

الموضوع الخاص \ كيمياء الدم

Blood chemistry

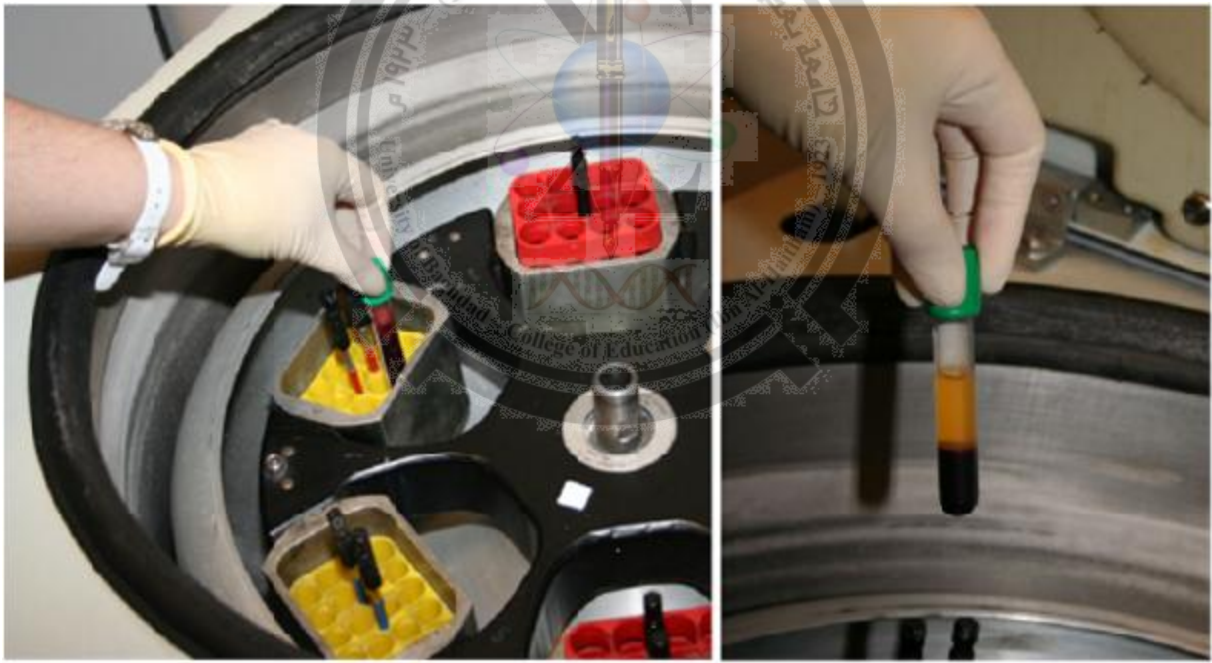
الجزء الأول

قسم الكيمياء / المرحلة الرابعة

للعام الدراسي 2019-2020

الدكتورة

رشا زهير جلم



## تعريف الدم Blood definition

الدم هو السائل الحيوي الذي ينتقل خلال جسم الانسان والحيوان والمسؤول عن وظائف اساسية لاستمرار الحياة مثل تسلم الاوكسجين Oxygen delivery والمواد المغذية Nutrients الى الخلايا وكذلك تخليص الجسم من ثاني اوكسيد الكربون والمواد الاخرى غير المرغوب بها. يتكون الدم من مكونين رئيسيين هما البلازما أو مصل الدم Plasma or serum وخلايا الدم Blood cells.

## مكونات الدم Blood components

يتكون الانسان في الدم والحيوانات الراقية مما يأتي:

- 1- البلازما أو مصل الدم Plasma or serum.
- 2- خلايا الدم Blood cells والتي تشمل:
  - أ. كريات الدم الحمراء Red blood cells or erythrocytes RBCs.
  - ب. كريات الدم البيضاء White blood cells or leukocytes WBCs.
  - ج. الصفيحات الدموية Platelets or thrombocytes.

## البلازما أو مصل الدم Plasma or serum

وتمثل المادة السائلة (الرائقة) المتبقية بعد فصل خلايا الدم عن طريق الطرد المركزي Centrifugation. تتكون هذه المادة من (90%) من الماء أما الـ (10%) فهي عبارة عن سكريات والكترولييت ودهون وبروتينات فضلا عن تراكيز محددة من الهرمونات Hormones والانزيمات Enzymes والتي تعد اداة تشخيصية للكثير من الامراض.

ان الفرق بين بلازما الدم ومصل الدم يكمن في كون ان البلازما يتم فصلها بطريقة معينة بحيث تكون محتوية سعلى عوامل التخثر Coagulation factors or Clotting factors ومن اهمها بروتين الفايبرينوجين Fibrinogen بينما مصل الدم يتم فصله من الخلايا بطريقة تتضمن ازالة عوامل التخثر.

تشكل البلازما أو المصل حوالي 55% من الدم الكلي أما المتبقي فيتمثل بخلايا الدم حيث أن كريات الدم الحمراء Red blood cells تصل نسبتها في الدم بحدود 45% بينما كريات الدم البيضاء White blood cells والصفائح الدموية Platelets فجميعها تكون نسبتها أقل من 1%.

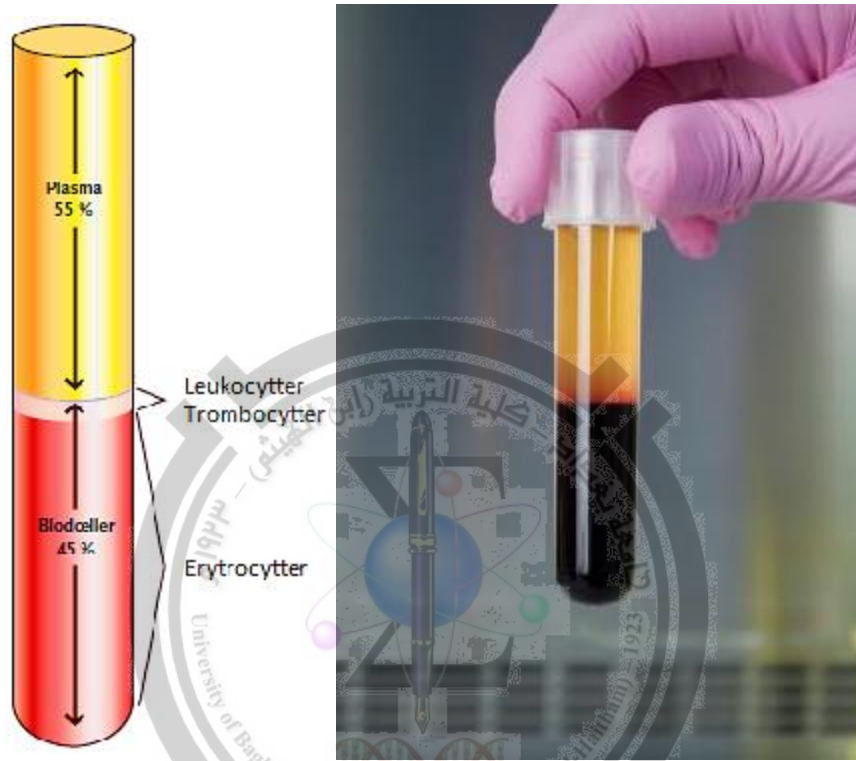


Figure -1- Plain tube containing blood after centrifugation

### الفرق بين بلازما الدم ومصل الدم

يمكن توضيح الاختلاف ملين بلازما الدم وفصل الدم من خلال نقطتين جوهريتين، الاولى تتمثل باختلاف المكونات أما الثانية فبذورها تتضمن طريقة الفصل

مصل الدم Serum	بلازما الدم Plasma
1- هو السائل الدموي المتبقي بعد عزل خلايا الدم عن طريق جهاز الطرد المركزي.. ويتميز باحتوائه على كافة مكونات البلازما باستثناء عوامل التخثر Clotting factors	1- هو السائل الدموي المتبقي بعد عزل خلايا الدم عن طريق جهاز الطرد المركزي.. ويتميز باحتوائه على كافة البروتينات والسكريات والدهون والالكتروليونات وعوامل التخثر Clotting factors

<p>2- يتم الحصول على المصل بعد ترك الدم الوريدي لبضع دقائق في plain tube لتتكون خثرة واضحة Clotting بعد ذلك تزل الخثرة عن طريق عصا صغيرة خشبية Sticker ويتم ادخال الانبوبة الى جهاز الطرد المركزي لمدة تتراوح ما بين 5 الى 10 دقائق حيث تستقر الخلايا الى الاسفل تركلة مصل الدم الى الاعلى.</p>	<p>2- يتم الحصول على البلازما بعد فصل الدم عن طريق جهاز الطرد المركزي لمدة 5 الى 10 دقائق باستعمال انابيب اختبار tubes محتوية على ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) والذي بدوره يعد ليكون سداسي السن hexadentate ligand حيث ينافس الفايبرينوجين على الارتباط بأيونات الكالسيوم تاركا الفايبرينوجين حرا (بعد ارتباط EDTA بالكالسيوم) وبعد الفصل تطفو البلازما الى الاعلى تاركا الخلايا الى الاسفل</p>
---	--

س١ مافائدة استخدام الـ EDTA tubes في التحاليل المختبرية؟

ج١ تستخدم هذه الانابيب للحصول على بلازما الدم (وليس مصل الدم) بعد فصل الخلايا عن طريق الطرد المركزي، ان الـ EDTA الذي تظلى به هذه الانابيب سيعمل على :-

1- منافسة الفايبرينوجين على الارتباط بالكالسيوم حيث يتكون معقد (Calcium-EDTA) تاركا الفايبرينوجين حرا. ان مدى منافسة الـ EDTA على الارتباط بالكالسيوم ترجع الى كونه عامل محلي قوي Chelating agent لكونه ليكون سداسي السن hexadentate ligand.

2- كونه عاملا مضادا للتخثر Anticoagulation factor.

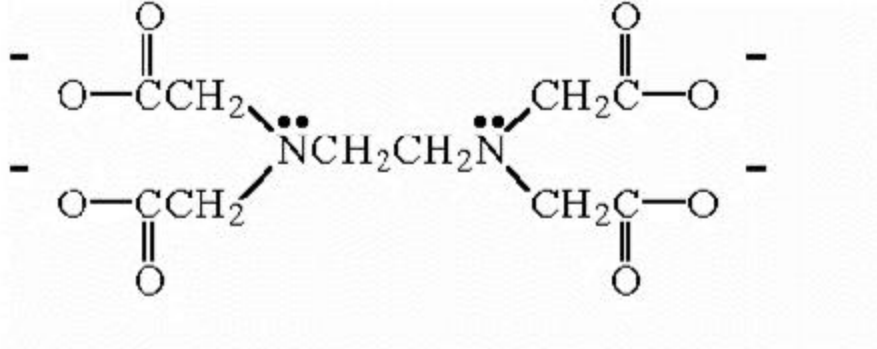
س١ علل سبب استخدام مصل الدم Serum بشكل اكثر شيوعا مقارنة مع بلازما الدم Plasma؟

ج١ 1- يحتوي مصل الدم Serum على نسبة اعلى من المكونات البايوكيميائية (هرمونات، انزيمات، سايتوكينات) لذا يعد الاكثر كفاءة.

2- ان مضادات التخثر anticoagulants المستعملة في تحضير البلازما قد تتداخل مع الفحوصات البايوكيميائية المتبعة لقياس (باراميار) معين.

## التركيب الكيميائي للأثلين ثنائي الأمين رباعي حامض الخليك

### Chemical structure of ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA)



### Chemical structure of EDTA

\* EDTA is a hexadentate ligand

### الكتروليات الدم Electrolytes

وهي الأيونات الموجبة والسالبة الموجودة ضمن بلازما ومصل الدم مثل أيونات الصوديوم  $Na^+$  والكلوريد  $Cl^-$  والتي بدورها تنظم الشحنات الكهربائية على الخلايا وتدفق (جريان) الماء عبر لغشية هذه الخلايا.

### تعريف الاجسام المضادة Antibodies

وتعرف كذلك باسم الكلوبولينات المناعية Immuoglobulines وهي بروتينات تؤدي دورا هاما في النظام المناعي ضد الأجسام الغريبة كالبكتريا والفايروسات.

### الألبومين Albumin

يعد الألبومين من اهم بروتينات الدم حيث يشكل حوالي 55% من بروتينات الـ Serum أو الـ Plasma، ان وظيفة هذا البروتين الحيوي تكمن في مايلي:-

1- الحفاظ على الضغط الأوزموزي Osmotic pressure للدم.

2- يعمل كوسيط لانتقال الهرمونات ذات الطبيعة الدهنية (الهرمونات الستيرويدية) والحوامض الشحمية خلال الدم.

3- الإرتباط ببعض الأيونات المشحونة بشحنة موجبة مثل أيونات النحاس و النيكل و الكوبلت و الزنك .

4- للألبومين وظائف مضادة للأكسدة حيث أنه يعمل على إصطياد الجذور الحرة و حماية الأنسجة الدهنية ضد الأكسدة.

5- الألبومين يلعب دورا فاعلا في الجهاز المناعي حيث أن له خصائص مضادة للإلتهاب.

6- تقليل التسمم حيث أن الألبومين له القابلية على الإرتباط ببعض الجزيئات السامة ، إن هذا الإرتباط يعمل بمثابة مستودع لهذه الجزيئات لحين حذفها من الجسم أو تأيضاها.

**Albumin:** is one of the most important proteins in blood, it consists about 55% of all plasma or serum proteins, produced in liver, functions to:

- 1- Maintain osmotic pressure.
- 2- Transport steroid hormones and fatty acids through blood stream.
- 3- Metal cation bindings , like copper , nickel , cobalt and zinc.
- 4- Antioxidant properties by scavenging free radicals and provide protection against lipid peroxidation
- 5- Albumin plays a crucial role in the immune system , it has anti-inflammatory Properties.
- 6- Limiting toxicity , it binds with molecules which are potentially toxic, binding to albumin provides a relatively safe place to store these molecules while they await elimination or cellular metabolism.

## خلايا الدم Blood cells

إن خلايا الدم Blood cells تشكل خلايا الدم حوالي 55% من الدم الكلي وتكون على ثلاث أنواع:

1- كريات الدم الحمراء (Red blood cells (erythrocytes)

2- كريات الدم البيضاء (White blood cells (leukocytes)

3- الصفيحات الدموية Platelets or thrombocytes

## كريات الدم الحمراء (Red blood cells (erythrocytes)

وهي عبارة عن خلايا مقعرة تحتوي على صبغة أو بروتين الهيموغلوبين الذي يعطي اللون الاحمر لهذه الكريات، تكون كريات الدم الحمراء عادة محاطة بهيكل خلوي Cytoskeleton والذي بدوره يتكون من عدة بروتينات، تعد كريات الدم الحمراء من الخلايا المرنة Flexible وبالامكان تغيير شكلها عند جريئها خلال الاوعية الدموية، تكون هذه الخلايا عديمة النواة ويقدر عددها بـ 4 الى 5 مليون كرية للاناث البالغات و 6 الى 7 مليون كرية للذكور ضمن المليتر المكعب الواحد في الدم، قطر الكرية يكون صغيرا جدا بحدود (7 µm). تنشأ كريات الدم الحمراء من نخاع الأحمر للعظم وتموت بعد مدة تقدر بنحو 125 يوما. ان وظيفة كريات الدم الحمراء هي نقل غاز الاوكسجين من الرئتين Lungs الى الأنسجة Tissues وغاز ثاني أكسيد الكربون من الانسجة الى الرئتين عن طريق الارتباط ببروتين الهيموغلوبين Hemoglobin الموجود حصريا في كريات الدم الحمراء .

