وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعه بابل \ كلية العلوم

قسم علوم الكيمياء

تقدير انزيم الاميليز

بحث مقدم الى مجلس قسم الكيمياء كلية العلوم

جامعه بابل وهو جزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس علوم الكيمياء

من قبل الطالبة

شهد فاضل عباس صالح

بأشراف

أ.م.د.احمد علي عبد الصاحب

بِسۡمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحۡمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

((اللَّهُ لَا إِلَٰهَ إِلَّا هُوَ الْحَيُّ الْقَيُّومُ ۚ لَا تَأْخُذُهُ سِنَةٌ وَلَا
نَوْمٌ ۚ لَهُ مَا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ ۗ مَنْ ذَا
الَّذِي يَشْفَعُ عِنْدَهُ إِلَّا بِإِذْنِهِ ۚ يَعْلَمُ مَا بَيْنَ أَيْدِيهِمْ وَمَا
خَلْفَهُمْ ۖ وَلَا يُحِيطُونَ بِشَيْءٍ مِنْ عِلْمِهِ إِلَّا بِمَا شَاءَ ۚ
وَسِعَ كُرْسِيُّهُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضَ ۖ وَلَا يَئُودُهُ
حِفْظُهُمَا ۚ وَهُوَ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ))

صدق الله العلي العظيم

الآيه(255) من صورة البقرة

اهداء

إلى منارة العلم وإمام المصطفى إلى الأمي . . إلى سيد الخلق إلى رسولنا الكريم سيدنا محمد ﷺ .

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار . . إلى من علمني العطاء بدون انتظار . . إلى من أحمل أسمه بكل افتخار . . أرجو من الله أن يمد في عمرك لترى ثماراً قد حان قطافها بعد طول انتظار وستبقى كلماتك نجوم أهتدي بها اليوم وفي الغد وإلى الأبد . . والدي العزيز

إلى ملاكي في الحياة . . إلى معنى الحب وإلى معنى الحنان والتفاني . . إلى بسمة الحياة وسر الوجود إلى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى أغلى الحبايب . . أمي الحبيبة

الى من هم اقرب من روحي الى من شاركونا حضن الأمن وبهم استمد عزتي واصراري ،الى من ارئ التفاؤل بعينه والسعادة في ضحكته وفي نهاية مشواري اريد اشكركم الى من تطلعتم لنجاحي بنظرات الامل .....*اخوتي*.

إلى من علمونا حروفا من ذهب وكلمات من درر وعبارات من أسمى وأجلى عبارات في العلم إلى من صاغو لنا علمهم حروفا ومن فكرهم منارة تنير لنا سيرة العلم والنجاح إلى أساتذتنا الكرام

الشكر والتقدير

لا يسعنا بعد انتهاء من الاعداد هذا البحث الا ان اتقدم بجزيل الشكر وعظيم الامتنان إلى أستاذي ومشرفي

الدكتور

أحمد علي عبد الصاحب

الذي تفضل بالاشراف على هذا البحث حيث قدم لي كل النصح والإرشاد طيلة فترة الإعداد فله مني كل الشكر والتقدير..

واشكر كذلك كل من رئاسة قسم الكيمياء وعمادة كلية العلوم الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة.....إلى الجميع اساتذتي الأفاضل

الخلاصة

يتم قياس نشاط a_amylase على نطاق واسع في مصل الدم والبول للكشف عن وجود خلل في البنكرياس والغدد اللعابية وفي بعض الحالات الخاصة وسوائل الجسم الأخرى مثل السائل البروتوني يوجد a _amylase في جسم الانسان على نوعين .نوع p و S يتم تصنيع p _ type _ amylases في خلايا البنكرياس ويتم إفرازه في الأمعاء عبر القناة البنكرياس s_نوع a _amylase الذي يوجد في إفرازات اللعاب تستخدم في سير العمل المخبري والصناعي لعده تطبيقات.

الطرق التي تستخدم تقنيات وركائز مختلفة لتقيم نشاط a-amylase وجدت ان الطرق الطيفية قابلة للتطبيق على نطاق واسع بسبب سهولة والفعالية من حيث التكلفة .اعتمادا على مبدا التفاعل يتم تصنيف هذه المقاسات الى اربع مجموعات ; طرق تقليل السكر والانزيمية والكروموجينيك و الاميلوكلاستيك. بالرغم من وجود طرق عديدة, لا توجد طريقة عامه موثوقة لتقييم نشاط a- amylase . يظهر ان كل طريقة لها مزاياها وعيوبها. والعديد من التحسينات لجعل الطرق المتاحة اكثر دقة وموثوقية وسهولة من اجل التطور المسقبلي.

فهرست الاشكال

المحتوى	رقم الصفحه
مقدمة عامة تعريف الانزيمات	7
مكونات الانزيمات	8
بناء الانزيمات	8
وظائف الانزيمات	9
الفرضيات	10
الشروط المثالية لعمل الانزيمات	10
العوامل المساعدة لعمل الانزيمات تثبيط الانزيم	11
الاميليز	12
المسببات وعلم الاوبئه	12
الفيزيولوجية المرضية فرط انزيم الاميليز	13
اسباب نزيم الاميليز الدم	١٤
اعراض فرط اميليز الدم	١٥
الفوائد الصحية للأميليز	16
طرق تقدير انزيم الاميليز	17_23
المصادر	٢٦_24

1- مقدمة عامة

تحدث في الخلايا الحية أعداد هائلة من التفاعلات الكيميائية تؤدي إلى النمو والتكاثر والحركة. ونتيجة لهذه التفاعلات الكيميائية تتحول المركبات البسيطة إلى عدد كبير من المركبات الحيوية الضرورية لقيام الخلية بوظائفها, ولبناء الخلية, وتزويدها بالطاقة اللازمة للقيام بوظائفها وبناء المركبات المعقدة.

تمتاز هذه التفاعلات الكيميائية الخلوية بأنها تتم بسرعة مناسبة في ظروف الخلية المعتدلة من حيث درجة الحرارة والحموضة(PH)، كما إنها تتوقف أو تتباطأ عندما تنتفي حاجة الخلية إلى نواتجها. تحدث هذه التفاعلات في الخلية بفضل عدد كبير من المحفزات وهي ما تعرف بالإنزيمات.

