مقارنة فعالية إنزيم الاسبارتات أمينوترانسفيراز (AST) بين حالة الهبوط الحراري والحالة الطبيعية في كبد ودم الهامستر السوري

هاجر أمين عفيصه* د. هيام كامل فاضل ** د. سوسن يوسف سعد***

(الإيداع: 31 آيار 2022، القبول: 10 آيلول 2022)

الملخص:

تمت دراسة تأثير الهبوط الحراري في الفعالية الإنزيمية لإنزيم إسبارتات أمينوترانسفيراز (AST) على 32 حيوان من الهامستر السوري بعمر (7– 9) أشهر وسطياً وبوزن تراوح بين (90–120) غ.

ينتمي الهامستر السوري أو الهامستر الذهبي (Mesoicetusauratus) إلى فصيلة القوارض و يمتلك صفاتاً تشريحيةً وفيزيولوجيةً فريدةً تجعله نموذجاً بحثياً مرغوباً، وهو بشكل عام حيوان شديد التحمل ومن السهل ترويضه، والذكور أكثر طواعية وأسهل في التعامل معها.

بينت نتائج الدراسة أثناء الحالة الطبيعية ، أن فعالية إنزيمAST في الكبد تناسبت طرداً مع ارتفاع درجة الحرارة. وفي مصل الدم أظهرت النتائج عدم وجود تأثير معنوي لدرجة الحرارة في فعالية الإنزيم المدروس في الحالة الطبيعية. بينما سجلت فعالية AST في مصل الدم انخفاضاً واضحاً مقارنةً مع الكبد حيث بلغت الفعالية في الكبد عند 15 مْ (61) ميكرومول/ غ/ساعة بينما في الدم سجلت (0,48) ميكرومول/ مل/ساعة ، مما يدل على انخفاض نسبة الإنزيم في المصل.

كما بينت نتائج الدراسة أثناء الهبوط الحراري، أن فعالية إنزيمAST في الكبد في الدرجة 37 مْ لوسط الحضن وهي الدرجة المماثلة لدرجة حرارة جسم الهامستر كما انخفضت الفعالية تدريجياً بانخفاض درجة حرارة وسط الحضن ووصلت إلى أدناها عند 15 مْ.

كما أظهرت نتائج الدراسة انخفاض قيم فعالية الإنزيم في الكبد في حالة الهبوط الحراري حيث سجلت (99) ميكرومول/غ/ساعة في الدرجة 37 مْ مقارنةً مع فعاليته في الحالة الطبيعية فسجلت (323) ميكرومول/غ/ساعة عند الدرجة ذاتها، بينما في الدم ظهرت زيادة معنوية ملحوظة في فعالية إنزيمAST في حالة الهبوط الحراري مقارنةً مع مثيلاتها في الحالة الطبيعية في مختلف درجات وسط حرارة الحضن .

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

* طالبة دراسات عليا (ماجستير) – قسم علم الحياة – كلية العلوم – جامعة تشرين–اللاذقية– سورية.

** أستاذ – قسم علم الحياة – كلية العلوم – جامعة تشرين–اللاذقية– سورية.

*** أستاذ مساعد – قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة تشرين–اللاذقية– سورية.

A comparison of the effectiveness of the aspartate aminotransferase enzyme (AST) between the hypothermia and the normal state in the liver and blood of Syrian hamsters

Hajar Ameen Afesa* Dr. Hiam Kamel Fadel ** Dr: Sawsan Youssef Saad***

(Received: 31 May 2022, Accepted: 10 September2022)

Abstract:

The effect of hypothermia on the enzymatic activity of the aspartate aminotransferase enzyme AST was studied on 32 animals of Syrian hamsters of average 7-9 months and weighing between (90-120) g. The Syrian hamster or the golden hamster (Mesoicetusauratus) belongs to the rodent family and has unique anatomical and physiological characteristics that make it a desirable research model. It is generally very hard and easy to tame animal, and males are more docile and easier to handle.The results of the study during the normal state showed that the activity of the AST enzyme in the liver was directly proportional to the increase in temperature. In the blood serum, the results showed that there wasn't significant effect of temperature on the activity of the studied enzyme in the normal state. While the activity of AST in the blood serum was significantly reduced compared to that of the liver, Where as the effectiveness in the liver reached at 15 ° C (61 µm/g/h) While in the blood recorded (0,48 µm/ml/h)which indicates a decrease in the level of the enzyme in the serum.The results of the study showed that during the hypothermia, the activity of AST enzyme in the liver reached its peak at 37 °C for the brooding medium, which is the same temperature as the hamster's body temperature.The results of the study also showed a decrease in the activity of the enzyme in the liver in the case of hypothermia where recorded (99 µm/g/h) compared with its activity in the normal condition where recorded (323 µm/g/h) at the same temperature. While in the blood there was a significant increase in the activity of the enzyme AST in the case of hypothermia compared with its activity in the normal condition.

Keywords: aspartate aminotransferase, hepothermia, effectiveness, hamster.

*Postgraduate student (master of of zoology) , Department of zoology.

**Professor ,Department of zoology, Faculty of sciences ,Tishreen University, Lattakia-Syria.

***Dr . Department of chemistry, Faculty of sciences ,Tishreen University, Lattakia-Syria.

1-المقدمة:

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(1988) Somero.

أشار Lininger (1989) أن 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.

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 CO_2 , H_2O 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 .

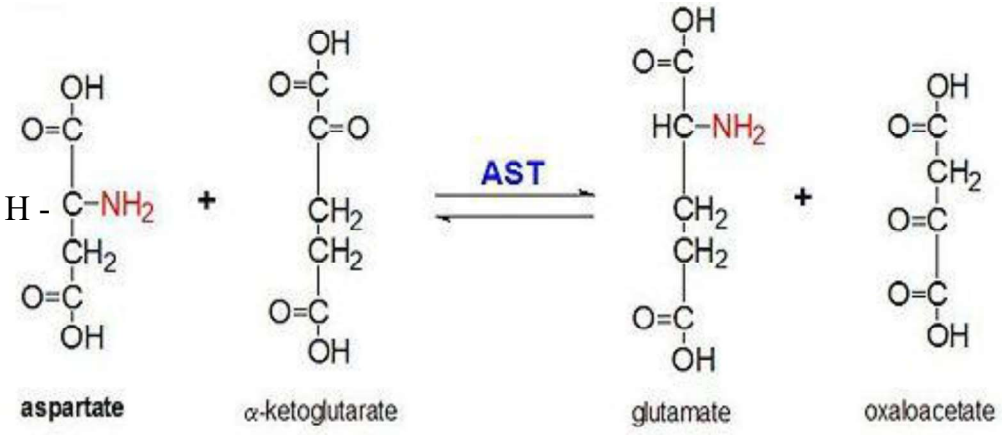
Babiychuk (2011).