## بروتين الهيموغلوبين (Hb) Hemoglobin

وهو بروتين Protein يوجد حصريا Exclusively في كريات الدم الحمراء RBCs. تتلخص أهميته في نقل الأوكسجين من الرئتين Lungs الى الأنسجة وطرح غاز ثاني أكسيد الكربون من الانسجة الى الرئتين Lungs ويسمى أيضا هذا الهيموغلوبين بخضاب الدم، يتكون هذا البروتين من مجموعتين هما:

1- مجموعة الهيم Heme group

2- مجموعة الكلوبين Globin group

تتكون مجموعة الهيم Heme group من اربع حلقات بايرول Pyrrole ring يتوسطها في المركز تماما أيون الحديدوز  $Fe^{2+}$ .

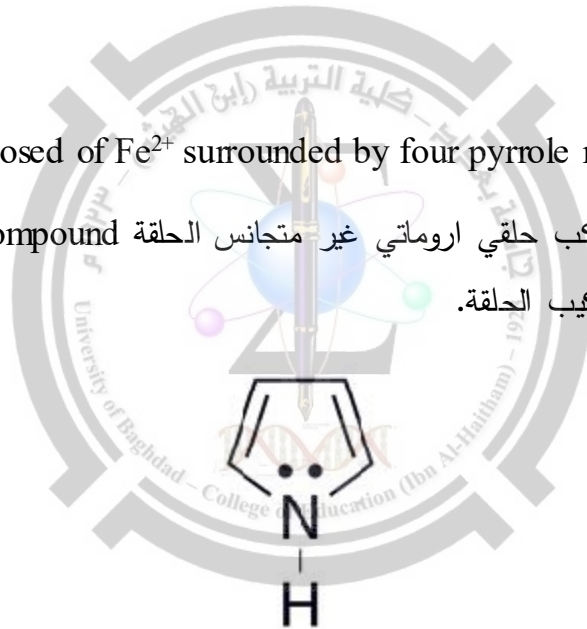
Hemoglobin: is a major protein in the blood, found exclusively inside RBCs, it carries oxygen from the lungs to the rest of the body (i.e. tissues) and carbon dioxide from tissues to the lungs, Hemoglobin is composed of:

1- Heme group

2- Globin group

Heme group is composed of  $Fe^{2+}$  surrounded by four pyrrole rings.

البيرول Pyrrole: هو مركب حلقي اروماتي غير متجانس الحلقة Heterocyclic compound يحتوي على ذرة نايتروجين ضمن تركيب الحلقة.



**Pyrrole ring**

الكلوبين Globin group

تتكون مجموعة الكلوبين من أربع سلاسل متعددة الببتيد Polypeptide (مكونة من ارتباط حوامض أمينية عن طريق أواصر ببتيدية) اثنان من هذه السلاسل تعرف باسم سلاسل ألفا  $\alpha$ -chain وكل منها تتكون من (141) حامض اميني والاثنان الاخرى كل منها تتكون من (140) حامض أميني وتعرف باسم سلاسل بيتا  $\beta$ -chain.



ان النسبة الطبيعية لبروتين الهيموغلوبين في الدم تكون ضمن (12-15) g/dl للاناث البالغات و (13.5-17) g/dl للذكور البالغين وان اي انخفاض لهذه النسبة عن مستواها الطبيعي تؤدي الى الاصابة بفقر الدم Anemia أما ارتفاع هذه النسب عن حدها الطبيعي فانها تؤدي الى مايسمى بالـ Polycythemia (زيادة لزوجة الدم) .

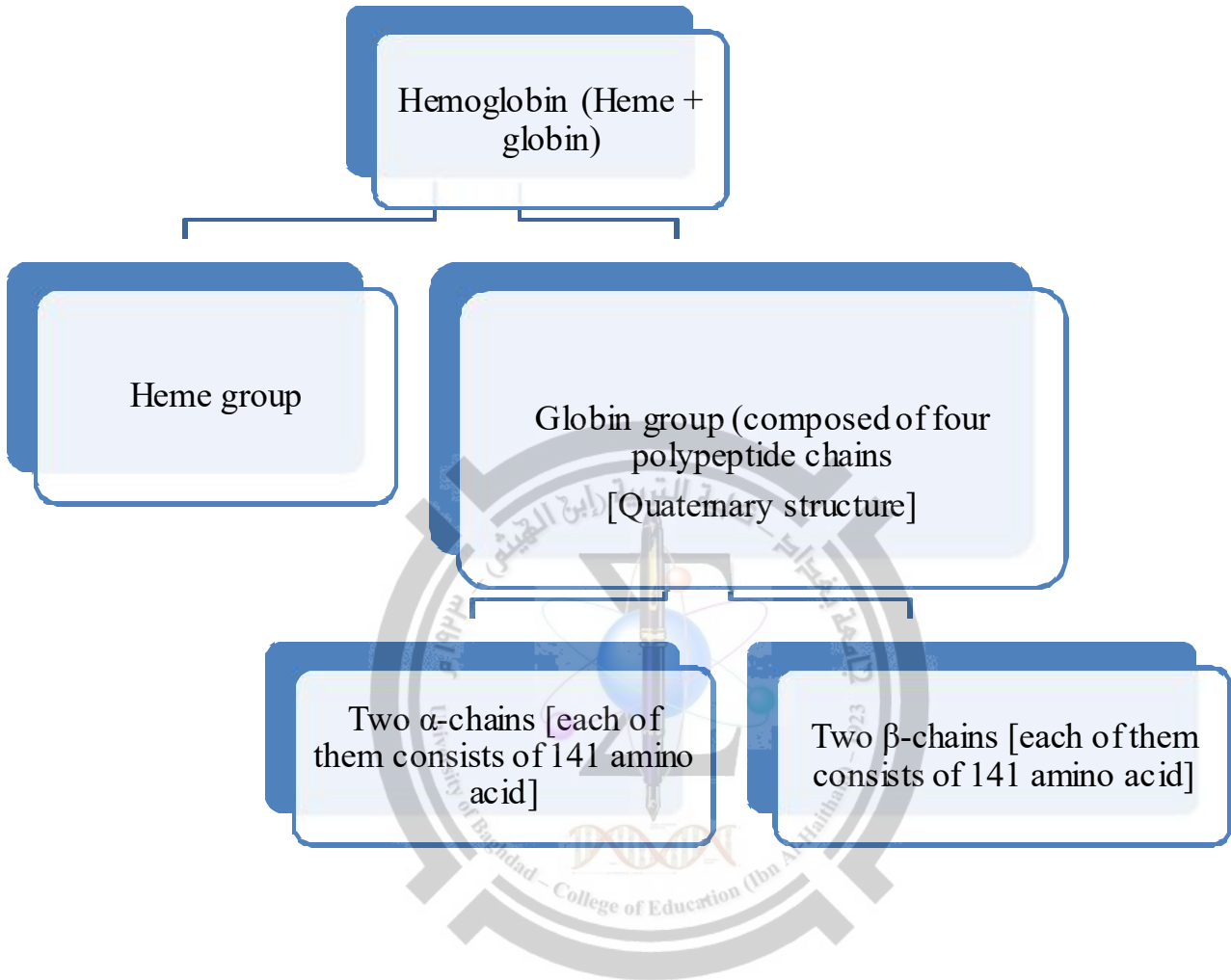
### اسباب ارتفاع وانخفاض نسبة الهيموغلوبين عن الحد الطبيعي

ان انخفاض مستوى الـ hemoglobin عن مستواه الطبيعي Normal value (مايعرف بـ anemia) يعود لاكثر من سبب:

- 1- نقص كمية الحديد Iron deficiency
- 2- نقص فيتامين B12 Vitamin B12 deficiency
- 3- النزيف Bleeding
- 4- أنواع السرطان التي تتعلق بنخاع العظم Bone marrow مثل سرطان الدم Leukemia
- 5- أمراض الكبد Liver diseases
- 6- أمراض الكلية Kidney diseases

أما ارتفاع مستوى hemoglobin عن مستواه الطبيعي (Polycythemia) فيرجع الى الأسباب المتعلقة بتخليق كمية أكبر من كريات الدم الحمراء RBCs ضمن نخاع العظم نذكر منها مايلي:

- 1- أمراض الرئة Lung diseases
- 2- التدخين المبالغ فيه Heavy smoking
- 3- ممارسة التمارين الرياضية بشكل مفرط Extreme physical exercise
- 4- الإفراط في تناول اللحوم الحمراء excessive eating red meat



### كريات الدم البيضاء White blood cells or Leukocytes

الخلية البيضاء أو خلية الدم البيضاء هي إحدى خلايا الدم الرئيسية بالإضافة إلى كريات الدم الحمراء Red blood cells والصفائح الدموية Platelets. وظيفتها الرئيسية هي الدفاع عن الجسم ضد الأمراض باعتبارها (مع السايكوكينات الموجودة في السيرم أو البلازما) شكل البنية الأساسية للجهاز المناعي. بصورة عامة هناك أنواع عديدة من كريات الدم البيضاء لكنها جميعها تتشكل من خلية جذعية في نقي العظام. يتراوح عدد كريات الدم البيضاء ما بين 4000 إلى 11000 خلية أو كرية ضمن المايكروليتر الواحد.

Note: microliter =  $10^{-6}$  L =  $10^{-3}$  ml.

تصنف كريات الدم البيضاء على النحو التالي:

1- كريات الدم البيضاء المحببة Granulocytes WBCs والتي تتضمن ثلاثة أنواع:

أ- كريات الدم البيضاء المحببة المتعادلة Neutrophils

ب- كريات الدم البيضاء المحببة الحامضية Eosinophils

ج- كريات الدم البيضاء المحببة القاعدية Basophils

2- كريات الدم البيضاء غير المحببة Agranulocytes والتي تتضمن نوعين رئيسيين:

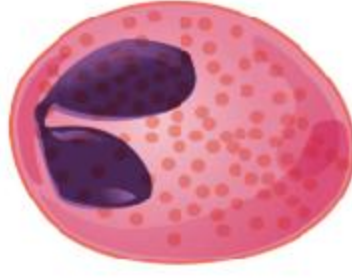
أ- الخلايا اللمفية Lymphocytes وتشمل B-cells و T-cells

ب- الخلايا أحادية النواة Monocytes وأهم مثال عليها هي الخلايا البلعمية Macrophages

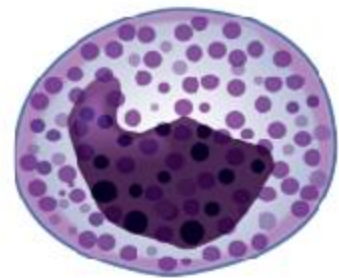




Neutrophil



Eosinophil



Basophil



monocyte lymphocyte

**Figure : White blood cells types**

### Platelets or thrombocytes الصفائح الدموية

وهي من مكونات الدم الرئيسية اضافة الى كريات الدم الحمراء والبيضاء، وظيفتها الرئيسية هي تكوين الخثرات (الجلطات) بالاشتراك مع عوامل التخثر البروتينية لايقاف النزيف. يتم انتاج الصفائح الدموية من قبل خلايا متخصصة في نخاع العظم. تتراوح نسبة الصفائح من 1/10 الى 1/20 نسبة الى كريات الدم الحمراء Erythrocytes.

## الهormونات Hormones

وهي عبارة عن مركبات كيميائية حيوية يتم تخليقها في غدد متخصصة تعرف بالغدد الصماء Endocrine glands، تؤدي دوراً هاماً في تنظيم عملية الأيض الخلوي Metabolism يتم إنتاج الهرمونات داخل الغدد الصماء ثم توضع إلى تيار الجسم (الدورة الدموية) لتتمارس وظيفتها في الأماكن المختلفة من الجسم. تصنف الهرمونات من ناحية التركيب الكيميائي إلى ثلاثة أصناف رئيسية:

1- مشتقات الحوامض الأمينية Amino acid derivatives

2- البولي ببتيدات و البروتينات Polypeptides and proteins

3- الهرمونات الستيرويدية Steroids hormones

### تعريف الغدد الصماء Endocrine glands

وهي الغدد التي تقوم بإنتاج إفرازاتها الهرمونية إلى الدم بشكل مباشر دون المرور خلال قنوات، لذلك تسمى بالغدد عديمة القنوات Ductless glands.

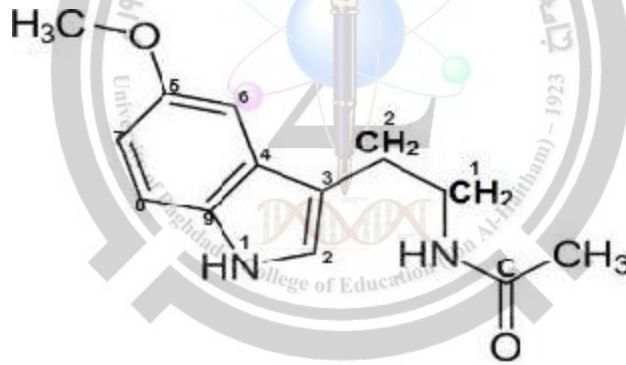
## 1- الغدة الصنوبرية Pineal gland

**الموقع:** تعد من أهم الغدد الصماء حيث تلعب دوراً مهماً في النظام المناعي، تقع في تجويف عظمي في جمجمة الدماغ، يبلغ قطرها حوالي 7.2 ملم (أي تقريبا بحجم حبة البازلاء).

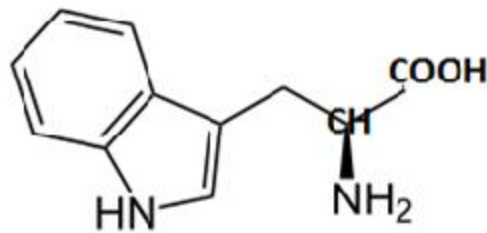
**الإفراز:** تفرز الغدة الصنوبرية هرموناً يسمى بهرمون الميلاتونين Melatonin والذي يعد أهم الهرمونات المرتبطة ارتباطاً وثيقاً بالجهاز المناعي.