2- تعريف الانزيمات:

هي عوامل مساعدة حيوية تعمل على تسريع معدلات التفاعلات الكيميائية, وهي ذات تركيب بروتيني عالي الوزن الجزيئي، و كغيرها من البروتينات فإن الإنزيم يتألف من اتحاد عدد كبير من الأحماض الأمينية تكون فيما بينها سلسلة أو أكثر من عديد الببتيد.

وتوجد الأحماض الأمينية في هذه السلاسل وفق تتابع معين خاص بكل إنزيم مما يؤدي في النهاية إلى تركيب فراغي محدد يمكن الإنزيم من القدرة على تسريع حدوث تفاعل خاص به.

الإنزيم هي كلمة لاتينية تعني (في الخميرة in yeast)) حيث اكتشفت أولا في عملية تخمر الجلوكوز إلى كحول بواسطة الخميرة وتكون بشكل ثلاثي الأبعاد(تركيب ثلاثي) للبروتين.

تتشابه الإنزيمات في فعلها مع العوامل المساعدة الكيميائية الأخرى. إذ أنها تشارك في التفاعل دون أن تغير من نتيجته، أي أنها تعود في نهاية التفاعل إلى وضعها الأصلي الذي كانت عليه قبل بدء التفاعل مما يمكنها من المشاركة بتفاعل جديد وهذا ما يسمح لكميات قليلة من الأنزيم بالمشاركة لفترة زمنية طويلة في التفاعل، لكنها تمتاز عن العوامل المساعدة الأخرى بكفاءتها العالية.كما تمتاز عن العوامل المساعدة الأخرى بالدرجة العالية من التخصص التي تتمتع بها حيال المادة المتفاعلة ونوع التفاعل. فكل إنزيم يختص بمادة متفاعلة واحدة يطلق عليها المادة الهدف Substrate، و قد يختص الإنزيم بمجموعة محددة من المواد المتشابهة في التركيب. و الأمثلة على اختلاف الإنزيمات باختلاف المادة الهدف عديدة يذكر منها تميؤ الرابطة الجليكوسيدية أو الرابطة الاسترية أوالرابطة الببتيدية في جزيئات الكربوهيدرات والدهون

والبروتين على التوالي.في جميع هذه التفاعلات يتم كسر الرابطة بإضافة جزئ من الماء حيث تضاف مجموعة هيدروكسيل –OH إلى احدى الذرتين بينما تضاف ذرة هيدروجين -H إلى الذرة الأخرى. ومع تشابه التفاعلات في الحالات الثلاثة إلا أن الإنزيمات مختلفة باختلاف الهدف. "4"

3- مكونات الانزيمات:

يتكون الأنزيم من واحدة من الأشكال الآتية:

1 – الإنزيمات التي تتكون من البروتينات البسيطة: وتتألف من سلسلة واحدة او عدة سلاسل ببتيدية، مثل الإنزيمات المحللة: إنزيم اليوريز وإنزيم الأميليز.

2 – الإنزيمات التي تتكون من شقين: أحدهما بروتينى والآخر غير بروتينى

أ- بعض الأنزيمات تتألف من سلاسل بروتينية ومكونات أخرى يحتاجها الأنزيم لفعاليته وتسمى العوامل المرافقة Cofactor ، وأحيانا يكون المرافق الإنزيمي أحد العناصر المعدنية مثل الحديد والزنك والنحاس ويكون مرتبطا ارتباطا وثيقا بالجزء البروتيني من الإنزيم المسمى بالأبوإنزيمApoenzyme ، وإذا نزع من الإنزيم بقي الجزي البروتيني عاجزا عن تسريع التفاعل مثال الحديد في إنزيم الكاتليز.

ب- أو قد تكون بشكل جزيئات عضوية معقدة تسمى مرافقات الأنزيم Coenzyme ، مثل الفيتامينات (فتامينB) و هي ترتبط بالجزيء البروتيني من الإنزيم وقت التفاعل فقط . مثل Acetyl CoA. تحتاج بعض الأنزيمات أحياناً لكلا النوعين الأيونات الفلزية والجزيئات العضوية المعقدة . "4"

4- بناء الانزيمات

تُبنى الإنزيمات، من بروتينات مطوية في أشكال معقدة، ومنتشرة في جميع أنحاء الجسم. وتعتمد التفاعلات الكيميائية التي تبقينا على قيد الحياة -تفاعلات التمثيل الغذائي (الاستقلاب)- بشكل أساسي على الإنزيمات، تُحفز الإنزيمات التفاعلات الكيميائية ، إذ تستطيع في بعض الحالات أن تجعل التفاعل أسرع بمليون مرة من سرعته دون وجود الحافز.

ترتبط الركيزة (الجزيء الكيميائي المُتفاعِل) مع الموقع الفعال للإنزيم وتُحول إلى نواتج. ما إن تغادر النواتج الموقع الفعال للإنزيم، يتجهز الإنزيم مباشرة للارتباط بركيزة جديدة، وإعادة العملية نفسها "4"

5- وظائف الانزيمات

تتواجد الإنزيمات في أجسام معظم المخلوقات الحية كالإنسان، والنبات، وأيضًا البكتيريا.

وتعمل الإنزيمات على تحفيز معظم التفاعلات الكيميائية في جسم الإنسان والتي تشمل عمليات النمو، وتخثر الدم، والتئام الجروح، ومحاربة الأمراض، والتنفس، والهضم، والتكاثر، والعمليات الحيوية الأخرى.

إليك أهم الوظائف التي تقوم بها الإنزيمات في جسم الإنسان:

1. نقل الإشارات

تعمل الإنزيمات على نقل الإشارات الفيزيائية والكيميائية والتي تساعد على إتمام العمليات الحيوية، مثل: فسفرة البروتين في خلايا جسم الإنسان.

2. تحليل الجزيئات

للإنزيمات دور مهم في عمليات الهضم حيث تعمل على تحليل وتفتيت الجزيئات الكبيرة التي يتناولها الإنسان، مثل: السكريات، والبروتينات ليسهل امتصاصها بعد ذلك من خلال جدار الأمعاء.

3. إنتاج الطاقة

تساعد الإنزيمات على إنتاج ثلاثي فوسفات الأدينوزين (ATP) والذي يعمل على تزويد جسم الإنسان بالطاقة لأداء الوظائف المختلفة.

