A comparison of the effectiveness of Alanine amino transferase enzyme (ALT) between the hypothermia and the normal state in the liver and blood of Syrian hamsters

Dr. Hiam Fadel [*]
Dr. Sawsan Saad**
Hajar Afesa***

(Received 12 / 9 / 2021. Accepted 22 / 2 / 2022)

□ ABSTRACT □

The effect of hypothermia on the enzymatic activity of the alanine aminotransferase enzyme ALT was studied on 32 animals of Syrian hamsters of average 7-9 months and weights between (90-120) g under heat condition (25 ° C) and suitable lighting (12:12), and left for acclimatization. For a period of at least 9 weeks before the start of the experiment.

Blood samples were obtained from the heart, then centrifuged, hamster livers were excised, weighing 1.5-1 g, diluted with sucrose to a volume of 9 ml, extracts were porous and then diluted with cold distilled water. 4 test tubes (2 controls and 2 experiments) were prepared and poured into a water bath at temperatures: 10- 20 -25-30-37 for 60 minutes.

To the sample of the experiment was added 0.5 ml of 4,2-dinitrophenylhydrazine solution, to the control dinitrophenylhydrazine and 0.5 ml of the substrate. After leaving for 20 minutes, a solution of NaOH (0.4 N) was added to all samples. The chromatic intensity was measured using a spectrophotometer.

The results of this study showed that the activity of the ALT enzyme in the liver in the normal state and hypothermia is directly proportional to the rise of temperature, reaching its highest at 37° C compared to other values in the lower temperatures, but the enzymatic activity during hypothermia at 37° C was lower than its level in the normal state, while at 25 and 30 degrees Celsius, the efficiency of hypothermia was higher than the normal state, which indicates the resistance of the hamster's body to forced hypothermia as it is one of the animals that undergoes hibernation.

The efficiency of ALT in serum decreased significantly compared to its effectiveness in the liver, and this indicates decrease in the level of this enzyme in the serum.

The results of the statistical analysis showed that there was no significant differences for the effect of temperatures 30-25 on enzymatic activity, while there was significant differences between the averages of activity at degrees 37-20-15 between them in the normal state in the liver and blood, and in the case of hypothermia in the liver only.

While it was recorded in the blood in the case of thermal decline that there was significant differences for the effect of temperatures 25-15 on the activity of the enzyme, as well as significant differences at the 30 and 37 degrees compared to the other values.

Keywords : Alanine amino transferase, effectiveness, hepothermia, hamster.

[*] **Dr- Faculty of sciences, Department of Life Science , Tishreen University hiamf77@gmail.com.**
****Dr- Faculty of sciences., Departmentof chemistry, - Tishreen University . Saowsan.saad@gmail.com.**
*****M.Sc. Student, Department of Animal Life Science, Faculty of sciences,-Tishreen University. jojooo55555@gmail.com.**

مقارنة فعالية إنزيم الألانين أمينو ترانسفيراز (ALT) بين حالة الهبوط الحراري والحالة الطبيعية في كبد ودم الهامستر السوري

د. هيام فاضل*

د. سوسن سعد**

هاجر عفيصه***

(تاريخ الإيداع 12/ 9 / 2021. قُبِل للنشر في 22 / 2 / 2022)

ملخّص

تمت دراسة تأثير الهبوط الحراري على الفعالية الإنزيمية لإنزيم الألانين أمينوترانسفيراز ALT على 32 حيوان من الهامستر السوري بعمر (7– 9) أشهر وسطياً وبوزن تراوح بين (90–120)غ ضمن شروط حرارية 25 مْ وإضاءة (12:12) مناسبة، وتركت للتأقلم لمدة لا تقل عن 9 أسابيع قبل بدء التجربة.

تم الحصول على عينات الدم من القلب ، ثم تمّ تثفيل العينات بسرعة 3000 دورة / دقيقة، استؤصلت أكباد حيوانات الهامستر، ووُزن منه1– 1.5 غ، تم تمديده بالسكروز بتركيز (0.25) مول إلى حجم 9 مل، وثُفل المستخلص ثم مُدد بالماء المقطر البارد. حُضرت 4 أنابيب اختبار (2 شاهدة و2 تجربة) وصُب في كل منها0.1 مل من المستخلص النسيجي للكبد بعد التمديد أو (مصل الدم) وأُضيف إلى أنابيب التجربة فقط 0.5 مل من محلول الركازة، ثم حُضنت العينات في حمام مائي بدرجات حرارة : 10– 20–25– 30 –37 لمدة 60 دقيقة.

أُضيف إلى عينة التجربة 0.5 مل محلول 2, 4– ثنائي نتروفينيل هيدرازين، وإلى العينة الشاهدة دي نيتروفينيل هيدرازين و 0.5 مل من الركازة. أضيف إلى جميع العينات بعد تركها مدة 20 دقيقة محلول NaOH (0.4 N). وقيست الكثافة اللونية باستخدام جهاز السبيكتروفوتومتر.

بينت نتائج هذه الدراسة أن فعالية إنزيم ALT في الكبد في الحالتين الطبيعية والهبوط الحراري تتناسب طرداً مع ارتفاع الحرارة فبلغت أعلاها عند 37 مْ مقارنةً مع القيم الأخرى في الدرجات الأدنى من الحرارة، لكن الفعالية الإنزيمية أثناء الهبوط الحراري في الدرجة 37 مْ بلغت أدنى من مستواها في الحالة الطبيعية، بينما في الدرجتين 25، 30 مْ كانت الفعالية في الهبوط الحراري أعلى من مثيلاتها في الحالة الطبيعية مما يدل على مقاومة جسم الهامستر للهبوط الحراري القسري لكونه من الحيوانات التي تخضع للسبات الشتوي.

كما سجلت فعالية ALT في مصل الدم انخفاضاً واضحاً مقارنةً مع فعاليتها في الكبد وهذا يدل على انخفاض مستوى هذا الإنزيم في المصل.أظهرت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فرق معنوي لتأثير درجات الحرارة 25 – 30 مْ على فعالية الإنزيم في حين يوجد فرق معنوي بين متوسطات الفعالية عند الدرجات 15 – 20 – 37 مْ فيما بينها في الحالة الطبيعية في الكبد والدم، وفي حالة الهبوط الحراري في الكبد فقط.

بينما سجلت في الدم في حالة الهبوط الحراري وجود فرق معنوي لتأثير درجات الحرارة 15 – 25 مْ على فعالية الإنزيم وكذلك وجود فرق معنوي عند الدرجتين 30 و37 مْ مقارنة بالقيم الأخرى.