### التركيب الكيميائي لهرمون الميلاتونين:

يعد الميلاتونين أحد مشتقات الحمض الأميني التربتوفان Tryptophan ولذلك يصنف كيميائياً على أنه مشتق للحمض الأميني Amino acid derivatives.



### Melatonin (N-acetyl-5-methoxy tryptophan)



### Tryptophan

## العلاقة ما بين هرمون الميلاتونين والضوء:

يتنوع إنتاج هذا الهرمون تبعاً لفترات النور والظلام في البيئة وبما أن هذه الغدة تقع بالقرب من مركز الدماغ في الثدييات بما فيها الإنسان فهي تحصل على المعلومات عن الضوء في البيئة المحيطة عن طريق الممرات العصبية الناشئة بالعين، وعموماً فإن الضوء يبطئ من إنتاج الغدة الصنوبرية لهرمون الميلاتونين والظلام يعمل على تحفيز إفراز كميات قليلة جداً من هرمون الميلاتونين العزز لنشاط الجهاز المناعي في النهار بينما يزداد إفراز هذا الهرمون ليلاً ولذلك ينصح بضرورة النوم ليلاً وفي الظلام الدامس نظراً لكون الضوء يعطل من إفراز هذا الهرمون المرتبط ارتباطاً وثيقاً في الجهاز المناعي.

## الفعالية البايوكيميائية لهرمون الميلاتونين

بما أن هرمون الميلاتونين يؤدي دوراً هاماً في تقوية الجهاز المناعي وعلية فأن هذا الهرمون يسلك سلوكاً وقائياً في مهاجمة الأمراض ذاتية المناعة Autoimmune diseases مثل مرض السرطان Cancer. وتشير الدراسات إلى أن إنتاج هذا الهرمون قد يتعطل مع وجود الضوء في غرفة النوم، ويرى الباحثون أن هذه العملية الطبيعية التي أوجدها الله سبحانه وتعالى تساعد في الاستعادة من الليل المظلم للوقاية من أنواع معينة من السرطان وهنا يظهر الإعجاز القرآني في قوله تعالى (وجعلنا نومكم سباتاً) صدق الله العظيم. وتؤكد أحد البحوث العلمية الحديثة على ضرورة النوم في الظلام الدامس لكون إفراز هذا الهرمون يتعطل مع وجود الضوء وإن كان خافتاً، إن الإفراز المتكامل لهرمون الميلاتونين يجعل جهاز المناعة في أفضل حالاته وتفيد إحدى الدراسات الحديثة بأن مستحضرات هرمون الميلاتونين على (هيئة عقاقير) تكون فعالة في مساعدة مرضى الأرق.

## 2- غدة ماتحت المهاد Hypothalamus

**الموقع:** تقع غدة ماتحت المهاد في الجزء السفلي الأوسط للدماغ (المخ).

**الإفراز:** تقوم غدة ماتحت المهاد بإفراز هرمونين هما :

1- **هرمون الزولادكس Zoladex** والذي يعد أحد الهرمونات المطلقة Releasing hormones

الهرمونات المطلقة : هي الهرمونات التي تحت على انتاج هرمونات أخرى من قبل غدة أخرى .

### التركيب الكيميائي لهرمون الزولادكس

ال Zoladex هو بولي ببتيد Polypeptide متكون من ارتباط 10 حوامض أمينية بواسطة أولصر ببتيدية Peptide bonds لذلك يعرف بـ Decapeptide وهذه الحوامض الامينية هي:

- |                  |                     |
|------------------|---------------------|
| 1- Glutamic acid | 6- Butyl serine     |
| 2- Histidin      | 7- Leucine          |
| 3- Tryptophan    | 8- Arginine         |
| 4- Serine        | 9- Proline          |
| 5- Tyrosine      | 10- Azeloyl glycine |

### الفعالية البايوكيميائية لهرمون الزولادكس

يعمل ال Zoladex كمحفز للغدة النخامية لافراز هرمونات ال Gonadotropin لذلك يسمى بالهرمون المطلق للكونادوتروبين Gonadotropin releasing hormone.

Hypothalamus  $\xrightarrow{\text{Zoladex}}$  Pituitary gland  $\xrightarrow{\text{Zoladex}}$  gonadotropin hormones

## 2- الهرمون المطلق للثايروتروبين (TRH) Thyrotropin releasing hormone

و يعرف أيضا ب thyrotropin releasing factor والذي يعد أيضا أحد الهرمونات المطلقة .  
Releasing hormones

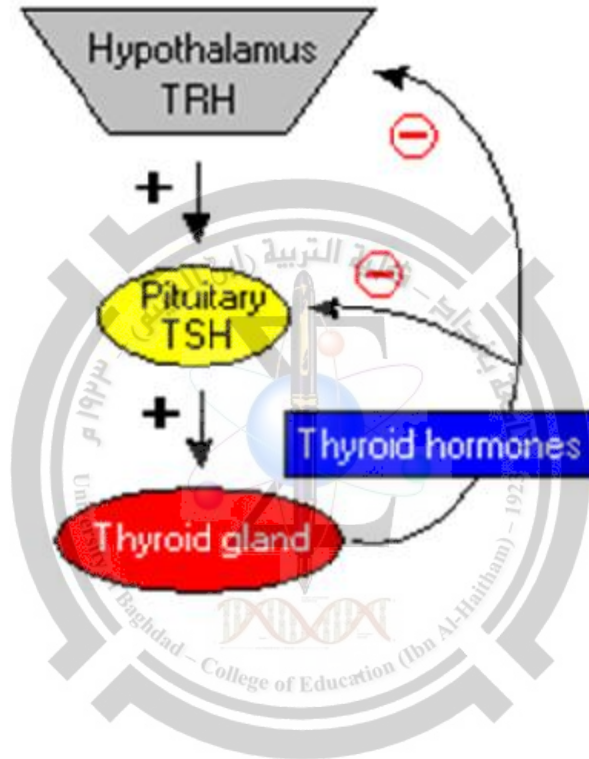
### التركيب الكيميائي لهرمون TRH

هو tripeptide (بولي ببتيد متكون من ثلاث حوامض أمينية هي : histidine ، glutamate ، proline .



### الفعالية البايوكيميائية لهرمون TRH

يعمل هذا الهرمون على تحفيز الغدة النخامية على إفراز هرمون Thyrotropin stimulating hormone (TSH) و الذي بدوره يعمل على تحفيز الغدة الدرقية على إفراز هرموناتها كما موضح في المخطط أدناه :



### 3- الغدة النخامية Pituitary gland

**الموقع:** تقع الغدة النخامية في قاعدة الدماغ وراء الأنف تماماً ولايتجاوز حجمها حجم حبة البازلاء.

**الإفراز:** على الرغم من صغر حجم الغدة النخامية الا انها تقوم بإفراز العديد من الهرمونات التي تعمل بشكل منفرد:

أ- هرمون النمو Growth hormone or Somatotropin

- ب -هرمونات الكونادوتروبين Gonadotropin والتي تعرف بالهرمونات الجنسية ويتم افرازها عن طريق تحفيز هرمون Zoladex (أحد هرمونات غدة ماتحت المهاد Hypothalamus)
- ج- الهرمون المحفز للغدة الدرقية thyroid stimulating hormone و يتم إفرازه عن طريق تحفيز هرمون TRH (أحد هرمونات غدة ماتحت المهاد Hypothalamus)
- أ- هرمون النمو Growth hormone or Somatotropin**

### **التركيب الكيميائي Chemical structure**

وهو هرمون متعدد الببتيد Polypeptide يتكون من ارتباط 191 حمض اميني بواسطة أوامر ببتيدية Peptide bonds.

### **الوظيفة البايوكيميائية Biochemical function**

وهو هرمون يقوم بتحفيز النمو وتكاثر الخلايا وتجديدها في الانسان وبعض الحيوانات الأخرى، يتم افرازه من النخاع الامامي للغدة النخامية، يؤدي هذا الهرمون دورا هاما في بناء العظام والعضلات، ومن أعراض انخفاض افراز هذا الهرمون هو قصر القامة أو التقزم، وتلاحظ هذه الحالة في مرحلة الطفولة المبكرة أما اذا حصل انخفاض في هذا الهرمون لدى البالغين فيحصل ارتفاع في أنسجة الدهون وانخفاض حاد في كتلة العضلات وقد يؤثر ذلك سلبا على أداء القلب و احساس عام بالتعب والارهاق المستمر. يستعمل هرمون النمو كعقار لمعالجة اضطرابات النمو للأطفال والبالغين.

### **ب-هرمونات الكونادوتروبين Gonadotropin hormones**

#### **1- التركيب الكيميائي Chemical structure**

وهي عبارة عن بروتينات سكرية Glycoproteins

#### **2- الوظيفة البايوكيميائية Biochemical function**

وهي هرمونات ذات خصائص جنسية تؤدي دوراً هاماً في عملية النمو والتكاثر وان حدوث أي خلل في تركيزها قد يقود الى حدوث العقم Infertility ومن أهم هذه الهرمونات:

1- Lutenizing hormone (LH)

2- Follicle stimulating hormone (FSH)

يتم افراز هذه الهرمونات عن طريق تحفيز هرمون الـ Zoladex (هرمون غدة ماتحت المهاد Hypothalamus) ولذلك يعرف الـ Zoladex كما ذكرنا في المحاضرة السابقة على انه الهرمون المطلق للكوندوتروبين Gonadotropin releasing hormone كما موضح أدناه

Hypothalamus → Zoladex (gonadotropin releasing hormones)

(غدة ماتحت المهاد)



LH + FSH ← Pituitary gland

ج- الهرمون المحفز للغدة الدرقية Thyroid stimulating hormone TSH

### 1- التركيب الكيميائي Chemical structure

و هو عبارة عن بروتين سكري glycoprotein يتكون من سلسلتين من الحوامض الأمينية حيث أن الأولى تتكون من 112 حامض أميني بينما الثانية تتكون من 89 حامض أميني .

### 2- الوظيفة البايوكيميائية Biochemical function

يعمل هذا الهرمون على تحفيز الغدة الدرقية على إفراز هرموناتها ويتم إفرازه عن طريق تحفيز هرمون TRH الذي تفرزه غدة ماتحت المهاد كما ذكرنا سابقا ضمن موضوع الوظيفة البايوكيميائية لهرمونات غدة ماتحت المهاد .

س\ قارن بين هرمون النمو Growth hormone وهرمون الـ Zoladex من ناحية

1- مصدر الافراز 2- الصنف الكيميائي 3- الوظيفة الكيميائية

<b>Growth hormone (somatotropin)</b>	<b>Zoladex</b>
1- يتم افرازه من قبل الغدة النخلمية Pituitary gland	1- يتم افرازه من قبل غدة ماتحت المهاد Hypothalamus
2- هو Polypeptide يتكون من ارتباط 191 حامض أميني	2- هو polypeptide يتكون من ارتباط 10 حوامض أمينية
3- لهذا الهرمون خصائص تتعلق بعملية النمو بشكل عام لذلك يسمى بالـ Growth hormone. يقوم بتحفيز النمو وتكاثر الخلايا وتجديدها ويؤدي دوراً فاعلاً في بناء العظام والعضلات	3- يحفز الغدة النخامية على افراز هرمونات الكونادوتروبين Gonadotropin ولذلك يسمى الهرمون المطلق للكونادوتروبين Gonadotropin releasing hormone

س\ قارن بين هرمون الـ Somatotropin وهرمونات الـ Gonadotropin من ناحية:

1- مصدر الافراز 2- الصنف الكيميائي 3- الوظيفة البايوكيميائية

<b>Gonadotropin</b>	<b>Somatotropin</b>
1- يتم افرازه من قبل الغدة النخلمية Pituitary gland	1- يتم افرازه من قبل الغدة النخلمية Pituitary gland
2- تصنف هذه الهرمونات كيميائياً على انها Glycoproteins	2- يصنف كيميائياً على انه polypeptide
3- لهذه الهرمونات خصائص جنسية وان أي خلل في تركيزها يؤدي الى حدوث العقم Infertility في الرجال والنساء .	3- لهذا الهرمون خصائص تتعلق بعملية النمو بشكل عام لذلك يسمى بالـ Growth hormone. يعمل على تحفيز تكاثر الخلايا وتجديدها ويؤدي دوراً فاعلاً في بناء العظام والعضلات

س١ قارن بين هرمون الميلاتونين وهرمون السوماتوتروبين من ناحية:

- 1- أوقات الافراز 2- الصنف الكيميائي 3- أوقات الإفراز 4- الوظيفة البايوكيميائية

<b>Somatotropin</b>	<b>Melatonin</b>
1- يتم افرازه من قبل الغدة النخلمية Pituitary gland	1- يتم افرازه من قبل الغدة الصنوبرية Pineal gland
2- يصنف كيميائيا على انه polypeptide	2- يصنف كيميائيا على انه مشتق من حامض أميني Amino acid derivative
3- لايرتبط افراز هذا الهرمون بساعة معينة أو توقيت معين وليس له علاقة بالضوء أو الظلام	3- ان الافراز المتكامل لهذا الهرمون يكون ليلاً وفي الظلام الدامس
4- ان خصائص هذا الهرمون تتعلق بعملية النمو حيث يقوم بتحفيز عملية النمو وتكاثر الخلايا وتجديدها ويؤدي دورا هاما في بناء العظام والعضلات	4- وهو الهرمون المعزز لنشاط الجهاز المناعي Immune system حيث كلما ازداد افراز هذا الهرمون زاد نشاط الجهاز المناعي وزادت مقاومة الجسم للأمراض ذاتية المناعية Autoimmune diseases

#### 4- الغدة الدرقية Thyroid gland

**الموقع:** تقع الغدة الدرقية أمام الرقبة على جانبي الجزء الأعلى من القصبة الهوائية أسفل الحنجرة.

**الافراز:** تقوم الغدة الدرقية بتصنيع وافراز نوعين أساسيين من الهرمونات يؤديان دوراً فاعلاً في عملية الأيض الخلوي Metabolism وهما:

##### 1- هرمون الثايروكسين Thyroxine hormone

ان الثايروكسين هو الاسم التجاري لهذا الهرمون أما الاسم العلمي له فهو رباعي أيودو ثايرونين Tetraiodothyronine (T4) ، يتميز بإحتوائه على 4 ذرات يود.

##### 2- هرمون ثلاثي أيودو ثايرونين Triiodothyronine (T3)

يحتوي كل من هذي الهرمونين على عنصر اليود الذي يعتمد على الغذاء كمصدر أساسي له حيث يستقر معظم اليود المأخوذ من الغذاء في الغدة الدرقية ويدخل في تصنيع هرموناتها.