4. المضخات الأيونية

للإنزيمات دور مهم في المضخات الأيونية المتواجدة في غشاء كل خلية والتي تعمل على نقل الأيونات من وإلى الخلية.

5. تنظيم حركة الخلايا

للإنزيمات دور كبير في تنظيم حركة الخلايا، بحيث تعمل على فصل الكروموسومات عند انقسام الخلية وتساعد أيضًا على حركة الأهداب للتخلص من البلغم في المجرى التنفسي للإنسان.

6. وظائف أخرى هناك عدة وظائف أخرى للإنزيمات إذ لها دور فعال في انقباض العضلات، واستجابة الجهاز المناعي، وعملية الشيخوخة. "4"

6- الفرضيات:

أولا: فرضية القفل والمفتاح: وضعت هذه الفرضية من قبل اميل فيشر لتفسير اصطفائية الأنزيمات حيث افترض ان موقع الارتباط في الأنزيم يشابه دور القفل الذي لا يفتحه إلا مفتاح مخصص له ينطبق شكله على متطلبات هذا القفل ، وهذا ما يؤدي إلى ان جزيئات معينة فقط تستطيع الارتباط بالإنزيم في موقع ارتباطه التفاعلي لتخضع للتفاعلات التي ينجزها الأنزيم.

ثانيا: فرضية التلاءم المحرض: اقترح كوشلاند فرضية معدلة عن فرضية القفل و المفتاح آخذا بعين الاعتبار حركية الجزيئات البروتينية ، حيث افترض أن السلاسل الببتيدية في موقع الارتباط تستطيع أن تغير مواقعها لتلاءم ارتباط بعض الأهداف، كما إن هذه السلاسل الببتيدية تأخذ في شكلها الجديد وضعية تسهل عملها التحفيزي مما يؤدي إلى إنجاز التفاعل الكيميائي المطلوب . "5"

7- الشروط المثالية لعمل الأنزيمات

تعمل الإنزيمات في شروط محددة فقط، ومعظم الإنزيمات في جسم الإنسان تعمل عند درجة حرارة 37 درجة مئوية؛ وهي درجة حرارة الجسم الطبيعية. وعند درجات الحرارة الأقل، تستمر الإنزيمات، في العمل، ولكن بشكل أبطأ بكثير.

وبالمثل، يمكن للإنزيمات أن تعمل في مدى محدد لدرجة الحموضة PH، وتعتمد درجة الحموضة التي تفضلها الإنزيمات، على موقعها في الجسم، فمثلًا؛ تعمل الإنزيمات المعوية بشكل أفضل عند درجة الحموضة (PH = 7.5)، في حين تفضل الإنزيمات المعدية درجة الحموضة (PH = 2) لأن المعدة ذات وسط أكثر حموضة.

إذا كانت درجة الحرارة مرتفعة جدًا، أو كانت البيئة حامضية أو قلوية جدًا، فإن الإنزيمات، تغير شكلها، وبالتالي يتغير شكل الموقع الفعال ما يمنع الركائز من الارتباط به، ويسمى في هذه الحالة إنزيمًا (متمسخًا – Denatured). "6"

8- العوامل المساعدة لعمل الأنزيمات

لا تستطيع بعض الإنزيمات العمل إلا إذا كانت مرتبطة بنوع معين من الجزيئات غير البروتينية، تسمى (العوامل المساعدة – Cofactors). على سبيل المثال، يساعد إنزيم (الأنهيدراز الكربوني – carbonic anhydrase) في المحافظة على درجة الـ PH في الجسم، ولا يمكنه القيام بعمله ما لم يكن مرتبطًا بأيون الزنك. "6"

9- تثبيط الانزيم : Inhibition Enzyme

يمكن تثبيط (خفض سرعة التفاعل الانزيمي أو إيقافه) فعالية الانزيم برفع درجة الحرارة أو بتغيير الpH أو إضافة إحدى مرسبات البروتين المختلفة. غير ان هناك عملية تثبيط للانزيم اكثر تخصصا, وذلك بإضافة مواد كيميائية معينة تدعى المثبطات, وذلك من خلال تأثيرها على مجاميع معينة للانزيم أو للنظام الانزيمي حيث تعطي مثبطات الانزيمات معلومات مفيدة في توضيح المسارات الحياتية المختلفة, وتوضح المثبطات عمل بعض العقاقير والمواد السامة.

. التثبيط العكسي Reversible Inhibition

إن المثبطات العكسية هي التي تتحد مع الإنزيم مباشرة ,في هذا النوع من التثبيط تستعاد فاعلية الإنزيم إذا أمكن التخلص من المثبط بعملية الفرز الغشائي أو بالتخفيف .

أ-التثبيط التنافسي Competitive inhibition :

يحصل هذا التثبيط نتيجة لتنافس كل من مادة التفاعل و المثبط على الإرتباط بالمواقع الفعالة للإنزيم, حيث يكون هناك تشابه بين تركيب المثبط التنافسي و تركيب مادة التفاعل.

ب-التثبيط الغير تنافسي Non competitive inhibition:

في هذا النوع من التثبيط يكون تركيب المثبط لايشابه تركيب المادة الاساس أو قد يشابهه قليلا. يرتبط المثبط غير التنافسي عادة مع الانزيم في موقع اخر يختلف عن الموقع الفعال ,وبغض النظر فيما إذا كان ذلك الانزيم حرا او مرتبطا بمادة الاساس

ت-التثبيط اللاتنافسي Uncompetitive inhibition:

-يرتبط هذا المثبط في موقع في الإنزيم يختلف عن الموقع الفعال

-يرتبط هذا المثبط فقط مع معقد الإنزيم- الماده الاساس "3"