يمكن اعتبار بعض التغيرات التي تطرأ على الإنزيمات الحساسة جداً، كعلامة بيوكيميائية لخلل في وظائف الكبد، وكمثال واضح عن هذه الإنزيمات (التي تعتبر من المؤشرات الكيميائية الحيوية) AST و AIT ونسبة الأمينوترانسفيراز

يوجد نوعان من إنزيم AST الأول في السيتوبلاسما الخلوية والثاني في الميتوكوندريا، ويوجد أكبر تركيز لها في القلب مقارنة مع تركيزها في الكبد، والكلى، والعضلات الهيكلية والبنكرياس ويتراوح تركيز AST في مصل دم الإنسان ما بين 8-33 وحدة دولية/ل، وفي الهامستر (28-140 U/L)(Hoosier and McPherson (1987)، وارتفاع مستويات AST يدل على وجود تلف القلب و الكبد الحاد و تلف الأنسجة والبنكرياس وضمور العضلات والتهابها. وتعد هذه الأنزيمات ضرورية لنقل مجاميع الأمين من الأحماض الأمينية L- Aspartate في تفاعلات اصطناع الأحماض الأمينية في الخلايا الحية حسب المعادلة الآتية:

يحفز نقل الأمين العكوس للنتروجين بين الأسبارتات والغلوتامات وفق التفاعل الآتي :

Aspartic acid + α-Ketoglutaric acid ⇌ Glutamic acid + oxaloacetic acid



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

يتحول حمض الغلوتاميك، بنزع أمين تأكسدي، إلى حمض ألفا كيتوغلوتاريك وحمض الأسبارتيك إلى حمض أكزلو أستيك، ويمكن لهذين الحمضين الأمينين أن يشكلا الغلوكوز . ولا بدّ من الإشارة إلى أن ألفا كيتوغلوتارات تُستخدم كمُتقبل نهائي للزمر الأمينية مع تشكل للغلوتامات كناتج نهائي كرزة (1995).

أظهرت دراسات سابقة Ladue (1954) أن الترانس أميناز في دم الإنسان لها نشاط نقل أميني إنزيمي فعّال، حيث تتمتع ناقلات الأمين بفعالية عالية وانتشار واسع في النسج والأعضاء، مقارنة مع فعاليتها المنخفضة في الدم. بالإضافة إلى ذلك يمكن للإنزيمات المتخصصة بالأعضاء أن تخرج إلى الدم عند تغير نفوذية الغشاء الخلوي نتيجة حدوث خلل ما Kochkina (1992).

يوجد إنزيم AST أو كما يطلق عليه أيضاً غلوتاميك أوكزالوأسيتات ترانس أميناز Glutamic-oxaloacetic transaminase (SGOT) في خلايا الجسم وخاصة في القلب والكبد وبشكل أقل في الكلى والعضلات، بينما يوجد بمستويات معينة في دم ونسج الأفراد الأسوياء. يتسرب إنزيم AST إلى الدم عند حصول إصابة في خلايا الكبد أو العضلات، مما يجعل اختبار AST مفيداً في اكتشاف مثل هذه الإصابات.

يوجد AST في المصل البشري الطبيعي بتراكيز منخفضة جداً ويتوزع على نطاق واسع في النسج ويكون أكثر تركيزاً في عضلة القلب، هذا ما وجه الباحثين لدراسة تغير تركيزه في مصل الدم البشري بعد احتشاء العضلة القلبية الحاد Karmen وزملاؤه (1955).

يوجد معظم AST في القلب والكبد والعضلات الهيكلية والكلىSizer وآخرون (1962)، وعند حدوث تلف في أي من هذه الأنسجة يؤدي إلى ارتفاع مستوى الإنزيم في الدم (2007,Daze ; 1998, Kochkina).

وفي حال التشخيصات السريرية و التفريق بين أسباب تلف الكبد يتم الاعتماد عادةً على معدل إنزيم AST إلى ALT (AST/ALT Ratio) Gowda (2009).

تكون فعالية AST في النسج والأعضاء المختلفة أعلى بحوالي 1000 مرة من فعاليته في مصل الدم، بينما تكون فعاليته في كريات الدم الحمراء أعلى بعشر مرات من فعاليته في مصل الدم، وتكون فعاليته عند المرأة أقل مقارنة مع فعاليته عند الرجل Lelevich (2013).

تم تنقية هذا الإنزيم من أمصال مرضى السكري من النوع الثاني باستعمال كروماتوغرافيا الترشيح، وأظهرت نتائجه ارتفاعاً معنوياً في نشاط الإنزيم مقارنة بالأصحاء Maria (2009).

إن دراسة فعالية أنزيمات ترانس أميناز transaminases في النسج والأعضاء الحيوانية، مكنت من التعرف على عمل مختلف الأنزيمات المحفزة لنقل الأمين على نطاق واسع ضمن هذه الأنسجة و أثبتت وجود تغير في النشاط عند بعضها خلال المرض Awapara (1953)، Braunstein (1947) .