#### النسب الطبيعية لهرمونات الغدة الدرقية Normal values for thyroid gland hormones

ان النسب أو المعدلات الطبيعية لهرمونات الغدة الدرقية تكون كما يلي:

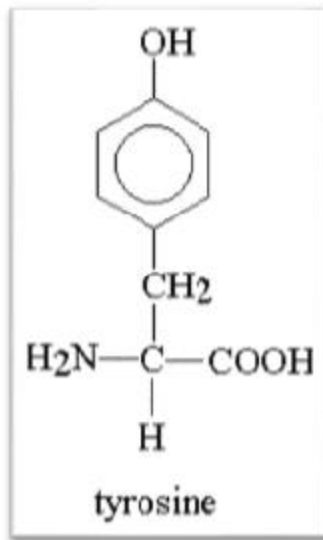
T4: 5-12 µg/100 ml

T3: 7-17 µg/100 ml

\* µg = microgram = 10<sup>-6</sup> g

#### اتلركيب الكيمائي لهرمونات الغدة الدرقية Chemical structure for thyroid gland hormones

تصنف هذه الهرمونات على انها مشتقات الحوامض الامينية Amino acid derivatives لكون هو الهرمونات مشتقة من الحامض الأميني التايروسين Tyrosine.



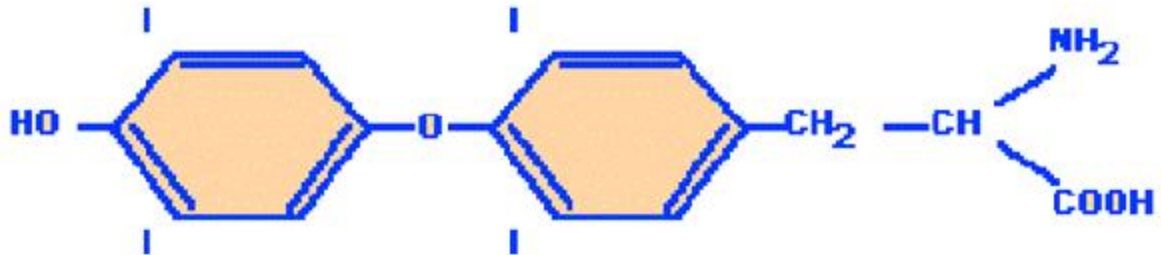
### Tyrosine or hydroxyl phenyl alanine

أما التركيب الكيميائي لهذه الهرمونات فنكون كالآتي :

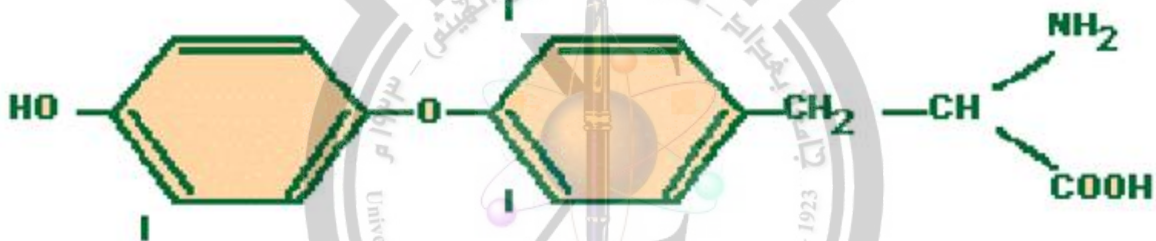


## Structures of the Thyroid Hormones

### Thyroxine (T<sub>4</sub>)



### -Triiodothyronine (T<sub>3</sub>)



## Biochemical function of thyroid gland الوظيفة البيوكيميائية لهرمونات الغدة الدرقية

### hormones

ان انخفاض هرموني T<sub>3</sub> و T<sub>4</sub> عن مستواها الطبيعي يؤدي الى ابطاء عملية الأيض الخلوي Metabolism ويؤدي كذلك الى الشعور بالاعياء والتبld الذهني وهناك عدة أسباب لانخفاض افرازت الغدة الدرقية والأكثر شيوعا هي:

1- قصور الدرقية الضموري (التماعي):

حيث ان التدهور أو الاضطراب الحاصل لجهاز المناعة قد يؤدي الى تدمير الغدة الدرقية علماً ان النساء تكون أكثر عرضة لذلك مقارنة بالرجال.

2- الالتهاب الدريقي المناعي الذاتي



وهو من اضطرابات المناعة الذاتية حيث تهاجم الأجسام المضادة Antibodies خلايا الغدة الدرقية مما يؤدي الى التهابها وتضخمها.

أما الإفراط في إنتاج هرمونات الغدة الدرقية فيقود الى ما يعرف بالتسمم الدرقي ومن أعراض هذا المرض العصبية والتهيج، زيادة التعرق، زيادة سرعة ضربات القلب وارتعاش اليد وضعف العضلات وخصوصاً عضلات الذراعين والخصدين، وقد يرافق هذه الأعراض جحوظ العينين. ان هذه الأعراض ناتجة من عدة مسببات منها حصول خلل في المناعة الذاتية أو تناول بعض العقاقير المتشابهة في تركيبها لهرمونات الغدة الدرقية.

س\ قارن بين هرمون الثايروكسين T4 وهرمون ال Somatotropin من ناحية :

1- مصدر الافراز 2- الصنف الكيميائي

هرمون السوماتوتروبين Somatotropin	هرمون الثايروكسين Thyroxine (T4)
1- يتم افرازه من قبل الغدة النخالية Pituitary gland	1- يتم افرازه من الغدة الدرقية Thyroid gland
2- يصنف كيميائياً على انه متعدد البيبتيد Polypeptide	2- يصنف كيميائياً على أنه أحد مشتقات الحامض الأميني التايروسين Tyrosine (amino acid derivative for tyrosine)

س\ قارن بين هرمون Triiodothyronine وهرمون Melatonin من ناحية:

1- مصدر الافراز 2- الصنف الكيميائي

Melatonin	Triiodothyronine (T3)
1- يتم افرازه من الغدة الصنوبرية Pineal gland	1- يتم افرازه من الغدة الدرقية Thyroid gland
2- يصنف كيميائياً على أنه أحد مشتقات الحامض الأميني التريبوفان (amino acid derivative for tryptophan)	2- يصنف كيميائياً على أنه أحد مشتقات الحامض الأميني التايروسين (amino acid derivative for tyrosine)

## 5- الغدة الأدرينالية (الكظرية) Adrenal gland

**الموقع:** تشمل الغدة الأدرينالية (الكظرية) على غددتين تختلفان في الشكل والعمل والمنشأ وتقعان على جانبي العمود الفقري مقابل الفقرة القطنية الأولى فوق الكلية. تتألف هذه الغدة من التركيبين :

1- غدة نخاع الأدرينالين Adrenal medulla

2- غدة القشرة الأدرينالية Adrenal cortex

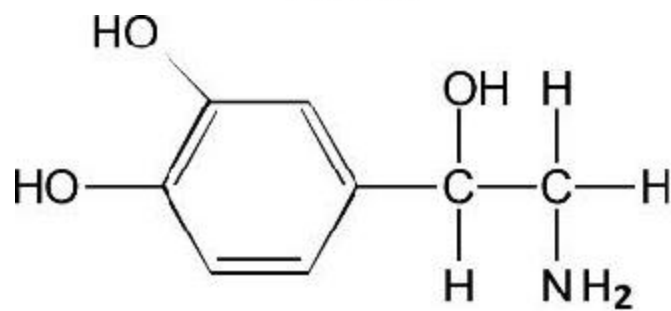
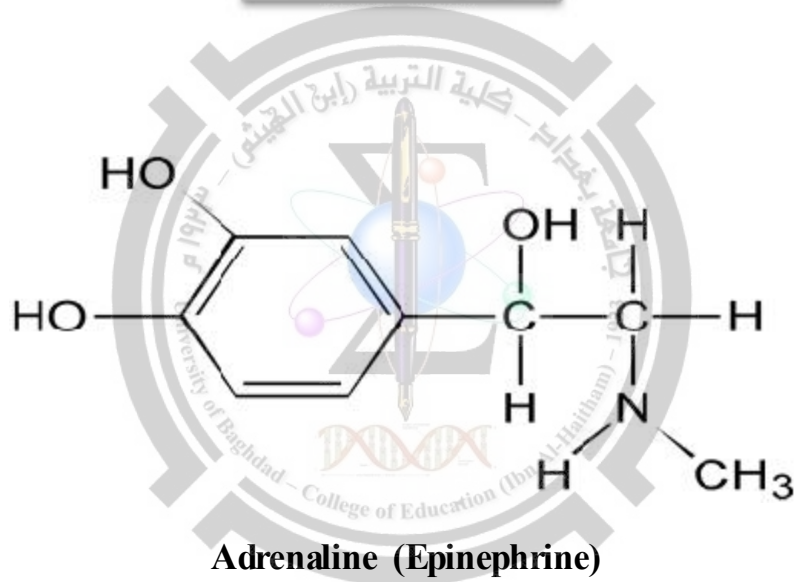
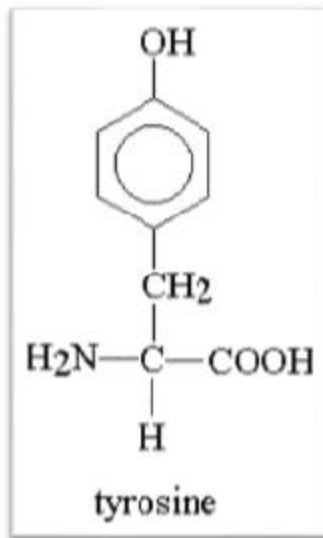
### أ- هرمونات نخاع الأدرينالين Adrenal medulla hormones

1- هرمون الأدرينالين أو الأبينفرين H (Adrenaline) Epinephrine

2- هرمون النوربينفرين H Norepinephrine

**الصنف الكيميائي والتركيب الكيميائي لهرمونات نخاع الأدرينالين**  
**Chemical class and chemical structure of adrenal medulla hormones**

تصنف هرمونات الـ Adrenaline والـ Norepinephrine على أنها مشتقات أحماض الأمينات الأروماتية Tyrosine لكونه يمثل المادة الأساس لتخليق هذين الهرمونين



Norepinephrine

## النسبة الطبيعية لهرمونات نخاع الأدرينالين Normal values of adrenal medulla hormones

يكون تركيب كل من هرموني ال Adrenaline وال Norepinephrin في سيم أو بلازما الدم بحدود (2 µg/L).

## التأثيرات البايوكيميائية لهرمونات نخاع الأدرينالين

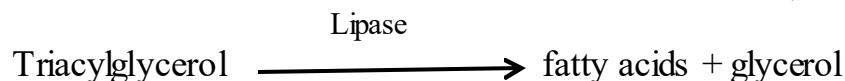
### **Biochemical effects of adrenal medulla hormones**

ان افراز كل من هرموني ال Adrenaline وال Norepinephrine من قبل نخاع الأدرينالين يحدث عادة نتيجة للخوف أو الغضب أو الانفعال، ومن أعراض افراز هذه الهرمونات زيادة ضربات القلب وزيادة استهلاك الأوكسجين أثناء ضيق التنفس والشعور بزيادة درجة حرارة الجسم وزيادة افراز العرق. ان زيادة افراز هذين الهرمونين عن مستواه الطبيعي يؤثر تأثيراً سلبياً على جهاز المناعة حيث يؤدي الى تحلل النسيج الليمفاوي مؤدياً بذلك الى انخفاض المناعة، فضلاً عن ذلك فإن افراز هذه الهرمونات الى الدم يؤدي الى تحلل ال Glycogen الكبدي الى سكر Glucose مما يرفع من معدل السكر في الدم. ويؤدي كذلك الى زيادة في معدل الشحوم فتزداد نسبة الحوامض الشحمية الحرة في الدم مما يولد استعداداً للإصابة بتصلب الشرايين والأوردة الصغيرة وقد تؤدي هذه الاعراض في الحالات الشديدة الى الإصابة بالجلطة الدماغية أو القلبية.

### ملاحظات :

1- ال glycogen هو Polysaccharide يتكون من وحدات ال Glucose لذلك فان تحلل ال، glycogen الى ال Glucose يؤدي الى ارتفاع مستوى السكر في الدم.

2- الدهون (الشحوم) المخزونة في الجسم هي عبارة عن دهون ثلاثية Triglyceride تتكون من ثلاثة جزيئات من الحوامض الشحمية زائداً جزيئة واحدة من الكليسيرول لذلك فعند تحلل النسيج الشحمي تزداد نسبة الحوامض الشحمية الحرة في الدم.



## ب - هرمونات القشرة الأدرينالية Adrenal cortex hormones

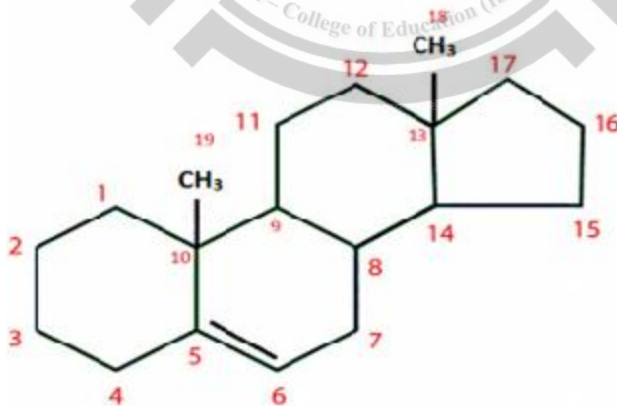
1- هرمون الكورتيزول Cortisol hormone

2- هرمون الكورتيزون Cortisone hormone

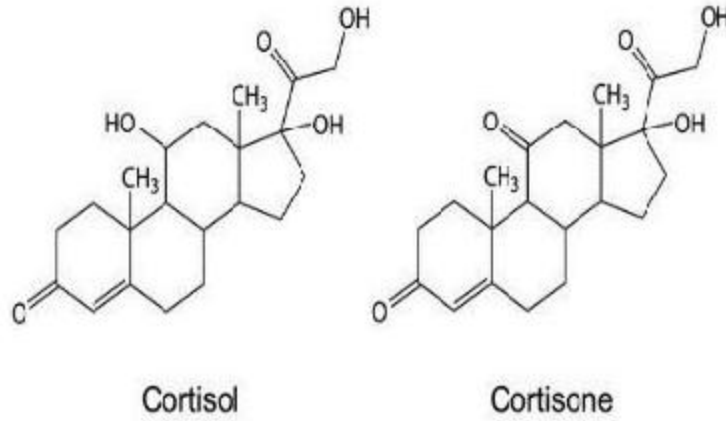
### الصنف الكيميائي والتركيب الكيميائي لهرمونات القشرة الأدرينالية

#### Chemical class and structure of adrenal cortex

ان هرموني الـ Cortisol والـ Cortisone تصنف كيميائيا على انها ستيرويدات Steroids أو هرمونات ستيرويدية Steroid hormone. تتكون وحدة الـ Steroid من ثلاث حلقات سداسية ملتحمة مع حلقة خماسية. تتميز معظم المركبات الستيرويدية الطبيعية باحتوائها على الـ Methyl group عند C10 وأخرى أيضا في C13. تحتوي معظم المركبات على أصرة مزدوجة مابين C5 و C6 كما ان معظم الهرمونات الستيرويدية تحتوي على مجموعة هايدروكسيلية hydroxyl group-OH أو مجموعة كيتونية Ketone group واحدة أو أكثر.



