

الفصل الخامس

الإنزيمات

نظراً لتعدد طرق التعبير عن النشاط الإنزيمي بوحدات مختلفة ، فقد أوصى بالتعبير عن النشاط الإنزيمي بالوحدات الدولية / مل ، وعرفت الوحدة الدولية للنشاط الإنزيمي بأنها النشاط الذي يحول ميكرومول من المادة في دقيقة تحت ظروف معينة . وقد يعبر عنها كذلك بجزء من ألف من الوحدة الدولية (m - i . u) وهي Milli - international units وتكافئ مللي - ميكرومول محول في دقيقة ، ويعبر عنها كذلك بمللي وحدة دولية / مل (جم) ، أو وحدة دولية / لتر .

١ - إنزيم اليورياز Urease activity :

يقدر في منتجات الصويا للكشف عما إذا كانت مطبوخة بقدر كاف أم لا .

١ - زن حوالي ١٠ جم عينة ، وتطحن لتمر خلال منخل ثقوبه ٠,٢ مم ، ثم زن منها حوالي ٠,٢ جم بالضبط في أنبوبة اختبار مع ١٠ مل محلول يوريا (٣٠ جم يوريا تذاب في لتر من محلول منظم فوسفات (٤,٤٥ جم فوسفات صوديوم أحادي الهيدروجين + ٣,٤٠ جم فوسفات بوتاسيوم ثنائي الهيدروجين في ماء ، وتخفف إلى لتر) ، يحضر طازجاً قبل الاستعمال مباشرة) . سد الأنبوبة في الحال ، ورج بشدة واتركها تستقر ٣٠ دقيقة في حمام مائي (٣٠م) .

٢ - أضف في الحال بماصة ١٠ مل حمض هيدروكلوريك (٠,١ عياري) وبرد بسرعة إلى ٢٠م ، ثم انقل محتويات الأنبوبة كمياً إلى إناء المعايرة مع غسيل الأنبوبة مرتين بالماء (٥ مل) ، نقط في الحال بهيدروكسيد صوديوم (٠,١ عياري) في وجود جهاز تقدير تركيز أيون الهيدروجين إلى PH ٤,٧ .

٣ - يعمل تجربة مقارنة بها ٠,٢ جم عينة + ١٠ مل حمض هيدروكلوريك (٠,١ عياري) + ١٠ مل محلول يوريا ، وبرد في ماء مثلج لمدة ٣٠ دقيقة ، وأكمل كما في باقي خطوة رقم ٢ .

٤ - احسب نشاط إنزيم اليورياز معجم نيتروجين أمونيومي / جم / دقيقة على ٣٠م =

(١,٤ (حجم القلوي المستخدم للمقارنة مل - حجم القلوي المستخدم للعينة مل

× ٣٠ وزن العينة جم

٢ - إنزيم البيسين :

يستخدم البيسين في تقدير البروتين الخام الذائب في البيسين والهيدروكلوريك (المهضوم معمليا) ؛ لذا يجب تقدير نشاط هذا الإنزيم لحساب الكم اللازم منه لعملية تقدير البروتين المهضوم معمليا . ويقدر نشاط البيسين كالتالي :

١ - عد محلول البيسين بإذابة ١٥٠ مجم بيسين في ١٠٠ مل حمض هيدروكلوريك (٠,٠٦ عياري) ، وانقل بواسطة ماصة ٢ مل من هذا المحلول إلى دورق ٥٠ مل ، وخفف إلى ٥٠ مل بحمض الهيدروكلوريك (٠,٠٢٥ عياري) . وبواسطة جهاز PH اختبر PH لتكون $1,6 \pm 0,1$ ، عندئذ اغمس الدورق في حمام مائي (٢٥ م) .