الكلمات المفتاحية: الهامستر، الفعالية، الهبوط الحراري، ألانين أمينوترانسفيراز.

***كلية العلوم – جامعة تشرين– اللاذقية– سورية hiamf77@gmail.com**

**** كلية العلوم– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية . Saowsan.saad@gmail.com**

***** طالبة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة تشرين– اللاذقية– سورية . jojooo55555@gmail.com**

مقدمة:

تقوم الكائنات الحية باستقلاب الحموض الأمينية الواردة إليها من مصدرين الأول غذائي حيث تتفكك إلى حموض أمينية حرّة خلال عملية الهضم ليتم امتصاصها ونقلها بشكل أساسي عن طريق الدم إلى الكبد المقر الرئيس لاستقلابها، وكذلك إلى أعضاء ونسج أخرى، بينما المصدر الثاني الداخلي فهو بروتينات الخلايا والنسج الذاتية وتسمى بالحموض الأمينية داخلية المنشأ، والتي تضاف إلى المصدر الأول لتشكل جميعها الحموض الأمينية الاستقلابية.

(Hochachka and Somero,1988) إن الوظيفة الأساسية للحموض الأمينية هي دورها كوحدات بناء في عملية البناء الحيوي للبروتينات، إلا أن الجزء الذي لا يستخدم في تركيب البروتينات أوغيرها من المشتقات الأخرى، لا يتراكم في الجسم بل يخضع لتحولات إنزيمية مختلفة ومنها عملية التدرك التأكسدي (karzah,1998).

يتم استقلاب الحموض الأمينية بشكل عام وفق آليتيين الأولى هي تفكك هياكلها الكربونية وتحولها إلى مستقلبات أخرى كالغلوكوز عن طريق استحداث السكر من مصدر غير سكري، أو إلى أجسام كيتونية. أما الثانية فهي الأكسدة التامة عبر دورة حمض الليمون إلى H_2O , CO_2 و ATP.

إن الخطوة الأولى في كل من الآليتين هي نزع الزمرة الأمينية Deamination أو نقلها Transamination. تكون عملية نقل الأمين فعالة جداً في الكبد وتُعرف بأنها تفاعل عكوس تُنقل خلاله الزمرة الأمينية من حمض ألفا أميني عاطي، إلى حمض ألفا كيتوني آخذ.يوجد ثلاثة حموض ألفا كيتونية مختلفة تشترك في تفاعلات نقل الأمين هي البيروفات وألفا كيتو غلوتارات وأكزالوأسيتات، ويحفز هذه التفاعلات إنزيمات نوعيّة هي الأمينوترانسفيراز amino transferase. (Babiychuk,G. *et al*, 2011).

يلعب ALT أيضًا أدوارًا مركزية في استقلاب الأحماض الأمينية مثل الترانس أميناز transaminases (Ozer,2008, Sookoian,2015).

على وجه التحديد، يتم النقل الأميني من الأسبارتات أو الألانين إلى الغلوتامات وهي منظمات إيجابية مهمة لمستويات الغلوتامات في الأنسجة (Ozer *et al*,,2008, Gallagher *et al*,2011).

بالإضافة إلى ذلك ، أظهرت دراسات سابقة أن الترانس أميناز في دم الإنسان لها نشاط نقل أميني إنزيمي فعّال (Ladue *et al* ,1954)

تتمتع ناقلات الأمين بفعالية عالية وانتشار واسع في النسج والأعضاء، مقارنة مع فعاليتها المنخفضة في الدم. إن الإنزيمات المتخصصة بالأعضاء يمكن أن تخرج إلى الدم عند تغير نفوذية الغشاء الخلوي نتيجة حدوث خلل ما. (Kochkina *et al,* 1992)

تشاهد الفعالية الأعلى لـ ALT في الكبد والبنكرياس والقلب والعضلات الهيكلية، وتزيد فعاليته في الكبد عشرة آلاف مرة عنه في مصل الدم. وتبين أن إعطاب خلية كبدية واحدة من أصل 750 كافية لزيادة ملحوظة في فعالية ALT ضمن مصل الدم. (Agress *et al*, 1952)

ترتفع مستويات ALT في الدم في مسببات مختلفة من التهاب الكبد الفيروسي إلى مرض الكبد الدهني غير الكحولي (NAFLD) وغالبًا ما تكون مؤشرات حيوية موثوقة للتأثيرات السامة للكبد(Ozer,2008,Sookoian,2015).

تحتل زيادة فعالية ALT مكانة مهمة عند احتشاء العضلة القلبية الحاد، يوجد ALT (معروف طبياً بغلوتاميك بيروفيك ترانس أميناز SGPT)، بنسبة أكبر في الكبد مع نسبة أقل في القلب والعضلات الهيكلية. يزيد التلف في أي من هذه الأنسجة مستوى الإنزيم في الدم. (Kochkina, 1998, Daze DC, 2007).

تكون فعالية ALT عند المرأة أقل منها عند الرجل. (Lelevich , 2013)

عند دراسة فعالية إنزيمات transaminases في النسج والأعضاء الحيوانية، تم العثور على عمل مختلف الإنزيمات المحفزة لنقل الأمين على نطاق واسع ضمن هذه الأنسجة وثبت وجود تغير في النشاط عند بعضها خلال المرض. (Awapara,1953, Braunstein ,1947).

يُعد الهامستر السوري من أكثر الحيوانات المخبرية انتشاراً في العالم حالياً ويوجد في المناطق الشمالية الغربية لشبه الجزيرة العربية (Harison and Bates, 1991) وفي سوريا تم الحصول على أفراد منه في مدينة حلب (Aharoni ,1932)، وهو يمتلك صفاتاً تشريحيةً وفيزيولوجيةً فريدةً تجعله نموذجاً بحثياً مرغوباً. على عكس القوارض المختبرية الأخرى شائعة الاستخدام. وهو بشكل عام حيوان شديدة التحمل ومن السهل ترويضه، والذكور أكثر طواعية وأسهل في التعامل معها، مما يجعله حيوانًا أليفًا جيدًا للمبتدئين (McLeod, 2020).

تم اختيار الهامستر السوري في الدراسات البحثية بسبب كون التمثيل الغذائي لديه يظهر تشابهًا مع التمثيل الغذائي للدهون البشرية. كما أنه عرضةً لتحريض مجموعة متنوعة من الاضطرابات الاستقلابية من خلال استخدام أنماط غذائية مختلفة. يسمح الحجم النسبي للهامستر أيضًا بإعطاء معلومات أفضل لأنظمة بيولوجية معينة بما في ذلك الجهاز التنفسي والجهاز التناسلي عند مقارنتها بالفئران. وهو عرضة لمجموعة متنوعة من المواد المسرطنة ويصاب بأورام أقل شيوعًا لدى حيوانات الأبحاث الأخرى ويظهر العديد من الخصائص الفريدة التي تجعله أنموذجاً مرغوباً للدراسات السرطانية، فيستخدم على نطاق واسع لدراسة أورام البنكرياس.