**Steroid structure**



### التأثيرات البايوكيميائية لهرمونات القشرة الأدرينالية

#### **Biochemical effects of Adrenal cortex hormone**

ان هرمون الـ Cortisol يؤدي دورا مهما في الحفاظ على التوازن أثناء الصيام Fasting، حيث يحفز من عملية تكوين الكلوكونز gluconeogenesis في الكبد من الحوامض الأمينية Amino acids والكليسيرول Glycerol ومصادر اخرى غير كاربوهيدراتية. كما انه يمنع افراز المركبات الكيميائية في الدم والتي بدورها تؤدي الى نشوء الالتهابات Inflammation مثل بعض أنواع السايوتوكينات Cytokines. أما عن هرمون الـ Cortisone فيستعمل كعقار Drug على نطاق واسع لمعالجة بعض الأمراض الالتهابية Inflammatory diseases الناتجة عن أسباب ذاتية المناعة Autoimmune causes، فضلا عن تأثيره على جهاز المناعة ومعالجة الأمراض الجلدية والروماتيزمية فن له آثارا أخرى على أيض الكربوهيدرات والدهون Carbohydrates and lipid metabolism.

## 6- غدة البنكرياس Pancreas gland

**الموقع:** يقع البنكرياس في تجويف البطن عند مستوى الفقرة القطنية الاولى أو الثانية في وضع اعق من المعدة ويقع خلفها، يبلغ طوله حوالي (15 cm) أما وزنه فيكون بحدود (70 gm).

**ملاحظة:** تعد غدة البنكرياس من الغدد الداخلية وخارجية الافراز في نفس الوقت، فهي داخلية الافراز (صماء) Endocrine gland لأنها تقوم بافراز كل من هرمون الانسولين Insulin والكلوكاكون Glucagon بشكل مباشر الى الدم دون المرور بأي قنوات، وخارجية الافراز Exocrine gland لأنها تقوم عبر قنوات متخصصة بافراز عصارة هاضمة (تحتوي على أنزيمات واملاح معدنية) الى الاثني عشر.

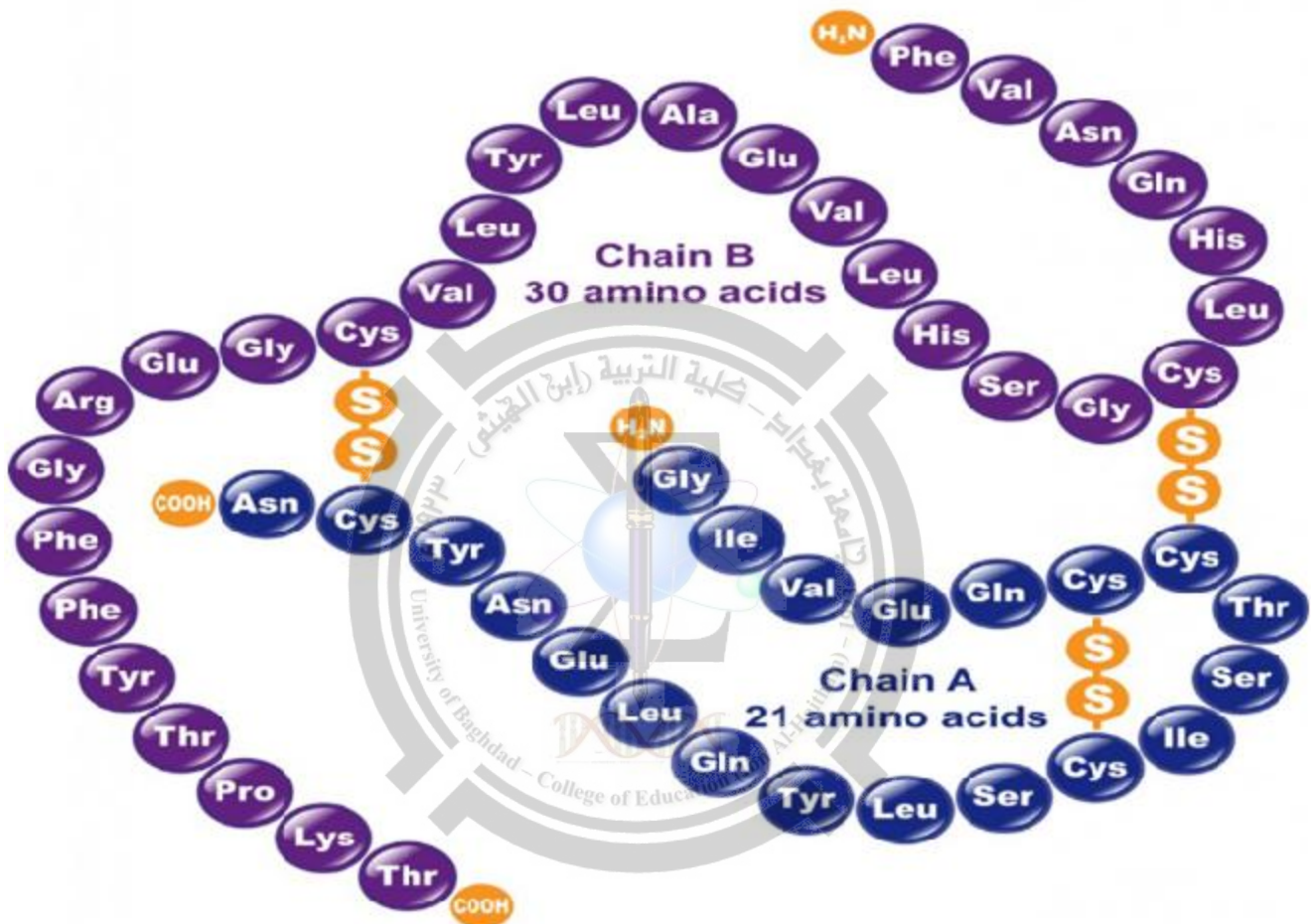
### أولاً: هرمون الأنسولين Insulin hormone

وهو عبارة عن بروتين يتكون من سلسلتين من الحوامض الامينية. السلسلة الأولى الفا ( $\alpha$ -chain) تتكون من 21 حامض اميني Amino acid أما السلسلة الثانية بيتا ( $\beta$ -chain) فتتكون من 30 حامض اميني. ترتبط السلسلتان الفا وبيتا بواسطة أصرتين ثنائية الكبريت (-S-S-) Disulfide bonds فضلاً عن وجود أصرة كبريتية ثالثة ضمن نفس السلسلة الفا (أي ان الاصرة الثالثة ترتبط بين اثنين من الـ Amino acids ضمن نفس السلسلة (شكل 1)).

### ميكانيكة افراز وعمل هرمون الانسولين

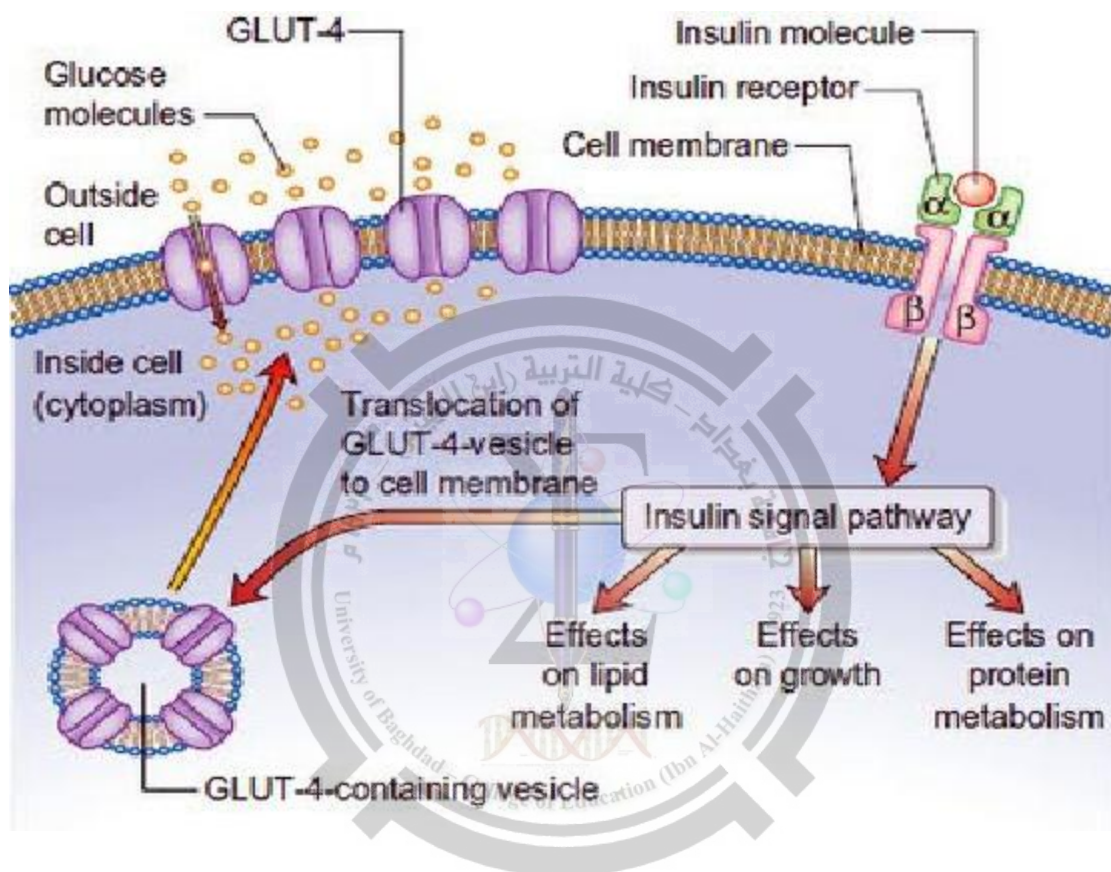
يتم افراز الانسولين من قبل خلايا متخصصة في البنكرياس تسمى ( $\beta$ -cells) Beta cells. ان هذه الخلايا تقوم بافراز هرمون الانسولين استجابة الى ارتفاع مستوى الـ Glucose في الدم اي بعبارة اخرى تعتمد عملية افراز الانسولين على مستوى الـ Glucose في الدم. فكلما ارتفع مستوى الـ Glucose في الدم (خصوصاً بعد تناول الوجبات) فان الانسولين سيتم افرازه بكمية أكبر. إن ميكانيكية عمل الانسولين تتضمن ارتباطه بمستقبلات خاصة Insulin receptors والتي تكون ذات طبيعة بروتينية، فدون هذه المستقبلات لا يمكن للانسولين أن يؤدي وظيفته.

# Human Insulin



شكل (1): التركيب الكيميائي لهرمون الانسولين

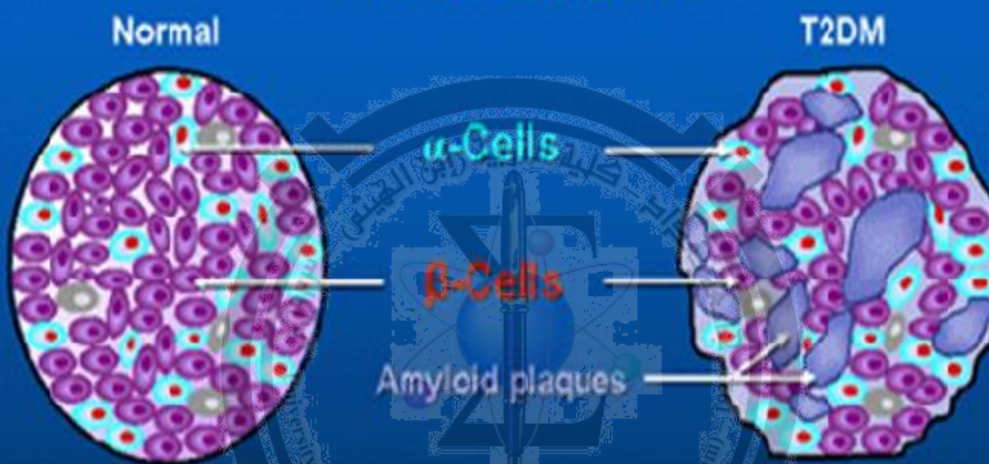




شكل (2): ميكانيكية عمل الانسولين

# Islet $\alpha$ - and $\beta$ -cell Hormones Regulate Glucose Homeostasis

## Islet of Langerhans



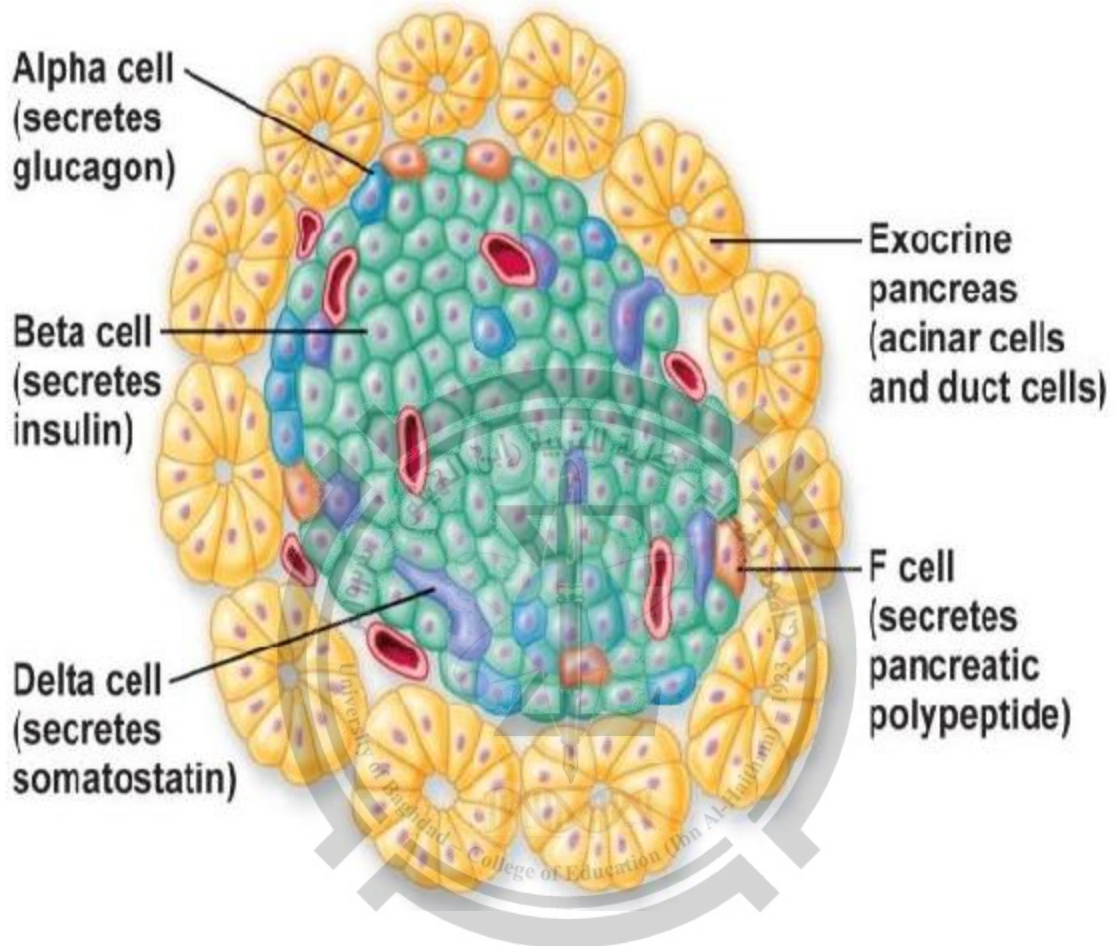
### Healthy subjects :

- $\alpha$ -cells secrete glucagon
- $\beta$ -cells secrete insulin

### Type 2 Diabetic subject:

- $\alpha$ -cells dysfunction: secrete inappropriately high levels of glucagon
- Fewer  $\beta$ -cells: secrete insufficient levels of insulin

Adapted from Rhodes CJ. *Science*. 2005; 307:380-4.