10- الاميليز

هو انزيم هضمي يفرزه البنكرياس والغدد اللعابية ويوجد في الانسجة الاخرى بمستويات صغيره جدا تم وصفه الاميليز لأول مرة في اوئل القرن التاسع عشر ويعتبر من اوائل الانزيمات في التاريخ التي تم فحصها علميا كان يطلق عليه في البداية diastasteولكن تم تغيير اسمه لاحقا الى amylase في اوائل القرن العشرين تتمثل الوظيفه الرئيسية للأميلاز في تحلل روابط الجليكوسيد في الجزيئات النشا وتحويل الكربوهيدرات المعقدة إلى سكريات بسيطة هناك ثلاث فئات رئيسيه من انزيمات الاميليز ،Alpha,Beta, gamma_amylaseوكل منها يعمل على أجزاء مختلفة من جزي الكربوهيدرات. يمكن العثور على الفا اميليز في البشر والحيوانات والنباتات والميكروبات تم العثور على Beta_amylase في النباتات والميكروبات .تم العثور على جاما اميليز في الحيوانات والنباتات في عام 1908 حددت دراسة Wohlgemuthوجود الاميلاز في البول مما ادى لاحقا الى استخدام الاميليز كاختبار يتم طلبه بشكل شائع مع الليباز خاصه في حالة الاشتباه في التهاب البنكرياس الحاد . "1"

11- المسببات وعلم الاوبئه :

على الرغم ان ارتفاع الاميليز او فرط اميليز الدم يظهر بشكل اساسي في امراض اللعاب والبنكرياس الا انه يمكن رؤيته ايضا في امراض مختلفة بما في ذلك امراض الجهاز الهضمي والاورام الخبيثه وامراض النساء يمكن ملاحظه انخفاض مستويات الاميليز في تسمم الحمل والتليف الكيسي وامراض الكبد يمكن رؤيه الاميليز المرتفع في مجموعه متنوعه من الحالات بما ذلك مرض البنكرياس وامراض اللعاب وانخفاض التصفية الأيضية وامراض الامعاء وتضخم الدم يمكن ايضا ملاحظه زياده مزمنة في الاميليز في حاله نادره تسمى فرط انزيم البنكرياس الحميد اومتلازمه جولو عاده مايكون المرضى بصحه جيده ولا يعانون من امراض البنكرياس مسببات الحالة غير معروفه سته وعشرون(12.5٪) من 208 من مرضى يعانون من الالم في البطن لاعلاقه لها بالبنكرياس كان لديهم ارتفاع في مستوى الاميليز في الدم عند دخول لوحظ ارتفاع مستويات الاميليز بشكل غير طبيعي في 35٪ من مرضى الكبد(16_25٪) من حالات الحماض الكيتوني السكري تظهر بمستويات مرتفعه من الاميليز في مجموعه من 74 مريضا مصابيين بسرطان الرئه القابل للاستئصال جراحيا اظهر 13 فرط اميلاز الدم . "6"

12- الفيزيولوجيا المرضية :

تتمثل الوظيفه الرئيسية لاميلاز في تحفيز التحلل المائي للنشا الى السكريات تم الاكتشاف العديد من الاشكال الإسوية للأميلاز ولكن اكثرها وفره هو اميلاز البنكرياس (P_amylase)والاميليز اللعابي(S_amylase) تم العثور على (P_amylase)على وجه التحديد في البنكرياس ويتم تصنيعه بواسطه خلايا اسينار ثم تفرز في الجهاز الهضمي المسالك يتم انتاج(S_amylase) بشكل اساسي في الغدد اللعابيه ولكن يمكن ايضا انتاجه في المبايض وقناتي فالوب والجهاز الهضمي والرئتين والعضلات المخططه والاورام الخبيثه يتم تنظيم مصل الاميليز باحكام في الجسم هناك توازن بين معدل الانتاج ومعدل التصفيه قد يرجع ارتفاع الاميلاز الى زياده انتاج البنكرياس او خارج البنكرياس نتيجه انخفاض معدل التصفيه

يبلغ وزن الاميليز الجزيئي حوالي 50 الى 55 كيلو دالتون ودرجه الحموضه الفسيولوجيه المثلى من 6.7_7.0وتتطلب ايونات الكالسيوم والكلوريد لنشاط الانزيم الامثل يسمح الحجم الصغير بلترشيح بسهوله من خلال الكبيبات يتم تطهير الاميليز عن طريق الكلى والجهاز الشبكي البطاني . "6"

13- ما هو فرط أميلاز الدم؟

يمكن وصف فرط أميلاز الدم بأنه زيادة في إنزيم البنكرياس – الأميليز في الدم. يعتمد هضم مدخولك الغذائي من الكربوهيدرات والدهون على عمل الأميليز الموجود في اللعاب لبدء هضم النشويات. في الوقت نفسه ، يعمل الليباز من إفرازات المعدة على تكسير الدهون في طعامك.غالبًا ما يتم رسم مستويات الأميليز والليباز في الدم لتشخيص التهاب البنكرياس. عندما يكون البنكرياس ملتهبًا ، ستؤدي إلى زيادة مستويات الأميليز والليباز في الدم وإنزيمات البنكرياس. المستوى الطبيعي للأميلاز هو 0-137 وحدة / لتر. قد تختلف القيم الطبيعية من معمل إلى آخر. "2"

14- أسباب فرط أميلاز الدم:

- التهاب البنكرياس . يمكن أن يؤدي ذلك إلى زيادة مستويات الأميليز والليباز حتى 3 أضعاف الحد الطبيعي. يجب زيادة كلا القيمتين ، من أجل إجراء تشخيص التهاب البنكرياس.
- الأورام – قد تزداد مستويات إنزيم الأميليز في بعض أورام البنكرياس واللعاب والبروستات والرئة والمبيض.
- عدوى المرارة - (التهاب المرارة) ، قد يؤدي إلى زيادة مستويات الأميليز ، مما يسبب فرط أميلاز الدم.
- يمكن أن يؤدي الفشل الكلوي إلى فرط أميلاز الدم.
- يمكن أن يؤدي إجراء تصوير البنكرياس والقناة الصفراوية بالمنظار مؤخرًا (ERCP) إلى فرط أميلاز الدم.
- الأدوية – قد تؤدي بعض الأدوية إلى التهاب البنكرياس ، مما قد يؤدي إلى فرط أميلاز الدم وفرط شحميات الدم.