أهمية البحث وأهدافه:

يهدف البحث إلى تحديد الفعالية والتابعية الحرارية لفعالية ALT في الحالة الطبيعية للجسم في الكبد ومصل الدم، وكذلك تحديد الفعالية والتابعية الحرارية له خلال الهبوط الحراري.

تتمتع هذه الدراسة بأهمية بيولوجية وتكمن في الدور الهام لهذا الإنزيم في التفاعلات الاستقلابية الآزوتية للأحماض الأمينية، وفي التبادلات الحاصلة بين الأحماض الأمينية، الليبيدات والكربوهيدرات عند الكائنات الحية والتي تعد المصدر الرئيس لتوليد الطاقة من أجل الفعاليات الخلوية التي تتعرض لتغيرات كبيرة أثناء الهبوط الحراري.

تتجلى الأهمية الطبية باستخدام مستوى فعالية ALT كمؤشر على الحالة الوظيفية للكبد والقلب والعضلات وغيرها من أعضاء الجسم عند الإنسان والحيوان.

طرائق البحث ومواده:

حيوانات التجربة: أجريت الدراسة على 32 ذكراً من الهامستر السوري بعمر 7–9 أشهر وسطياً وبوزن تراوح بين (120– 90) غ تم شراؤها من مركز تربية الحيوانات/اللاذقية. وضعت الحيوانات في شروط مناسبة من حيث درجة الحرارة (25) مئوية والإضاءة (12/12)، وقدم لها الغذاء المناسب، وتركت للتأقلم لمدة لا تقل عن 9 أسابيع قبل بدء التجربة.

الدراسة الحيوية الكيميائية:

تم تخدير الحيوانات وفتح بطونها، ومن ثم الحصول على عينات الدم مباشرة من القلب بوساطة إبرة حقن سعة 3 مل أُدخلت عن طريق ذروة القلب و تُركت عينات الدم بعد الحصول عليها بدرجة حرارة 4 مْ لمدة (15- 20) دقيقة لحين

تشكل خثره في أسفل الأنابيب الجافة، ثم تمّ تثفيل العينات بسرعة 3000 دورة / دقيقة، وفصل المصل عن بقية مكونات الدم، ووُضع في أنابيب زجاجية مجهزة بغطاء ومبردة. بعد ذلك، استؤصلت أكباد حيوانات الهامستر ثم نُظفت جيدا بالماء المقطر البارد جداً، ووُزن منه 1– 1.5 غ، تم تمديده بالسكروز بتركيز (0.25) مول إلى حجم 9 مل، وُثفل المستخلص بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق.

تم تحديد فعالية ALT في الرشاحة (السائل الرائق) بعد التمديد وتعتمد عملية تحديده على أساس التفاعل اللوني الذي يخضع لقانون « لومبيرت بيرا » بحيث لا يزيد تركيز البيروفات في العينة عن 2 ميكرو مول لذلك يمدد المستخلص النسيجي بالماء المقطر البارد جداً خلال التحضير. حُضرت 4 أنابيب اختبار (2 شاهدة و2 تجربة) وصُب في كل منها0.1 مل من المستخلص النسيجي للكبد بعد التمديد أو (مصل الدم) وأُضيف إلى أنابيب التجربة فقط 0.5 مل من محلول الركازة (يتم بشكل مسبق تسخين سائل الركازة في حمام مائي إلى درجة الحرارة المماثلة لدرجة الحضن)، ثم حُضنت العينات في حمام مائي بدرجات حرارة : 10– 20–25– 30 –37 لمدة 60 دقيقة.

أُضيف إلى عينة التجربة وإلى العينة الشاهدة 0.5 مل محلول 2, 4– ثنائي نتروفينيل هيدرازين، وإلى العينة الشاهدة (فقط) يُضاف بعد إضافة دي نيتروفينيل هيدرازين 0.5 مل من الركازة.

تُركت العينات لمدة 20 دقيقة في درجة حرارة الغرفة ثم أُضيف إلى جميع الأنابيب 0.5 مل من محلول NaOH 0.4) (N. مُزجت بشكل جيد وقيست الكثافة اللونية بجهاز السبيكتروفوتومتر عبر مرشح بطول موجة 405 نانو متر بعد مضي 30 دقيقة.

خُفّضت درجة حرارة جسم الهامستر في الحوض المُصنع مسبقاً إلى الدرجة 15 مْ في حالة الهبوط الحراري واتبعت نفس الخطوات السابقة.

حُددت فعالية ALT بكمية البيروفات الناتجة إنزيمياً، وأمكن تحديدها من خلال الفرق في شدة تلون الهيدرازون كيتو أسيد بين التجربة والشاهد.

تحديد فعالية الأمينوترانسفيراز:

حُضرت عينات من المحلول المعياري للبيروفات بتراكيز متدرجة بين بين 0.05 ← 30 .0 ميكرومول حيث حجم كل عينة هو 0.5 مل وكل منها يحوي على الترتيب 0.05 ، 0.10 ، 0.15 ، 0.20 ، 0.25 ، 0.30 ميكرومول من البيروفات، أضُيف إليها 0.5 مل من 2, 4– ثنائي نتروفينيل هيدرازين، وتُركت في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة، بعد ذلك أُضيف إليها 0.5 مل من محلول NaOH (0.4 N) ، تُخلط جيداً وبعد نصف ساعة، قيست الكثافة اللونية مباشرة باستخدام مرشح 405 نانومتر.

تُعرف فعالية الإنزيم بأنها كمية الإنزيم اللازمة لتحويل ميكرومول واحد من الركازة إلى نواتج نهائية في الدقيقة وفي الشروط القياسية لعمل الإنزيم وتقدر بالميكرومول في الساعه لكل ميلليلتر (ميكرومول/ مل/ساعة) أو لكل غرام (ميكرومول/غ/ ساعة).