عندما تم خفض درجة حرارة جسم الكلاب بتقنية الغمر السطحي إلى 26–27 مْ، تبين وجود ارتفاع في إنزيم المصل بعد فترة من الهبوط الحراري (12 ساعة)، وعندما أُعيد تدفئة الكلاب عادت مستويات المصل إلى طبيعتها، وتبيّن أن نتائج إصابة الأنسجة الغنية بإنزيم الغلوتاميك أوكسالوأسيتات ترانس أميناز هي ارتفاع مستويات هذا الإنزيم وزملاؤه (1961). في المصل Blair

يُعد الهامستر السوري من أكثر الحيوانات المخبرية انتشاراً في العالم حالياً ويوجد في المناطق الشمالية الغربية لشبه الجزيرة العربيـــة Harison وزملاؤه (1991) وفي ســوريا تم الحصول على أفراد منه في مدينة حلب Aharoni(1932).

وهو بشكل عام حيوان شديد التحمل ومن السهل ترويضه و الذكور أكثر طواعية وأسهل في التعامل معها، مما يجعله حيوانًا أليفًا 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 الأيضية من خلال استخدام أنماط غذائية مختلفة.

2–أهميـــــة البحث وأهدافه:

تُعد الدراسة البيولوجيـــــة ذات أهمية في تحديد الدور الهام لهذا الإنزيم في التفاعلات الاستقلابية الآزوتية للأحماض الأمينية، وفي التبادلات الحاصلة بين الأحماض الأمينية، الليبيدات والكربوهيدرات عند الكائنات الحية، وتُعد درجة الحرارة من أهم العوامل المؤثرة في هذه التفاعلات.

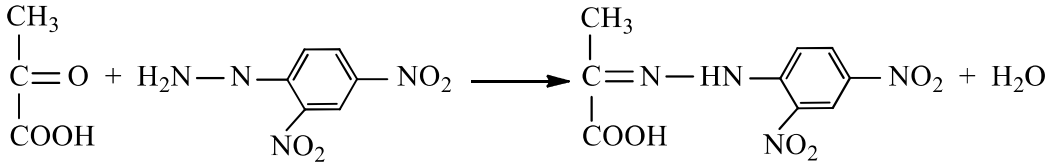
ونظراً لقلة الدراسات التي تناولت تأثير درجة الحرارة في فعالية الإنزيمات وندرتها بالنسبة لحيوانات الهامستر، ولأهميتها الطبيـــــة كمؤشر على الحالة الوظيفية للقلب والكبد والعضلات وغيرها من أعضاء الجسم عند الإنسان والحيوان لذا هدف البحث إلى تحديد الفعالية والتابعية الحرارية لفعاليةAST في الحالة الطبيعية للجسم في الكبد وفي مصل الدم، مقارنةً مع الفعالية والتابعية الحرارية لها خلال الهبوط الحراري. كما يمكن أن تدفع هذه الدراسة للتوجه إلى الاستخدام الواسع لعملية الهبوط الحراري في المجال الطبي الحديث لما في ذلك من أهمية كبيرة في حياة الإنسان.

3–طرائق البحث ومواده:

حيوانات التجربـة: أجريت الدراسة على 32 ذكر من الهامستر السوري بعمر 7–9 أشهر وسطياً وبوزن تراوح بين 120– (90) غ تم شراؤها من مصدر تجاري – مركز تربية الحيوانات/اللاذقية. وضعت الحيوانات في شروط مناسبة من حيث درجة الحرارة (25 °C) والإضاءة (12/12)، وقدم لها الغذاء المناسب، وتركت للتأقلم لمدة لا تقل عن 3 أسابيع قبل بدء التجربة.

مبدأ العمل:

اتُبعت الطريقة الإنزيمية اللونية حسب Reitman و Frankle في العام 1957 ويعتمد مبدأ الطريقة على تحديد فعالية الترانس أميناز transaminases من خلال تحديد نواتج التفاعل الأمامي، المعتمدة على تفاعل الأحماض الكيتونية مع 4,2 – دي نيتروفينيل هيدرازين، حيث يعطي الهيدرازون كيتو أسيد الناتج في الوسط القلوي مركباً يتلون باللون الأصفر وتتناسب شدة التلون مع كمية الهيدرازون في العينة كما في التفاعل الآتي:



Branched -Chain α-Ketoacid + 2, 4-dinitrophenylhydrazine ⟶ α- Ketoacid 2, 4 -dinitrophenylhyddrazone

الدراسة الحيوية الكيميائية:

تم تخدير الحيوانات وفتح بطونها، ومن ثم الحصول على عينات الدم مباشرةً من القلب بوساطة إبرة حقن سعة 3 مل أُدخلت عن طريق ذروة القلب و تُركت عينات الدم بعد الحصول عليها بدرجة حرارة 4 مئوية 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 هرس هذا النسيج الكبدي بوساطة مطحنة كهربائية ثم تم تمديده بالسكروز بتركيز (0.25) مول إلى حجم 9 مل، و ُ ثفل المستخلص بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق.

تم تحديد فعالية AST في الرشاحة (السائل الرائق) بعد التمديد وتعتمد عملية تحديدها على أساس التفاعل اللوني الذي يخضع لقانون « بير لامبرت » بحيث لا يزيد تركيز البيروفات في العينة عن 2 ميكرو مول لذلك يمدد المستخلص النسيجي بالماء المقطر البارد جداً خلال التحضير. حُضرت 8 أنابيب اختبار (4 شاهدة و4 تجربة) لكل حمام مائي وصُب في كل منها 0.1مل 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.

ترتبط فعالية AST بكمية الأوكسالوأسيتات التي تتحول تلقائياً إلى البيروفات بعد نزع CO_2 وأمكن تحديدها من خلال الفرق في شدة تلون الهيدرازون كيتو أسيد بين التجربة والشاهد.