٢ - يجرى التحليل المائي بنقل ٥ مل محلول هيموجلوبين (يقدر نيتروجين الهيموجلوبين بطريقة كلداهل ، ثم يوزن منه كمية تحتوي ٣٥٤ مجم نيتروجين في دورق سعة ٢٠٠ مل مع نقط من حمض هيدروكلوريك (٠,٠٦ عياري) ووصل بمضخة تفريغ ، وهز الدورق تحت التفريغ حتى يذوب الهيموجلوبين تماما . افصل التفريغ ، وأثناء الهز خفف إلى العلامة بحمض الهيدروكلوريك (٠,٠٦ عياري) وبحضر المحلول في الحال عند الاستخدام) بواسطة ماصة إلى أنبوبة اختبار، وسخن على ٢٥ م في حمام مائي، ثم أضف ١ مل محلول بيسين (خطوة رقم ١) ، واخلط جيدا ، واحفظ في حمام مائي لمدة ١٠ دقائق على ٢٥ م ، ثم أضف ١٠ مل محلول حمض ثلاثي كلوروكليك (٥٪) سبق تسخينها على ٢٥ م ، واخلط ورشح .

٣ - تطوير اللون والتقدير : ينقل بماصة ٥ مل من الراشح (من خطوة رقم ٢) إلى دورق مخروطي ٥٠ مل وأضف ١٠ مل محلول هيدروكسيد صوديوم (٠,٥ عياري) ، وهز الدورق باستمرار ، وأضف ٣ مل محلول مخفف فولين سيوكالتيو Folin - Ciocalteu (أذب ١٠٠ جم تنجستات صوديوم ثنائي الماء + ٢٥ جم موليبيدات صوديوم ثنائي الماء في ٧٠٠ مل ماء تحت مكثف عاكس ، ثم أضف ٥٠ مل حمض فوسفوريك + ١٠٠ مل حمض هيدروكلوريك ، واغل لمدة ١٠ ساعات . يرد وأضف ١٧٥ جم كبريتات ليشيوم ثنائي الماء + ٥٠ مل ماء + ١ مل برومين ، واغل لمدة ١٥ دقيقة دون مكثف ، ويرد وانقل إلى دورق سعة لتر ، وخفف إلى العلامة بالماء واخلط ورشح . ينبغي خلو المحلول الناتج من أي لون أخضر . خفف حجما من هذا الدليل بحجمين من الماء قبل الاستخدام) ، قس الامتصاص الضوئي على ٧٥٠ نانومتر بعد ٥ - ١٠ دقائق مع استخدام الماء للمقارنة .

٤ - يعمل المنحنى قياسي من ١، ٢، ٣، ٤، ٥ مل من محلول قياسي تيروزين (أذب ١٨١، ٢ مجم تيروزين في حمض هيدروكلوريك (٠، ٢ عياري) ، وخفف إلى لتر بالحامض ، وانتقل بماصة ٢٠ مل من هذا المحلول في دورق ١٠٠ مل ، وأكمل إلى العلامة بحمض الهيدروكلوريك (٠، ٢ عياري) ، ١ مل من هذا المحلول تحتوي ٠، ٢ ميكرومول تيروزين) وأكمل بعمل دورق خال من التيروزين ، أكمل حجوم الدوارق كلها (المحتوية على حجوم متدرجة أو خالية التيروزين) إلى ٥٠ مل بحمض الهيدروكلوريك (٠، ٢ عياري) ، ثم أضف ١٠ مل هيدروكسيد صوديوم (٠، ٥ عياري) ، وهز باستمرار مع إضافة ٣ مل دليل فولين . وقس الامتصاص كما سبق وارسم المنحنى القياسي .

٥ - من المنحنى القياسي تقدر كمية التيروزين (ميكرومول) المعادلة للعينة ، ومنها تحسب نشاط الببسين بالميكرومول تيروزين / مجم / دقيقة على ٢٥ م من المعادلة :

$$\text{وحدات / مجم} = \frac{0,32 \times \text{كمية التيروزين بالميكرومول الموجودة في العينة}}{\text{وزن الببسين (مجم) المضاف في عملية التحليل المائي}}$$

يلاحظ أن كمية الببسين المضافة في تخضير محلول الببسين (الخطوة الأولى) يجب أن تضبط لتعطي امتصاصاً $0,35 \pm 0,035$ بعد ٥ - ١٠ دقائق .