حُسبت الفعالية بالنسبة للدم حسب العلاقة التالية: $E\ (\mu m/h/ml) = \frac{a \times C \times F}{V}$

حُسبت الفعالية بالنسبة للكبد حسب العلاقة التالية: $E\ (\mu m/h/g) = \frac{a \times C \times F}{W}$

حيث E : الفعالية

C : عامل التمديد = 4 مرات بالنسبة للدم ، C :عامل التمديد = 200 مرة بالنسبة للكبد

F : معامل التصحيح = 10

V : حجم الدم

W : وزن الكبد

a : محتوى المصل أو النسيج الكبدي من البيروفات التي تم الحصول عليها من الخط البياني المعياري

التحليل الإحصائي:

تمّ تحليل النتائج إحصائياً باستخدام برنامج الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية (SPSS Statistical Package For Social Sciences) بطريقة One-way ANOVA بوساطة الآتي:

أ- المتوسطات الحسابية والأخطاء المعيارية.

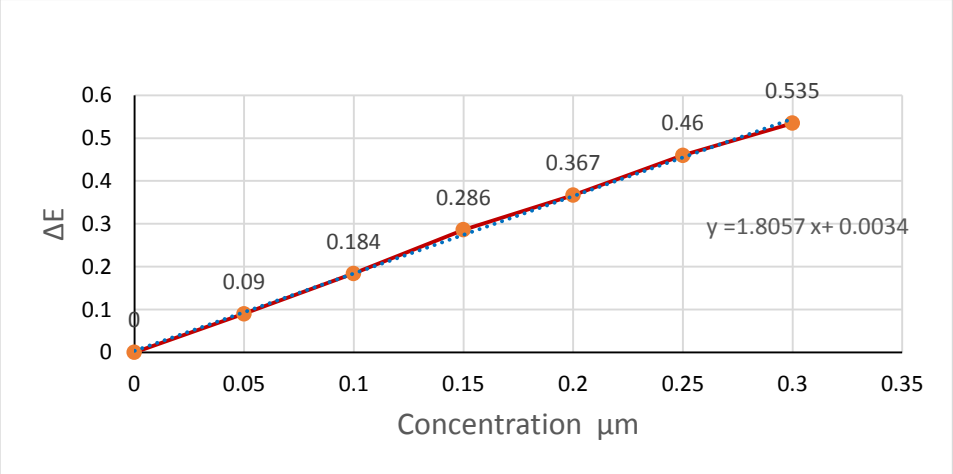
ب- اختبار دانكان وذلك عند مستوى أهمية إحصائية 5%

جـ- المخططات البيانية باستخدام برنامج excel 2007.

النتائج والمناقشة:

اعتماداً على العينات المُحضرة من المحلول المعياري للبيروفات بالتراكيز المذكورة سابقاً وبعد قياس الكثافة اللونية مباشرة في جميع العينات باستخدام مرشح 405 نانومتر، تم إنشاء الخط البياني المعياري.

تحسب كمية البيروفات بالميكرومول الموافقة للفرق في الكثافة اللونية (ΔE) لمحلول الهيدرازون بين تجربتي العينة والشاهد من أجل حساب فعالية الإنزيم في 1 غ للنسيج المدروس من خلال الخط البياني المعياري (الشكل 1).



الشكل (1) الامتصاصية بدلالة تراكيز متدرجة من البيروفات

يبين الجدول (1) المتوسطات والأخطاء المعيارية للإنزيم المدروس.

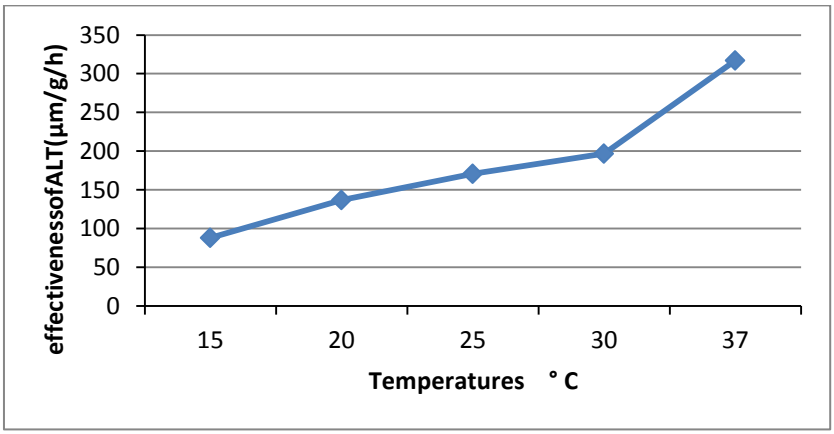
جدول (1) المتوسطات والأخطاء المعيارية لإنزيم ALT.

حالة هبوط حراري		الحالة الطبيعية		الفعالية / الحرارة
ALT		ALT		
الدم	الكبد	الدم	الكبد	
Mean±Std	Mean±Std	Mean±Std	Mean±Std	
0.45±0.09^{a}	120±20.0^{a}	0.48±0.06^{a}	88±9.5^{a}	15
0.65±0.06^{ab}	168±20.7^{b}	0.48±0.06^{a}	136.8±20.7^{b}	20
0.82±0.09^{bc}	226.6±11.5^{c}	0.55±0.10^{a}	170.7±11.0^{c}	25
1±0.19^{c}	±30.5^{cd} 253.3	0.57±0.11^{a}	196.7±12.2^{c}	30
1.30±0.28^{d}	282±14.1^{d}	0.74±0.09^{b}	317±25.7^{d}	37

- تأثير درجات الحرارة على فعالية إنزيم ALT

1- فعالية إنزيم ALT في الكبد في الحالة الطبيعية

يبين الشكل التالي التغيرات في فعالية إنزيم AlT في الحالة الطبيعية في الكبد



الشكل(2): التغيرات في فعالية إنزيم ALT في الكبد في الحالة الطبيعية بين الدرجات المختلفة

يلاحظ فيه أن الفعالية الإنزيمية تتناسب طرداً مع ارتفاع درجة الحرارة فبلغت أدناها في الدرجة 15 مْ حيث سجلت (88) ميكرومول/غ/ ساعة وأعلاها في الدرجة 37 مْ حيث سجلت (317) ميكرومول/غ/ ساعة.