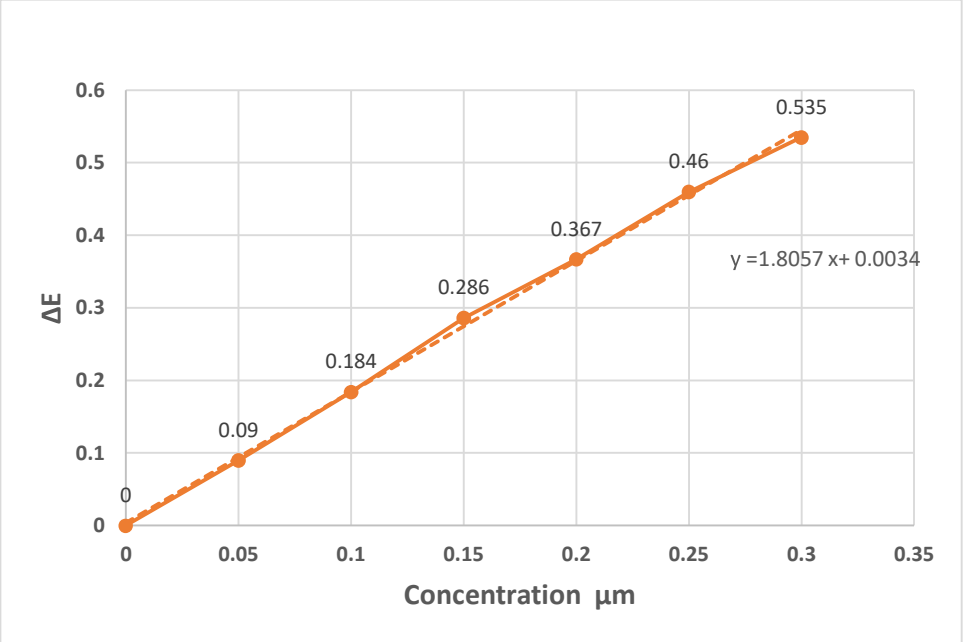
تحديد فعالية الأمينوترانسفيراز :

حُضرت عينات من المحلول المعياري للبيروفات بتراكيز متدرجة بين 0.05 ← 30 .0 ميكرومول 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 4 ,2– ثنائي نتروفينيل هيدرازين، وتُركت في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة، بعد ذلك أُضيف إليها 0.5 مل من محلول

NaOH (0.4 N) (بحيث لا يتجاوز حجم العينة الكلي 0.5 مل) ، تُخلط جيداً وبعد نصف ساعة، قيست الكثافة اللونية مباشرة وخلال فترة زمنية لاتتجاوز ساعتين في جميع العينات باستخدام مرشح 405 نانومتر.

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 رقم (1): الامتصاصية بدلالة تراكيز متدرجة من البيروفات

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

4-النتائج :

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%

ت- المخططات البيانية باستخدام برنامج excel 2007 .

يبين الجدول رقم (1) المتوسطات والأخطاء المعيارية للإنزيم المدروس.

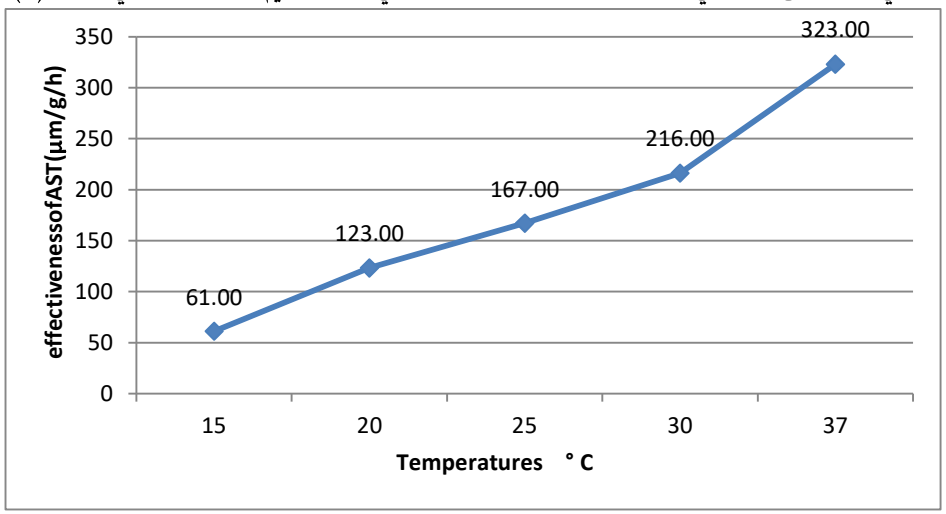
جدول رقم (1) المتوسطات والأخطاء المعيارية للإنزيم المدروس.

حالة هبوط حراري		الحالة الطبيعية		الفعالية
AST		AST		
الدم	الكبد	الدم	الكبد	
Mean±Std	Mean±Std	Mean±Std	Mean±Std	الحرارة
0.65± 0.20^{a} µm/ml/h	26± 5.7^{a} µm/g/h	0.48± 0.06 µm/ml/h	61.0± 7.0^{a} µm/g/h	15
0.76± 0.14^{ab} µm/ml/h	57± 18.7^{b} µm/g/h	0.61± 0.08 µm/ml/h	123.0±15.5^{b} µm/g/h	20
1.04± 0.24^{ab} µm/ml/h	70± 23.5^{c} µm/g/h	0.64± 0.13 µm/ml/h	167.0± 4.2^{bc} µm/g/h	25
1.17± 0.32^{bc} µm/ml/h	87± 29^{d} µm/g/h	0.62± 0.05 µm/ml/h	216.0± 22.6^{c} µm/g/h	30
1.58± 0.30^{c} µm/ml/h	99± 31.2^{e} µm/g/h	0.66± 0.09 µm/ml/h	323.0± 43.8^{d} µm/g/h	37

4-1- تأثير درجات الحرارة على فعالية إنزيم AST

4-1-1-في الكبد في الحالة الطبيعية

بينت الدراسة التي تمت على الكبد في الحالة الطبيعية وجود تغييرات في فعالية إنزيم AST مبينة في الشكل(2)



الشكل رقم(2): فعالية إنزيم AST في الحالة الطبيعية في الكبد

بينت نتائج الدراسة أن الفعالية الإنزيمية تتناسب طرداً مع ارتفاع درجة الحرارة فبلغت أدناها في الدرجة 15 مْ حيث سجلت(61) ميكرومول/غ/ ساعة وأعلاها في الدرجة 37 مْ بلغت (323) ميكرومول/غ/ ساعة لوسط الحضن وهي الدرجة المماثلة لحرارة جسم الهامستر والدرجة الفضلى لعمل الإنزيم.