كل ٢ وحدة / مجم / يتحصل عليها من هذه الطريقة تعادل $0,00364$ وحدة Anson / مجم (ميكرومول تيروزين / مجم / دقيقة على ٣٥، ٥ م) ، أو 36400 وحدة تجارية / جم (ميكرومول تيروزين / جم في ١٠ دقائق على ٣٥، ٥ م) .

٣ - مثبت التربسين :

يوزن ٤ جم فول صويا منزوع الدهن ومطحوناً ، وتعامل بمقدار ٤٠ مل محلول منظم صوديوم $0,05$ ع PH $7 + 40$ مل ماء مقطرًا . وترج ٣ ساعات وتطرّد مركزياً ٣٠ دقيقة على 150 م . يرشح الرائق ، ويخفف إلى ١٠ أضعاف بنفس المحلول المنظم .

يستخدم محلول كازين ٢٪ في محلول منظم فوسفات ٠، ١ عياري PH $7,6$ كمادة للتفاعل ، بينما يستخدم إنزيم التربسين (٥ مجم / مل) كمحلول إنزيمي . يحضن ٠، ٥ مل محلول تربسين مع ٢ مل محلول كازين + ١ مل محلول منظم فوسفات + ٠، ٤ مل حمض هيدروكلوريك ٠، ٠٠١ عياري + ٠، ١ مل مستخلص عينة . حضن على 37 م لمدة ٢٠ دقيقة ، ثم أضف ٦ مل حمض ثلاثي كلوروكليك ٥٪ لوقف التفاعل .

وحدة التربسين عبارة عن الزيادة بمقدار ٠، ٠١ وحدة امتصاص على 280 نانومتر في ٢٠ دقيقة لمخلوط تفاعل ١٠ مل ، ونشاط مثبت التربسين يعبر عنه بوحدات التربسين المشبطة .

٤ - إنزيمات الترانس أميناز Transaminases :

توجد هذه الإنزيمات في كل الأنسجة ، وأهمها من الناحية المرضية هي جلوتاميك أوكسالو أسيتيك ، جلوتاميك بيروفيك ترانس أميناز ، فيقوم كل منهما بإنتاج حمض بيروفيك (من حمض أميني إسبارتك ، وحمض أميني ألانين على الترتيب) الذي ينتج لونا بنيا من الهيدرازون بالتفاعل مع دي نيتروفينيل هيدرازين .

إصابة أي نسيج بالنكروزه Necrosis يؤدي إلى تحرير هذه الإنزيمات بكم كبير في السيرم . وتقدير كثافة ضوء اللون البني تتناسب طردياً مع النشاط الإنزيمي .

وللتقدير يتطلب المحاليل التالية :

١ - محلول منظم فوسفات PH ٧,٤ : يتكون بإذابة ١١,٩٢ جم فوسفات ثنائي الصوديوم جافة + ٢,١٨ جم فوسفات أحادي بوتاسيوم جافة في ماء ، ويكمل إلى لتر ويحفظ في ثلاجة .

٢ - مادة الجلوتاميك أوكسالو أسيتيك : زن ٠,٠٥٨٤ جم حمض الفاكيتو جلوتاريك + ٥,٣٢ جم حمض دل - أسبارتك في كأس ، وأضف عليها ٤٠ مل محلول هيدروكسيد صوديوم عياري ، وقلب واستخدم جهاز PH لضبط الحموضة على ٧,٤ باستخدام نقط من هيدروكسيد صوديوم عياري مع التقليب . انقل المحلول كميًا إلى دورق معياري ٢٠٠ مل باستخدام محلول منظم فوسفات PH ٧,٤ ، وأكمل إلى العلامة بنفس المحلول ، ثم أضف ٢ مل كلورفورم واحفظ في ثلاجة .

٣ - دليل لون : أذب ٠,٠٣٩٦ جم دي نيتروفينيل هيدرازين في ٢٠٠ مل حمض هيدروكلوريك عياري باستخدام مقلب مغناطيسي واحفظ في ثلاجة .

٤ - هيدروكسيد صوديوم ٠,٤ عياري : أذب ١٦ جم هيدروكسيد صوديوم في لتر ماء .