الجدول (2) فعالية إنزيم ALT في الكبد في الحالة الطبيعية

الفعالية	الحرارة
Mean±Std	
88±9.5[a]	**15**
136.8±20.7[b]	**20**
170.7±11.0[c]	**25**
196.7±12.2[c]	**30**
317±25.7[d]	**37**

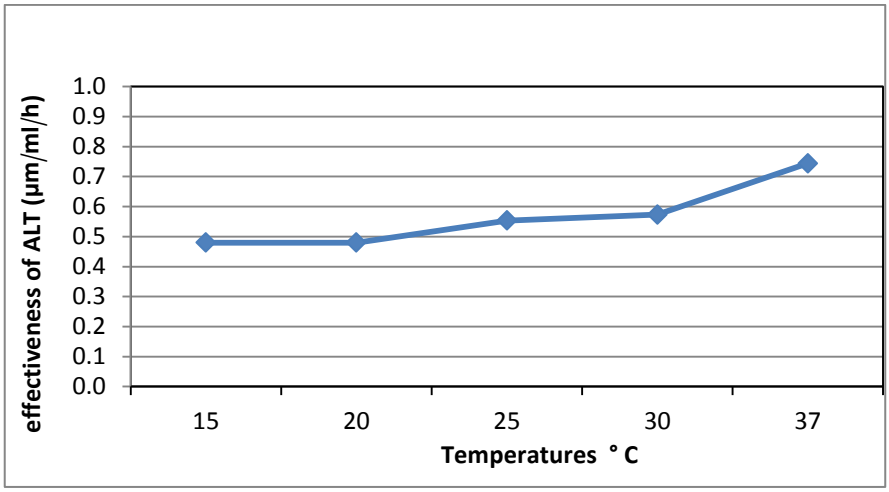
الجدول (3) فعالية في الدم في الهبوط الحراري بطريقة Duncan[a,b]

الحرارة	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
15	4	88.0000			
20	5		136.8000		
25	3			170.6667	
30	3			196.6667	
37	4				317.0000

لوحظ عدم وجود فرق معنوي PValue= 0.00 < 0.05 لتأثير درجات الحرارة 25- 30 مْ على فعالية الإنزيم في حين يوجد فرق معنوي بين متوسطات الفعالية عند الدرجات15- 20- 37 مْ فيما بينها.

2- فعالية إنزيم ALT في الدم في الحالة الطبيعية

يبين الشكل التالي التغيرات في فعالية إنزيم ALT في الحالة الطبيعية في الدم



الشكل (3): التغيرات في فعالية إنزيم ALT في الحالة الطبيعية في الدم

يبين الشكل أن فعالية الإنزيم منخفضة في مختلف درجات الحضن وأظهرت ارتفاعاً بسيطاً في الدرجة 37 مْ حيث كانت (0.74) ميكرومول/مل/ ساعة ثم انخفضت تدريجياً مع الانتقال إلى الدرجات الأدنى للحضن وكانت أدناها في الدرجة 15 مْ حيث سجلت (0.48) ميكرومول/مل/ ساعة.

بينت الدراسة الإحصائية P–Value= 0.001<0.05 عدم وجود فرق معنوي لتأثير درجات الحرارة 15– 20– 25– 30 مْ على فعالية الإنزيم في حين يوجد فرق معنوي بين متوسطات الفعالية عند الدرجة 37 مْ مقارنة مع القيم الأخرى كما في الجدول (4) و(5).

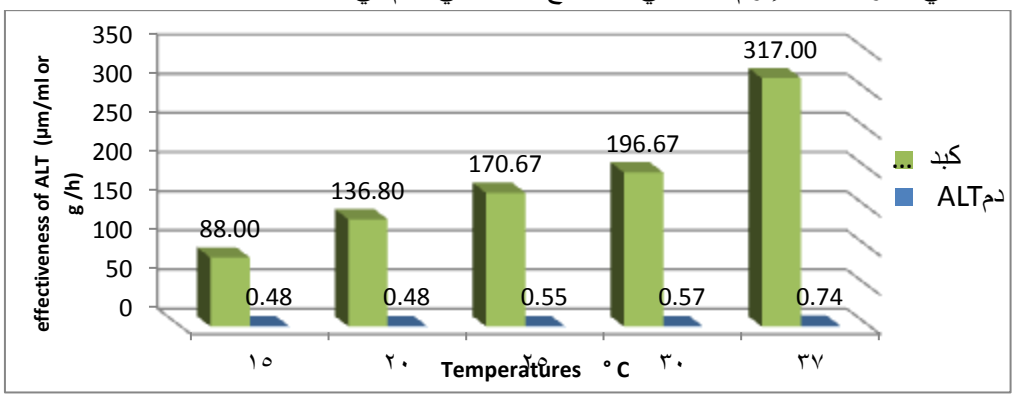
الجدول (4) فعالية إنزيم ALT في الكبد في الحالة الطبيعية

الفعالية	
Mean±Std	
0.48±0.06[a]	
0.48±0.06[a]	**الحرارة**
0.55±0.10[a]	
0.57±0.11[a]	**15**
0.74±0.09[b]	**37**

الحرارة	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
20	5	.4800	
15	5	.4800	
25	6	.5533	
30	6	.5733	
37	5		.7440

3- مقارنة فعالية إنزيم ALT في الكبد مع فعاليته في الدم في الحالة الطبيعية:

يبين الشكل التالي مقارنة فعالية إنزيم ALT في الكبد مع فعاليته في الدم في الحالة الطبيعية



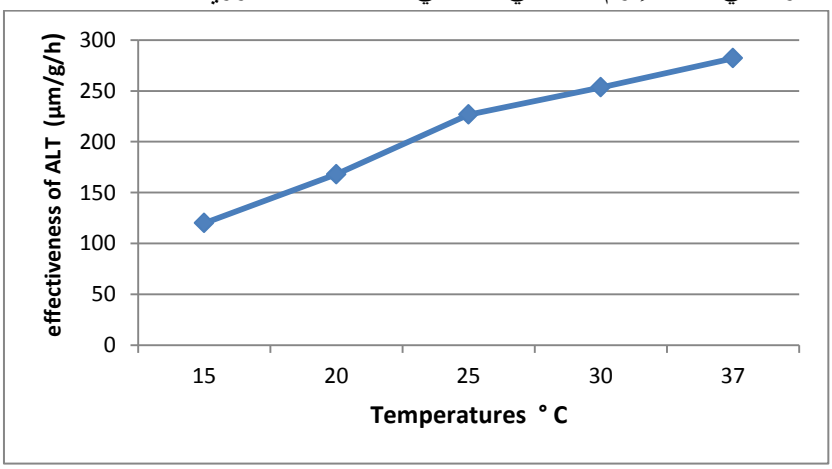
الشكل (4) فعالية إنزيم ALT في الكبد مع فعاليته في الدم في الحالة الطبيعية

يظهر الشكل ارتفاع قيم فعالية الإنزيم في الكبد مقارنةً مع فعاليته في الدم في مختلف درجات الحضن حيث بلغت الفعالية في الكـــبد عند 15 مْ (88) ميكرومول/غ/ ساعة وفي الدم سجلت (0,48) ميكرومول/مل/ ساعة، وعند الدرجة 37 مْ بلغت الفعالية في الكبد (317) ميكرومول/غ/ ساعة، بينما في الدم سجلت(0.74) ميكرومول/غ/ساعة وهي حالة طبيعية بالنسبة للكبد كونه مصنع الإنزيم، وهذا ما أثبتته الدراسة الإحصائية عند مقارنة الفعالية في الكبد وفي الدم حيث ظهرت فروقات معنوية كبيرة في الفعالية بين الكبد والدم فبلغت فعاليته في الكبد حوالي 500 ضعف من فعاليته في الدم .