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي المبينة في الجدولين (3)و(2) P–Value= 0.001<0.05 لدى مقارنة المتوسطات لدراسة الفروقات المعنوية عدم وجود فرق معنوي لتأثير درجات الحرارة 20– 25 مئوية على فعالية الإنزيم في حين يوجد فرق معنوي بين متوسطات الفعالية عند الدرجات 15– 20–30 –37 مْ.

الجدول رقم (2): فعالية إنزيم AST في الحالة الطبيعية في الكبد.

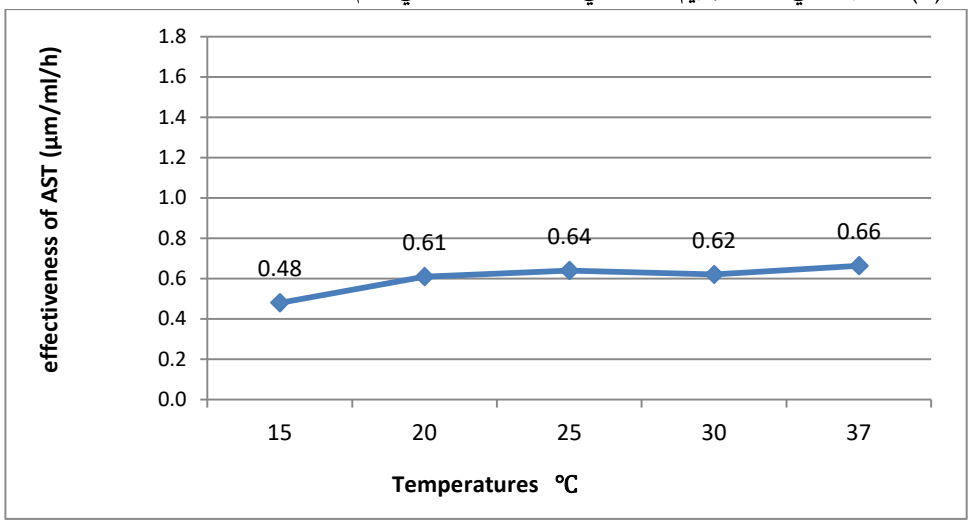
الحرارة	الفعالية
	Mean±Std
15	61 ± 7.0^{a}
20	123 ± 15.5^{b}
25	167 ± 4.2^{bc}
30	216 ± 22.6^{c}
37	323 ± 43.8^{d}

الجدول رقم (3): فعالية إنزيم AST في الحالة الطبيعية في الكبد بطريقة Duncan					
الحرارة	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
15	2	61.0000			
20	2		123.0000		
25	2		167.0000	167.0000	
30	2			216.0000	
37	2				323.0000

وتتفق نتائج هذه الدراسة بكون فعالية AST في الكبد و النسج المختلفة أعلى بحوالي 1000 مرة من فعاليته في مصل الدم مع الباحث Lelevich (2013)

4-1-2- فعالية إنزيم AST في الدم في الحالة الطبيعية:

يبين الشكل (3) التغيرات في فعالية إنزيم AST في الحالة الطبيعية في الدم



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

فكانت فعالية إنزيم AST في الدم (0.48) ميكرومول/ مل/ساعة عند 15 مْ وارتفعت بشكل طفيف جداً مع ارتفاع درجة الحرارة حتى بلغت (0.66) ميكرومول/ مل/ساعة عند 37 مْ

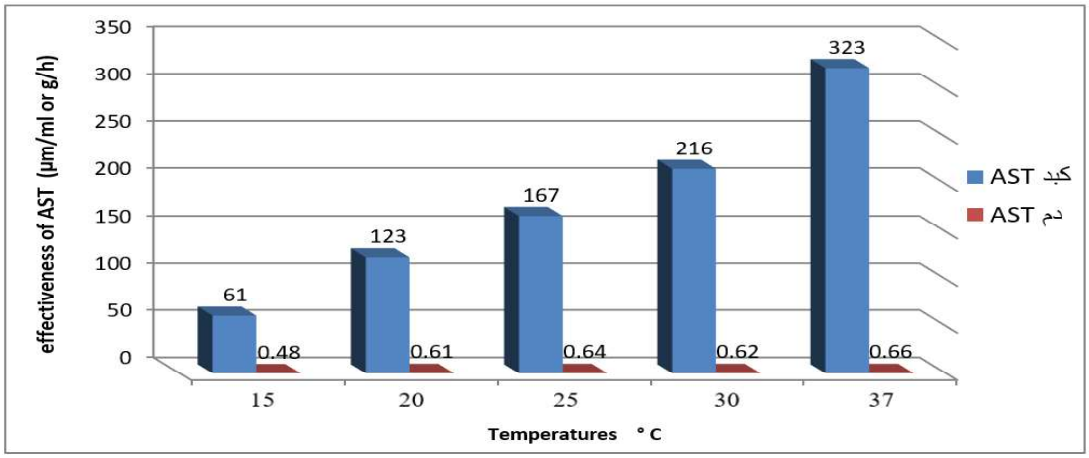
وهذا ما تؤكده الدراسة الإحصائية المبينة في الجدول (4) حيث كانت قيمة P-Value= 0.083>0.05 أي لا يوجد تأثير معنوي لدرجة الحرارة على فعالية الإنزيم المدروس. وهذا مايتفق مع دراسة Karmen وزملاؤه (1955) الذي بيّن وجودASTفي المصل البشري الطبيعي بتراكيز منخفضة جداً ويتوزع على نطاق واسع في النسج.

الجدول رقم (4): فعالية إنزيم AST في الحالة الطبيعية في الدم

الحرارة	الفعالية
	Mean±Std
15	0.48±0.06
20	0.61±0.08
25	0.64±0.13
30	0.62±0.05
37	0.66±0.09

4-1-3- مقارنة فعالية إنزيم AST في الكبد مع فعاليته في الدم في الحالة الطبيعية:

يبين الشكل (4) مقارنة فعالية إنزيم AST في الكبد مع فعاليته في الدم في الحالة الطبيعية



الشكل رقم (4): مقارنة فعالية إنزيم AST في الكبد مع فعاليته في الدم في الحالة الطبيعية

يلاحظ فيه ارتفاع قيم فعالية الإنزيم في الكبد مقارنةً مع الدم في مختلف درجات الحضن حيث بلغت الفعالية في الكبد عند 15 مْ (61) ميكرومول/ غ/ساعة بينما في الدم سجلت (0,48) ميكرومول/ مل/ساعة .