٥ - مادة الجلوتاميك بيروفيك : زن ٠,٠٢٩٢ جم حمض الفاكيتو جلوتاريك + ١,٧٨ جم حمض دل - ألانين في كأس ، وأضف عليها ٢٠ مل ماء ، وقلب لتمام الذوبان ، اضبط PH على ٧,٤ باستخدام جهاز PH وصودا كاوية عيارية بالتنقيط والتقليب ، انقل كميًا إلى دورق معياري ١٠٠ مل ، وأكمل بمحلول منظم فوسفات PH ٧,٤ ، وأضف ٢ مل كلورفورم واحفظ في ثلاجة .

٦ - محلول قياسي : أذب ٤٤ مجم بيروقات صوديوم نقية في ١٠٠ مل محلول منظم فوسفات PH ٧,٤ لتكوين محلول قياسي تركيز ٤ ملي مول / لتر .

التقدير : تجرى الخطوات التالية لتقدير نشاط الترانس أميناز :

الإنزيم	العينة	المقارنة	المحلول القياسي	بلانك
جلوتاميك بيروفيك ترانس أميناز .	٠,٥ مل مادة جلوتاميك بيروفيك تدفأ على ٣٧م ٣ دقائق . أضف ٠,١ مل بلازما . حضن ٣٠ دقيقة . أضف ٠,٥ مل دليل لون .	٠,٥ مل مادة جلوتاميك بيروفيك ٠,٥ مل دليل لون + ٠,١ مل بلازما .	٠,١ مل محلول قياسي + ٠,٤ مل مادة جلوتاميك بيروفيك + ٠,١ مل ماء + ٠,٥ مل دليل لون .	٠,٥ مل مادة جلوتاميك بيروفيك ٠,١ مل دليل لون .
جلوتاميك أوكسالو أسيتيك ترانس أميناز .	٠,٥ مل مادة جلوتاميك أوكسالو أسيتيك تدفأ على ٣٧م ٣ دقائق . أضف ٠,١ مل بلازما . حضن ٦٠ دقيقة . أضف ٠,٥ مل دليل لون	٠,٥ مل مادة جلوتاميك أوكسالو أسيتيك + ٠,٥ مل دليل لون + ٠,١ مل بلازما .	٠,١ مل محلول قياسي + ٠,٤ مل مادة جلوتاميك أوكسالو أسيتيك ماء + ٠,٥ مل دليل لون .	٠,٥ مل مادة جلوتاميك أوكسالو أسيتيك + ٠,٤ مل مادة جلوتاميك أوكسالو أسيتيك ماء + ٠,٥ مل دليل لون .

ترك جميع الأنابيب ٢٠ دقيقة على درجة حرارة الغرفة ، ثم يضاف إلى كل منها ٠,٥ مل هيدروكسيد صوديوم ٠,٤ عياري ، وتخلط المحتويات جيداً ، وتترك ١٠ دقائق ثم تقدر الكثافة الضوئية على طول موجة ٥١٠ نانومتر مع تصفير الجهاز على البلانك .

احسب كمية البيروفات المتكونة في الدقيقة لكل لتر بلازما من المعادلة :

$$\text{الكثافة الضوئية للعينة} - \text{الكثافة الضوئية للمقارنة} = \frac{٠,٤}{٦٠} \times \frac{١٠٠٠}{٠,١} = \text{ميكرومول}$$

في حالة تقدير الجلوتاميك أوكسالو أسيتيك ترانس أميناز ، ومن المعادلة التالية في حالة تقدير نشاط الجلوتاميك بيروفيك ترانس أميناز :

$$\text{الكثافة الضوئية للعينة} - \text{الكثافة الضوئية للمقارنة} = \frac{٠,٤}{٣٠} \times \frac{١٠٠٠}{٠,١} = \text{ميكرومول}$$

ثم تستنبط الوحدات الدولية لنشاط الإنزيم المقابلة لتركيز البيروفات من الجدول التالي :
تحويل تركيز البيروفات بالميكرومول / دقيقة / لتر إلى وحدات دولية للترانس أميناز .