2- فعالية إنزيم ALT في حالة الهبوط الحراري:

2-1- فعالية إنزيم ALT في الكبد في حالة الهبوط الحراري

يبين الشكل (5) التغيرات في فعالية إنزيم ALT في الكبد في حالة الهبوط الحراري.



الشكل (5) التغيرات في فعالية إنزيم ALT في الكبد في حالة الهبوط الحراري.

يبين الجدولان (6) و(7) نتائج التحليل الإحصائي لدى مقارنة المتوسطات لدراسة الفروقات المعنوية في حالة الهبوط الحراري عدم وجود فرق معنوي لتأثير درجات الحرارة 25- 30 مْ وكذلك P-Value= 0.00<0.05 30- 37 مْ في حين يوجد فرق معنوي بين متوسطات الفعالية عند الدرجات 15- 20- 25- 37 مقارنةً بالقيم

الأخرى حيث سجلت أعلى قيمة عند الدرجة 37 مْ (282) ميكرومول/غ/ ساعة وعند الدرجة 15 مْ انخفضت الفعالية إلى (120) ميكرومول/غ/ ساعة .

الجدول (6): التغيرات في فعالية إنزيم ALT في الكبد في حالة الهبوط الحراري.

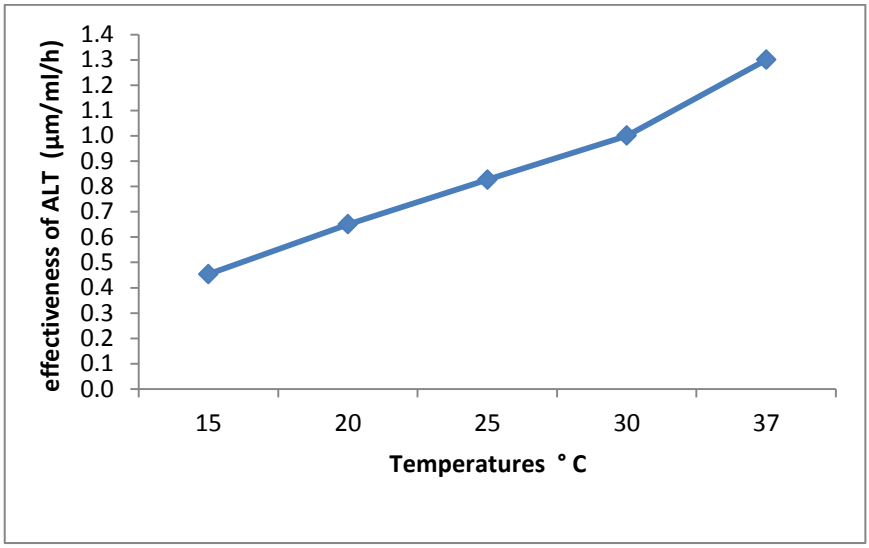
الحرارة	الفعالية
	Mean±Std
15	120±20.0[a]
20	168±20.7[b]
25	226.6±11.5[c]
30	253.3±30.5[cd]
37	282±14.1[d]

الجدول (7) فعالية الإنزيم في الدم في الهبوط الحراري بطريقةDuncana,b

الحرارة	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
15	3	120.0000			
20	3		168.0000		
25	3			226.6667	
30	3			253.3333	253.3333
37	2				282.0000

2-1- فعالية إنزيم ALT في الدم في حالة الهبوط الحراري

يبين الشكل (5) التغيرات في فعالية إنزيم ALT في الدم في حالة الهبوط الحراري.



الشكل رقم (6): التغيرات في فعالية إنزيم ALT في الدم في حالة الهبوط الحراري

يلاحظ في الشكل السابق أن الفعالية الإنزيمية تتناسب طرداً مع ارتفاع درجة الحرارة فبلغت أعلاها في الدرجة 37 مْ حيث سجلت (1.3) ميكرومول/مل/ ساعة ثم انخفضت تدريجياً مع الانتقال إلى الدرجات الأدنى للحضن وكانت أدناها في الدرجة 15 مْ حيث سجلت (0.45) ميكرومول/مل/ ساعة.

الجدول (8): التغيرات في فعالية إنزيم ALT في الدم في حالة الهبوط الحراري

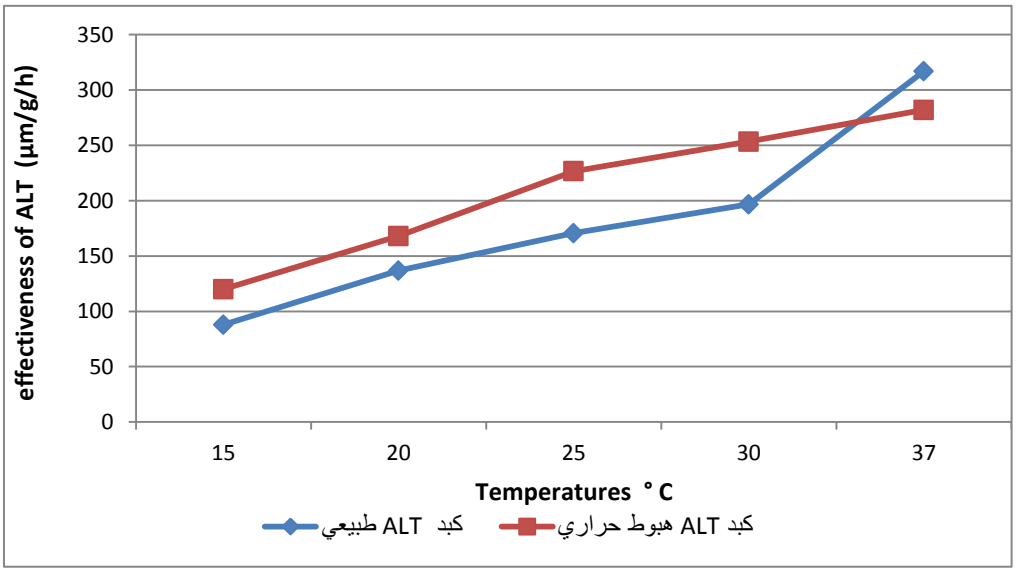
الحرارة	الفعالية
	Mean±Std
15	0.45 ± 0.09^{a}
20	0.65 ± 0.06^{ab}
25	0.82 ± 0.09^{bc}
30	1.00 ± 0.19^{c}
37	1.30 ± 0.28^{d}