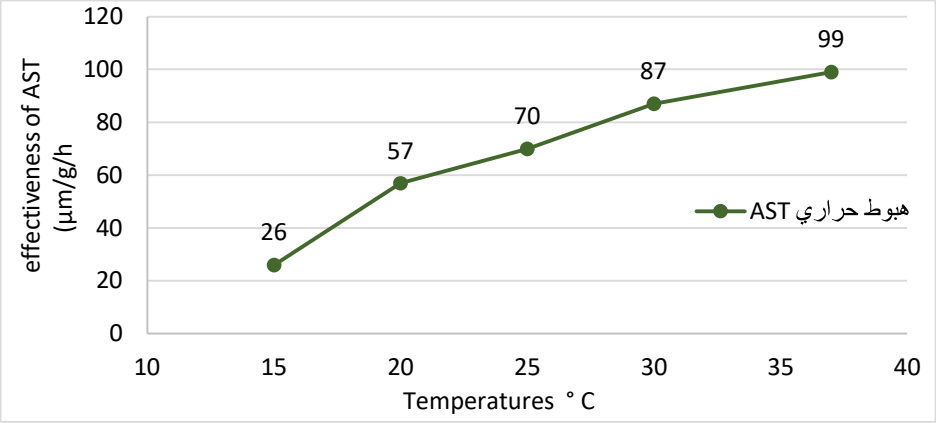
وهذا ما أكدته الدراسة الإحصائية عند مقارنة فعالية إنزيم AST في الكبد وفي الدم حيث ظهرت فروقات معنوية كبيرة في الفعالية بين الدم والكبد، بلغت فعاليته في الكبد حوالي 500 ضعف من فعاليته في الدم .

يُلاحظ من مقارنة النتائج التي تم الحصول عليها في حالتي الكبد والدم في الحالة الطبيعية أن فعالية AST في حالة الكبد كانت أعلى عند مختلف درجات الحرارة المدروسة، وهذا يعود إلى وظائف الكبد التي تشمل جميع العمليات الاستقلابية الخاصة بالخلية بالإضافة إلى تنظيف الجسم من السموم. بينما وظائف الدم متضمنة نقل نواتج الهضم والامتصاص من الأمعاء إلى كافة أنسجة الجسم.

4-2- فعالية إنزيم AST في حالة الهبوط الحراري :

4-2-1- فعالية إنزيم AST في الكبد في حالة الهبوط الحراري

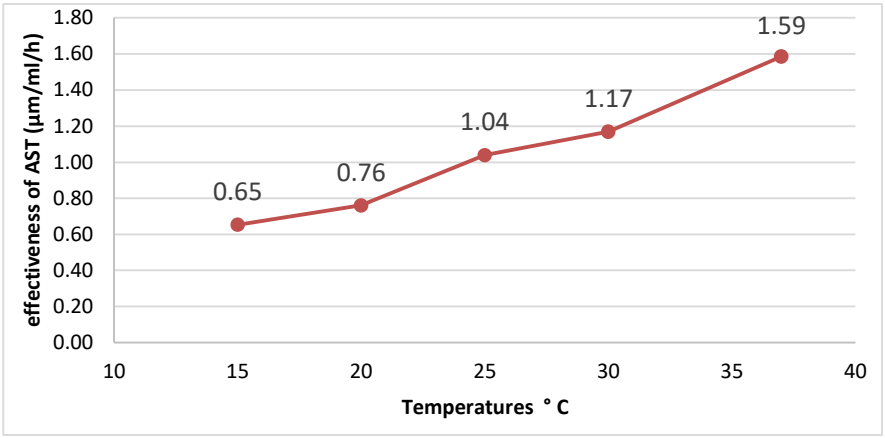
يُظهر الشكل (5) التغيرات في فعالية إنزيم AST في الكبد في حالة الهبوط الحراري، ويُلاحظ فيه التناسب الطردي للفعالية الإنزيمية مع ارتفاع درجة الحـرارة فبلغت أدناها في الدرجة 15 مْ حيث سجلت (26) ميكرومول/ غ/ساعة وأعلاها في الدرجة 37 مْ بلغت(99) ميكرومول/ غ/ساعة لوسط الحضن وهي الدرجة المماثلة لدرجة حرارة جسم الهامستر والدرجة الفضلى لعمل الإنزيم.



الشكل رقم (5): فعالية إنزيم AST في الكبد في حالة الهبوط الحراري

4-2-2- فعالية إنزيم AST في الدم في حالة الهبوط الحراري

يظهر الشكل (6) التغيرات في فعالية إنزيم AST في الدم في حالة الهبوط الحراري، حيث يُلاحظ فيه أن الفعالية الإنزيمية تتناسب طرداً مع ارتفاع درجة الحرارة فبلغت أدناها في الدرجة 15 مْ حيث سجلت (0.65) ميكرومول/ مل/ساعة وأعلاها في الدرجة 37 مْ حيث سجلت (1.59) ميكرومول/مل/ساعة لوسط الحضن.