سيشخص طبيبك أو مقدم الرعاية الصحية فرط أميلاز الدم أو فرط شحميات الدم عن طريق سحب أنبوب من الدم. إذا كان هناك اشتباه في وجود مشاكل في المرارة أو البنكرياس أو الكلى ، فيمكن أيضًا إجراء فحص بالموجات فوق الصوتية للمرارة أو البنكرياس ، أو فحص CAT لبطنك. قد تكون معرضًا لخطر الإصابة بالتهاب البنكرياس ، بما في ذلك فرط أميلاز الدم وفرط شحميات الدم ، إذا كنت تعاني من:

- زيادة الوزن بشكل مفرط (السمنة)
- لديك نسب عالية من الدهون الثلاثية في دمك
- شرب الكثير من الكحول
- تم تشخيص إصابتك بحصوات المرارة (التي قد تمنع تدفق الإفرازات من البنكرياس إلى الأمعاء)
- لديك تاريخ عائلي للإصابة بالتهاب البنكرياس."2"

15- أعراض فرط أميلاز الدم:

لا توجد أعراض لفرط أميلاز الدم في كثير من الأحيان ، إلا إذا أصبت بالتهاب البنكرياس أو بعض الحالات الأخرى التي قد تسبب لك الألم أو الغثيان أو القيء.

إذا كان البنكرياس لديك ملتهبًا بسبب التهاب البنكرياس ، والبنكرياس غير قادر على إنتاج الأنسولين ، فقد تكون لديك أعراض مرض السكري. وتشمل هذه الأعراض العطش الشديد ، وكثرة التبول ، والتعب الشديد (التعب) ، وفقدان الوزن. هذا غالبًا ما يكون مؤقتًا.

قد تشمل أعراض التهاب البنكرياس الغثيان والتعرق والضعف. قد تلاحظ أيضًا ألمًا في منتصف صدرك ، والذي قد يتحرك أو ينتقل إلى ظهرك. "2"

16- الفوائد الصحية للأميليز :-

تشمل الفوائد العديدة لهذا الإنزيم قدرته على تحسين الهضم ومنع علامات الشيخوخة المبكرة ، من بين أمور أخرى.

1- ضغط عصبي

توصلت الأبحاث إلى وجود روابط بين المستويات المنخفضة من الأميليز اللعابي وهرمونات التوتر المرتفعة في الجسم ، لذا فإن التأكد من صحة العدد يعني تقليل التقلبات المزاجية والضغط المزمن.

2- مستويات الطاقة

عندما تمتص كل طعامك ولا تترك هذه العناصر الغذائية تذهب سدى ، فأنت في المستوى الأكثر كفاءة لإنتاج الطاقة في الجسم ، مما يعني تقليل آلام الجوع.

3- الهضم

الغرض الرئيسي من هذا الإنزيم هو الهضم السلس للمغذيات والكربوهيدرات في الأمعاء. عندما تعمل هذه العمليات بشكل نظيف ، ستكون قادرًا على تجنب أعراض الإمساك ومشاكل الجهاز الهضمي الأخرى.

4- مرض يصيب جهاز المناعة

على الرغم من أن معظم الأطعمة الصحية تعزز جهاز المناعة ، وبالتالي يمكن أن تكون خطيرة بالنسبة لأولئك الذين يعانون من أمراض المناعة الذاتية ، إلا أن هذا الإنزيم يمكن أن يقلل من الجزيئات الالتهابية في الجسم ، والتي تؤدي إلى الاستجابة المناعية. سواء كنت تتناول المكملات الغذائية أو الأطعمة الغنية بهذا الإنزيم ، فإن جسمك أكثر قدرة على التحكم في التورم والاحمرار والتهيج والالتهاب في جميع أنحاء الجسم ، بما في ذلك أعراض التهاب المفاصل الروماتويدي وحالات الالتهاب الشائعة الأخرى.

5- الشيخوخة المبكرة

وجدت بعض الدراسات أن زيادة مستويات هذا الإنزيم قادرة على إبطاء عملية الشيخوخة ؛ في الرجال ، الذين يميلون إلى إنتاج المزيد من هذا الإنزيم مع تقدمهم في العمر ، يظهر أن الأميليز يمنع الإجهاد التأكسدي في العديد من الحالات. "6"

17- طرق تقدير انزيم الاميليز

1- التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء FTIR

تم تطبيق التحليل الطيفي FTIRبنجاح لتحديد نشاط الأميليز في المحاليل المائية .وقد تبين أنه بهذه الطريقة يمكن استخدام النشأ غير المعدل الرخيص ،وهو ركيزة طبيعية للانزيم. كان الهدف من هذه الدراسة هو تطوير ظروف التفاعل التي تسمح بتحديد -نشاط الأميليز في مصل الإنسان في النطاق المناسب سريرياً من 50 إلى 1000 وحدة / لتر. تم ضبط درجة حرارة التفاعل على 37.°لأن هذه هي إحدى درجات الحرارة القياسي لتحديد أنشطة الإنزيم.

يقترح نشاط الاميليز في المحاليل المائية و المصل البشري يمكن متابعه التفاعل الكيميائي المحفز بواسطه انزيم قيد الدراسة مباشره عند تطبيق الكشف الطيفيFTIR ايضا في الحالة حيث لا يتم انشاء او استهلاك أنواع نشطه الملونة او الكهروكيميائية اثناء التفاعل أ- الاميليز مع النشا البسيط. لذلك فان تحديد أ- يمكن اجراء نشاط الاميليز بنجاح عن طريق تسجيل طيفي FTIR، احدهما مباشرة بعد خلط العينة ومحلول الركيزة(النشا) والاخر بعد وقت ردت فعله 20 دقيقه . من هذين الطيفين FTIR تم حساب طيف الاختلاف بموجب هذا للقضاء على امتصاص غير محدود للمصفوفة تتوافق شدة اطياف الاختلاف الناتجه مع مدى التفاعل الذي حدث خلال الفتره الزمنية التي تم فحصها بالتالي تكون مرتبطة بنشاط الانزيم في العينه الطريقه المطورة خطيه من 80 الى 1400 وحده / لتر **في المحاليل المائية** وتم تطبيقها بنجاح ايضا لتحديد أنشاط الاميليز في مصل الانسان حيث تم تحقيق نطاق عمل خطي من 100 الى 1800 وحدة/لتر . "8,9"