جلوتاميك بيروفيك	البيروفات	جلوتاميك بيروفيك	جلوتاميك أو كسالو أسيتيك	البيروفات
٢٤	٥٦	١	٢	٢
٢٥	٥٨	٢	٣	٤
٢٦	٦٠	٢	٥	٦
٢٧	٦٢	٣	٦	٨
٢٩	٦٤	٤	٧	١٠
٣٠	٦٦	٤	٩	١٢
٣١	٦٨	٥	١١	١٤
٣٣	٧٠	٦	١٣	١٦
٣٤	٧٢	٧	١٥	١٨
٣٥	٧٤	٧	١٧	٢٠
٣٦	٧٦	٨	١٩	٢٢
٣٧	٧٨	٨	*٢٠	٢٣
٣٨	٨٠	٩	٢١	٢٤
٣٩	٨٢	٩	٢٣	٢٦
٤٠	٨٤	١٠	٢٥	٢٨
٤٢	٨٦	١١	٢٧	٣٠
٤٤	٨٨	١٢	٢٩	٣٢
٤٦	٩٠	١٣	٣١	٣٤
٤٨	٩٢	١٤	٣٣	٣٦
٥٠	٩٤	*١٥	٣٥	٣٨
٥٢	٩٦	١٦	٣٧	٤٠
٥٤	٩٨	١٧	٣٩	٤٢
٥٦	١٠٠	١٨	٤١	٤٤
٦٠	١٠٢	١٩	٤٤	٤٦
		٢١	٥١	٥٠
		٢٢	٥٥	٥٢
		٢٣	٦٠	٥٤

* الحد الأعلى الطبيعي .

ويرتفع نشاط إنزيمات الترانس أميناز في حالات مرضية كثيرة كالذبحة الصدرية ،
والتهاب القلب الحاد ، واحتقان القلب وقصوره ، وفي أمراض خلايا الكبد ، وبوجه عام
فالارتفاع المحدود يصاحب أمراض الكبد ، بينما الارتفاع الشديد يصاحب أمراض القلب .
ويكون الارتفاع في نشاط إنزيم الجلوتاميك أو كسالو أسيتيك أكثر منه لإنزيم الجلوتاميك
بيروفيك ترانس أميناز .

٥ - إنزيم اللاكتيك دي هيدروچيناز Lactic Dehydrogenase :

يوجد هذا الإنزيم في الأنسجة ، ويقوم بمساعدة أكسدة حمض اللاكتيك إلى حمض بيروفيك في وجود النيكوتيناميد أدينين دي نيوكليوتيد (NAD) ، كما يساعد اختزال حمض البيروفيك إلى لاكتيك في وجود هذا الإنزيم المختزل (NAD H₂) . وفي تقدير هذا الإنزيم يتفاعل حمض البيروفيك الناتج مع دي نيتروفينيل هيدرازين لتكوين معقد أصفر اللون ، تتناسب كثافته الضوئية مع نشاط الإنزيم .

المحاليل :

١ - محلول منظم بيروفات : أذب ١٠ جم فوسفات ثنائي بوتاسيوم ثلاثي الماء (أو ٧,٧ جم فوسفات ثنائي بوتاسيوم جافة) + ٠,٢ جم حمض بيروفيك في ماء وأكمل إلى لتر . أضف نقطة فورمالين كمادة حافظة .

٢ - مادة البيروفات : قبل العمل بساعة يخلط ١٠ مل محلول منظم بيروفات مع ٠,٠١ جم إنزيم NAD H₂ .

٣ - محلول ملون : أذب ٠,٢ جم ٢-٤- دي نيتروفينيل هيدرازين في ٨٥ مل حمض هيدروكلوريك مركز ، وأكمل إلى لتر بالماء .

٤ - هيدروكسيد صوديوم ٠,٤ عياري : أذب ١٦ جم صودا كاوية في لتر ماء .