شكل (3): خلايا ألفا وبيتا في البنكرياس

## ملاحظة :-

1- ان عجز خلايا بيتا Beta cell في الـ Pancreas عن افراز الـ Insulin (بشكل مطلق أو نسبي) أو وجود أي خلل في عمل مستقبلات الانسولين أو الاثنين معاً يؤدي الى الاصابة بمرض السكري Diabetes mellitus الذي يعد من الأمراض المزمنة الخطيرة.

2- ان المستوى الطبيعي Normal value لهرمون الانسولين في الدم يكون بحدود U/L (5-25) أما المستوى او النسبة الطبيعية Normal value للـ glucose في الدم فيكون بحدود

(8—120) mg/100 ml (fasting)

(100-160) mg/100 ml (after meal)

### الوظائف البايوكيميائية لهرمون الانسولين Biochemical functions of insulin

ان هرمون الـ Insulin يؤدي دوراً حيوياً في عملية الأيض Metabolism حيث انه يعمل على :-

1- تحفيز العضلات الهيكلية Skeletal muscles على امتصاص الـ Glucose وتحويله الى الـ Glycogen خلال عملية تسمى بـ Glycogenesis.

2- تحفيز العضلات الهيكلية على امتصاص الـ Free fatty acids وتحويلها الى الـ Protein.

3- تحفيز خلايا الكبد Liver cells على امتصاص الـ glucose وتحويله الى الـ Glycogen خلال عملية تسمى Glycogenesis بينما يعمل على تثبيط الانزيمات التي تؤدي الى هدم الـ Glycogen وتحويله الى الـ glucose خلال عملية تسمى بـ Glycogenesis.

4- تثبيط عملية الـ Gluconeogenesis (بناء السكر من مصادر اخرى غير كاربوهيدراتية).

5- تحفيز النسيج الدهني adipose tissue على امتصاص الـ glucose وتخليق الشحوم fats.

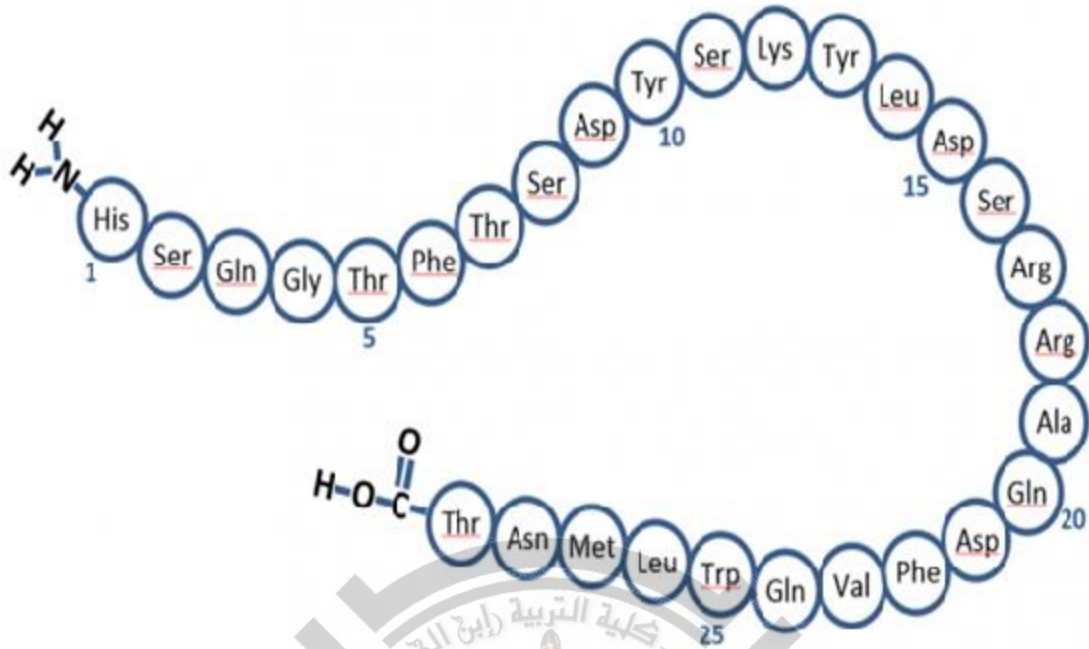
6- ان العمل المتكامل لهرمون الـ insulin من خلال النقاط الخمس أعلاه يؤدي الى تقليل مستوى الـ glucose في الدم، وزيادة مستوى الـ Glycogen في الكبد، وتكوين مستويات طبيعية من البروتين والشحوم في الأنسجة المحيطة.

### ثانياً: هرمون الكلوكاجون Glucagon hormone

وهو عبارة عن هرمون متعدد الببتيد polypeptide يتكون من سلسلة واحدة من الـ amino acids والتي بدورها تتألف من (29) حامض اميني، لذلك فان هرمون الـ glucagon يصنف كيميائياً على انه polypeptide.

### ميكانيكية افراز وعمل هرمون الـ Glucagon

يتم افراز هرمون الـ Glucagon من قبل خلايا متخصصة في الـ pancreas تسمى بخلايا الفا- alpha-cells (بعكس هرمون الـ insulin الذي يتم افرازه من قبل خلايا beta-cells) ويتم افراز الـ Glucagon استجابة الى انخفاض الـ glucose في الدم (مثلاً في حالة الصيام fasting او الجوع الشديد) (بعكس هرمون الانسولين الذي يتم افرازه استجابة الى ارتفاع مستوى الـ glucose في الدم) بعد تناول الوجبات الغذائية (after meals). ان هذا الهرمون يؤدي عمله بعد الارتباط بمستقبلات خاصة receptors كما هو الحال مع هرمون الـ insulin.



شكل (4): التركيب الكيميائي لهرمون الكلوكاكون

### الوظائف البايوكيميائية لهرمون الكلوكاكون Biochemical functions of glucagon

1- يحفز من تحلل الـ glycogen المخزون في الكبد الى الـ glucose ليستعيد منه الجسم كمصدر للطاقة في حالة الصيام fasting او الجوع الشديد.

2- يحفز تحلل الدهون والبروتينات الى مصادرها الاصلية وبالتالي تحولها الى الـ glucose (غد تحلل الدهون المخزونة في الجسم فان نواتج هذا التحلل هي الحوامض الشحمية fatty acids الـ glycerol، والـ glycerol بإمكانه ان يتحول الى glucose عن طريق سلسلة من التفاعلات البايوكيميائية، اما البروتينات المخزونة فبإمكانها التحلل الى amino acids والتي بدورها تتحول الى glucose.

Glucagon H	Insulin H
1- يتم افرازه من قبل خلايا $\alpha$ -cells في الـ pancreas	1- يتم افرازه من قبل خلايا beta-cells في الـ pancreas
2- يتم افرازه استجابة الى انخفاض مستوى الـ glucose في الدم في حالة الصيام او الجوع الشديد	2- يتم افرازه استجابة الى ارتفاع مستوى الـ glucose في الدم بعد تناول الوجبات الغذائي (after meals)
3- يتكون من سلسلة واحدة من الحوامض الامينية، تتكون من 29 A.A.	3- يتكون من سلسلتين من الحوامض الامينية، الاولى $\alpha$ -chain تتكون من 21 A.A. والثانية $\beta$ -chain تتكون من 30 A.A.
4- لا يحتوي اطلاقا على اي أوأصر ثنائية الكبريت	4- يحتوي على ثلاثة أوأصر ثنائية الكبريت
5- الصنف الكيميائي polypeptide	5- الصنف الكيميائي protein
6- يعمل على تحلل الـ glycogen المخزون في الكبد الى الـ glucose	6- يعمل على تحفيز خلايا الكبد والعضلات الهيكلية على امتصاص الـ glucose وتحويله الى glycogen
7- يحفز تحلل البروتينات الى حوامض امينية	7- يحفز العضلات الهيكلية على امتصاص الاحماض الامينية وتحويلها الى بروتين
8- يحفز تحلل النسيج الشحمي الى حوامض شحمية glycerol و fatty acids	8- يحفز النسيج الدهني adipose tissue على امتصاص الـ glucose وتخليق الشحوم fats

الموضوع الخاص \ كيمياء الدم

Blood chemistry

الجزء الثاني

قسم الكيمياء / المرحلة الرابعة

للعام الدراسي 2019-2020

الدكتورة

رشا زهير جاسم

albumin		
lipid profile		
cholesterol		
triglyceride		
HDL-Cholesterol	1.0	mmol/L
LDL-Cholesterol	1.5	mmol/L
Non-HDL-Cholesterol	2.50	mmol/L
Chol/HDL Ratio	3.50	
Clear S		
Ref. Ra		
only -		
follo		

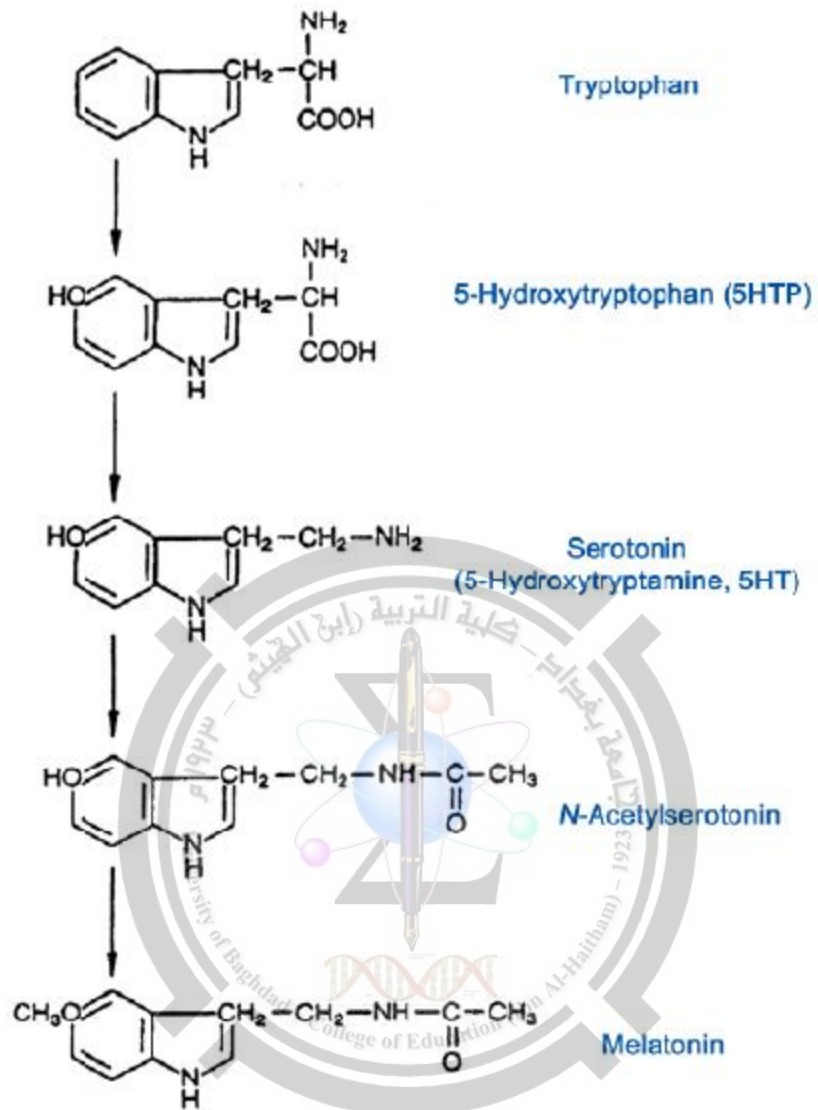


## السيروتونين Serotonin

السيروتونين serotonin أو 5- hydroxyl tryptamine هو مركب كيميائي يمتلك خصائص بايولوجية تنظيمية تؤثر على توازن الجسم بشكل عام. عموماً يوجد إختلاف في تحديد إنتماء هذا المركب ، حيث أن بعض العلماء يصنفوه على أنه هرمونا نظرا لخصائصه التنظيمية بينما البعض الآخر يصنفه كناقل عصبي neurotransmitter تبعا لوظيفته الأساسية التي هي نقل الإيعازات بين الأعصاب و لا يصنفه ضمن الهرمونات لكونه لا يتم إفرازه من قبل غدة صماء. بشكل عام يتم إفراز السيروتونين من قبل الجهاز العصبي المركزي (CNS) central nervous system و خصوصا الدماغ brain ، الأمعاء bowel و الصفائح الدموية platelets. عموماً تكون النسبة الطبيعية للسيروتونين (101-283) ng / mL

### الصف الكيمائي للسيروتونين Chemical class of serotonin

يعد السيروتونين من مشتقات الحامض الأميني التريبتوفان Tryptophan ، حيث أن السيروتونين يكون مركبا وسطيا في تخليق هرمون الميلاتونين Melatonin.



## الوظائف البايوكيميائية للسيروتونين Biochemical functions of serotonin

### (1) الاكتئاب Depression :

عند انخفاض السيروتونين عن مستواه الطبيعي يصاب الشخص بالاكتئاب و تحديدا عند زيادة مستوى النورينفرين ( أي إن العلاقة عكسية مابين السيروتونين و النورينفرين) و توجد الكثير من الدراسات التي تربط ما بين انخفاض مستوى السيروتونين و الاكتئاب.