2- طريقة نشأ اليود

تعتمد طريقة قياس اليود amyloclastic على قدرة اليوديد على تكوين لون ازرق زاهي مع النشا.يتم تحلل النشا بواسطة الاميليز في العينة لأطلاق جزيئات اصغر مثل الدكستران والمالتوز وبعض جزيئات الكلوكوز. لاتشكل جزيئات السكر الصغيرة معقدا مع اليود ولا تعطي لونا ازرق. كلما تم تكسير المزيد من النشا ،قلت الكثافة النشا. يتم خلط الركيزة(النشا)والعينة(amylase)معا واحتضانها لفترة محددة. يضاف محلول لون يوديد ويتكون مركب لون نشا /يوديد. يتم اجراء قياس الطيف الضوئي لتحديد شدة اللون(الامتصاص).كلما انخفض الامتصاص النهائي (كلما زاد الفرق بين المحاليل الفارغة والاختبار) زاد نشاط الاميليز في الدم يتم استخدام طريقة نشأ اليود بشكل متكرر لتقيم نشاط α-amylaseبسبب تأثيره البساطة والتاريخ الطويل للاستخدام في صناعة المواد الغذائية " 10,11"

3- طريقة الاسكندنافية

تم الاعتماد على هذه الطريقة لتقدير انزيم الأميليز حيث يتم تقدير كمية من النشأ التي يهضمها الإنزيم تحت ظروف محددة من الحرارة والوقت والحجم باستخدام اليود ككاشف. أحد عيوب هذه الطريقة اعتمادها على درجة الحرارة والضغط والوقت المحدد وتكون هذه الطريقة حساسة. "7"

4- طريقة الكروموجينيك

وجدت طرق الكروموجينية تطبيقاً واسع النطاق في تحديد نشاط α-amylaseحيث تقترن صبغة قابلة للذوبان أو كروموجين بركيزة (مالتوز-a)لإعطاء إشارة بصرية قابلة للقياس عند تحرير الكروموجين نتيجة عمل . α-amylaseتستخدم معظم هذه الطرق النشا المعدل أو مشتقات النشا مثل مركب صبغ النشا غير القابل للذوبان p-nitrophenyl glycosides مالتوقليل السكاريد المرتبط (G10-G3) كالركائز .أهم ميزة في هذه الركائز هي أن هذه الركائز خاصة بـ α-amylasesولا تتفاعل معها إنزيماتamylolytic الأخرى.

في طريقة صبغ النشا غير القابلة للذوبان، ترتبط الصبغة تساهمياً بالنشا أو أحد مكوناته مثل الأميلوز أو الأميلوبكتين لإنتاج إشارة ملونة عند التحلل المائي بواسطة .α-amylaseحيث تبقى الركيزة المرتبطة بالصبغة غير قابلة للذوبان في الماء حتى يتم ربطها بالصبغة. ومع ذلك، فإن ملفات الصبغةقابلة للذوبان في الماء وعندما يتم العمل على هذه الركائز بواسطة α-amylases، شظايا تحتوي على صبغة قابلة للذوبان أو امتصاص الأجزاء القابلة للذوبان، والتي تعتبر كمؤشرمباشر على نشاط α-amylaseيتم قياسه بعد إزالة غير المائي الركيزةعن طريق الطرد المركزي. طريقة صبغ النشا، وخاصة طريقة " Phadebas " هي يتم تسويقها واستخدامها على نطاق واسع في المجال السريري والغذائي والطب الشرعي. واحد من العيب الرئيسي لطريقة صبغ النشا هو أن حجم منتج التحلل المائي النشا أو لأيمكن تحديد آلية الانقسام بالإضافة إلى إزالة المواد غير قابلة للذوبان من خلال الطرد المركزي أمر مرهق بعض الشيء ويحد من الاستخدام الواسع النطاق لـ Phadebas طريقة.

هذه الطرق تستغرق وقتاً أقل ،وأقل جهد ،وسهلة،ولاتنطوي على أي مواد سامة المناولة الكيميائية و خاصة تتكيف مع لوحات ميكروتيتر .على عكس السكر المختزل هذه الطرق لاتتضمن خطوة تسخين. في البداية كانت الطرق الكروموجينية تم تطويره بشكل أساسي لتقييم نشاط مصل ألفا الأميليز .ومع ذلك ،في الوقت الحاضر ،هذه الأساليب تستخدم على نطاق واسع في مختلف المجالات نظرا لسهولة ودقة وقابلية استنساخ عالية . "١٣,١٤,12"

٥- الطريقة الانزيمية

يستخدم إنزيم الجلوكوز أوكسيديز (GOD)تحديد مستوى السكر في الدم ، والنشا الكلي المحتوى في منتجات الحبوب ولتحديد نشاط amylase-αالمصل لأنه رخيص وثابت ، وهوشديد التحديد للجلوكوز. نظراً لأن GOD خاص جداً بالجلوكوز ،فان منتج a_لأيمكن استخدام الاميليز (المالتوز والدكسترينات الأخرى) (مكافئ0.5)مباشر لتحديد نشاطa_amylase ,وبالتالي يتم تحللها بشكل متزامن بواسطه amyloglucoidaseلا نتاج الجلوكوز مكافئ (0.6)لتحديد كمية الجلوكوز المنتجة ،يتم استخدام الجلوكوز أوكسيديز جنبا إلى جنب مع بيروكسيداز (POD) لتحديد كمية الجلوكوز المنتجة .

المبدأ وراء هذه الطريقة هو أنه في البداية ، يتأكسد الجلوكوز بواسطة GOD لإنتاج حمض الجلوكونيك و بيروكسيد الهيدروجين (مكافئ 07)بعد ذلك ، يسُمح لبيروكسيد الهيدروجين المتولد بالتفاعل مع متقبل الإلكترون مثل كينونيمين في وجود بيروكسيداز لتشكيل لون وردي المنتج وامتصاصه يقاس عند 500 نانومتر (مكافئ 08 .)تشكلت كثافة اللون الوردي يتناسب طرديا مع تركيز الجلوكوز في العينة. الخطوات المشتركة تشارك في الطريقة ، الخطوة 1 :إضافة الأميليز ألفا والنشا في لوحة ميكروتيتر ؛ الخطوة2 :إضافة الجلوكوزيداز ؛ الخطوة 3 :إضافة كاشف POD / GOD ؛ الخطوة 4 :القياس من الامتصاصية عند 500 نانومتر. الميزة الرئيسية لهذه الطريقة هي استخدام انزيم خاص للغاية يزيل الجلوكوز التداخل من المواد الأخرى ويمكنه الحصول على دقة عالية النتائج .كانت طريقة مجموعة GOD/POD تم الإبلاغ عنها لإظهار دقة عالية وقابلية استنساخ في تقييم محتوى النشا الكلي في الحبوب التي يتم تحديدها عن طريق تحديد كمية السكريات المنتجة من خلال التحلل المائي المتسلسل بواسطة a_amylase والا ميلو غلوكوزيداز .يضاف إلى ذلك مزايا اخرى للطريقة الانزيمية هي أنها لاتنطوي على اي تحضير معقد للكشف لاتتضمن خطوة تسخين ،ولا فترة حضانة طويلة مما يجعل الطريقة أقل تعقيدا وأقل جهدا ووقتها أقل تستهلك .الكاشف الوحيد الذي يجب تحضيره بالإضافة إلى الانزيم هو عينة النشأ . "١5,16"