الشكل رقم (6) فعالية إنزيم AST في الدم في حالة الهبوط الحراري

الجدول رقم(5): فعالية إنزيم AST في الدم في حالة الهبوط الحراري

الحرارة	الفعالية
	Mean±Std
15	0.65 ± 0.20^{a}
20	0.76 ± 0.14^{ab}
25	1.04 ± 0.24^{ab}
30	1.17 ± 0.32^{bc}
37	1.59 ± 0.30^{c}

الجدول رقم (6): فعالية الإنزيم في الدم في الهبوط الحراري بطريقة Duncan[a,b]

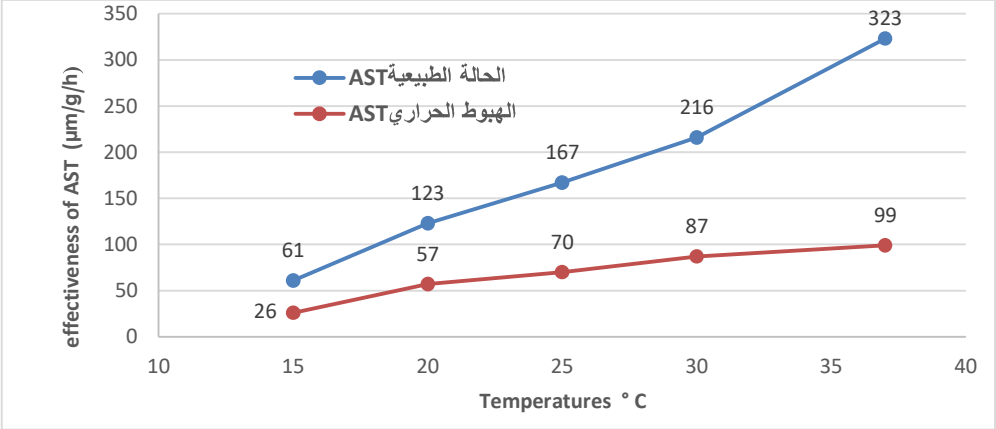
الحرارة	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
15	3	.6533		
20	3	.7600	.7600	
25	3	1.0400	1.0400	
30	4		1.1700	1.1700
37	3			1.5867

+

في الجدولين (5) و(6) كانت P-Value= 0.008<0.05 لدى مقارنة المتوسطات لدراسة الفروقات المعنوية باستخدام طريقة دانكان و لُوحظ عدم وجود فرق معنوي لتأثير درجات الحرارة 15- 20- 25 مْ في حين يوجد فرق معنوي بين متوسطات الفعالية عند الدرجة 37 مْ مقارنة بالقيم الأخرى

4-2-3- مقارنة فعالية إنزيم AST في الكبد في حالتي الهبوط الحراري و الحالة الطبيعية:

يبين الشكل التالي فعالية إنزيم AST في الكبد في حالة الهبوط الحراري والحالة الطبيعية.



الشكل رقم (7): فعالية إنزيم AST في الكبد في حالة الهبوط الحراري و الحالة الطبيعية

يُلاحظ فيه انخفاض قيم فعالية الإنزيم في حالة الهبوط الحـــــراري حيث كانت أدناها في الدرجة 15 مْ حيث سجلت (26) ميكرومول/غ/ساعة وأعلاها في الدرجة 37 مْ، حيث سجلت (99) ميكرومول/غ/ساعة مقارنـــةً مع فعالية الإنزيم في الحالة الطبيعيـــــة حيث كانت أدناها في الدرجة 15 مْ، حيث سجلت (61) ميكرومول/غ/ساعة وأعلاها في الدرجة 37 مْ حيث سجلت (323) ميكرومول/غ/ساعة.

يُلاحظ أيضاً ارتفاع ملحوظ في فعالية الإنزيم في الحالة الطبيعية بين درجتي الحرارة (37 – 30) مْ مقارنةً مع فعاليته في حالة الهبوط الحراري وهذا يؤكد أن فعالية الإنزيم تكون عظمى عند الدرجة 37 مْ التي هي درجة حرارة جسم الحيوان، وهذا ماتوافق مع (Suzuki,2015) الذي أكد أن درجة الحراره 37 مئويه عادةً هي درجة الحرارة المثلى لعمل الانزيم.

إن ارتفاع درجة الحرارة يزيد من سرعة حركة الجزيئات وبالتالي يزيد احتمال تصادف الإنزيم مع الركازة.

كانت درجة حرارة جسم الهامستر في أثناء الهبوط الحراري 15 مْ وهي خارج مجال العمل الفيزيولوجي للإنزيم لذلك انخفضت فعاليته مقارنة مع فعاليته في الحالة الطبيعية.

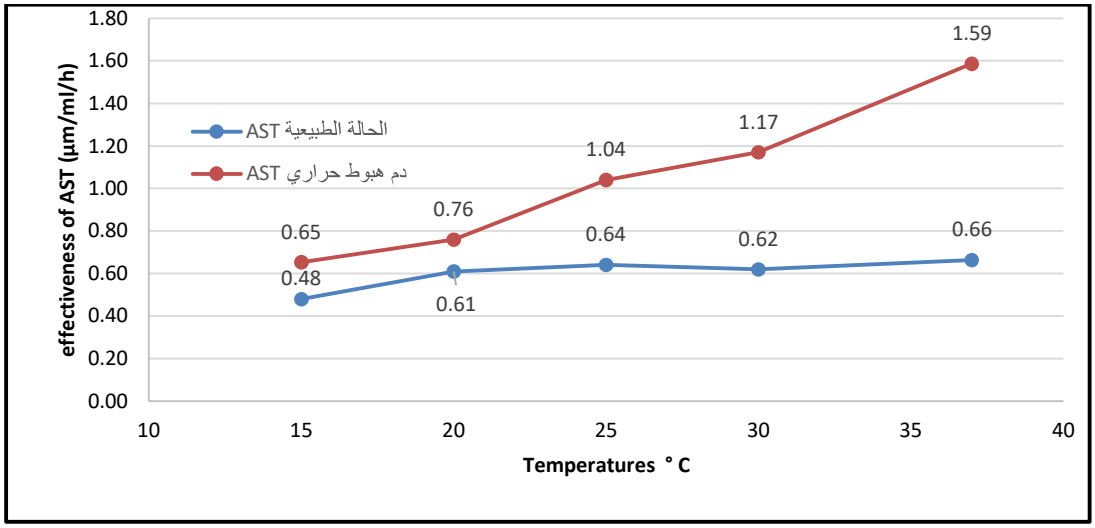
تعمل الإنزيمات عند درجات الحرارة بين 20–40 مْ، بينما يتثبط عمل الإنزيمات عند درجات حرارة أقل من 20 مْ وأعلى من 40 مْ. تتخرب بنية الإنزيم عند درجة حرارة أعلى من 70 مْ كون الانزيم هو بروتين حيث تؤدي درجة الحرارة العالية إلى هدم البنية الفراغية وفقدانه لوظيفته (Suzuki,2015).