### (2) تحسين المزاج Mood enhancement :

لقد أثبت علميا أن السيروتونين الذي يتم إفرازه تحديدا من الدماغ يؤدي إلى تحسين المزاج.

### (3) تنظيم عمل الأمعاء Bowel function regulation

معظم السيروتونين الموجود في الدم يتم تخليقه في القناة الهضمية حيث أنه ينظم حركة و وظيفة الأمعاء فضلا عن تنظيمه للشهية ، و لقد وجد أن الشهية تزداد عند انخفاض مستوى السيروتونين.

### (4) النوم Sleeping :

بما أن السيروتونين أحد المركبات الوسطية في تخليق الميلاتونين ، فهو بذلك يحفز أجزاء الدماغ المسؤولة عن الساعة البيولوجية biological clock و التي تسيطر على النوم.

### (5) تخثر الدم Clotting :

إن السيروتونين المتكون في الصفيحات الدموية thrombocytes يسهم في تكوين الخثرات التي توقف النزيف عند الجروح.

### (6) الغثيان Nausea

يزداد إفراز السيروتونين عند تناول مادة سامة أو غير ملائمة لحاجة الجسم ، إن إفراز هذا الهرمون يحفز جزء الدماغ المسؤول عن الغثيان ، فيشعر الشخص بحالة من الغثيان عند وبعد طرح المادة السامة مع الفضلات.

## السايٲوكينات Cytokines

تمثل الـ Cytokines احدى مكونات الدم أو البلازما. وهي عبارة عن مركبات بايوكيميائية بروتينية التركيب ذات وزن جزيئي واطئ يتم افرازها بشكل رئيسي من قبل الخلايا اللمفية Lymphocytes و الخلايا البلعمية Macrophages فضلا عن إمكانية إفرازها من قبل بعض الأنسجة مثل النسيج الشحمي adipose tissue و بطانة الرحم و بعض الأنسجة الوابطة . تستخدم السايٲوكينات في نقل الاشارة داخل وخارج الـ immune cells ، بعبارة اخرى تعمل الـ Cytokines على تنظيم الاستجابات المناعية والالتهابية، بشكل تكون الـ Cytokines أما محفزة للالتهاب Pro-inflammatory أو مثبطة للالتهاب Anti-inflammatory تبعا لتأثيرها على الخلايا المناعية. تؤدي السايٲوكينات وظيفتها البايوكيميائية من قبل مستقبلات خاصة. ان كلمة Cytokines هي كلمة اغريقية، حيث Cyto- مشتقة من cells بينما Kines- تعني movement (حركة) ، بعبارة اخرى تعني كلمة cytokines الحركة ضمن او مابين الخلايا.

بصورة علمة يمكن تقسيم الـ cytokines الى خمسة أنواع رئيسية :

- 1- Interleukins: examples: interleulin-36 alpha (IL-36 $\alpha$ ), interleukin-36 beta (IL-36 $\beta$ ), interleukin-36gamma (IL-36 $\gamma$ ), interleukin-37 (IL-37) interleukin-38 (IL-38).
- 2- Tumor necrosis alpha (TNF): examples: tumor necrosis alpha (TNF- $\alpha$ ) and Tumor necrosis beta (TNF- $\beta$ ).
- 3- Growth factors: examples: Angiopoietin-1 (Ang-1), Angiopoietin-2 (Ang-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF).
- 4- Interferons (IFNs) : IFN $\alpha$  , IFN $\beta$  , IFN $\gamma$
- 5- Chemokines

## ساقارن بين الـ Cytokines والـ hormones

Hormone	Cytokine
1- تراكيزها في الـ serum أو الـ plasma أعلى نسبياً (غالبا ما تقاس بوحدة الـ $\mu\text{g}$ (microgram)) $\mu\text{g} = 10^{-6} \text{ g}$	1- تراكيزها في الـ serum أو الـ plasma أقل نسبياً (غالبا ما تقاس بوحدة الـ $\text{pg}$ (pictogram)) $\text{Pg} = 10^{-12} \text{ g}$
2- يكون تأثيرها عبر مسافات بعيدة عن موضع افرازها	2- تتخلق وتؤدي عملها بشكل أسرع وخلال مسافة قريبة نسبياً من مصدر افرازها
3- زمن عمر النصف لها أعلى	3- زمن عمر النصف لها أقل
4- يتم افرازها بشكل رئيسي من قبل الغدد الصماء لتنتقل عبر الدم الى الانسجة الهدف Target tissues لتؤدي عملها هناك	4- يتم افرازها بشكل رئيسي من قبل الخلايا المناعية وكذلك أنسجة بعض الخلايا لتؤدي عملها موضعياً (شمن نفس مكان افرازها)

### Interleukins:

Interleukins are an important class of cytokines .. its chemical structure is protein or glycoprotein molecules, at cellular messengers between cells upon binding with specific receptors. (inter means between and leukins derived from leukocytes which are the major source of interleukins) . Generally, there are 38 interleukin in nature, but characteristics of IL-36 and above were partially understood.

الانترلوكينات هي مركبات بروتينية أو بروتينات سكرية تعمل كنواقل للإشارة بين الخلايا عند الارتباط مع مستقبلات خاصة، مقطع inter يعني between (بين) ومقطع leukin مشتق من كلمة leukocytes (كريات الدم البيضاء) باعتبارها المصدر الرئيسي للـ interleukin ، عموماً يوجد في الطبيعة حوالي 38 نوع من الـ interleukins ولكن خصائص بعض منها لم تحدد بشكل متكامل (خصائص الـ IL-36 والـ IL-37 والـ IL-38 لازالت قيد البحث).

## تقدير مستوى السكر في الدم Determination of glucose levels in blood

### أولاً: أساس الطريقة:

يتم تقدير سكر الـ glucose في الدم بواسطة الطريقة الأنزيمية Enzymatic methods والتي تتضمن أكسدة الـ glucose الموجود ضمن الـ serum أو الـ plasma الى gluconic acid عن طريق أنزيم glucose oxidase مع تحرير غاز بيروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide الذي يتفاعل مع كاشف معين فيتكون الماء والأكسجين وعن طريق أنزيم Peroxidase. ان هذا التفاعل يؤدي الى تكوين مادة ملونة تقاس شدة امتصاصها عن طريق جهاز spectrophotometer (المطياف الذري).



### ثانياً: تحضير العينة:

ملاحظة هامة : يراعى فصل الـ serum أو الـ plasma بعد سحب العينة وإجراء التحليل بسرعة لأن تأخيرها يؤثر على تركيز السكر في العينة.

أ- لفصل الـ serum: تسحب عينة دم وريدي وتترك ليحدث التخثر coagulation ثم توضع لتفصل في جهاز الـ Centrifuge كما ذكرنا سابقاً.

ب- لفصل الـ plasma: تسحب عينة دم وريدي ثم توضع في انبوبة تحتوي على مضاد للتخثر مثل EDTA وتوضع في جهاز الـ Centrifuge.

وعن طريق ماصة Pipette يفصل الـ serum او الـ plasma الذي يمثل الطبقة الطافية الى الأعلى.

### ثالثاً: الادوات والأجهزة المستخدمة:

1- بعد أن يتم فصل الـ serum او الـ plasma نقوم باحضار ثلاثة أنابيب ونميزها عن طريق وضع label بالرموز التالية T, S, B

B: الانبوبة الخاصة بمحلول الـ blank

S: الانبوبة الخاصة بالمحلول القياسي Standard

T: الانبوبة الخاصة بعينة الدم

2- ماصات pipettes بأحجام مختلفة

3- المطياف النري spectrophotometer

4- حاضنة Incubator

رابعاً: المحاليل والكواشف المستعملة:

1- الـ Kit المستعمل الذي يحوي على 4-amino antipyrine و peroxidase و GOD و standard و glucose (100 mg/dl) و phosphate buffer و phenol.

2- نموذج الـ serum او الـ plasma

خامساً: عمل الاختبار

1- بعد اعداد الانابيب الثلاثة T, S, B يتم وضع (10 µl) من الـ serum في الانبوبة T و (10 µl) من المحلول القياسي standard solution في الانبوبة S ويمكن وضع (10 µl) من الماء المقطر في الانبوبة B.

2- يضاف يضاف (1 ml) من محلول التفاعل Working solution المتكون من buffer والانزيمات GOD و Peroxidase و 4-amino antipyrine و phenol الى كل من الانابيب الثلاث.

3- يترك الاختبار لمدة 10 دقائق في الحاضنة (37°C) أو لمدة (30 min) عند درجة حرارة الغرفة.

4- يضبط جهاز قياس الامتصاص spectrophotometer عند الطول الموجي المحدد wave length.

5- يتم ضبط الجهاز على محلول blank (الذي يستعمل لتصغير الجهاز).

6- توضع محتويات الانبوبة S في cuvet خاص بالقراءة ثم توضع في الجهاز لأخذ القراءة ثم توضع في الجهاز وتسجل قيمة الامتصاص ثم توضع محتويات الانبوبة T في cuvet خاص بالقراءة ثم توضع في الجهاز وتسجل قيمة امتصاصه ، وعادة تكون قيمة الامتصاص عند الطول الموجي (510 nm).

### ساساً: الحسابات

يتم حساب تركيز السكر في الدم عن طريق المعادلة التالية:

$$\text{Glucose (mg\dl)} = \frac{A \text{ test}}{A \text{ standard}} \times 100$$

100: Conc. Of standard glucose (100 mg/dl)

A: Absorption الامتصاص

### المحلول القياسي Standard solution

هو محلول معلوم التركيز محضر مسبقاً من قبل الشركة المنتجة لل kit بإذابة وزن معلوم من المادة المراد قياسها في حجم معلوم من الماء المقطر لذلك فهو يعطي قراءة ثابتة في كل مرة قياس.

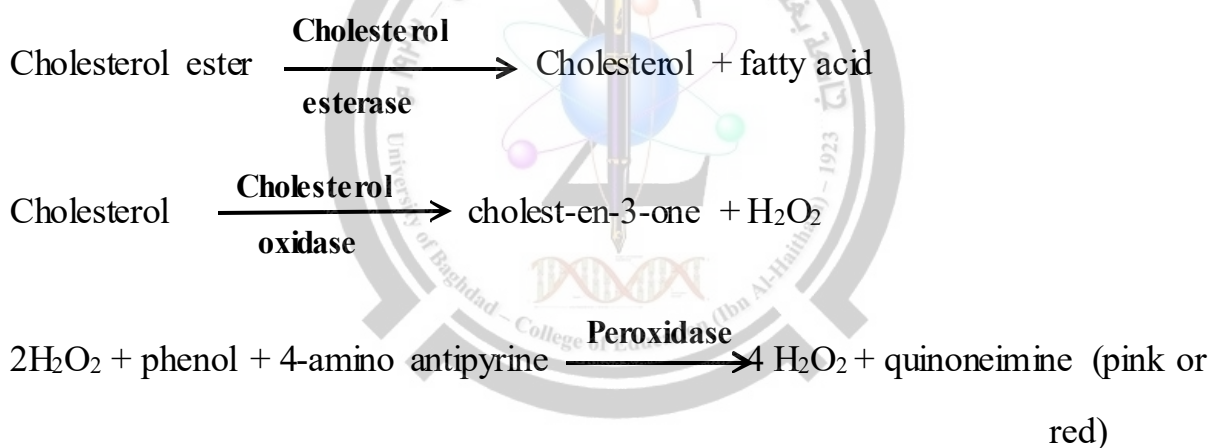
سأ عند التحليل المختبري لوكوز الدم Fasting وجد ان A test تساوي 0.325 و A standard تساوي 0.300، هل يمكن التنبؤ من ان هذا الشخص مصاباً بمرض السكري؟ علماً ان تركيز standard glucose يساوي 100 mg/dl.



## Determination of total cholesterol level in blood

### Principle of the assay

يتم تقدير الكوليسترول الكلي في بلازما أو سيريوم الدم بالطرق الانزيمية وقياس الامتصاص بجهاز المطيف الذري spectrophotometer. ان الكوليسترول الكلي يتواجد في الـ serum أو الـ plasma على هيئة أسترات الكوليسترول cholesterol esters وهذه الاسترات يمكن تحللها انزيميا الى الكوليسترول الحر ومن ثم أكسدة الكوليسترول الحر الى cholest-en-3-one وتحرير بيروكسيد الهيدروجين الذي يتفاعل مع كواشف معينة (phenol + 4-amino antipyrine) معطيا مادة ملونة تقاس شدة امتصاصها عن طريق الـ spectrophotometer.



### ثانياً: المواد المستخدمة في القياس

1- Kit which is composed of:

Cholesterol oxidase, cholesterol esterase, peroxidase, phenol, 4-amino antipyrine, phosphate buffer (pH=7).

2- Standard cholesterol (200 mg/dl).

### ثالثاً: الادوات والاجهزة المستخدمة في التجربة

1- ثلاث أنابيب اختبار توضع عليها علامة label لغرض التمييز .

T: (test) الانبوبة الخاصة بالمواد المراد قياسها

S: (standard) الانبوبة الخاصة بالمحلول القياسي

B: (blank) الانبوبة الخاصة بمحلول البلاك

2- ماصات باحجام مختلفة

3- حاضنة Incubator

4- المطياف الضوئي spectrophotometer

#### رابعاً: طريقة القياس

1- يوضع  $1\mu\text{l}$  من البلازما او السيرم (الذي تم تحضيره مسبقا كما في قياس الكلوكوز) في الانبوبة T ويوضع  $1\mu\text{l}$  من المحلول القياسي standard في الانبوبة S و  $1\mu\text{l}$  من الماء المقطر في الانبوبة B.

2- يوضع  $1\mu\text{l}$  من الـ working solution في الانابيب الثلاثة أعلاه (الـ working solution يتكون من جميع مواد الـ kit ماعدا المحلول القياسي).

3- تمزج المحاليل جيداً وتوضع في الحاضنة incubator لمدة عشر دقائق، يصر الـ spectrophotometer بواسطة الـ blank solution ويثبت الطول الموجي عند  $500\text{nm}$ .

4- يقاس امتصاص الـ standard ( $\Delta A.S$ ) وامتصاص الـ test ( $\Delta A.T$ ) وتسجل القيم لحساب تركيز الكوليسترول الكلي.

ملاحظة: ان الـ normal value للكوليسترول الكلي يجب ان لا تزيد عن ( $200\text{ mg/dl}$ ) وان اي زيادة عن هذا الرقم تعد زيادة في مستوى الكوليسترول وقد تؤدي الى الاصابة بتصلب الشرايين Atherosclerosis.