التقدير :

أضف ٠,٠١ مل سيرم إلى ٠,٥ مل مادة البيروفات ، واخلط وحضن على ٣٧ م لمدة ٤٥ دقيقة . أضف ٠,٥ مل محلولاً ملوناً ، واخلط واترك ٢٠ دقيقة على حرارة الغرفة . أضف ٥ مل صودا كاوية ٠,٤ عياري ، واخلط واترك ٣٠ دقيقة على حرارة الغرفة ، ثم قدر الكثافة الضوئية على ٥٠٥ نانومتر مع تصفير الجهاز على ماء .

أجر منحنى قياسي على كميات متدرجة من محلول منظم بيروفات وماء ، وإلى كل أنبوبة يضاف ٠,٥ مل محلولاً ملوناً ويجرى عليها كما في العينات .

تحضير المنحنى القياسي من البيروفات وما يقابلها من وحدات إنزيم :

وحدات إنزيم لاكتيك دي هيدروچيناز / مل	ماء مقطر مل	محلول منظم بيروفات مل
صفر	صفر	٠,٥
٣٠٠	٠,١	٠,٤
٧٠٠	٠,٢	٠,٣
١٠٠٠	٠,٣	٠,٢
١٥٠٠	٠,٤	٠,١
٢٠٠٠	٠,٤٥	٠,٠٥

ويعبر عن نشاط الإنزيم بالوحدات / مل سيرم ، أو بالوحدات / جم نسيجاً طازجاً (مع عمل حساب معامل التجفيف) .

ومتوسط نشاط الإنزيم / مل سيرم 400 ± 120 وحدة ، بينما المدى الطبيعي ٢٠٠ - ٦٨٠ وحدة . وتقدير نشاط الإنزيم هذا ذو أهمية في تشخيص أمراض الذبحة الصدرية ، والتي يستمر ارتفاع نشاط الإنزيم فيها لمدة تصل إلى ١٤ يوماً من حدوث الذبحة . كما يستدل منه على التشخيص المبكر للإصابة بالسرطان . وقد سجل ارتفاع نشاط الإنزيم في البول في حالة سرطان الكلى ، وفي السائل النخاعي في حالة خراج المخ ، وفي السيرم في حالة سرطان الدم الخطير Leukemia ، وفي خراجات الجهاز العصبي المركزي ، وأمراض الكلى ، والفشل الوظيفي للرئة وللقلب ، وفي أمراض الكبد ، وضمور العضلات .

٦ - إنزيم الفوسفاتاز القاعدي Alkaline Phosphatase :

يقوم هذا الإنزيم بتحليل عديد من الفوسفات العضوية أحادية الإستر ، والبيروفوسفات وتحرر فوسفات غير عضوي . ولتقديره تخضن العينات (المحتوية على الإنزيم) مع فوسفات فينيل ثنائي الصوديوم ، فيتحرر الفينول الذي يتم تقديره ضوئياً ، إذ تناسب تركيزات لونه مع النشاط الإنزيمي .

المحاليل :

١ - محلول منظم PH ١٤, ١٠ : أذب ٦, ٣٦ جم كربونات صوديوم لامائية + ٣, ٣٦ جم بيكربونات صوديوم في لتر ماء واحفظ في ثلاجة .

٢ - المادة الفعالة : أذب ٢, ١٨ جم فوسفات فينيل ثنائي الصوديوم في لتر ماء ، واغل بسرعة للتعقيم ، برد واحفظ بقليل من الكلورفورم (٤ مل) ، واحفظ في ثلاجة .

٣ - محلول قياسي : أذب ١ جم فينول (كريستال) نقي في لتر حمض هيدروكلوريك ١, ٠ عياري ، واحفظ بعيداً عن الضوء في ثلاجة . خفف ١ مل إلى ١٠٠ مل بالماء مع نقط من الكلورفورم ، واحفظ بعيداً عن الضوء على ٤ م .

٤ - هيدروكسيد صوديوم ٠, ٥ عياري : أذب ٢٠ جم هيدروكسيد صوديوم في لتر ماء .

٥ - بيكربونات صوديوم ٠, ٥ عياري : أذب ٤٢ جم بيكربونات صوديوم في لتر ماء .