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

بينت نتائج هذه الدراسة زيادةً معنوية ملحوظة في فعالية إنزيم AST الدم في حالة الهبوط الحـــراري مقارنةً مع مثيلاتها في الحالة الطبيعيـــة في مختلف درجات وسط الحضن، حيث بلغت الفعالية في الهبوط الحراري عند 30 مْ (1.17) ميكرومول/مل/ساعة بينما في الحالة الطبيعية سجلت (0.62) ميكرومول/مل/ساعة، وعند الدرجة 37 مْ بلغت الفعالية في الهبوط الحراري (1.59) ميكرومول/مل/ساعة بينما في الحالة الطبيعية سجلت (0.66) ميكرومول/مل/ساعة.

يمكن أن تكون هذه الزيادة ناتجة عن تسرب جزيئات الإنزيم نتيجة الأذية النسيجية للجسم بسبب تأثرها بالهبوط الحراري القسري أو بسبب تحلل بعض الخلايا الدموية، حيث يحصل في حالة الهبوط الحراري تعديل في البنية الفراغية للجزيئة

الإنزيمية بتأثير منظّمات استقلابية بحيث يؤدي ذلك إلى زيادة فعالية هذا الإنزيم في الدرجة 30 و37 مْ، أو قد يُعزى السبب إلى وجـود نظير إنزيمـي للإنزيم يعمل في الدرجـات المنخفضة من الحـرارة وهذا ما يتفق مع دراســـة Mutawij (1990).



الشكل رقم (8): فعالية إنزيم AST في الدم في حالتي الهبوط الحراري والحالة الطبيعية

5–الاستنتاجات:

تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن:

1– تناسبت فعالية إنزيم الاسبارتات أمينو ترانسفيراز مع درجة الحرارة ضمن المجال الفيزيولوجي لعمل الإنزيم، حيث بلغت فعاليته في كبد الهامستر أقصاها في الدرجة 37 مْ لوسط الحضن، وانخفضت الفعالية تدريجياً بانخفاض درجة حرارة وسط الحضن وتصل إلى أخفض قيمة لها عند الدرجة 15.

2– فعالية إنزيم AST في مصل الدم انخفضت جداً مقارنةً مع الكبد مع أقل فروق معنوية في الدرجات المختلفة لوسط الحضن.

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

4– فعالية AST في الدم بلغت ذروتها في الدرجة 37 مْ مع زيادة معنوية ملحوظة في فعالية إنزيم AST الدم في حالة الهبوط الحراري مقارنةً مع مثيلاتها في الحالة الطبيعية في مختلف درجات وسط الحضن.

6–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.

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

3– دراسة فعالية إنزيمات الأمينوترانسفيراز في نسج أخرى كالدماغ والكلى والعضلات.

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

7- المراجع : المراجع العربية:

1- كرزة، أحمد. (1995). **الكيمياء الحيوية الطبية** . (ط2). حلب : مديرية المطبوعات في جامعة حلب، ص 27-28. ص49.

المراجع الأجنبية:

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

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

3- Babiychuk, A. (2011) Methods for determining the activity of transferase and hydrolase, Odessa, , p23-24. . (In Russian).

4- Blair,E., Hook,R., Tolley,H., Bunce,E.,(1961) . Serum Glutamic Oxalacetic Transaminase Content in Hypothermia, the American Association for the Advancement of Science, New York,

5- Braunstein, A. E.,(1947). Transamination and the integrative functions of the dicarboxylic acids in nitrogen metabolism. Adv. Protein Chem., P: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- Gallagher, F.A., Kettunen ,M.I., Day, S.E., Hu, D.E. , Karlsson, M., Gisselsson,A. Lerche, ,M.H.,and Brindle K.M.,(2011). Detection of tumor glutamate metabolism in vivo using (13)C magnetic resonance spectroscopy and hyperpolarized [1-(13)C]glutamate, Magn. Reson. Med. 66 ,18-23.

8- Gowda,Shivaraj, (2009) .A review on laboratory liver function tests,

9- Harison DI., Bates PJJ., (1991).The mammals of Arabia. 2th ed, , p354.

10- Hochachka, P , Somero,G.N. (1988).*Biochemical Adaptation,* issuance of mir, , p260 .(*In Russian*).

11- Hoosier, G. L., McPherson Ch. W.,(1987).Laboratory Hamsters. Elsevier .American collage of Laboratory Animal medicine series.

12- Karmen, A., Wrblewski, F. AND Ladue, J. S. (1955) .Transamninase activity in human blood, J. Clin. Invest. 34: 126.

13- Kochkina , V. (1998). Enzymatic Activity of Aspartate minotransferase Crystals , Mol Biol 32 , 460 .

14- Kochkina,V.,Vasilev,D.,and Kuzin,A.(1992).Investigation of Free Aspartate Aminotransferase Crystals , Mol Biol (Mosk) 26 , 561.

15- Ladue, J.S, Wroblewski, F., Karmen, A., (1954).Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction, Science 120 497-499.

16- Lelevich, C .B. ,(2013). *The basics of Medicinal Chemistry*, dedicated to medical students, University of Moscow State, P47-48 .(*In Russian*).

17- Lininger, Albert (1989). Principles of Biochemistry (translated by Ahmed Karza). Aleppo: Aleppo University Edition, pp. 329-333, p. 352-355.

18- Maria G. Essig , MS , EIS (2009). Aspartate Aminotransferase (AST), Health (health wise),

19- Mcleod. Lianne, (2020). Syrian Hamster (Golden Hamster) Species Profile, University of Saskatchewan.

20- Mutawij, M (1990) .Study of the activity glutaminase and asparaginase of brain in white rats in normal and hypothermic condition, Moscow.

21- Ozer,J., Ratner, M., Shaw M., Bailey W., and Schomaker, S. (2008).The current state of serum bio-markers of hepatotoxicity, Toxicology 245 , PP:194-205.

22- Sizer , J. , and Jenkins ,(1962). Glutamic Aspartic Transaminase from pig Heart , Methods in Enzymology Vol. 5 , P:677.

23- Suzuki ,Haruo. (2015).How Enzymes Work from structure to function. Japan,.