-602.
- Andrews , NC.**(2008)** Forging a field :the golden age of iron biology. Blood , ;112:219-230.
- Barham ,K.J. ;Masters ,C.L. &Bush ,A.L. **(2004)** Neurodegenerative Diseases and oxidative stress .Nat .Rev. Drug. Discov.;3:205-214.
- Beard , JL. **(2000)** Effectiveness and strategies of iron supplementation during pregnancy .Am. J.Clin. Nutr. ;71:12885-12945.
- Bergeron, J.; Schneider, D.; Dyck, J. L.; Joseph, A. ; Apologan, A. ; Galan, P. and Hercberg, S. **(1992)**. Iron deficiency, cell-mediated immunity and infection among 3-36 month old children living in rural togo.Nut. Res., 12 : 39-49 .
- Bergeron ,R.; Huang ,G.;Smith ,R.;Bhart,N.;McManis ,J. &Butter ,A.**(2003)** .Total synthesis and structure revision of pertrobactin Tetrahedron .; 59 :2007-2014.
- Britton, R. S.; Tavill, A. S. and Bacon, B. R. **(2004)**.Mechanism of iron toxicity.In : Iron Mechanism in Health and disease by Brock JH, Halliday, J.W.; Pippard, M.J.and Powell, L.M. (Eds). Inc. London : 311-351.
- Choie, J. W. ; Kim, S. K. and Pai, S. H. **(2001)**. Changes in serum lipid concentration during Iron depleting and after iron supplementation. Annals of clinical and laboratory science, 31(2) : 151-157.

- Dabbagh , A.J. ; Shwaery ,G.T. ; Keaney , J.F. & Frei, B. **(1997)** . Effect of iron overload and deficiency on atherosclerosis in the hypercholesterolemic rabbit *Arterioscler . Thromb . Vase .Biol. , 17 : 2638- 2645.*
- Denke, M. **(2005)**. Weighing in before the fight: Low density lipoprotein cholesterol and non -high - density lipoprotein cholesterol versus apolipoprotein B as the best predictor for coronary heart disease and the best measure of therapy . *Atheroscler. Thro. Vas. Biol., 112:3368-3377.*
- Djeha ,A. and Brock ,J. H. **(1992)**. Uptake and intra cellular Handling of iron from transferrin and iron chelates by mitogen stimulated mouse lymphocytes .*Biochim Biophys Acta. , 113(2):147-152.*
- Fishbane, S. **(2007)**. Iron management in nondialysis-dependent CKD . *Am J Kidney Dis. ,49:736-743.*
- Franchini, M.; Targher, G.; Montagnana, M. and Lippi, M. **(2008)**.Iron and Thrombosis. *Ann. Hematol., 87:167-173.*
- Geisser, P. **(2007)**. Safety and efficacy of iron (III) hydroxide polymaltose complex – *Drug- Res., 57:439-452.*
- Hentze ,M. W. ; Muckenthaler , M. U. and Andrews ,N. C. **(2004)**. Balancing acts :Molecular control of mammalian iron metabolism .*Cell ,117:285-297.*
- KeYa,H . **(2006)**. Iron metabolism and disorders. *Asian Journal of pharmacodynamics and pharmaco-kinetics, 6(1) : 5-8.*
- Kohgo, Y. ;Ikuta, K.; Ohtake, T.; Torimoto, Y. and Koto, J. **(2008)**. Body iron metabolism and pathology of iron overload, *int. J. Hematol., 88(1) : 7-15.*
- Kojima, M.;Masui, T.; Nemoto, K. and Degawa, M. **(2004)**. Lead nitrate induced development of hypercholesterolemia in rats: sterol independent gene regulation of hepatic enzymes responsible for cholesterol homeostasis.*Toxicol Lett.,154:35-44.*

- Lieu, P. T.; Heiskala, M.; Peterson, P. A. and Yang, Y. **(2001)**.The roles of iron in Health and disease.Mol Aspect Med., 22 : 1-87.
- Mateo-Gallego,R. ;Solanas-Barca,M. ; Burillo,E. ;Cenarro,A. and Civeira, M.**(2010)**. Iron deposits and dietary patterns in familial combined hyperlipidemia and familial hyper triglyceridemia.J. Physiol. Biochem . , 3:36-45.
- Mckie, A. T.; Barrow, D.; Latunde-Dada, G.O.; Rolfs, A.; Sager, G.; Mudaly, M.; Richardson, C. and Bomford, A. **(2001)**. An iron regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. Science, 291 : 1755-1759.
- Morris, J. G., A. C. Wright, L. M. Simpson, P. K. Wood, D. E. Johnson, and J. D. Oliver.**(1987)**. Virulence of *Vibrio vulnificus*: association with utilization of transferrin-bound iron, and lack of correlation with levels of cytotoxin or protease production. FEMS Microbiol. Lett. , 40:55–59.
- Papanikolaou, G. and Pantopoulos, K. **(2005)**. Iron metabolism and toxicity-Toxicol. Appl.Pharmacol. , 202 : 199-211.
- Pippard, M. J. **(1994)**.Secondary iron overload.In Brock JH, Halliday JW, pippard MJ, Powell LW, (Ed). Iron metabolism in Health and disease. Philadelphia : WB Saunders, 271-309.
- Pischon , T. ; Girman, C.; Saks, F.; 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.
- Ramm, G. A. ;Grawford, D. H. ; powell, L. W.; Walker, N. I ; Fletcher, L. M. and Halliday, J. W. **(1997)**. Hepatic Stellate Cell Activation in Genetic Haemochromatosis. J. Hematol., 26(3) : 584-592.
- Richardson, D. R. and Ponka, P. **(1997)**. The molecular mechanisms of the metabolism and transport of iron in normal and neoplastic cells.Biochem.Biophys.Acta., 1331 : 1-40.
- Richardson, D. R. **(2002)**. Iron chelators as Therapeutic agents for the treatment of Cancer. J. Lab. Clin-Med., 137 : 324-329.

Schrier , S.L. ; Centis , F. ; Verneris , M. ; Ma , l. and Angelucci , E. **(2003)** . The role of oxidant injury in the pathophysiology of human thalassemia .Redox.Rep. , 8:241- 245.

Turbino_Ribeiro, S. M. L.; Silva, M. E. ; Chianca, D. A. ; De Paula, H.; Cardoso, L. M. and Colombari, E.**(2003)**. Iron overload in Hyper cholesterolemic Rats Affects iron Homeostasis and Serum Lipid but not Blood pressure. J. Nutr., 133:15-20.

Wood ,R.& Ronnenberg ,A. **(2006)**. Minerals in :Shils , ME. ;Shike ,M.; Ross ,AC.;Caballero ,B. Cousins, RJ. ;editors .Modern nutrition In health and disease .10ed:Lippincott .Williams & Willkins ; 248-271.