الجدول (9) فعالية الإنزيم في الدم في الهبوط الحراري بطريقة Duncan[a,b]

الحرارة	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
15	3	.4533			
20	4	.6500	.6500		
25	3		.8267	.8267	
30	4			1.0000	
37	4				1.3000

أظهرت الدراسة الإحصائية P–Value= 0.00<0.05 وجود فرق معنوي لتأثير درجات الحرارة 15– 25 مْ على فعالية الإنزيم وكذلك وجود فرق معنوي بين متوسط الفعالية عند الدرجة 30 مْ وكذلك عند 37 مْ مقارنة بالقيم الأخرى كما يظهر الجدولين (8)و(9).

2–3– مقارنة فعالية إنزيم ALT في الكبد في حالتي الهبوط الحراري و الحالة الطبيعية:



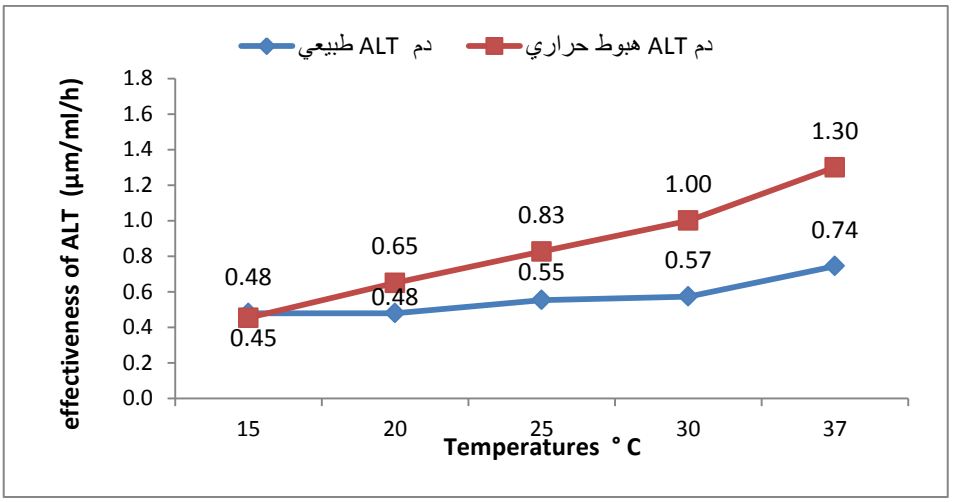
الشكل (6) مقارنة فعالية إنزيم ALT في الكبد في حالتي الهبوط الحراري والحالة الطبيعية

يُظهر الشكل (6) فعالية إنزيم ALT في الكبد في حالة الهبوط الحراري التي سجلت قيماً تفوق مثيلاتها في الحالة الطبيعية في مختلف درجات وسط الحضن، ماعدا في الدرجة 37 مْ فكان مستوى فعالية ALT في الحالة الطبيعية أعلى بشكل بسيط من حالة الهبوط الحراري، والسبب أن درجة الحرارة الفضلى للإنزيم في الحالة الطبيعية هي 37 مْ ، بينما في حالة الهبوط الحراري يحصل تعديل في البنية الفراغية للجزيئة الإنزيمية بتأثير منظمات استقلابية بحيث يؤدي

ذلك إلى زيادة فعالية هذا الإنزيم في الدرجة 30 و37 مْ ، أو قد يُعزى السبب إلى وجود نظير إنزيمي للإنزيم يعمل في الدرجات المنخفضة من الحرارة. (Mutawij,1998)

2-4- مقارنة فعالية إنزيم ALT في الدم في حالتي الهبوط الحراري و الحالة الطبيعية:

يبين الشكل (7) فعالية إنزيم ALT في الدم في حالتي الهبوط الحراري والحالة الطبيعية:



الشكل (7) فعالية إنزيم ALT في الدم في حالتي الهبوط الحراري و الحالة الطبيعية

يبين الشكل(7) تزايداً مستمراً في قيم فعالية ALT في الدم في حالتي الهبوط الحراري والحالة الطبيعية مع زيادة معنوية ملحوظة في فعالية إنزيم ALT الدم في حالة الهبوط الحراري مقارنةً مع مثيلاتها في الحالة الطبيعية في مختلف درجات وسط الحضن. بلغت الفعالية في الهبوط الحراري عند 30 مْ (1) ميكرومول/مل/ ساعة بينما في الحالة الطبيعية سجلت (0,57) ميكرومول/مل/ساعة، وعند الدرجة37 مْ بلغت الفعالية في الهبوط الحراري(1.3) ميكرومول/مل/ ساعة بينما في الحالة الطبيعية سجلت(0,74) ميكرومول/مل/ ساعة

تعزى هذه الزيادة لتسرب جزيئات الإنزيم نتيجة الأذية النسيجية للجسم بسبب تأثرها بالهبوط الحراري القسري أو بسبب تحلل بعض الخلايا الدموية، ويمكن أن يُعزى ذلك أيضاً وهو السبب الأهم إلى زيادة تركيز الألانين في الدم نتيجة النشاط الاستقلابي الزائد في النسيج العضلي للجسم بهدف إنتاج الحرارة للتعويض عن الانخفاض القسري أثناء الهبوط الحراري. إن للهبوط الحراري منعكسات ايجابية وأخرى سلبية فهو لا يؤثر فقط على الفعاليات الحيوية للجسم إنما أيضا يحدث تبدلاً وانخفاضاً في الفعالية الإنزيمية بشكل غير متناسق، وهذا ما يؤدي إلى اضطرابات في مختلف النسج والأعضاء، وهذا يظهر أهمية دراسة تأثير انخفاض الحرارة على النظم الجزيئية لأعضاء الحيوانات ذوات الحرارة الثابتة.

الاستنتاجات و التوصيات:

الاستنتاجات :

تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن:

– فعالية إنزيم الألانين أمينو ترانسفيراز في الكبد أعلى ما يكون في الدرجة 37 مْ لوسط الحضن وهي الدرجة المماثلة لحرارة جسم الهامستر وتنخفض الفعالية تدريجياً بانخفاض حرارة وسط الحضن وتصل إلى أدناها عند الدرجة 15 مْ وتتناسب فعالية إنزيمALT مع درجة الحرارة ضمن المجال الفيزيولوجي لعمل الإنزيم.