6- طريقة كروموتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC

هذه الطريقة تكون متقرنة بجهاز الانكسار كاشف مؤشر IRإلى جنب النبض ويمكن استخدام الكشف عن قياس الامبيرومتر (PAD)للكشف الكمي عن نشاط الاميليز على كمية السكريات الفردية المنتجة .الان التكلفة الأولية الضخمه للادوات والتشغيل اليومي جنبا إلى جنب مع متطلبات الأفراد المدربين.فقد حد من التطبيق الواسع النطاق لهذه التقنية. "١7"

٧- طريقة قياس التعكر

بهذه الطريقة يجب أن يكون النشا المستخدم لايذوب تماما ولكن يجب أن يكون قادرا على تكوين تعليق .وبالتالي ،فمن الضروري الماصة من نفس الكمية من النشا في كل بئر للحصول على نتائج قابلة للتكرار وموثوقة.في مقياس الطيف الضوئي .جزيئات النشا المتبقية الناتجة عن التحلل المائي غير الكامل ليعكس النشا الضوء الساقط وينثره مما يقلل من شدة الضوء التي تصل إلى الكاشف.يتم تسجيل الانخفاض كقيمة الامتصاصية وهكذا إذا تفاوتت كمية النشا يتم ضخة في آبار العينة ، وهذا يمكن أن يؤدي إلى قيم الامتصاص عالية بشكل مصطنع ،المساومة على دقه النتائج الاختبار ترسيب الركيزة والحصول على الخليط المتجانس في كل بئر يجعل الطريقة أكثر صعوبة وأقل موثوقية .على الرغم من السرعة والبساطة نسبياً. "18"

٨- طريقة تقليل من السكر DNSA

تعد طريقة DNSAهي البرتوكول الاكثر استخداماً لقياس نشاط a_amylase تم وصف هذه الطريقة لأول مرة لتحديد الاختزال السكريات في البول الطبيعي والبول السكري، تم تحسين الطريقة لاحقاً بواسطة &Noeltingبيرنفيلد لقياس السكريات المختزلة الناتجة من عمل a_amylase تستخدم على نطاق واسع لقياس أنشطة الكربوهيدرات الأخرى. هناك بعض العيوب في رد فعل العطرية ٣،٥-حمض الدينتروساليسيك مع نهاية الكربونيل للسكريات المختزلة لإنتاج اللون البرتقالي الغامق حمض ٣-امينو-٥-نيتروساليسيليك الملون (ANS) والذي يمتص الضوء بقوة عند 540نانومتر .بينما يتم تقليل حمض 5,3-ثنائي نيتروساليسيليك إلى حمض 3-امينو -5-نيتروساليسيليك ،تتاكسد المجموعات الوظيفية (الالدهيد/الكينونة) من السكريات في نفس الوقت إلى الاحماض الكربوكسيلية منها .وهكذا ،من الناحية النظرية ،كمية حمض ٣-امينو -٥-نيتروساليسيليك يجب أن يكون المنتج متناسيا بشكل مباشر مع عدد المجموعات الوظيفية المؤيدة في السكر. ومع ذلك ،فقد أفادت العديد من الدراسات أن السكريات المختلفة تنتج ألوانا مختلفة شدة تشير الى عدم التكافؤ بين كمية السكر المتفاعل و٣-امينو-٥ينتج حمض النيتروساليسيليك . حيث اظهر استخدام مقايسة DNSAلقياس a_amylaseعدم وجود علاقة خطيه بين كمية اللون المنتجة ومقدار الرقم الفعلي من مجموعات تصغير الدم الموجودة في العينة .

تتمثل بعض العيوب الرئيسيه لطريقة DNSAفي متطلبات الكميات الكبيرة من العينة والكواشف ،اشراك عدة خطوات بما في ذلك خطوة التسخين ،وقت طويل الاستهلاك ،كثيفة العمالة ،خطوة الغليان وإضافة الماء البارد ونقلة من خليط التفاعل من أنابيب التفاعل إلى الألواح الدقيقة تستغرق وقتا طويلا خاصة عند التعامل مع عدد كبير من العينات. "19,20,21"

9-طريقة النحاس Nelson_somogyi

والذي يقوم على مبدا الحد من النحاس في هذا الاختبار فانه يتم تسخين السكريات مع النحاس تحت ظروف قلويه لتكوين اكسيد النحاس ثم يسمح له بالتفاعل مع حمض ارسينوموليبدك لإنتاج الموليبدينوم الازرق الذي يمتص الضوء عند 620 نانومتر.