### خامساً: الحسابات

$$\text{Cholestrol Conc. (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ test}}{\Delta A \text{ standard}} \times 200 \text{ (mg/dl)}$$

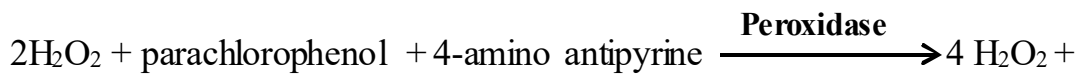
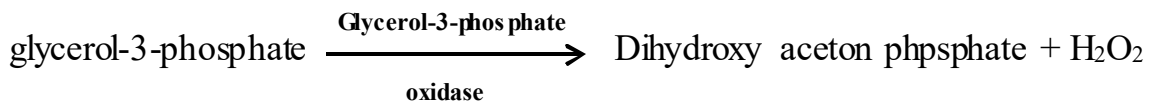
سأ عند قياس مستوى الكوليسترول الكلي (TC) في سيريوم دم أحد المرضى وجد أن  $\Delta A \text{ test}$  تساوي 400 و  $\Delta A \text{ standard}$  تساوي 390، هل يمكن التنبؤ بان هذا الشخص لديه استعداد للإصابة بتصلب الشرايين؟

### تقدير مستوى الكليسيريدات الثلاثية (الدهون المتعادلة) في الدم

#### Determination of triacylglycerol (TG) level in blood

#### أولاً: أساس الاختبار Principle of the assay

يتم تقدير الكليسيريدات الثلاثية (الدهون المتعادلة) Triacylglycerols في الدم بالطرق الانزيمية التي ينتج عنها تكوين معقد ملون تقاس شدة امتصاصه عن طريق جهاز المطيف الذي spectrophotometer.



Quinoneimine (colored complex)

## ثانياً: المواد المستخدمة في القياس

- Kit which is composed of:

1- Lipase 2- glycerol kinase 3- glycerol-3-phosphate

4- peroxidase 5- parachlorophenol 6- 4-amino antipyrin 7- phosphate buffer

- standard triacylglycerol (200 mg/dl)

## ثالثاً: الادوات والاجهزة المستخدمة في التجربة

1- بعد أن يتم فصل الـ serum أو الـ plasma بالطرق المذكورة سابقاً نقوم باحضار ثلاث أنابيب اختبار يتم تمييزها عن طريق وضع label بالرموز التالية T، B، S.

B: الانبوبة الخاصة بمحلول البلاנק Blank

S: الانبوبة الخاصة بالمحلول القياسي standard solution

T: الانبوبة الخاصة بعينة الدم المراد تحليلها .test

2- ماصات بأحجام مختلفة

3- المطياف الذري spectrophotometer

4- الحاضنة Incubator

## رابعاً: عمل الاختبار (طريقة القياس)

1- بعد اعداد الانابيب الثلاثة T, S, B يتم وضع 10µl من الـ serum في الانبوبة T و 10µl من الـ standard solution في الانبوبة S ويمكن وضع 10µl من الماء المغطر في الانبوبة B.

2- يضاف 1ml من محلول التفاعل working solution المتكون من الانزيمات والـ buffer والمواد التي تساعد على ظهور اللون (كافة مواد الـ kit ماعدا الـ standard solution) الى كل من الانابيب الثلاث وتمزج جيداً.

3- يترك الاختبار لمدة 10 min في الحاضنة عند 37°C أو لمدة 30 MIN عند درجة حرارة الغرفة.

4- يضبط المطياف الذري spectrophotometer عند الطول الموجي (500 nm).

5- يتم ضبط الجهاز على اساس قياس امتصاص محلول الـ Blank.

6- يقاس امتصاص الـ standard solution والـ test solution ويتم تسجيل القيم.

#### خامساً: الحسابات

$$\text{Triacylglycerol Conc. (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ test}}{\Delta A \text{ standard}} \times 200 \text{ (mg/dl)}$$

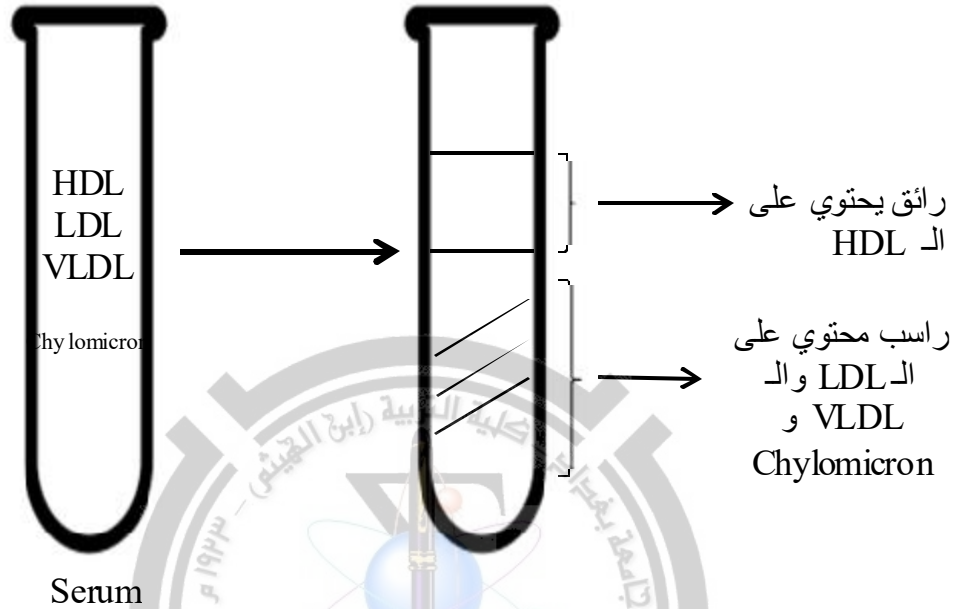
200: concentration of standard (TG).

#### تقدير البروتينات الدهنية عالية الكثافة في الدم

#### Determination of high density lipoproteins (HDL) in Blood

#### 1- أساس الاختبار Principle of the assay

ان البروتينات الدهنية (Chylomicrons, VLDL, LDL) باستثناء الـ HDL يتم ترسيبها باضافة Phosphotungestic acid وكلوريد المغنيسيوم ووضع النموذج في جهاز الـ Centrifuge، وبعد الفصل المادة الرائقة (المحتوية على الـ HDL) الطافية الى الاعلى عن طريق ماصة Pipette يتم تقدير الـ HDL فيها، ان اساس تقدير HDL هو تقنية الترسيب



## 2- المواد المستعملة في التجربة

- 1- Phosphotungestic acid
- 2- Magnesium chloride
- 3- Standard HDL (150 mg/dl)
- 4- Cholestrol liquicolor reagent
- 5- Standard HDL (150 mg/dl)

## 3- الاجهزة المستعملة في التجربة

- 1- ثلاث انابيب اختبار

B: الانبوبة الخاصة بمحلول الـ Blank

S: الانبوبة الخاصة بالمحلول القياسي standard solution

T: الانبوبة الخاصة بعينة الدم

2- المطياف النري spectrophotometer

3- الحاضنة Incubator

4- ماصات باحجام مختلفة

5- جهاز الطرد المركزي Centrifuge

والذي يستعمل لغرض فصل جزء من عينة من الـ Plasma أو الـ Serum المحتوي على نوع واحد من الـ Lipoproteins وهو الـ HDL لكون بقية الـ Lipoproteins : LDL, VLDL, Chylomicrons تم ترسيبها عن طريق الـ Phosphtungestic acid و Magnesium chloride.

#### 4- عمل الاختبار (طريقة القياس)

تستعمل طريقة Macro precipitation (حيث يستعمل حجم أكبر من العامل المرسب Precipitant

1- يمزج (100 µl) من العامل المرسب Precipitant مع (500 µl) من نمزج الـ Serum أو الـ Plasma .

2- يوضع المزيج لمدة (10 min) عند درجة حرارة الغرفة وبعدها يوضع في جهاز الطرد المركزي لفترة دقيقتين ثم تفصل المادة الرائقة المحتوي على الـ HDL.

3- يستعمل الرائق الذي تم الحصول عليه في الخطوة السابقة لتقدير الـ HDL باستخدام كاشف الـ Cholesterol liquicolor reagent.

4- يتم تطبيق خطوات مشابهة للقياسات البايوكيميائية حيث يوضع في الانبوبة T (100 µl) من الرائق الذي تم الحصول عليه في الخطوة السابقة، ويوضع 100 µl من المحلول القياسي لل HDL في الانبوبة S ويوضع 100 µl من الماء المقطر في الانبوبة B.

5- يوضع (1 ml) من Cholesterol liquicolor reagent في الانابيب الثلاثة وتمزج جيدا.

6- تمزج المحتويات في كل Tube وتوضع في الحاضنة Incubator لمدة (10 min)، يثبت الطول الموجي لل Spectrophotometer عند (500 nm)، يثبت المتصاص بواسطة محلول البلاك ثم يقاس امتصاص النموذج في الانبوبة T وتسجل قيمة ( $\Delta A_T$ ) وكذلك يقاس امتصاص ال Standard في الانبوبة S وتسجل قيمة ( $\Delta A_S$ ).

#### 5- الحسابات

$$\text{HDL Concentration (mg/dl)} = \frac{\Delta A_T}{\Delta A_S} \times 150 \text{ (mg/dl)}$$

(تركيز ال HDL)

تقدير البروتينات الدهنية قليلة الكثافة وضئيلة الكثافة في الدم

#### **Determination of low density lipoproteins (LDL) and very low lipoproteins (VLDL)**

يتم حساب تركيز ال LDL وفقا للمعادلة

$$\text{LDL (mg/dl)} = \text{TC} - \left( \text{HDL} + \frac{\text{TG}}{5} \right)$$



ويتم حساب تركيز VLDL وفقاً للمعادلة:

$$\text{VLDL (mg/dl)} = \frac{\text{TG}}{5}$$

ملاحظة: إن المعادلتين أدناه تطبق عندما يكون تركيز الـ TG ما بين (200-400) mg/dl

### تقدير مستويات الهرمونات و السابتوكينات في الدم

#### Determination of hormones and cytokines in blood

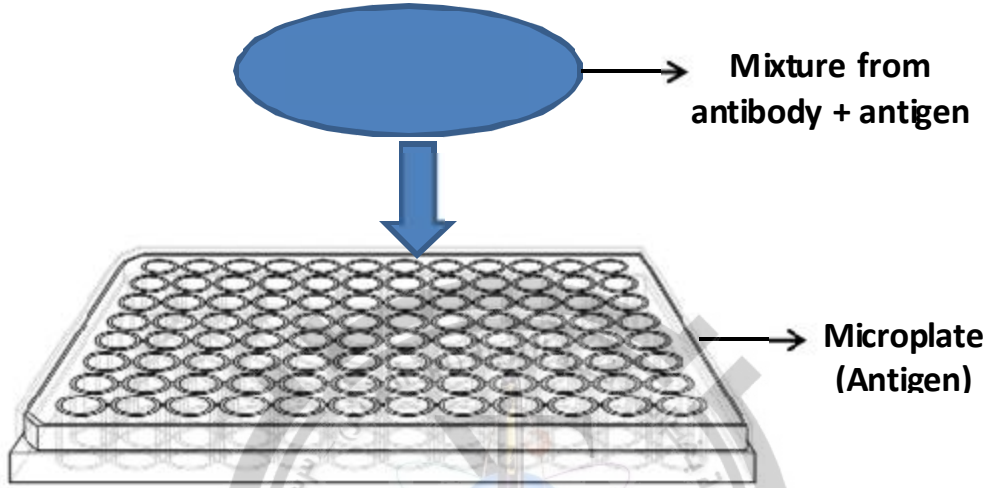
يتم تقدير مستويات الهرمونات و السابتوكينات في الدم عن طريق تقنية Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)، تركز هذه الطريقة على تفاعل كيميائي يحصل بين مولد الجسم المضاد Antigen (الموجود في الـ Serum أو الـ Plasma) والذي يمثل الهرمون نفسه والجسم المضاد Antibody (الذي يوجد مع الـ Kit وغالباً مايكون الـ Biotin) وتكوين معقد Complex يعمل كمادة اساس Substrate تتفاعل مع انزيم معين ويتكون معقد ثاني تقاس شدة امتصاصه بواسطة المطياف الذري Spectrophotometer وتقسم هذه الطريقة الى نوعين:

أولاً: طريقة الجسم المضاد المنفرد (الارتباط التنافسي)

#### Single antibody method (competitive binding method)

تعتمد هذه الطريقة على مزج لثنين من الـ Antigen، الاول عبارة عن انزيم والثاني موجود ضمن الـ Plasma أو الـ Serum وكذلك ضمن الـ Standard solution (والذي يمثله الهرمون نفسه). ان هذا المزيج المتكون من Antigen + Antibody يتم تعريضه للتفاعل مع Antibody اخر (عادة يمثله الـ Biotin) حيث يكون مرتبطاً مع الـ Solid phase للصفحة الموجودة ضمن الـ Kit، وبناءً على ذلك سيحصل تنافس Competition ما بين الـ 2 Antigens للارتباط مع الـ 1 Antibody، بعد وضع المزيج في الـ Incubator يتم غسله بواسطة الـ Buffer solution فالنتيجة هي ازالة الـ Antigen غير المتفاعل

وتكوين معقد مابين الـ Antigen المتفاعل والـ Antibody، ان المعقد المتكون يتم تعريضه لـ Enzyme وبناءً على ذلك يتكزم معقد ثاني تقاس شدة امتصلصه عن طريق Spectrophotometer.



### ثانياً: طريقة الجسم المضاد المزدوج (Sandwich method) Double antibody method

ترتكز هذه الطريقة على ارتباط الـ Antigen (الموجود ضمن النموذج المراد تحليله) مع جسم مضاد Antibody متخصص لهذا الـ Antigen والذي يكون مرتبط على السطح الصلب للـ Microplate الموجود ضمن الـ Kit. يضاف للمزيج معقد Antibody-antigen-antibody يكون فيه الـ Antigen محاطاً بـ Antibody من الأعلى و Antibody من الأسفل لذلك تسمى هذه الطريقة بـ Sandwich method، بعد وضع المعقد في التـ Incubator وغسله بواسطة الـ Buffer (لازالة المواد غير المتفاعلة) تستعمل المادة المتكونة كمادة أساس Substrate فيضاف اليها Enzyme غالباً ما يكون Horse radish peroxidase ويتكون معقد ثاني تقاس شدة امتصلصه بواسطة جهاز Spectrophotometer.

### المواد المستعملة في تقنية ELISA

1- Serum or plasma

- 2- Standard solution
- 3- Solid phase (microplate) which contains biotin
- 4- Enzyme-Horse radish peroxidase
- 5- Alkaline phosphatase

### الأجهزة والأدوات المستعملة في التجربة

1. Micropipette (10  $\mu$ l, 50  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 200  $\mu$ l).
2. Incubator to control temperature within  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ .
3. ELISA equipment which consist of
  - a- Reader
  - b- Washer (يستعمل لازالة الـ antigen والـ Antibody الغير متفاعل)
  - c- Printer (يستعمل للحصول على النتائج)