٦ - أمينو أنتي بيرين : أذب ٦ جم من ٤ - أمينو أنتي بيرين في لتر ماء ، واحفظ بعيداً عن الضوء في ثلاجة .

٧ - حديدي سيانيد بوتاسيوم : أذب ٢٤ جم حديدي سيانيد بوتاسيوم في لتر ماء ، واحفظ بعيداً عن الضوء .

التقدير يتم بالخطوات التالية :

العينة	المقارنة	المحلول القياسي	البلانك
١ مل محلولاً منظماً + ١ مل مادة فعالة وحضن على ٣٧م في حمام ماء ٣ دقائق . أضف ٠,١ مل سيرم . حضن ١٥ دقيقة ثم أضف ٠,٨ مل هيدروكسيد صوديوم ٠,٥ عياري .	١ مل محلولاً منظماً + ١ مل مادة فعالة + ٠,٨ مل هيدروكسيد صوديوم ٠,٥ عياري ثم او . مل سيرم .	١,١ مل محلولاً منظماً + ١ مل هيدروكسيد صوديوم ٠,٥ عياري .	١,١ مل محلولاً منظماً + ٠,٨ مل هيدروكسيد صوديوم ٠,٥ عياري .

ثم يضاف إلى الأنابيب الأربعة بعد ذلك ١,٢ مل بيكربونات صوديوم ٠,٥ عياري ، ثم ١ مل أمينو أنتي بيرين + ١ مل حديدي سيانيد بوتاسيوم ، مع الرج عقب كل إضافة ، فيظهر لون بني محمر ، تقدر كثافته الضوئية على ٥١٠ نانومتر .

يحسب نشاط إنزيم الفوسفاتاز القاعدي من تركيز الفينول مجم المتحرر في ١٥ دقيقة من المعادلة :

$$\text{قراءة العينة} - \text{قراءة المقارنة} = 10 \times \frac{\text{قراءة المحلول القياسي} - \text{قراءة البلانك}}{\text{سيرم}}$$

حيث إن وحدة King Armstrong عبارة عن إنتاج ١ مجم فينول في ١٥ دقيقة . النشاط الطبيعي لهذا الإنزيم في السيرم في حدود ٣ - ١٣ وحدة كينج أرمسترونج لكل ١٠٠ مل . النشاط يزيد في الأعمار الأصغر ، وكذلك في حالة الحمل المتأخر ، وفي حالات مرضية متعلقة بالعظام ، وبالجهاز الكبدي الصفراوي ، وزيادة نشاط الثيرويد . ويؤدي الإسهال إلى إعاقة امتصاص فيتامين D والكالسيوم فيؤدي إلى تغييرات عظمية وزيادة نشاط هذا الإنزيم في السيرم .

٧ - إنزيم الفوسفاتاز الحامضي :

هو نفس أساس التقدير لإنزيم الفوسفاتاز القاعدي ، فيما عدا أنه يستخدم هنا محلول منظم حامضي بإذابة ٢٩,٤١ جم سترات صوديوم في ٠,٢ عياري حمض هيدروكلوريك حتى ٥٠٠ مل . وباقي المحاليل كما هي وخطوات التقدير كذلك ، فيما عدا زيادة فترة

التحضيرين إلى ٦٠ دقيقة بدلاً من ١٥ دقيقة . ويجرى حساب النشاط الإنزيمي بنفس الطريقة ، حيث إن وحدة نشاط إنزيم الفوسفاتاز الحامضي تعرف بأنها تكافئ تحرير ١ مجم % فينول خلال ساعة تخضين على PH ٥ ، وهي وحدة كينج أرمسترونج (وهي ضعف قيمة وحدة الفوسفات التي تكافئ تحرير ١ مجم % فوسفات غير عضوي في ساعة تخضين على PH ٥) .

ويفيد تقدير نشاط هذا الإنزيم في حالة ورم البروستاتا الخبيث Malignant prostate التي يصاحبها ارتفاع في نشاط الفوسفاتاز الحامضي .