تم العثور على طريقة NS لإعطاء نتائج اكثر دقه في القياس السكريات المختزلة .تم الإبلاغ عن هذه الطريقة الخاصة لتوليد قيم مختزلة متطابقة لتخفيض كمية متساوية من مالتوديكسترين . قياس الظاهر كان المالتوز الناتج في تفاعل الفا اميليز متناسيا طرديا مع النشاط المحدد ل الانزيم موجود .لم تكن مشكلة الأكسدة المفرطة التي تمت مواجهتها في طريقة DNSA كذلك لوحظ في طريقة NS في دراسة أجراها Whelan&Robyt حيث القيمة المنخفضة أظهر مالتوز ،اوليغوساكاريدس،ومالتوديكسترين ظهريا متكافئا العلاقة مع مجموعات الاختزال النصفي المتاحة.بالاضافة إلى ذلك ،طريقة NS هي تم الإبلاغ عن أنها أكثر حساسية ١٠مرات من طريقة DNSA ومع ذلك ،ينبغي أن تكون الرعاية مأخوذة لمنع إعادة أكسدة (Cu I)إلى (Cu II) أثناء فترة التسخين والتبريد السابقة إضافة كاشف ارسينوموليبدات ،حيث أن الأكسدة الخلفية لديها إمكانية عالية لإعادة أكسدة .على الرغم من دقتها العالية وحساسيتها ،فقد تلقت طريقة NS أقل القبول/الشعبية من حيث الاستخدام مقارنة بطريقة DNSA .السبب الرئيسي لهذا التناقض هو الخطوات المرهقة التي تنطوي عليها طريقه NS فحص DNSA هو الأكثر شائع لأنه بسيط وسريع نسبيا .

على الرغم من أن طريقة النحاس NS أقل ملاءمة من طريقة DNSA ،الانها كذلك تم الإبلاغ عنها لتكون أكثر موثوقية وأكثر حساسية من حيث الدقة والموثوقية.

تتطلب كل من طريقة NS و DNSA عدداً كبيراً من أنابيب التفاعل ونقل الحل النهائي لأنابيب/لوحة ميكروتيتر لقراءة الامتصاصية .بالإضافة إلى ذلك .فإن التعامل مع عدد كبير من الأنابيب اثناء عملية التسخين (في الحمام المائي)يحد من القدرة التحليلية (عدد العينات التي يمكن معايرتها في وقت واحد) وكفاءة الطرق. طورت طريقه NS تعتمد الصفيحه دقيقه اكثر ملاءمه لتحديد السكريات المختزلة التي قللت بشكل كبير من وقت الفحص (يمكن فحص 25 عينة تقريبا في غضون ساعه واحده) واستخدم الكاشف لديه ايضا زياده حساسيه ودقه الفحص مع ذلك يتطلب حرارة صفيحة ميكروية مقاومه للحرارة من مادة البولي بروبيلين لتحمل الحرارة لتجنب الأضرار أثناء التسخين معالجة ."25،22,23,24"

المصادر

1-Brown, Thomas A. "Rapid Review Physiology." Mosby , 1st Ed

2-Chemical genetics and cereal starch metabolism: structural basis of the non-covalent and covalent inhibition of barley β-amylase"، Molecular BioSystems، 7

3-Sorensen, EJ (2001)، "Profiling the specific reactivity of the with non-directed activity-based probes"، Chemistry & Biology،

4- د. اسراء ملكاوي بكلوريوس في الصيدلة والماجستير في العلوم الصيدلانية والبحث الاكاديمي

٥-جامعة بابل /كلية التربية الاساسية /د انتصار رحيم مدرس مساعد.

6-Enzymes: Basic concepts and kinetic وBerg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L.(2002). Chapter 8. Enzymes: Basic concepts and kinetics

7- السعداوي ،عيس "الكيمياء حيوية عملي ". الطبعة الأولى .عمان دار الميسرة للنشر والتوزيع 2009.ص108-221

8-Kodak Ektachem DT60 Analyser Methodology Notebook (1988) Publication No. C-302 K8C045 7/88, Eastman Kodak Company, New York

9-Henry RJ, Chiamori N (1960) Clin Chem 6:434-452

10-Fuwa H. A new method for microdetermination of amylase activity by the use of amylose as the substrate. J Biochem 41:583-603 (1954)

11-Xiao Z, Storms R, and Tsang A. A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. Anal Biochem 351:146-148 (2006)

12-MeCleary B V. and Sheehan H. Measurement of cereal a-amylase: A new assay procedure. J Cereal Sei Academic Press Limited; 6:237-251 .(1987)

13-Driscoll RC, Gargiulo RJ, and Giegel JL. Amylase determination. .Google Patents; 1978

14-Osman A. The advantages of using natural substrate-based methods in assessing the roles and synergistic and competitive interactions of barley .malt starch-degrading enzymes. J Inst Brew 108:204-214 (2002)

15-Farias D. Carvalho A, Oliveira C. Sousa N, Rocha-Bezerrra L, Ferreira P. Lima G, and Hissa D. Alternative method for quantification of .alfa-amylase activity. Brazilian J Biol 70:405-407 (2010)

16-McCleary B., Gibson TS, and Mugford DC. Measurement of total starch in cereal products by amyloglucosidase- a-amylase method: Collaborative study. JAOAC Int 80:571-579 (1997). Accepted Article

17-Visvanathan R, Jayathilake C, Liyanage R, and Sivakanesan R. Applicability and reliability of the glucose oxidase method in assessing a- .amylase activity. Food Chem Elsevier; 275:265-272 (2019)

18-Liu T, Song L, Wang H, und Huang D. A high-throughput assay for quantification of starch hydrolase inhibition based on turbidity .measurement. Jagrie Food Chem 59.9756-9762 (2011)

19-Gonçalves C, Rodriguez-Jasso RM. Gomes N, Teixeira JA, and Belo I. Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates. Anal .Methods 2:2046-2048 (2010)

20-Negrulescu A, Patrulea V, Mincea MM, Ionascu C, Vlad-Oros B a., and Ostafe V. Adapting the reducing sugars method with dinitrosalicylic acid to microtiter plates and microwave heating. / Braz Chem Soc 23:2176-2182 (2012). Article

21-Saqib AAN and Whitney PJ. Differential behaviour of the dinitrosalicylic acid (DNS) reagent towards mono- and di-saccharide .sugars. Biomass and Bioenergy Elsevier Ltd; 35:4748-4750 (2011)

22-Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the .determination of glucose. J Biol Chem 153:375-380 (1944)

23-Somogyi M. Notes on sugar determination. J Biol Chem 195:19-23 .(1952)

24-Breuil C and Saddler JN. Comparison of the 3,5-dinitrosalicylic acid and Nelson- Somogyi methods of assaying for reducing sugars and determining cellulase activity. Enzyme Microb Technol 7:327-332 (1985)

25-McCleary B V. and McGeough P. A comparison of polysaccharide substrates and reducing sugar methods for the measurement of endo-1,4- ..B-xylanase. Appl Biochem Biotechnol 177:1152-1163 (2015)