– فعالية إنزيم ALT في مصل الدم انخفضت جداً مقارنة مع فعاليته في الكبد مع أقل فروق معنوية في الدرجات المختلفة لوسط الحضن وهذا يدل على انخفاض محتوى هذا الإنزيم في المصل.

– فعالية ALT الدم في الحالة الطبيعية سجلت انخفاضاً واضحاً مما يدل على انخفاض في تركيز الإنزيم ضمن مصل الدم.

– فعالية ALT في الدم بلغت ذروتها في الدرجة 37 مْ مع زيادة معنوية ملحوظة في فعالية إنزيم ALT الدم في حالة الهبوط الحراري مقارنةً مع مثيلاتها في الحالة الطبيعية في مختلف درجات وسط الحضن. أي ترتفع مستويات ALT الدم بانخفاض درجة الحرارة ويُعزى السبب إلى زيادة تركيز الألانين في الدم نتيجة النشاط الاستقلابي الزائد في النسيج العضلي للجسم بهدف إنتاج الحرارة للتعويض عن الانخفاض القسري أثناء الهبوط الحراري.

– ترتفع مستويات ALT في الدم في مسببات مختلفة من التهاب الكبد الفيروسي إلى مرض الكبد الدهني غير الكحولي (NAFLD) وغالبًا ما تكون مؤشرات حيوية موثوقة للتأثيرات السامة للكبد واحتشاء العضلة القلبية والسكري

وتتجلى الأهمية الطبية باستخدام مستوى فعالية AIT كمؤشر على الحالة الوظيفية للكبد والقلب والعضلات وغيرها من أعضاء الجسم عند الإنسان والحيوان نظراً لأن ناقلات الأمين توجد في نسج القلب والكبد بتراكيز عالية نسبياً لذا فإن أي أذية لهذه الأعضاء ستؤدي إلى تسرب هذه الإنزيمات إلى مصل الدم وهذا يسمح بتقييم درجة الأذية القلبية أو الكبدية وتشخيص الحالة الصحية للفرد.

التوصيات:

1- تعميق هذا النوع من الأبحاث من أجل فهم عمل الإنزيمات وتأثرها بتغيرات ظروف الوسط من حرارة وغيرها، وإجراء أبحاث حول النظائر الإنزيمية، وكيف تستطيع الكائنات الحية (وبالأخص ذوات الدم البارد) تنظيم عملياتها الاستقلابية في الظروف البيئية المتغيرة والقاسية لتكون الدراسات أدقّ والنتائج أعم.

2- دراسة التغيرات في المعايير الدموية للحيوانات التي تخضع للسبات الشتوي وإمكانية الحصول على منظمات إستقلابية تفيد في الحد من التأثير الضار للهبوط الحراري على مختلف أنسجة الجسم.

3- دراسة فعالية إنزيمات الأمينوترانسفيراز في نسج أخرى كالدماغ والكلى و العضلات.

4- دراسة فعالية هذه الإنزيمات في حالة السبات الشتوي (الهبوط الحراري الطبيعي).

References:

(1) Agress, C. MI., Rosenberg, M. J., Jacobs, H. I., Bi der, M. J., Schneiderman, A., AND Clark,W. G.:Protracted shock in the closed chest log following coronary embolization with graded microspheres, Am. J. Physiol., 1952, 170: 536, .

(2) Aharoni B., 1932, Muriden von Palestina und Syrien, Zeitschrift Saugetierk,1932, (7):166-240.

(3) Awapara,J.,Effect of protein depletion on the transaminatin activities of some rat organs. J. Biol. Chem., 1953, 200, 537.

(4) Babiychuk, A. Methods for determining the activity of transferase and hydrolase, Odessa,2011, p23-24. . (In Russian).
(5) Braunstein, A. E., Transamination and the integrative functions of the dicarboxylic acids in nitrogen metabolism. Adv. Protein Chem., 1947, 3, 11.
(6) Daze, D.C, 2007 ,"The Role of Existind and novel Cardiac Biomarkers for Cardioprotection " .Curr .Opin . Investi .Drugs ,vol.8 ,n . 9 , p. 711-717.
(7) Harison DI., Bates PJJ., 1991, The mammals of Arabia. 2th ed, p354.
(8) Hochachka, P , Somero,G.N. *Biochemical Adaptation,* issuance of mir, 1988, p260
(9) Gallagher, F.A., Kettunen ,M.I., Day, S.E., Hu, D.E. , Karlsson, M., Gisselsson, A. Lerche, ,M.H.,and Brindle K.M., Detection of tumor glutamate metabolism in vivo using (13)C magnetic resonance spectroscopy and hyperpolarized [1-(13)C]glutamate, Magn. Reson. Med. 66 ,2011, p 18-23.
(10) Karazah, Ahmed. Medicinal Biochemistry, Second Edition, Directorate of Publications at the University of Aleppo, Aleppo, 1995, p. 20-28
(11) Khumpov ,E.A. *Effect of bee venom on the effectiveness of aminotransferase in blood of rats under normal conditions and during hypothermia,2013,* P 106-110. (In Russian).
(12) Kochkina,V.,Vasilev,D.,and Kuzin,A .Investigation of Free Aspartate Aminotransferase Crystals , Mol Biol (Mosk) 26 , 561 ,1992.
(13) Kochkina , V. :Enzymatic Activity of Aspartate minotransferase Crystals , Mol Biol 32 , 460 , 1998.
(14) Lelevich, C .B. *The basics of Medicinal Chemistry,* dedicated to medical students, University of Moscow State,2013, P47-48 .*(In Russian*).
(15) Ladue, J.S, Wroblewski, F., Karmen, A., :Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction, Science 120 ,1954, p 497-499.
(16) Mcleod. Lianne, Syrian Hamster (Golden Hamster) Species Profile, University of Saskatchewan,2020.
(17) Mutawij, M :Study of the activity glutaminase and asparaginase of brain in white rats in normal and hypothermic condition, Moscow, 1990.
(18) Ozer,J., Ratner, M., Shaw M., Bailey W., and Schomaker, S. The current state of serum bio-markers of hepatotoxicity, Toxicology 245 ,2008, 194-205.
(19) Sookoian, S. , Pirola, C.J., Liver enzymes, metabolomics and genome-wide association studies: from systems biology to the personalized medicine, World J. Gastroenterol. 21,2015, 711-725.