٨ - إنزيم الأميلاز :

يتأثر نشاط البنكرياس ربما لوجود ما يعيق تدفق العصير البنكرياسي ، أو ما يدهور النسيج الغدي ، أو كلاهما ، مما يؤثر على كمية إنزيمات البنكرياس في الدم بالزيادة ، أي أن اضطرابات البنكرياس تكون مصحوبة بزيادة نشاط الأميلاز والليباز في السيرم .

ولتقدير الأميلاز يوضع في أنبوتين ٥ مل محلول نشا (١,٥ جم نشا ذائب + ٥ مل ماء يغلي ، وأثناء الغليان يضاف ماء لإكمال الحجم إلى ١٠٠ مل ، ويكمل للغليان ولا يستمر فيه ، برد ورشح على صوف زجاجي ، واحفظ في ثلاجة) + ٢ مل محلول كلوريد صوديوم (١ %) . وفي إحدى الأنبوتين (عينة) ضع ١ مل سيرم ، واخلط جيداً ، وحضن الأنبوتين على ٣٧م لمدة ١٠ دقائق . أضف ٣ مل ماء + ٨ مل حمض كبريتيك ٠,٠٨٥ عياري لكل أنبوبة . أضف ١ مل سيرم لثاني أنبوبة (مقارنة) واخلط جيداً . أضف ١ مل تنجستات صوديوم (١٠ %) لكل أنبوبة ، اخلط واترك عدة دقائق لتمام الترسب . رشح وقدر الجلوكوز في ٢ مل من كل رشح .

احسب نشاط الأميلاز كوحدة سوموجي Somogyi units / ١٠٠ مل سيرم = (مجم % جلوكوز في العينة - مجم % جلوكوز في المقارنة) × ٢ .

وقد ترجع اضطرابات البنكرياس لالتهابات الزوائد الأعورية ، والانسدادات الصفراوية ، أو انتفاخ البنكرياس ، أو البنكرياس الكبدية (كما في حالة السرطان) ؛ فقد لوحظ زيادة نشاط الإنزيم في حالة التهاب الزائدة الأعورية بفعل السموم البكتيرية .

ويتقدير نشاط الأميلاز في البول يعكس أيضاً التغييرات في أميلاز السيرم ، طالما كانت الكلى تعمل طبيعياً ، بينما في أمراض الكلى قد يرتفع نشاط أميلاز السيرم ، وينخفض أميلاز البول . ويزيد نشاط الإنزيم في كل من البول والسيرم في حالة التهاب البنكرياس الحاد ، بينما لا يظهر هذا الارتفاع في مرض البنكرياس المزمن . وقد يزيد أميلاز السيرم في أمراض باطنية مثل انسداد الأمعاء ، والتهاب البريتون الحاد ، وقرحة المعدة . وقد تنخفض أنشطة الأميلاز في كل من السيرم والبول في وجود أمراض الكبد .

ولزيادة الإيضاح يستعان بالمراجع التالية :

- Henry , R. J. et al (1974) Clinical Chemistry Principles and Technics, 2 nd Ed., Harper & Row, N. Y .
- Lister, D. & Gregory, N. G. (1978) BSAP Occasional Publication No. 1 .
- Merck , E. (1974) Klinisches Labor. 12 . Auflage, Merck, Darmstadt .
- Paglia, D. E. & Valentine , W. N. (1967) J. Lab & Clin . path., 28 : 56 .
- Reitman, S. & Frankel, S. (1957) Am. J. Clin. Med., 76 : 158 .
- Soliman, M. K. & Abd ElMoty, I. (1976) A modern Approach to Veterinary Clinical & Laboratory Diagnosis . The scientific Book Centre, Cairo .
- The Feeding Stuffs (Sampling and Analysis) Regulations (1982). Agriculture 1982 No. 1144 . Her Majesty's Stationery Office, London
- Varley , H. (1978) Practical Clinical Biochemistry. 4 th Ed. Arnold
- Heinemann , India .
- Wells, B. B. (1962) Clinical pathology. 3 rd. Ed. Saunder, philadelphia & London .
- Wootton, I. O. P. (1974) Microanalysis in Medical Biochemistry 5 th Ed., Churchill , London .

obeikandi.com